

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 42

SAYI / NUMBER : 6

YIL / YEAR : 2017

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

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

Editörler / Editors	Danışma Kurulu / Advisory Board
<p>ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p>	<p>Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</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> 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> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atilla <i>Ankara University, Turkey</i></p>
<p>Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p>Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org</p> <p>Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli</p> <p>Hazırlayan / Prepared Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 12 2017</p>	

Bu dergi, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, CrossRef, DergiPark Akademik, EBSCO Host, DOAJ, CiteFactor, Infobase Index, SciLit, Journal Index, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), OCLS WorldCat, FAO Agris, CAB Abstracts, DIIF, Journal Factor, COSMOS, Scholarsteer, JIFACTOR, Research Impact Factor, Index Copernicus, Scientific World Index (Sciindex), Scientific Indexing Services (SIS), CABI (CAB Direct), Academic Resource Index, IJIF, Food Science and Technology Abstracts (FSTA) ve Google Scholar veri tabanları kapsamındadır.

This journal is covered by TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, CrossRef, DergiPark Akademik, EBSCO Host, DOAJ, CiteFactor, Infobase Index, SciLit, Journal Index, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), OCLS WorldCat, FAO Agris, CAB Abstracts, DIIF, Journal Factor, COSMOS, Scholarsteer, JIFACTOR, Research Impact Factor, Index Copernicus, Scientific World Index (Sciindex), Scientific Indexing Services (SIS), CABI (CAB Direct), Academic Resource Index, IJIF, Food Science and Technology Abstracts (FSTA) and Google Scholar database systems.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Kilic, A. *LTHV (Low temperature and high velocity) drying characteristics and mathematical modeling of anchovy (Engraulis encrasicolus) / Hamsi'nin (Engraulis encrasicolus) LTHV (düşük sıcaklık ve yüksek hız) kurutma karakteristikleri ve matematiksel modellenmesi* **654-665**
- Suna, S. *Investigating the physicochemical properties and in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of rooibos herbal tea beverage / Rooibos çayı içeceğinin fizikokimyasal özellikleri ile fenolik madde ve antioksidan kapasite yönünden biyoelenebilirliğinin araştırılması* **682-692**
- Tokatlı, M., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., Özçelik, F. *Technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles / Geleneksel turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin teknolojik özellikleri* **693-707**
- Carsanba, E., Akca, I., Timur, M. *Examination of firik produced in Hatay region in terms of nutritional aspect / Hatay bölgesinde üretilen firğin besinsel değerlerinin incelenmesi* **726-730**
- Berk, E., Şumnu, S. G., Şahin, S. *Effects of hydrocolloids and carob bean flour on rheological properties of batter and cake quality / Hidrokolloidlerin ve keçiyoynuzu ununun hamurun reolojik özellikleri ve kekin kalitesine olan etkisi* .. **754-762**
- Gençcelep, H., Anil, M., Sarıcaoğlu, F. T., Açar B. *The effects of different modified starches on some physical and texture properties of meat emulsion / Et emülsiyonlarının bazı fiziksel ve tekstürel özellikleri üzerine farklı modifiye nişastaların etkileri* **773-786**
- Gençcelep, H., Zorba, Ö. *The effect of dried mushroom (Agaricus bisporus) addition on microbiological quality and biogenic amine contents in sucuk production / Sucuk üretiminde kurutulmuş mantar (Agaricus bisporus) ilavesinin mikrobiyolojik kalite ve biyojenik amin içeriği üzerine etkileri* **787-798**
- Büyükgök, E. B., Saygin Gümüşkesen, A. *Influence of olive ripeness degree and harvest year on chemical and sensory properties of Kilis yağlık and Memecik olive oil / Kilis yağlık ve Memecik zeytinyağlarının kimyasal ve duyuşsal özelliklerine zeytinin olgunluk derecesi ve hasat yılının etkisi* **799-808**
- Hendek Ertop, M., Öztürk Sarıkaya S. B. *The relations between hydroxymethylfurfural content, antioxidant activity and colorimetric properties of various bakery products / Çeşitli fırıncılık ürünlerinin hidroksimetilfurfural içeriği, antioksidan aktivitesi ve kolorimetrik özellikleri arasındaki ilişkiler* **834-843**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Emirmustafaoglu, A., Coşkun, H. *Üretim parametreleri optimize edilmiş kızartmalık keş örneklerinde depolama boyunca meydana gelen değişimler / The changes revealed during storage of "keş for frying" samples made with optimized production parameters* **643-653**
- Döner, F., Göksungur Y. *Lactobacillus sanfranciscensis'in gelişmesinde etkili biyoproses parametrelerinin belirlenmesi ve optimizasyonu / Determination and optimization of the bioprocess parameters effecting growth of Lactobacillus sanfranciscensis* **666-675**
- Palabıyık, İ. *Liyofilize bazı mikroalg türlerinin sakız bileşiminde doğal renklendirici olarak kullanımı / Effect of lyophilized microalgae addition on quality parameters of chewing gum* **676-681**
- Demir, H., Sezer, S., Süfer, Ö. *Soğan dilimlerinin kurutulması esnasında renk değişimine etki eden faktörlerin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi / Determination of factors affecting total color change of onion slices during drying using response surface methodology* **731-742**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Yılmaz, M., Altan, A. *Elektroegirme yöntemine dayalı nanosensörlerin gıda alanındaki uygulamaları / Applications of electrospinning-based nanosensors in food field* **708-725**
- Akdeniz, V., Akalın, A. S. *Ultrason uygulamasının süt ürünlerinde homojenizasyon, jel yapısı, viskozite ve su tutma kapasitesi üzerine etkisi / Effects of ultrasound application on homogenization, gel structure, viscosity and water holding capacity in dairy products* **743-753**
- Özer, E., Ünal, G., Kesenkaş, H., Akalın, A. S. *Somatik hücreler ve endojen enzimlerinin süt teknolojisindeki önemi / The importance of somatic cells and their endogenous enzymes in dairy technology* **763-772**
- Kurhan, Ş., Çakır, İ. *Laktik asit bakterilerinin aflatoksin B1 bağlayıcı ve antikanserojen özellikleri / Aflatoxin B1 binding and anti-carcinogenic properties of lactic acid bacteria* **809-820**
- Söğüt, E., Seydim, A. C. *Biyobazlı nanokompozitler ve gıda ambalajlamadaki uygulamaları / Bio-based nanocomposites and food packaging applications* **821-833**

Editörden,

Merhaba,

Dergimizin 6. sayısını (Kasım-Aralık 2017), 5. sayıyı yayımladıktan 15 gün sonra olmak üzere Aralık 2017 başında yayımladık. 5. sayımızın yayımlanmasındaki gecikme nedenlerimiz, tümüyle ortadan kalkmıştır. Muhtemelen 2018 yılı 43. cilt 1 sayısını (Ocak-Şubat 2018), en geç 2018 Ocak sonuna kalmadan yayımlarız. Bu tarihte 2018 yılı 43. cilt 1. sayı için 5 makale basıma hazır durumdadır. Diğer taraftan; yıl bitmeden baskıya hazır olacağını beklediğimiz yeterli sayıda makalemiz var.

Bu sayımızda 9 İngilizce araştırma, 4 Türkçe araştırma ve 5 Türkçe derleme yayımladık.

Dergimizin elektronik yayıncılığa başladığı 42. cilt hakkında bilgi vermek istiyorum. Bu ciltte 90 makale yayımlamışız. Bunların 29'u İngilizce araştırma (%32), 46'sı Türkçe araştırma (%51) ve 15'i Türkçe derleme (%17) şeklindedir. Kâğıt basılı son cildimiz olan 2016 yılı 41. ciltte ise bu değerler; 59 toplam makale, 13 İngilizce araştırma makalesi (%22), 29 Türkçe araştırma makalesi (%49) ve 17 Türkçe derleme makale (%29) imiş. 2017 yılı 42. ciltte sayfa sayısı 843 iken, 2016 yılı 41. ciltte sadece 442 imiş. Bir diğer deyiş ile dergimizin 2017 yılı sayfa sayısı, bir önceki yıla kıyasla %90 oranında artmıştır.

Bu artışta; kâğıt baskıdan tümüyle vazgeçip sadece elektronik yayıncılığa devam etmemizin rolü, son derece açıktır.

2018 yılı hedefimiz daha fazla İngilizce araştırma makalesi basarak, dergimizin uluslararası tanınırlığını artırmaktır. Bu konudaki çalışmalarımız devam ediyor.

3. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongresi ile ilgili olarak www.gidadernegi.org sayfamızdan bizi takip edin. Kongre sitesi açıldı; <https://intfoodtechno2018.org/> Kongre kayıt günleri ile ilgili herhangi bir uzatma olmayacağını, geç gelen bildirimler için geç kayıt ücreti alınacağını bir kez daha hatırlatmak isterim.

Sevgi ve saygılarımla,

Prof. Dr. A. Kadir Halkman
GIDA Dergisi Editörü

A Message from the Editor-in-Chief

Hello,

We published the 6th issue of our journal (November-December 2017) at the beginning of December 2017, 15 days after the 5th issue. The reasons for the publishing delay of our 5th issue are entirely removed. We will probably publish the first issue of Volume 43 (January-February 2018) not later than the ends of January, 2018. At this date; 5 articles for the 1st issue of Volume 43 of the year 2018, are ready for publishing. Besides, we have enough articles waiting for publishing before the end of the year.

We published 9 research articles in English, 4 research articles in Turkish, and 5 review articles in Turkish in this issue.

I would like to give you information about Volume 42, of which our journal started only electronic publishing. We published 90 articles on this volume. Of these, 29 are research articles in English (32%), 46 are research articles in Turkish (51%), and 15 are review articles in Turkish (17%). These data were as 13 research articles in English (22%), 29 research articles in Turkish (49%), and 17 review articles in Turkish (29%) of 59 total articles published in our journal of Volume 41 of the year 2016. The number of pages of Volume 42 of the year 2017 was 843 whereas it was 442 in Volume 41 of the year 2016. In other words, the number of pages of our journal was increased as 90% compared to the previous year, in the year 2017.

In this increase, the role of giving up of the paper - publishing version of our journal and continuing only in electronic - publishing, is very clear.

Our aim for the year 2018 is to increase the international recognition of our journal by printing more research articles in English. Our work on this subject continues.

Follow us about the 3rd International Congress on Food Technology at www.gidadernegi.org. The Congress web site has been opened; <https://intfoodtechno2018.org/>. I would like to remind you once again that there will be no extension regarding the Congress' registration days and a late registration fee will be charged for the late-submitted abstracts.

Best Regards,

Prof. A. Kadir Halkman
Editor of Journal of FOOD

ÜRETİM PARAMETRELERİ OPTİMİZE EDİLMİŞ KIZARTMALIK KEŞ ÖRNEKLERİNDE DEPOLAMA BOYUNCA MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

Ahmet Emirmustafaoğlu^{1*}, Hayri Coşkun²

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu Turizm İşletmeciliği ve Otelcilik Yüksekokulu,
Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Bolu, Türkiye

²Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / Received: 03.08.2017; Kabul / Accepted: 22.09.2017; Online baskı / Published online: 15.11.2017

Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2017). Üretim parametreleri optimize edilmiş kızartmalık keş örneklerinde depolama boyunca meydana gelen değişimler. *GIDA* (2017) 42 (6): 643-653 doi: 10.15237/gida.GD17070

ÖZ

Yöresel bir süt ürünü olan kızartmalık keş geleneksel olarak yoğurdun süzülüp kurutulmasıyla üretilmekte ve ardından bir poşet içerisinde muhafaza edilmektedir. Bu şekilde üretilen kızartmalık keş kısa bir raf ömrüne sahiptir. Bu çalışmada optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenen ideal parametrelere göre üretilmiş ve vakum paketlenmiş kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı özelliklerindeki değişimler ortaya konmuştur. Bu amaçla örnekler buzdolabı koşullarında ($3\pm 1^\circ\text{C}$) 120 gün süreyle depolanmıştır. Depolama sürecinin 1., 30., 60., 90. ve 120. günlerinde örneklerin bazı kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel, duyuşsal ve renk özellikleri incelenmiştir. Kızartmalık keş örneklerinde depolama boyunca kurumadde, yağ, asitlik, suda çözünen azot (WSN), sertlik, esneklik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik değerlerinde ve maya-küf sayısında istatistiksel olarak önemli değişimler tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Depolama boyunca keş örneklerinin WSN ve lipoliz değerleri artış göstermiş; ancak bu artış yavaş seyretmiştir. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 7.56 log KOB/g ile 8.64 log KOB/g arasında bulunmuş, koliform grubu bakteriye ise rastlanmamıştır. Depolamanın 1., 30. ve 60. günlerinde genel beğeni puanı 4'ün üzerinde çıkmıştır. Depolamanın 90. ve 120. günlerinde örneklerin genel beğeni puanı daha düşük çıkmış ise de, bu durum istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, kızartmalık keş örneklerinin buzdolabı şartlarında ($3\pm 1^\circ\text{C}$) en az 4 ay saklanabileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kızartmalık keş, depolama, optimizasyon

THE CHANGES REVEALED DURING STORAGE OF “KEŞ FOR FRYING” SAMPLES MADE WITH OPTIMIZED PRODUCTION PARAMETERS

ABSTRACT

Our local dairy product, Keş for frying, is produced from yoghurt by draining and drying in a conventionally, and then stored in a bag. The “Keş for frying” produced in this way has a short shelf life. In this study, the changes in some properties of vacuum packaged Keş samples produced according to the ideal parameters determined as a result of optimization studies were revealed. For this purpose, samples were stored for 120 days in refrigerator conditions ($3\pm 1^\circ\text{C}$). Some chemical, biochemical, microbiological, textural, sensory and color characteristics of the samples were investigated during 1st, 30th, 60th, 90th and 120th days of storage period. Statistically significant changes in dry matter, fat, acidity, water-soluble nitrogen (WSN), hardness, springiness, gumminess and chewiness values and yeast-mold counts were determined during storage in samples ($P < 0.05$). WSN and lipolysis values increased during storage; however this increase were slow. The total number of aerobic mesophilic bacteria was found to be 7.56 log CFU/g to 8.64 log CFU/g, whereas the coliform group bacteria was not found. On the 1st, 30th and 60th days of storage, the overall score of appreciation was above 4 points. Although the overall score of appreciation of the samples was lower on the 90th and 120th days of storage, this was statistically insignificant. According to the obtained results, it was determined that the ‘Keş for frying’ samples can be kept in refrigerator conditions ($3\pm 1^\circ\text{C}$) for at least 4 months.

Keywords: Keş for frying, storage, optimization.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ahmetemir@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000 / 2492

☎ (+90) 374 253 5551

GİRİŞ

Doğal yapısı gereği mikroorganizmalar için iyi bir besin ortamı olması sebebiyle normal koşullarda raf ömrü kısa olduğundan ve süt üretiminin yılın belirli dönemlerinde daha fazla olmasından dolayı insanoğlu yüzyıllardır sütü yoğurt, peynir gibi dayanıklı ürünlere dönüştürmektedir. Sütü dayanıklı hale getirmek için yoğurt yapılsa da elde edilen klasik yoğurdun raf ömrü kısadır. Konsantrasyon, kurutma, dondurma, ısıl işlem, katkı maddesi ilavesi vb. yöntemler uygulanarak yoğurdun raf ömrü artırılabilir. Bu işlemlerden en yaygın olanı yoğurdun serumunun uzaklaştırılması ile konsantre hale getirilen “süzme yoğurt” ya da “torba yoğurt” üretimidir. Bu yöntemde hijyenik olumsuzluklar ve verim kaybı nedeniyle mekanik seperatörler yardımı ile konsantre yoğurt üretimi gelişmiştir (Özer, 2006).

Keş, konsantre hale getirilen yoğurdun kurutulmasıyla üretilen bir süt ürünüdür (Özer, 2006). Keş farklı yörelerde keşk, kesük, kiş, sürk ve çökelek olarak da bilinmektedir. Kurutularak yapılan bir ürün olduğu için kurut ismi de verilmektedir. Anadolu’da doğrudan kullanıldığı gibi farklı çorba ve yemeklere ilave edilerek de tüketilmektedir (Ünsal, 1997; Coşkun ve ark., 2008).

Geleneksel yöntemle keş üretiminde sütün yağı alındıktan sonra kaynatılmakta ve yoğurt yapılmaktadır. Elde edilen yoğurt soğutulduktan sonra süzme torbalarına konularak süzülür. Süzülen yoğurda tuz ilave edilerek yoğrulmakta ve değişik şekiller verildikten (keş dövmesi) sonra kurutulmaktadır. Diğer bir yöntemde ise yoğurdun yayıklanması sonrası açığa çıkan ayranın ısıtılması ile çökelek elde edilmektedir. Çökeleğin süzülüp tuzlanması ve şekil verilip kurutulması ile de keş elde edilmektedir (Coşkun ve ark., 2008; Dervişoğlu ve ark., 2009). Akdeniz bölgesinde keş üretimi için akşam sütü oda sıcaklığında bekletilerek pıhtılaşması sağlanmaktadır. Elde edilen pıhtı süzme torbasına alınarak 24 s bekletilmekte, ardından tuz ilave edilerek yoğrulmaktadır. Siyah susam, karabiber ve kırmızı biber ilave edildikten sonra şekil verilerek oda

sıcaklığında 3-4 gün kurutulmakta ve 6°C’de 90 gün olgunlaştırılmaktadır (Kırdar, 2012).

Bolu ve civarında geleneksel olarak makarnalık keş, katık keşi ve kızartmalık keş olmak üzere üç farklı keş üretilmektedir. Bunlardan makarnalık keş genellikle yağsız süttten veya yoğurttan yapılmaktadır. Süttten yapılacaksa önce yoğurda işlenmektedir. Elde edilen yoğurt bez torbada süzülür, tuz ilave edilip üzerine ağırlık konulmaktadır. Şekil verildikten sonra uzun süre kurutulduğundan oldukça serttir. Katık keşi üretimi makarnalık keş üretimi ile hemen hemen aynıdır. Katık keşi yapımında sütün veya yoğurdun yağı alınmamakta; şekil verme aşamasında istenirse çörek otu katılmaktadır. Kızartmalık keş üretiminde ise makarnalık keşe göre yağ oranı daha fazla olan süt ya da yoğurt kullanılmaktadır (Coşkun ve ark., 2008). Kurutma işlemi daha kısa sürmektedir, dolayısıyla makarnalık keş ya da katık keşi kadar sert değildir. Tüketim öncesi kızartmalık keş dilimlenmekte ve yağsız tavaya konularak her iki yüzeyi kızartılmaktadır.

Kızartmalık keş iyi bir protein kaynağıdır. Kızartma işlemi ile farklı aroma ve lezzet maddeleri açığa çıkmaktadır. Kızartma işleminde ilave yağ kullanılmamaktadır ve çok kısa sürede tüketime hazır hale gelmektedir. Kızartmalık keş geleneksel yöntemle üretilmekte olup endüstriyel düzeyde üretimi yoktur. Geleneksel yöntemle üretilen ürün bir poşete konularak muhafaza edilmekte veya satışa sunulmaktadır. Bu da raf ömrünün kısa olmasına (yaklaşık 10 gün) neden olmaktadır.

Keş ile ilgili yapılan çalışmalarda bazı kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel, duyuşsal özelliklerin, ağır metal içeriklerinin ve yağ asidi kompozisyonunun belirlendiği tespit edilmiştir (Tarakçı ve ark., 2001; Coşkun ve ark., 2008; Kılıçel ve ark., 2008; Çakır ve ark., 2009; Dervişoğlu ve ark., 2009; Tarakçı ve ark., 2010; Kırdar, 2012; Yaman ve Coşkun, 2017). Ancak kızartmalık keşte depolama boyunca meydana gelen değişimler üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, Emirmustafaoğlu (2016) tarafından belirlenen optimum parametrelere bağlı olarak üretilmiş kızartmalık keş örneklerinin depolama periyodu boyunca kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal özelliklerindeki değişimlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kızartmalık keş üretiminde yağ oranı azaltılmış (< % 1) inek sütü kullanılmıştır. Isıl işlem uygulaması (90°C'de 10 dakika) sonrasında 45°C civarına soğutulan sütün yağ oranı pastörize krema ile % 3'e standardize edilmiştir. İnek sütü ve krema Bolu'da faaliyet gösteren bir süt işletmesinden temin edilmiştir. Yağ standardizasyonu yapıldıktan sonra süte *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* laktik asit bakterilerini içeren ticari starter kültürden (Chr. Hansen, Danimarka) % 2 oranında katılarak inkübasyona bırakılmıştır. Yoğurdun pH değeri 4.80'e ulaştığında inkübasyona son verilmiş ve buzdolabına konulmuştur. Ertesi gün buzdolabından çıkarılan yoğurdun serumu özel olarak dizayn edilmiş katı-sıvı santrifüj makinası kullanılarak Hızlı Yöntem-1'e göre (200 devirde 1 s, ardından 400 devirde 1 s ve en son 600 devirde 1 s santrifüj) uzaklaştırılmıştır. Ağırlıkça % 1 salamura tuzu katıldıktan sonra yoğrularak keş hamuru elde edilmiş ve şekil alması için kalıpta 24±1°C'de 12 saat bekletilmiştir. Endüstriyel tip kurutucuda (Eksis, TK-LAB, Türkiye) 25°C sıcaklıkta ve 0.5 m/s fan hızında 10 saat kurutulan kızartmalık keş Metalize Polietilentereftalat (OPET) / Tek ya da Çift Yönlü Gerdirilmiş Poliarnit (OPA) / Gerdirilmeden Üretilmiş Polipropilen (CPP) laminasyonundan oluşan ambalaja konularak vakum paketlenmiştir (Emirmustafaoğlu, 2016). Ardından 3±1°C'de 120 gün süreyle depolanmıştır. Kızartmalık keş üretimi 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal analizler

Kurumadde gravimetrik yöntemle, yağ Gerber yöntemiyle, protein Kjeldahl yöntemiyle, asitlik titrasyon yöntemiyle ve tuz Mohr yöntemiyle tespit edilmiştir (Metin 2012). Örneklerin su aktivitesi (a_w) değerleri a_w tayin cihazı (Decagon,

Aqualab 3. Seri, Amerika) ile, pH değerleri ise dijital pH-metre (Hanna Instruments HI 83141, İtalya) ile ölçülmüştür.

Biyokimyasal analizler

Suda çözünen azot (WSN) tayini Butikofer ve ark. (1993) tarafından önerilen yöntemle yapılmış; lipoliz tayini ise ADV cinsinden titrasyonla belirlenmiştir (Salji ve Kroger, 1981; Case ve ark., 1985).

Mikrobiyolojik analizler

Daha önce hazırlanmış dilüsyon tüplerinden yeterli örnek alınarak steril Petri kabındaki besiyerinin üzerine aktararak yayılmıştır. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar (Merck, Almanya), koliform grubu bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (Merck, Almanya) ve maya-küf sayımında Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmıştır. Ekimi yapılmış Petri kutuları toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için 35°C'de 48±3 s (Akçelik ve ark., 2000), koliform grubu bakteri sayımı için 35±1°C'de, 24±2 s (Çakır, 2000), maya-küf sayımı için 25°C'de 3-5 gün (Halkman, 2005) inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda agar üzerinde oluşan uygun koloniler sayılmıştır.

Tekstürel analizler

Kızartmalık keş kalıplarının iç kısmından 20x20x20 mm boyutlarında örnekler alınarak tekstür analiz cihazı (Stable Micro Systems Tekstur Analyzer HD Plus, İngiltere) ile tekstürel özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla 30 kg yük hücresi ve 36 mm silindirik prob kullanılmış ve örnek yüksekliğinin % 25'i oranında sıkıştırma uygulanmıştır. Ön test hızı 1 mm/s, test hızı 1 mm/s, son test hızı 2 mm/s, trigger kuvveti 5 g ve test süresi 5 s'dir.

Duyuşal analizler

Depolama boyunca örneklerin duyuşal özelliklerini belirlemek için puanlama testi uygulanmıştır (Yetim ve Kesmen, 2009). Örnekler kızartıldıktan sonra Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim elemanlarından oluşan 11 kişilik eğitimli bir gruba sunularak duyuşal değerlendirilmeleri yapılmıştır.

Renk analizleri

Kızartmalık keş örneklerinin CIE L*, a* ve b* değerleri renk tayin cihazı (Konica Minolta CR400, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Kızartmalık keş örnekleri kurutucudan çıkartılıp buzdolabına konulduğunda 4-5 gün içinde renk özelliklerinde önemli değişimlerin olduğu belirlendiğinden depolama sürecinin 5. gününde de renk ölçümleri yapılmıştır.

İstatistiksel analizler

Örneklerin depolama boyunca incelenen özelliklerindeki değişimlerin izlenmesinde “İlişkili Örnekler İçin Tek Yönlü ANOVA” testi uygulanmıştır (Özdamar, 2009). Veriler SPSS 18 paket programı (IBM, ABD) ile analiz edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sütün kızartmalık keşe dönüşümüne kadar geçen aşamalarda bazı özelliklerindeki değişimler Çizelge 1’de yer almaktadır. Yoğurt örneklerinin inkübasyonu pH 4.80’de sonlandırılmış; fakat ertesi gün yoğurt örneklerinin ortalama pH değerinin 4.38 olduğu belirlenmiştir. Bu düşüş yoğurtların buzdolabı koşullarında yavaş soğumasından kaynaklanmıştır. Kurumadde değeri % 10.65 olan yoğurt örneklerinin santrifüj edilmesi sonucu kurumadde değeri % 38.71’e ve kurutulması sonucu ise % 48.58’e çıkmıştır. Santrifüj işlemi ile kurumadde artışına bağlı olarak yağ oranı % 3.05’ten % 20.25’e ve protein oranı % 2.96’dan % 17.15’e çıkmıştır. Kızartmalık keş üretiminde verim % 11.32 olarak belirlenmiştir. Yani 100 kg sütten 11.32 kg kızartmalık keş üretilmiştir. Diğer bir ifade ile 1 kg kızartmalık keş elde edebilmek için 8.83 kg süt gerekmektedir. Yaman ve Coşkun (2017) makarnalık keş üretiminde verimi % 8.51 ila % 8.81 arasında tespit etmiştir. Mikrobiyolojik analizler neticesinde kızartmalık keş üretim sürecinde koliform grubu bakteri ve maya-küf tespit edilmemiştir.

Üretilen kızartmalık keş örnekleri vakum paketlenerek buzdolabı koşullarında ($3\pm 1^\circ\text{C}$) 120 gün süreyle depolanmıştır. Depolama sürecinin 1., 30., 60., 90. ve 120. günlerinde kızartmalık keş örneklerinin bazı kimyasal, biyokimyasal, % 2.96 ve Yaman ve Coşkun (2017) % 5.20 olarak bildirmişlerdir.

mikrobiyolojik, tekstürel, duyuusal ve renk özellikleri incelenmiştir.

Kimyasal Özelliklerdeki Değişimler

Depolama boyunca kızartmalık keş örneklerinin bazı kimyasal özelliklerindeki değişimler Çizelge 2’de verilmiştir. Örneklerin kurumadde değerleri % 48.58 ila % 50.36 arasında bulunmuştur. Farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda keş örneklerinin kurumadde değeri % 57.35 (Coşkun ve ark., 2008), % 61.59 (Çakır ve ark., 2009), % 68.03 (Tarakçı ve ark., 2001), % 56.17 (Dervişoğlu ve ark., 2009), % 59.50 (Kırdar, 2012) ve % 52.89 ila % 55.15 arasında (Yaman ve Coşkun, 2017) bulunmuştur.

Yağ oranı % 3’e standardize edilmiş süt kullanılarak üretilen kızartmalık keş örneklerinin yağ değerleri ortalama % 23.83 ± 0.783 olarak bulunmuştur. Bolu’da geleneksel yöntem ile üretilen kızartmalık keşlerin yağ oranlarının % 5 ila % 7 arasında olduğu belirlenmiştir. Geleneksel yöntemle kızartmalık keş yapımında sütün yağının alınması son üründe yağ oranının düşük olmasına neden olmaktadır. Keş örneklerinin yağ oranını Coşkun ve ark. (2008) % 7.50 olarak, Çakır ve ark. (2009) % 6.30 olarak, Tarakçı ve ark. (2001) % 11.35 olarak, Dervişoğlu ve ark. (2009) % 8.79 olarak, Kırdar (2012) % 25 olarak ve Yaman ve Coşkun (2017) % 3.99 olarak bildirmiştir.

Örneklerin protein değerleri depolama boyunca istatistiksel olarak önemli bir değişim göstermemiş ve % 21 civarında bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda keşlerin protein oranları % 32.42 (Çakır ve ark., 2009); % 19.52 (Kırdar, 2012) ve % 28.86 (Yaman ve Coşkun, 2017) olarak belirlenmiştir.

Depolama boyunca kızartmalık keş örneklerinin tuz oranlarında değişim gözlenmemiştir. Bolu’da geleneksel yöntemlerle üretilen kızartmalık keşin tuz oranının % 4 civarında olduğu belirlenmiştir. Farklı yörelerde üretilen keşlerin tuz oranlarını Tarakçı ve ark. (2001) % 7.08, Coşkun ve ark. (2008) % 14.98, Çakır ve ark. (2009) % 13.26, Dervişoğlu ve ark. (2009) % 3.22, Kırdar (2012)

Çizelge 1. Kızartmalık keş üretim sürecindeki önemli aşamalarda analiz edilen bazı özelliklere ait değerler
Table 1. The values of some properties analyzed at important stages in the production process of Keş for frying

Özellikler Properties n=2	Yağ				
	Isıl işlem uygulanmış süt Heat treated milk	Yağ standardizasyonu sonrası üretilen yoğurt Yoghurt produced after fat standardization	Santrifüj edilmiş yoğurt Centrifuged yoghurt	Tuz katılmış kızartmalık keş hamuru Salt added Keş for frying dough	Kurutulmuş Kızartmalık keş Dried Keş for frying
Kurumadde (%) Dry matter (%)	8.95±0.149	10.65±0.194	38.71±0.395	39.40±0.204	48.58±0.688
Yağ (%) Fat (%)	0.81±0.103	3.05±0.100	20.25±1.041	19.63±0.479	24.00±0.408
Protein (%)	3.04±0.106	2.96±0.085	17.15±0.267	16.66±0.616	21.00±0.474
Asitlik (%) Acidity (%)	0.11±0.002	0.71±0.049	0.44±0.035	0.40±0.030	0.67±0.086
pH	6.67±0.007	4.38±0.099	4.29±0.057	4.43±0.071	4.18±0.081
a _w			0.98±0.002	0.97±0.002	0.95±0.001
Verim (%) Yield (%)				14.88±0.494	11.32±0.202
Tuz (%) Salt (%)				1.72±0.132	1.78±0.115
WSN (%)				0.01±0.005	0.01±0.004
Lipoliz (ADV) Lipolysis (ADV)				0.61±0.137	0.70±0.091
L*				95.82±0.154	93.81±0.23
a*				-2.22±0.037	-5.39±0.499
b*				10.55±0.401	22.65±2.317
Toplam aerobik mezofilik bakteri (log kob/g) Total mesophilic aerobic bacteria (log CFU/g)	..**	8.07±0.584	8.73±0.595	8.76±0.636	8.64±0.363

\bar{X} : Ortalama, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı, *: Tespit edilmemiştir.

\bar{X} : Mean, SD: Standard deviation, n: Number of replications, *: Not detected

Asitlik değeri 30. güne kadar hafif artış göstermiş, diğer depolama periyotlarında fazla bir değişim göstermemiştir. Kızartmalık keş örneklerinin asitlik değerleri Tarakçı ve ark. (2001) tarafından bulunan sonuçtan düşük bulunurken; Coşkun ve ark. (2008), Çakır ve ark. (2009), Kırdar (2012) ve Yaman ve Coşkun (2017) tarafından belirlenen sonuçlardan yüksek çıkmıştır. Kızartmalık keş örneklerinde yağ oranının fazla olmasına bağlı olarak gerçekleşen lipolizin asitliğin daha yüksek olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Kızartmalık keş örneklerinin pH değerleri depolama boyunca 4.17-4.18 bandında değişmiştir. Farklı bölgelerde üretilen keşlerin pH değerleri 3.90 (Tarakçı ve ark., 2001), 3.68 (Coşkun ve ark., 2008), 3.81 (Çakır ve ark., 2009), 4.75 (Dervişoğlu ve ark., 2009) ve 3.85 (Yaman ve Coşkun, 2017) olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler
 Table 2. Changes in some chemical properties of the 'Keş for frying' samples during storage

Özellikler Properties n=2	Depolama zamanı (Günler) Storage time (days)					
	1	30	60	90	120	Ortalama
Kurumadde (%) Dry matter (%)	48.58±0.688 ^a	49.26±0.889 ^{ab}	49.62±0.555 ^{bc}	49.73±0.529 ^{bc}	50.36±0.816 ^c	49.51±0.870
Yağ (%) Fat (%)	24.00±0.408 ^{ab}	24.25±0.289 ^a	24.63±0.750 ^{ab}	23.50±0.408 ^{ab}	22.75±0.289 ^b	23.83±0.783
Protein (%)	21.00±0.474 ^a	21.20±0.632 ^a	21.20±0.907 ^a	21.32±0.527 ^a	21.33±0.690 ^a	21.21±0.602
Tuz (%) Salt (%)	1.78±0.115 ^a	1.78±0.115 ^a	1.83±0.000 ^a	1.78±0.220 ^a	1.78±0.115 ^a	1.79±0.120
Asitlik (%) Acidity (%)	0.67±0.086 ^a	0.81±0.138 ^{ab}	0.80±0.108 ^{ab}	0.82±0.110 ^{ab}	0.82±0.105 ^b	0.79±0.115
pH	4.18±0.081 ^a	4.18±0.069 ^a	4.17±0.064 ^a	4.17±0.064 ^a	4.17±0.064 ^a	4.17±0.061
a _w	0.95±0.001 ^a	0.95±0.001 ^a	0.95±0.002 ^a	0.95±0.002 ^a	0.95±0.002 ^a	0.95±0.002

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ($P > 0.05$).

Averages with different letters on the same row are different from each other ($P < 0.05$), averages with same letter are not different ($P > 0.05$).

Depolama boyunca kızartmalık keş örneklerinin a_w değerinin değişmediği ve 0.95 olduğu saptanmıştır. Farklı çalışmalarda keş örneklerinin a_w değerleri 0.75 (Coşkun ve ark., 2008), 0.74 (Çakır ve ark., 2009), 0.90 (Kırdar, 2012) olarak ve 0.91 ila 0.94 arasında (Yaman ve Coşkun, 2017) bulunmuştur.

Biyokimyasal Özelliklerdeki Değişimler

Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı biyokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler Çizelge 3'te bir araya getirilmiştir. Depolamanın başlangıcında % 0.01 olan WSN değeri depolama sonunda % 0.1'e yükselmiştir ($P < 0.05$). Artışın yavaş seyretmesinin nedeni, örneklerin vakum altında paketlenmesi, buzdolabı şartlarında saklanması ve dolayısıyla biyokimyasal reaksiyonların yavaş seyretmesinden kaynaklanabilir. Yapılan çalışmalarda keşlerin WSN değerleri % 7.71 (Kırdar, 2012) ve % 0.28 (Yaman ve Coşkun, 2017) olarak; olgunlaşma

indeksi değerleri ise % 5.76 (Çakır ve ark., 2009) olarak ve % 1.79 ila % 28.53 arasında (Dervişoğlu ve ark., 2009) bulunmuştur. Tarakçı ve ark. (2003) Malatya ilinde üretilen Darende Dumas çökeleğinde WSN değerini % 0.12 olarak tespit etmişlerdir. Durmaz ve ark. (2004) sürk örneklerinde WSN değerinin % 1.30 olduğunu bildirmişlerdir.

Depolamanın 1. gününde 0.70 ADV olan lipoliz değeri 120. günde 1.03 ADV'ye yükselmiştir. Çakır ve ark. (2009) Bolu'da üretilen keşlerde lipoliz değerinin 3.62 ADV olduğunu bildirmişlerdir. Peynirde lipoliz tat ve aroma açısından belli bir düzeye kadar istenir. Belirli düzeyin üstüne çıktığında ise ransid tat hissedilir. Depolamanın 120. gününde tespit edilen en yüksek lipoliz değeri olan 1.03 ADV eşik değeri olan 3 ADV'nin oldukça altındadır.

Çizelge 3. Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı biyokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler

Table 3. Changes in some biochemical properties of the 'Keş for frying' samples during storage

Özellikler Properties n=2	Depolama zamanı (Günler) Storage time (days)					
	1	30	60	90	120	Ortalama
WSN (%)	0.01±0.004 ^a	0.02±0.004 ^a	0.09±0.000 ^b	0.09±0.003 ^b	0.10±0.004 ^b	0.06±0.040
ADV	0.70±0.091 ^a	0.93±0.104 ^a	0.96±0.097 ^a	1.02±0.376 ^a	1.03±0.124 ^a	0.93±0.210

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ($P > 0.05$).

Averages with different letters on the same row are different from each other ($P < 0.05$), averages with same letter are not different ($P > 0.05$).

Mikrobiyolojik Özelliklerdeki Değişimler

Kızartmalık keş örneklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı depolamanın 1. gününde 8.64 log KOB/g olarak tespit edilirken, bu değer depolamanın 120. gününde 7.56 log KOB/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Depolama sürecinin 1. ve 120. günleri arasında 1.08 log birimlik azalma meydana gelmiştir. Benzer şekilde Yaman ve Coşkun (2017) makarnalık keş örneklerinde depolama süresince toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının azaldığını tespit etmiştir. Kızartmalık keş örneklerinde toplam bakteri sayısının yüksek olması arzulan bir özelliktir. Bu özellik onun halen fermente bir ürün olma niteliğini göstermesi bakımından önemlidir. Yapılan çalışmalarda keş örneklerinde toplam bakteri sayısı 5.98 log KOB/g (Tarakçı ve ark., 2001), 5.37 log KOB/g (Coşkun ve ark., 2008), 4.50 log KOB/g (Çakır ve ark., 2009), 8.24 log KOB/g (Kırdar, 2012) olarak ve 5.01 log KOB/g ila 6.88 log KOB/g arasında (Yaman ve Coşkun, 2017) bulunmuştur.

Örneklerde koliform grubu bakteri tespit edilmemiştir. Koliform grubu bakteriler temizlik ve hijyen indikatörü oldukları için üründe tespit edilmemiş olması üretim esnasında kontaminasyonun olmadığını da göstermektedir. Farklı bölgelerde üretilen keşlerde yapılan

çalışmalar neticesinde koliform grubu bakteri sayısını Coşkun ve ark. (2008) 3.31 log KOB/g, Kırdar (2012) 2.44 log KOB/g olarak tespit etmişler; Tarakçı ve ark. (2001), Çakır ve ark. (2009) ve Yaman ve Coşkun (2017) ise koliform grubu bakteriye rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Depolamanın 1. gününde ekimi yapılan dilüsyonlarda maya-küf tespit edilmemiştir. Depolama süresince maya-küf sayısı artış göstermiş ve olgunlaşmanın 120. gününde 5.92 log KOB/g düzeyine çıkmıştır ($P < 0.05$). Yapılan çalışmalarda keş örneklerinin maya-küf sayısı 4.68 log KOB/g (Tarakçı ve ark., 2001), 5.37 log KOB/g (Coşkun ve ark., 2008), 3.99 log KOB/g (Çakır ve ark., 2009), 5.68 log KOB/g (Kırdar, 2012) ve 4.98 log KOB/g ila 6.20 log KOB/g arasında (Yaman ve Coşkun, 2017) bulunmuştur. Söz konusu çalışmalarda incelenen keşlerde tuz oranının yüksek olmasının maya-küf sayısının kızartmalık keşe göre düşük olmasına neden olduğu düşünülmektedir. Kızartmalık keş vakum paketlenmesi için küf gelişimi söz konusu değildir. Petrilerin sayımında kolonilerin tipik maya özelliklerini taşıdığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar maya sayısını göstermektedir.

Çizelge 4. Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler

Table 4. Changes in some microbiological properties of the 'Keş for frying' samples during storage

Özellikler Properties n=2	Depolama zamanı (Günler) Storage time (days)					
	1	30	60	90	120	Ortalama
Toplam aerobik mezofilik bakteri (log kob/g) Total mesophilic aerobic bacteria (log CFU/g)	8.64±0.363 ^a	8.59±0.512 ^a	8.14±0.637 ^a	7.67±0.478 ^a	7.56±0.893 ^a	8.12±0.706
Koliform grubu bakteri (log KOB/g) Coliform bacteria (log CFU/g)	-	-	-	-	-	-
Maya-küf (log KOB/g) Yeast-mold (log CFU/g)	- ^{a*}	3.82±0.060 ^b	4.25±0.397 ^b	4.87±0.664 ^{bc}	5.92±0.101 ^c	3.77±2.090

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ($P > 0.05$).

Averages with different letters on the same row are different from each other ($P < 0.05$), averages with same letter are not different ($P > 0.05$).

Tekstürel Özelliklerdeki Değişimler

Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı tekstürel özelliklerinde meydana gelen değişimler Çizelge 5'te verilmiştir. Depolamanın 1. gününde 4334.20 g olan sertlik değeri 120. günde 2067.17'ye düşmüştür ($P < 0.05$). Yaman ve Coşkun (2017) makarnalık keşte depolama boyunca sertlik değerinin 58958.43 g ile 129223.74 g arasında değiştiğini belirlemiştir. Kızartmalık keş örneklerinin dış yapışkanlık değeri -235.61 g.sn ile -273.57 g.sn arasında değişmiştir. Depolamanın 90. gününe kadar örneklerin dış yapışkanlık değerinde negatif yönde bir artış olduğu belirlenmiştir. Bu artışın depolama ile örneklerin sertlik değerindeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Makarnalık keş örneklerinde dış yapışkanlık değeri -16.33 g.sn ile -275.54 g.sn arasında bulunmuştur (Yaman ve Coşkun, 2017). Analiz edilen örneklerin depolama boyunca esneklik değeri artış göstermiştir ($P < 0.05$). Yine 1. günde 0.47 olan iç yapışkanlık değeri 120 gün sonunda 0.50'ye çıkmıştır. Benzer sonuçlar Yaman ve Coşkun (2017) tarafından makarnalık keşte tespit edilmiştir. Kızartmalık keş örneklerinin esneklik değerinin artması dilimlenebilirliği kolaylaştırmıştır. Sakızimsılık ve çignenebilirlik değerlerinde ise 120 günlük

depolama süresince azalma tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Duyusal Özelliklerdeki Değişimler

Depolamanın 1., 30., 60., 90. ve 120. günlerinde keş örnekleri kızartılarak panelistlere test ettirilmiştir. Elde edilen duyuşal değerlendirme sonuçları Çizelge 6'da yer almaktadır. Kızartmalık keş örneklerinin görünüm puanları depolama boyunca 4.27 ile 4.73 arasında değişmiştir. En yüksek tekstür puanı 60. günde elde edilmiştir. Depolama sürecinin 60. gününden sonra tekstür puanında düşüş tespit edilmiştir. Kızartmalık keş örneklerinde rayiha (koku) puanı depolamanın başında 4.36, sonunda ise 3.86 olarak belirlenmiştir. Depolama süresince örneklerin rayiha puanlarında düşüş gözlenmiştir. Özellikle 60. günden sonra rayiha puanında düşüş belirginleşmiştir. En yüksek lezzet puanı 60. günde elde edilmiştir. Depolama sürecinin 60. gününden sonra lezzet puanında düşüş tespit edilmiştir. Depolama süresinin 1. gününde 4.23 olan genel beğeni puanı 120. günde 3.91'e düşmüştür. Özellikle 60. günden sonra genel beğeni puanında belirgin düşüş tespit edilmiştir

Çizelge 5. Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca bazı tekstürel özelliklerinde meydana gelen değişimler

Table 5. Changes in some textural properties of the 'Keş for frying' samples during storage

Özellikler Properties n=2	Depolama zamanı (Günler) Storage time (days)					
	1	30	60	90	120	Ortalama
Sertlik (g) Hardness (g)	4334.20±327.567 ^a	3609.23±491.686 ^{ab}	3462.70±335.833 ^a	2750.91±192.104 ^b	2067.17±88.202 ^c	3244.84±841.74
Dış yapışkanlık (g.sn) Adhesiveness (g.sec)	-238.34±21.955 ^a	-267.39±42.459 ^a	-259.28±24.536 ^a	-273.57±35.974 ^a	-235.61±12.395 ^a	-254.84±31.455
Esneklik (sn) Springiness (sec)	0.61±0.047 ^{ab}	0.63±0.042 ^{ab}	0.65±0.028 ^a	0.68±0.022 ^{ab}	0.70±0.013 ^b	0.65±0.044
İç yapışkanlık Cohesiveness	0.47±0.036 ^a	0.45±0.053 ^a	0.46±0.042 ^a	0.47±0.032 ^a	0.50±0.014 ^a	0.47±0.039
Sakızmsılık (g) Gumminess (g)	2022.47±230.110 ^a	1620.18±112.717 ^{ab}	1598.40±183.611 ^b	1276.88±62.110 ^c	1036.47±44.667 ^d	1510.88±366.390
Çiğnenbilirlik (g.sn) Chewiness (g.sec)	1240.88±211.634 ^a	1026.20±83.705 ^{ab}	1041.61±164.319 ^{abc}	865.93±59.383 ^b	724.93±40.917 ^c	979.91±214.344

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ($P > 0.05$).

Averages with different letters on the same row are different from each other ($P < 0.05$), averages with same letter are not different ($P > 0.05$).

Çizelge 6. Keş örneklerinin kızartılmasıyla elde edilen duyuşal değerlendirme sonuçları

Table 6. Sensory evaluation results obtained by frying Keş samples

Özellikler Properties n=2	Depolama zamanı (Günler) Storage time (days)					
	1	30	60	90	120	Ortalama
Görünüm Appearance	4.27±0.550 ^a	4.73±0.456 ^a	4.32±0.477 ^a	4.32±0.716 ^a	4.64±0.492 ^a	4.45±0.569
Tekstür Texture	3.91±0.811 ^a	3.82±0.733 ^a	4.09±0.750 ^a	3.68±0.894 ^a	3.45±0.912 ^a	3.79±0.836
Rayiha (Koku) Odor	4.36±0.658 ^a	4.18±0.795 ^a	4.32±0.646 ^a	3.95±0.653 ^a	3.86±0.774 ^a	4.14±0.723
Lezzet Flavor	4.00±0.816 ^a	4.05±0.785 ^a	4.27±0.703 ^a	3.91±0.684 ^a	3.73±0.935 ^a	3.99±0.796
Genel beğeni Overall acceptance	4.23±0.685 ^a	4.23±0.685 ^a	4.23±0.685 ^a	3.82±0.664 ^a	3.91±0.750 ^a	4.08±0.706

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ($P > 0.05$).

Averages with different letters on the same row are different from each other ($P < 0.05$), averages with same letter are not different ($P > 0.05$).

Renk Özelliklerindeki Değişimler

Depolama boyunca örneklerin renk özelliklerinde meydana gelen değişimler Çizelge 7'de verilmiştir. Depolama sürecinin 5. gününde dış yüzeyden yapılan ölçümde L* değerinde istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu görülmektedir ($P < 0.05$). Bu artış 5. güne geçişte b* değerinin azalmasından

($P < 0.05$) kaynaklanmaktadır. Kurutucudan çıkış anında (1. gün) kızartmalık keş örneklerinin sarılık düzeyi fazla olduğundan b* değeri yüksektir. Vakum paketlenerek buzdolabı koşullarında muhafaza edilen örneklerin b* değerinde azalma görülmüştür. Örneklerin b* değerinin düşmesi sarılık düzeyinin azaldığını göstermektedir.

Sarılığın azalması da parlaklığı (L* değerini) artırmıştır. Yaman ve Coşkun (2017) makarnalık keşte depolama boyunca L* değerinin 88.08 ila 92.54 arasında değiştiğini belirlemiştir. Dış yüzeyden yapılan ölçümde 1. günde -5.39 olan a* değeri 120. günde -2.11'e yükselmiştir ($P < 0.05$). Benzer şekilde Yaman ve Coşkun (2017)

makarnalık keşte depolama boyunca a* değerlerinde pozitif yönde bir değişim tespit etmiştir. Üründe a* değerinin pozitif yönde değişmesi yeşil rengin azaldığını göstermektedir.

Çizelge 7. Kızartmalık keş örneklerinin depolama boyunca renk özelliklerinde meydana gelen değişimler
Table 7. Changes in color properties of the 'Keş for frying' samples during storage

Özellikler Properties n=2	Depolama zamanı (Günler) Storage time (days)							
	1**	5	30	60	90	120	Ortalama	
Dış yüzey Outer surface	L*	93.81±0.23 ^{ac}	94.47±0.084 ^b	93.26±0.452 ^a	94.11±0.341 ^{ab}	93.81±0.393 ^{ab}	94.30±0.168 ^{bc}	93.96±0.940
	a*	-5.39±0.499 ^a	-2.57±0.060 ^b	-2.08±0.041 ^c	-2.26±0.013 ^d	-2.28±0.078 ^{cd}	-2.11±0.078 ^{cd}	-2.78±1.209
	b*	22.65±2.317 ^a	12.85±0.380 ^{bc}	11.98±0.739 ^b	12.55±0.438 ^{bc}	12.75±0.496 ^c	12.32±0.521 ^b	14.18±3.974
İç yüzey Inner surface	L*	95.46±0.147 ^a	95.20±0.088 ^b	94.70±0.136 ^{cde}	94.62±0.190 ^{de}	94.56±0.171 ^e	94.81±0.119 ^{bcd}	94.89±0.359
	a*	-2.28±0.090 ^a	-1.89±0.090 ^b	-2.08±0.042 ^{ab}	-2.13±0.034 ^a	-2.12±0.019 ^a	-2.13±0.127 ^{ab}	-2.11±0.136
	b*	11.50±0.291 ^a	10.72±0.184 ^b	11.88±0.481 ^a	11.97±0.401 ^a	11.96±0.430 ^a	12.09±0.502 ^a	11.69±0.603

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ($P > 0.05$). **Kurutma işlemi tamamlandıktan hemen sonra ölçülen değerlerdir.
Averages with different letters on the same row are different from each other ($P < 0.05$), averages with same letter are not different ($P > 0.05$). **Values measured immediately after drying is complete.

SONUÇ

Kızartmalık keş örneklerinde depolama boyunca belirlenen kimyasal özelliklerden kurumadde, yağ ve asitlik değerlerindeki değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Örneklerin depolama boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında azalma tespit edilirken, maya-küf sayısı artış göstermiştir ($P < 0.05$). Kızartmalık keş örneklerinin depolama süresince sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerinde azalma ($P < 0.05$); esneklik ve iç yapışkanlık değerlerinde ise artış olduğu saptanmıştır. Esneklik değerindeki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre en yüksek tekstür ve lezzet puanı, depolama sürecinin 60. gününde elde edilmiştir. Depolama sürecinin 60. gününden sonra tekstür, rayiha, lezzet ve genel beğeni puanlarında düşüş tespit edilmiştir. Ancak 60. günden sonra elde edilen bu sonuçlar, ürünün tüketilebilirliğini etkileyecek düzeyde değildir. Depolama süresince kızartmalık keş örneklerinin görünüm, tekstür, rayiha, lezzet

ve genel beğeni özelliklerindeki değişim istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, keş örneklerinin buzdolabı şartlarında ($3 \pm 1^\circ\text{C}$) en az 4 ay saklanabileceği belirlenmiştir.

Teşekkür

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne çalışmaya verdiği destekten (Proje No: 2013.09.01.602) dolayı, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yenilikçi Gıda Teknolojileri Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne tekstürel analizlerin yapılmasında sağladığı imkandan dolayı ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Hülya YAMAN'a istatistiksel analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Anonim (2000). *Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları*. Genişletilmiş 2. baskı. Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 522 s.

- Anonim (2005). *Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları*. Ed. A. Kadir Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 358 s.
- Butikofer, U, Rüegg, M, Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese evaluation of a collaborative study. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 26: 271-275.
- Case, R.A., Bradley, R.L., Williams, R.R. (1985). Chemical and physical methods. In: *Standart methods for the examination of dairy products*, Richardson, G. H. (chief ed.), Volume 15, American Public Health Association, Washington, pp. 327-404.
- Coşkun, H., Bayrak, A., Çakır, İ., Akoğlu, İ.T., Kıralan, M., İşleyen, M.F. (2008). Bolu ve çevresinde üretilen ve geleneksel bir süt ürünü olan Keş'in yapılışı. *Dünya Gıda Dergisi*, 13: 42-48.
- Çakır, İ. (2000). *Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları*. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Birimi, Ankara.
- Çakır, İ., Coşkun, H., Akoğlu, İ.T., İşleyen, M.F., Kıralan, M., Bayrak, A. (2009). Introducing a traditional dairy product Keş: Chemical, microbiological and sensorial properties and fatty acid composition. *J Food Agri Environ* 7: 116-119.
- Dervişoğlu, M., Tarakçı, Z., Aydemir, O., Temiz, H., Yazıcı, F. (2009). A survey on selected chemical, biochemical and sensory properties of Keş cheese, a traditional Turkish cheese. *Int J Food Properties*, 12: 358-367.
- Durmaz, H., Tarakçı, Z., Sagun, E., Aygün, O. (2004). Sürkün kimyasal ve duysal nitelikleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 18(2): 85-90.
- Emirmustafaoğlu, A. (2016). Kızartmalık keş üretim teknolojisinin optimizasyonu. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bolu, Türkiye, 126 s.
- Kılıçel, F., Tarakçı, Z., Sancak, H., Durmaz, H. (2008). Survey of trace metals in Turkish Kes cheese. *Reviews in Anal Chem*, 27: 101-110.
- Kırdar, S.S. (2012). A survey on microbiological and biochemical characteristics of a traditional dairy product in Mediterrean region: Keş. *J Animal Vet Advances*, 11(3): 330-334.
- Metin, M. (2012). *Süt ve mamülleri analiz yöntemleri*. 7. Baskı, Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, Türkiye, 439 s.
- Özdamar, K. (2009). *Paket programlar ile istatistiksel veri analizi*. 7. Baskı, Kaan Kitabevi, Eskişehir, Türkiye.
- Özer, B. (2006). *Yoğurt bilimi ve teknolojisi*. 1. Baskı, Toprak Ofset, İzmir, Türkiye, 488 s.
- Salji, J.P., Kroger, M. (1981). Proteolysis and lipolysis in ripening cheddar cheese made with conventional bulk starter and with frozen concentrated direct-to-the vat starter culture. *J Food Sci*, 46: 1345-1348.
- Tarakçı, Z., Dervişoğlu, M., Temiz, H., Aydemir, O., Yazıcı, F. (2010). Review on Kes cheese. *GIDA*, 35(4): 283-288.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Yurt, B. (2001). Ordu ve yöresinde imal edilen keşin yapılışı ve bazı özellikleri üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 26: 295-300.
- Tarakçı, Z., Yurt, B., Küçüköner, E. (2003). Darende Dumas çökeleğinin yapılışı ve bazı özellikleri üzerine bir araştırma. *GIDA*, 28(4): 421-427.
- Ünsal, A. (1997). *Süt uyuyunca-Türkiye peynirleri*. 6. Baskı, Yapı Kredi Kültür Sanat Yayınları, İstanbul, Türkiye, 221 s.
- Yaman, H., Coşkun, H. (2017). Optimization of production technology of Kes for pasta. *Indian J Dairy Sci*, 70(2): 167-177.
- Yetim, H., Kesmen, Z. (2009). *Gıda Analizleri*. 2. Baskı, Erciyes Üniversitesi Yayınları, Kayseri, Türkiye, 346 s.



**LTHV (LOW TEMPERATURE AND HIGH VELOCITY)
DRYING CHARACTERISTICS AND MATHEMATICAL
MODELING OF ANCHOVY (*ENGRAULIS ENCRASICOLUS*)**

Aydin Kilic*

Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Rize, Turkey

Received / Geliş: 24.04.2017; Accepted / Kabul: 17.09.2017; Published online / Online baskı: 15.11.2017

Kilic, A. (2017). LTHV (low temperature and high velocity) drying characteristics and mathematical modeling of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *GIDA* (2017) 42 (6): 654-665 doi: 10.15237/gida.GD17043

ABSTRACT

The main target of this work is to investigate the LTHV drying properties of Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) experimentally. For this purpose, 100 g of anchovy samples were dried using ~7 m/s velocity and ~38% relative humidity at 4, 10, 15 and 20 °C. During the drying experiments, temperature, mass loss, drying air velocity and humidity were investigated. The weight of raw Anchovy fillets decreased from 100 g to 47.6 g at 4 °C for 25 h, 46.7 g at 10 °C for 23 h, 45.3 g at 15 °C for 20 h and 44.67 g at 20 °C for 13 h. In this context, Twenty-three common mathematical models were used on the experimental LTHV drying results. As result, the most suitable models of LTHV drying were determined for the each LTHV drying temperature. The R² (determination coefficient), X² (chi square) and RMSE (root mean square error) were applied to find the most suitable models. In this regard, Logarithmic (Asymptotic), Midilli-Kucuk, Demir et al, Balbay-Sahin models were chosen as the best mathematical models for each LTHV drying temperature at 4, 10, 15 and 20 °C. Consequently, the best single layer drying curve equations were chosen as the optimal models for LTHV drying of anchovy.

Keywords: Food, fish drying, thin-layer, LTHV, modeling, anchovy

**HAMSİ'NİN (*ENGRAULIS ENCRASICOLUS*) LTHV
(DÜŞÜK SICAKLIK VE YÜKSEK HIZ) KURUTMA
KARAKTERİSTİKLERİ VE MATEMATİKSEL MODELLENMESİ**

ÖZ

Bu çalışmanın temel amacı, Hamsinin (*Engraulis encrasicolus*) LTHV kurutma özelliklerini deneysel olarak araştırmaktır. Bu amaçla, 100 g Hamsi örnekleri ~% 38 bağıl nemde ~7 m/s hıza sahip hava kullanılarak, 4, 10, 15 ve 20 °C sıcaklıklarda kurutuldu. Deneyler sırasında ağırlık kaybı, sıcaklık, kuruma hızı ve bağıl nemi değerleri belirlenmiştir. Hamsi filetolarının ağırlığı, 4 °C'de 25 saatte, 100 g'dan 47.6 g'a, 10 °C'de 23 saatte 46.7 g'a, 15 °C'de 20 saatte 45.3 g'a, 20 °C'de 13 saatte 44.67 g'a düşmüştür. Bu kapsamda, gözlemlenen kurutma deney verileri üzerine yirmi üç ortak matematiksel model uygulanmıştır. Sonuç olarak, Hamsinin her LTHV kurutma sıcaklığı için en uygun matematiksel modeller belirlenmiştir. En uygun modeli belirlemek için R² (Determinasyon Katsayıları), X² (Ki-Kare) ve RMSE (Tahmini Standart Hata) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, Logaritmik (Asimptotik), Midilli-Küçük, Demir ve diğerleri, Balbay ve Şahin, her LTHV kurutma sıcaklığı için 4, 10, 15 ve 20 °C'de en uygun matematiksel modeller olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, hamsinin ince tabaka LTHV kurutma karakteristiğini en iyi temsil edecek en uygun modeller ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Gıda, balık kurutma, ince tabaka, LTHV, modelleme, hamsi

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ aydin.kilic@erdogan.edu.tr

☎ (+90) 464 223 6126/1121

☎ (+90) 464 223 7514

INTRODUCTION

Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) is a species of the *Engraulidae* family. The *Engraulidae* family includes approximately 144 species such as Black-Sea Anchovy. Fifteen percent of the total fish production of world is Anchovy (Chairi and Rebordinos, 2014). Anchovy is also the most common consumed fish species in Turkey. Approximately half of total fish production of Turkey is anchovy (Olgun and Kose, 1999). After fishing process, fresh Anchovy is commonly consumed as steamed, grilled, fish soup, fish bread etc. during fishing season. A big amount of production cannot be consumed freshly and the fresh product is processed to animal feed as a cheaper fish product. On the other hand, there is a tendency to develop alternative fish products especially based on Black sea anchovy for the anchovy marketing. In this regard, the raw material can be processed to more profitable alternative food products. These new alternative fish products should be assisted by using a more safety, sustainable and environmental friendly unit operations such as drying (Kilic et al., 2009; Kilic et al., 2010; Moraes et al., 2013). Drying process is an old food preservation method, and a common unit operation for food process. The evaporation of water content prevents microbiological quality loses in perishable food (Dincer, 1996; Dincer, 1998; Kilic and Oztan, 2013). It is clear that, water content can be decreased by drying and the spoilage of food caused by microorganism and other agents can be minimized. In addition, food drying is a safe and environmentally benign process, since it does not include any chemical preservatives which may affect environment (Kilic et al., 2009; Kilic et al., 2010). In this regard, the fish producers can produce dried or semi-dried anchovy products in fishing season. Dried anchovy product can be used as a safety product or food additive with the other common food (Kilic, 2017). There are different foods drying methods in food literature. On the other hand, total raw material quality is affected by the LTHV conditions like as process temperature. Higher temperature leads to more quality loss. In addition, the LTHV drying method can preserve quality characteristics of food (Kilic, 2009; Kosuke et al., 2016). LTHV

drying method can preserve to the quality of biomaterial during the drying application. Thus, the common food degradation reactions can be reduced by the application of LTHV drying. In addition, LTHV application can preserve especially to the semi-dried bioactive foods. In addition, it is a novel environmental benign food drying method for the industry (Kilic et al., 2010; Kilic, 2017).

This paper presents an empirical study of both thin-layer LTHV drying behavior and its mathematical modeling. Thin layer drying presents an indoor drying process, which is exposed to air throughout the food product in controlled environmental conditions (Kilic, 2017; Hall, 1980; Keey, 1992). There are many works on thin layer drying in literature. However, there is not any study on LTHV drying of anchovy in literature. A selected thin layer cold drying equation can support to the standardization of fish drying and an empirical equation can be easily applied to drying (Midilli, 2001; Midilli et al., 2002; Midilli, and Kucuk, 2003; Akpinar and Bicer, 2008). There are some studies in literature about drying of Anchovy. Moraes and Pinto (2013) dried another species of anchovy (*Engraulis anchoita*) at 50, 60 and 70 °C (2.5 m/s). The drying parameters were determined to be suitable for the Henderson–Pabis model. Dongbang and Matthujak (2013) dried anchovy by using an infrared radiation at 50-70 °C (0.5-1.5 m/s).

In this paper, LTHV drying characteristics and mathematical modeling of Anchovy has just investigated. The main purposes of this work are to discuss and choose to the most suitable drying curves from the open literature for LTHV drying of anchovy. In order to reach this goal, twenty-three most common mathematical models were used (Akpinar and Bicer, 2008; Kilic, 2017). These mathematical models can be applied on the drying kinetics of perishable products (Chin and Law, 2008). The most suitable drying models can be applied to the selection of optimal drying conditions for a specific product (Kucuk et al., 2014). The optimal drying conditions of a specific product help the industry to produce high quality products. The identification of the most suitable

mathematical equation is a standardization process of the single layer drying characteristics.

MATERIAL AND METHODS

Mathematical modeling

The most common twenty-three theoretic, semi theoretical and experimental mathematical models (Table 1) were studied to the LTHV drying results performing a nonlinear regression analysis. The mathematical modeling of experimental data were carried out using the Statistica 7 Computer Program for single layer with 0.5 cm at different drying air temperatures (4, 10, 15 and 20 °C). Weight loss was found using equation (1) depending on the weight changes of raw material during low temperature drying (Kilic, 2009).

$$M = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (1)$$

where M is the weight loss; M_0 is material weight at $t = 0$; M_e the material weight at the equilibrium time and M_t is raw material weight at t (Kilic, 2009).

The variation of anchovy moisture during the LTHV drying was identified with the equation (2) (Kilic, 2009). Water content of raw materials were determined using a weight lost to be based on LTHV drying time during the process. The equation (2) was applied to find the material moisture (Kilic, 2009).

$$W = \frac{M_t - M_e}{M_0} \times 100 \quad (2)$$

where W is the moisture of material; M_0 is the fish weight at $t = 0$; M_e is the material weight at equilibrium point and M_t is the raw material weight at t (Cyprian et al., 2015; Kilic, 2017).

The mass shrinkage was founded with equation (3) (Cruss, 1958; Kilic, 2017).

$$S_{mr} = \frac{M_t(t)}{M_0(t=0)} \quad (3)$$

where S_{mr} is the mass shrinkage ratio of fish; M_0 is material weight at $t = 0$; M_e is the material weight at the drying equilibrium point and M_t is the sample mass at t (Kilic, 2017).

Drying rate of Anchovy samples when LTHV drying were calculated with Eq. (4).

$$\frac{dM}{dt} = \frac{M_{t+\Delta t} - M_t}{\Delta t} \quad (4)$$

In where dM/dt is the rate of LTHV drying at any cold drying time, $M_{t+\Delta t}$ is moisture of material at $t = t + \Delta t$ and M_t presents weight of material at $t = t$ (Kilic, 2017).

Table 1 shows to the applied thin-layer drying curve equations.

In order investigate to the suitability of the fit the correlation determination coefficient (R^2), the reduced Chi-Square (X^2) and the smallest Root Mean Square Error (RMSE) were used. A nonlinear regression analysis was applied by using Statistica 7. The most suitable models for LTHV were chosen base on the maximum values of R^2 , X^2 and the smallest RMSE by using Eq. (5, 6, 7) (Jan et al., 2014; Kucuk et al., 2014; Kilic, 2017).

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} = 1 - \frac{SSE}{SST} \quad (5)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N - n} \quad (6)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{N}} \quad (7)$$

where $MR_{exp,i}$ presents to the observed fish moisture, $MR_{pre,i}$ presents to the predicted moisture for LTHV application on Anchovy. N shows the number of experiment, MR_{exp} is the average data, Z gives to the constant numbers and i is data at $t = 0$ (Kucuk et al., 2014; Kilic, 2017).

Experimental Setup

A laboratory type LTHV compact system was used for experimental production. The diagram of experimental set-up for drying process is given in Figure 1 schematically. The LTHV drying system was included a compressor, an air evaporator and two circulatory radial fans (Kilic, 2009). Figure 1 shows the design of LTHV drier unit schematically.

Table 1. The Applied Drying Curve Equations (Modified from Kucuk, et al., 2014; Kilic, 2017)

No	The Name of Mathematical Model	Equation
1	Simplified Fick's diffusion (SFFD)	$MR = a \exp\left(-c\left(\frac{t}{L^2}\right)\right)$
2	Weibull	$MR = \exp\left(-\left(\frac{t}{a}\right)^b\right)$
3	Aghbashlo et al	$MR = \exp\left(-\frac{k_1 t}{1+k_2 t}\right)$
4	Parabolic	$MR = a + bt + ct^2$
5	Balbay and Şahin	$MR = (1-a)\exp(-kt^n) + b$
6	Alibas (Modified Midilli-Kucuk)	$M_R = a \exp(-kt^n) + bt + g$
7	Thompson	$t = a \ln(MR) + b(\ln(MR))^2$
8	Wang and Singh	$MR = 1 + at + bt^2$
9	Hii et al	$MR = a \exp(-kt^n) + c \exp(-gt^n)$
10	Newton (Lewis, Exponential, Single exponential)	$MR = \exp(-kt)$
11	Verma et al (Modified Two-Term Exponential)	$MR = a \exp(-kt) + (1-a)\exp(-gt)$
12	Approximation of Diffusion (Diffusion approach)	$MR = a \exp(-kt) + (1-a)\exp(-kbt)$
13	Modified Henderson and Pabis	$MR = a \exp(-kt) + b \exp(-gt) + c \exp(-ht)$
14	Midilli-Kucuk (Midilli, Midilli et al)	$MR = a \exp(-kt^n) + bt$
15	Henderson and Pabis (Single term)	$MR = a \exp(-kt)$
16	Logarithmic (Asymptotic) Yagcioglu et al	$MR = a \exp(-kt) + c$
17	Demir et al	$MR = a \exp(-kt)^n + b$
18	Two-Term	$MR = a \exp(-k_0 t) + b \exp(-k_1 t)$
19	Two-Term Exponential	$MR = a \exp(-kt) + (1-a)\exp(-kat)$
20	Page	$MR = \exp(-kt^n)$
21	Modified Page	$MR = \exp(-(kt)^n)$
22	Modified Page-I	$MR = \exp((-kt)^n)$
23	Modified Page-II	$MR = \exp\left(-c\left(\frac{t}{L^2}\right)^n\right)$

LTHV dryer system had 30 cm diameter stainless steel three trays. The LTHV drier cabinet was controlled by a digital unit for the standard control parameters like as air velocity, temperature and humidity with sensitive sensors, and all these observed results were recorded to the system computer by a software installed micro processing control unit (Kilic, 2017).

A radial fan was attached to the inlet of LTHV drying unit. During the LTHV drying process, a sensitive digital balance (0.00 ± 0.1 digit) was used to weight the anchovy samples. The velocity of drying air was determined by a multifunction infrared anemometer (0.00 ± 0.1 digit TA2 model). All temperature of LTHV units were measured

with an infrared multifunctional thermometer (0.00 ± 0.1 digit) (Kilic, 2017).

Sample preparation

Anchovy samples (*Engraulis encrasicolus*) was provided by a local fisherman from Black Sea for LTHV drying experiments. Anchovy with an average weight of ~ 100 g was gutted, trimmed, slaughtered, washed, dried and analyzed. An average 100 g of Anchovy meat from the raw materials were taken randomly to the determination of raw material characteristics before LTHV drying process. The LTHV Drying process were performed at 4, 10, 15 and 20 °C in 7 m/s ± 0.1 of air velocity perform to the drying of raw material. At the beginning of LTHV cycle, the fish

moisture ratio was investigated for cold drying (Kilic, 2017; Kilic, 2009). a_w values of the raw and processed material were identified by a Sensitive (± 0.003) Aqua Lab Model cx2. 10 g of raw and dried fish material were used by an oven at ± 105 °C for the identification of moisture and equilibrium moisture content. The fat, ash, salt, moisture, protein and pH value were determined by AOAC standard methods (1995).

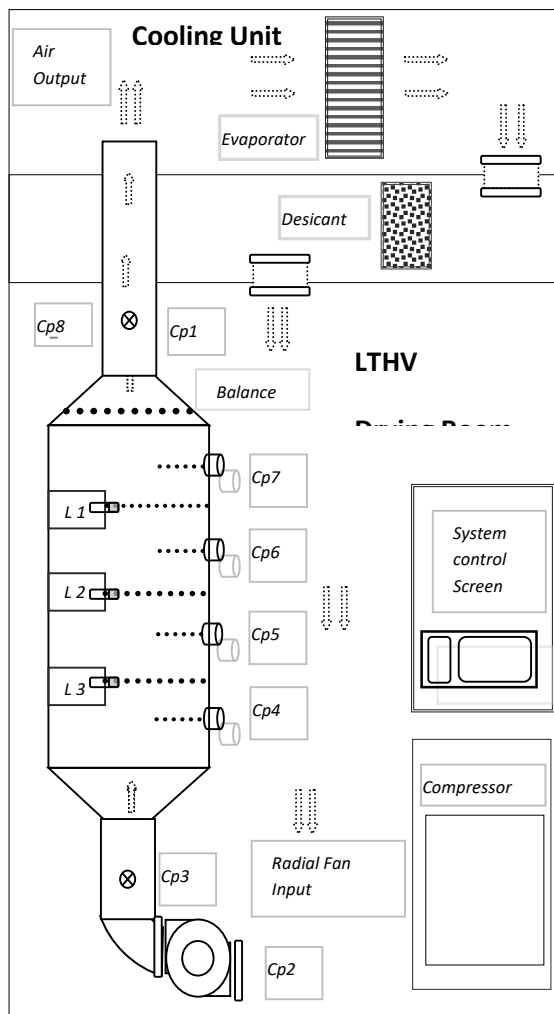


Figure 1. The Detailed presentation of the LTHV Drying System (Modified from Kilic, 2017)

It was accordingly found that the initial moisture content of Anchovy had approximately 66.4%(wb). The fish samples were prepared for the thin layer drying experiments. LTHV drying air was performed at 7 m/s to decrease the negative effect of cold drying on drying rate

(Kilic, 2017; Putra and Ajiwiguna, 2017). The Anchovy fillets were prepared in sizes of 0.5x3x5 cm and 100 g of the samples was placed on the mesh-wire containers. All LTHV drying processes were carried out at 40-50% RH. During the drying processes, the wet and dry bulb temperature drying air inlet and outlet temperatures, laboratory temperature and inside temperature of dryer, weight losses of the fish and LTHV drying air velocity were measured for half an hour. A process flow chart for the LTHV drying process of anchovy was given in Figure 2.

RESULTS AND DISCUSSION

Low temperatures high velocities drying process is a thin-layer indoor drying application that applied at low temperatures and high velocities (Kilic, 2017; Kilic 2009). The single layer LTHV applications for Anchovy with a sample thickness of 0.5 cm were conducted at 4, 10, 15 of 20 °C. The sample moisture content, weight loss, mass shrinkage and temperatures were found as the function of LTHV drying time. The parameters and uncertainties of the LTHV drying of anchovy are given in Table 2.

There are not any drying data related to LTHV drying characteristics of anchovy in food literature. This LTHV drying study gives important experimental results that contribute to the future of scientific and industrial studies in food. The weight of raw Anchovy fillets were decrease from 100 g to 47.6 g at 4 °C for 25 h, 46.7g at 10 °C for 23 h, 45.3 g at 15 °C for 20 h and 44.67 g at 20 °C for 13 h. These results have similarities with the LTHV drying properties of Trout (Kilic, 2017). Kilic (2009) identified that the weight of Trout decreased from 100 g to 55.5 g at 4 °C in 26 h, 56 g at temperature of 10 °C in 23.5 h, 55 g at temperature of 15 °C in 21.5 h and to 56 g at temperature of 20 °C after 13.5 h by the similar LTHV drying conditions.

The air velocity of LTHV was fixed in average 7 m/s during the drying application to increase drying performance of low drying temperature. Figure 3 presents the variations of the observed cold air velocity values during the LTHV drying process (Kilic, 2017).

Table 2. The Observed Parameters of LTHV Unit (Modified from Kilic, 2017)

Parameters of LTHV Drying	LTHV Drying conditions					
	T ₄	T ₁₀	T ₁₅	T ₂₀		
Sample thickness	0.5	0.5	0.5	0.5	±0,2	cm
Sample length	5	5	5	5	±0.1	cm
Sample width	3	3	3	3	±0.2	cm
Initial sample weight	100	100	100	100	±0.1	g
Final sample weight	47.6	46.7	45.3	44.67	-	g
Initial moisture content (wb)	66.45	66.42	66.47	66.44	±0.03	%
Wide of the sample	10	10	10	10	±1.0	mm
Total drying time	25	23	20	13	-	h
LTHV air drying temperature	4	10	15	20	±1	°C
LTHV air drying velocity	7	7	7	7	±0.5	m/s
System inlet temperatures	4	10	15	20	±1	°C
System outlet temperatures	5	11	16	21	±0.01	°C
System inlet relative humidity	38	38	38	38	±5	%
System outlet relative humidity	38.5	38.5	38.5	38.5	±5	%

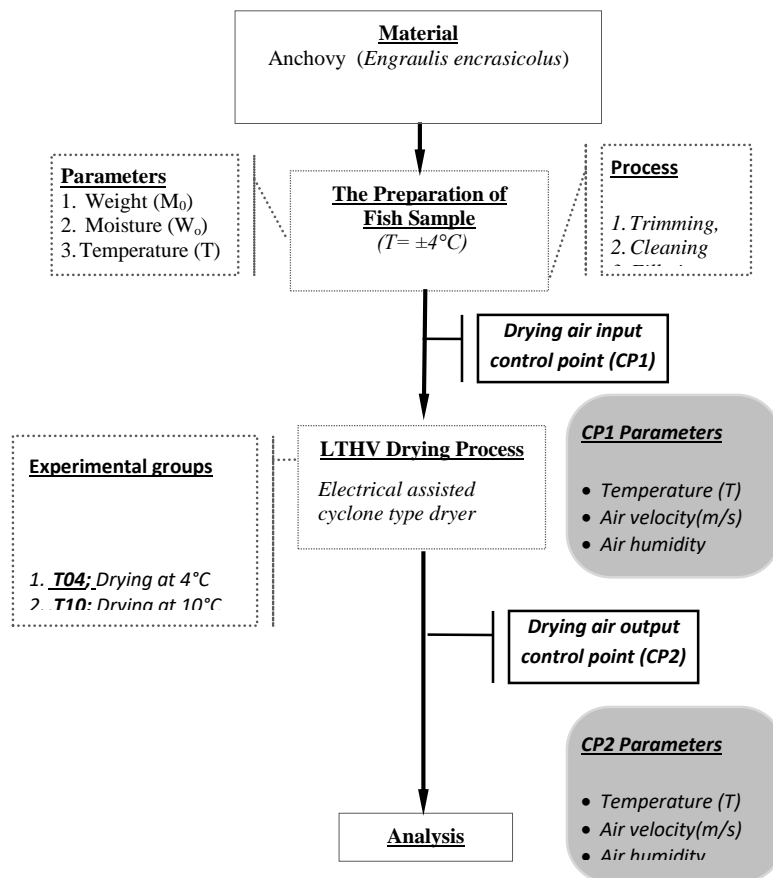


Figure 2. Flow Chart of LTHV Thin Layer Drying of Anchovy (Modified from Kilic, 2017)

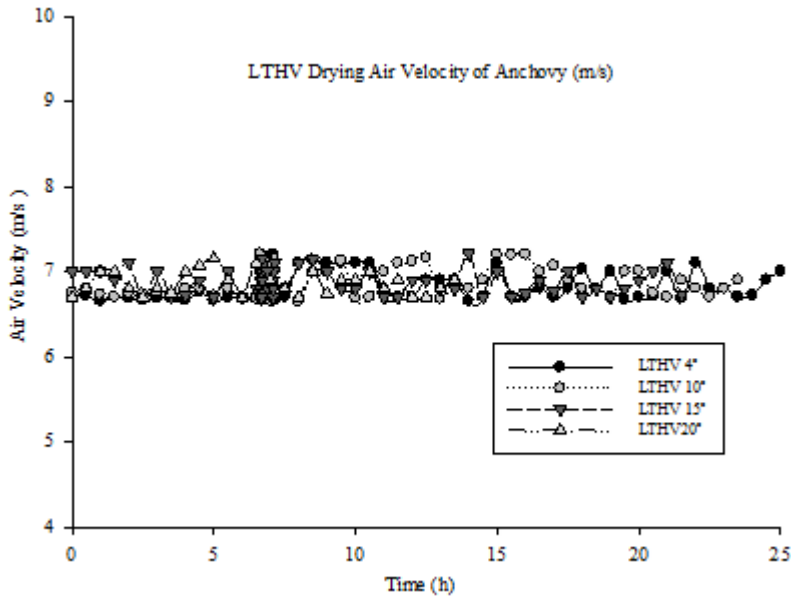


Figure 3. The observed LTHV air velocity values during the drying process of the LTHV Drying (Kilic, 2009)

Drying rate of Anchovy for the each LTHV drying air temperature was observed using Eq. (4). The drying rate decreased as logarithmically by the progressing drying time. Drying rate of Anchovy at 4 °C decreased to zero after 25 hours. It is clear that the LTHV drying rate of anchovy

is based on especially free water content of raw fish, and the low temperature drying air. Figure 4 presents the variations of LTHV drying rate depending on time (Kilic, 2009; Kilic, 2017).

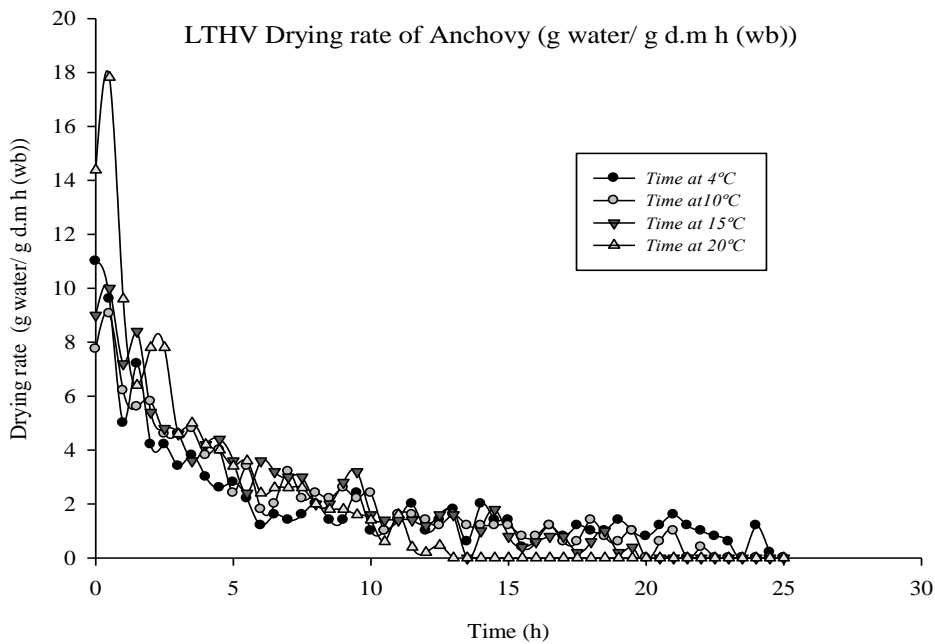


Figure 4. The variations of drying rate as a function of drying time (Modified from Kilic, 2009).

As a new food drying method, LTHV cold drying process is more conservative on food and fish especially at 4 °C. LTHV cold drying method can support to the quality properties of food and especially perishable, semi dried and functional foods. The LTHV drying period was included the falling rate cycle and constant rate cycle. In addition to these, the differences in LTHV drying rate at 4 °C were significant from the other LTHV drying temperatures like as 10, 15 and 20 °C for constant rate period statistically ($p < 0.05$). The identification of the most suitable drying curve equations can contribute researchers and

especially industry to the selection of most suitable drying conditions (Kilic, 2017; Kilic, 2009).

LTHV Drying Modeling and Evaluation

Tables 3 gives to the results of evaluation to select the most suitable drying equation of the LTHV drying of anchovy for 4, 10, 15 and 20 °C respectively.

Table 3 presents to the evaluation criteria of LTHV drying of Anchovy at 4, 10, 15 and 20 °C (Kilic, 2017).

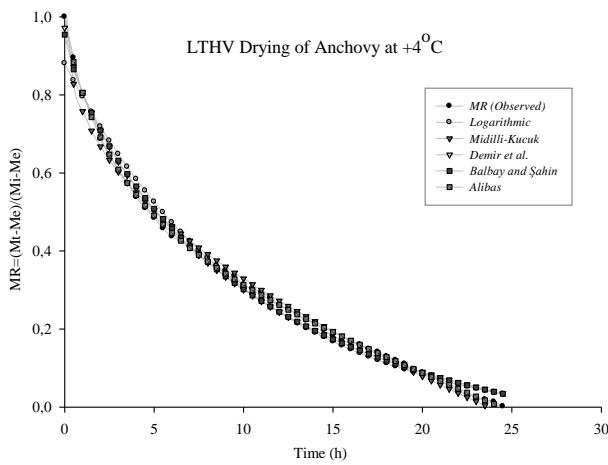
Table 3. Evaluation Criteria for LTHV Drying of the Anchovy (*Modified from Kilic, 2017*)

		Evaluation values of LTHV Drying Groups											
No	Model Name	LTHV at 10°C			LTHV at 10°C			LTHV at 15°C			LTHV at 20°C		
		R ²	χ^2	RMSE	R ²	χ^2	RMSE	R ²	χ^2	RMSE	R ²	χ^2	RMSE
1	<i>Newton Lewis</i>	0.9924	0.0021	0.0473	0.9927	0.0021	0.0334	0.9962	0.0025	0.0241	0.9945	0.0025	0.0259
2	<i>Page</i>	0.9919	0.0012	0.0544	0.9934	0.0024	0.0447	0.9953	0.0033	0.0316	0.9922	0.0044	0.0357
3	<i>Modified Page</i>	0.9948	0.0018	0.0388	0.9971	0.0028	0.0506	0.9979	0.0038	0.0388	0.9939	0.0036	0.0376
4	<i>Modified Page-I</i>	0.9974	0.0016	0.0334	0.9966	0.0016	0.0372	0.9965	0.0025	0.0285	0.9955	0.0021	0.0411
5	<i>Modified Page-II</i>	0.9934	0.0017	0.0403	0.9948	0.0012	0.0317	0.9962	0.0019	0.0211	0.9972	0.0018	0.0288
6	<i>Henderson & Pabis</i>	0.9919	0.0019	0.0337	0.9963	0.0017	0.0377	0.9943	0.0034	0.0356	0.9918	0.0027	0.0433
7	<i>Logarithmic</i>	0.9989	0.0012	0.0178	0.9995	0.0009	0.0222	0.9994	0.0004	0.0115	0.9992	0.0008	0.0211
8	<i>Midilli- Kucuk</i>	0.9997	0.0023	0.0225	0.9989	0.0006	0.0184	0.9993	0.0011	0.0233	0.9994	0.0011	0.0147
9	<i>Demir et al</i>	0.9999	0.0006	0.0188	0.9984	0.0006	0.0266	0.9989	0.0008	0.0143	0.9988	0.0029	0.0107
10	<i>Two-Term</i>	0.9952	0.0019	0.0373	0.9985	0.0009	0.0139	0.9988	0.0005	0.0109	0.9931	0.0027	0.0456
11	<i>Two-Term Exponential</i>	0.9955	0.0018	0.0347	0.9945	0.0012	0.0358	0.9964	0.0045	0.0270	0.9919	0.0023	0.0399
12	<i>Verma et al</i>	0.9971	0.0018	0.0399	0.9959	0.0025	0.0324	0.9925	0.0054	0.0255	0.9959	0.0026	0.0412
13	<i>Approximation Diff.</i>	0.9948	0.0016	0.0451	0.9996	0.0008	0.0125	0.9977	0.0031	0.0341	0.9974	0.0042	0.0599
14	<i>Modified Henderson</i>	0.9941	0.0011	0.0376	0.9992	0.0007	0.0196	0.9956	0.0038	0.0412	0.9965	0.0061	0.0471
15	<i>Thompson</i>	0.9932	0.0014	0.0406	0.9988	0.0010	0.0122	0.9993	0.0008	0.0191	0.9949	0.0034	0.0276
16	<i>Wang and Singh</i>	0.9864	0.0022	0.0324	0.9899	0.0032	0.0674	0.9926	0.0027	0.0478	0.9974	0.0031	0.0577
17	<i>Hii et al</i>	0.9956	0.0028	0.0372	0.9996	0.0011	0.0133	0.9987	0.0009	0.0143	0.9970	0.0018	0.0435
18	<i>Simplified Fick diff.</i>	0.9971	0.0023	0.0334	0.9991	0.0008	0.0112	0.9962	0.0025	0.0456	0.9943	0.0019	0.0433
19	<i>Weibull</i>	0.9938	0.0018	0.0416	0.9921	0.0025	0.0347	0.9977	0.0039	0.0342	0.9948	0.0029	0.0533
20	<i>Aghbashlo et al</i>	0.9814	0.0631	0.0318	0.9990	0.0011	0.0127	0.9991	0.0006	0.0180	0.9977	0.0044	0.0221
21	<i>Parabolic</i>	0.9766	0.0031	0.0817	0.9993	0.0009	0.0101	0.9744	0.0091	0.0446	0.9923	0.0041	0.0344
22	<i>Balbay and Şahin</i>	0.9989	0.0016	0.0231	0.9992	0.0007	0.0169	0.9987	0.0011	0.0190	0.9976	0.0038	0.0351
23	<i>Alibas</i>	0.9993	0.0008	0.0294	0.9974	0.0032	0.0397	0.9911	0.0034	0.0421	0.9912	0.0033	0.0489

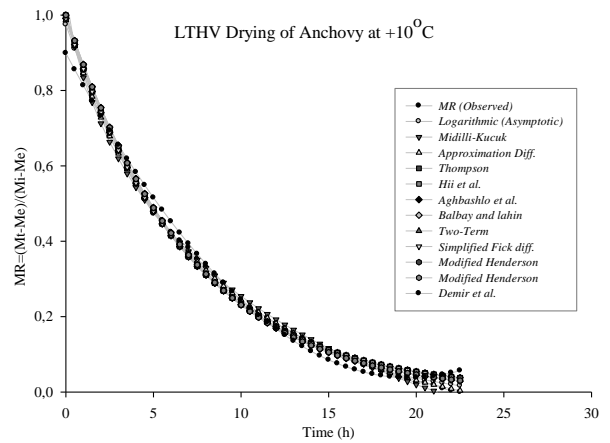
The smallest values of RMSE (the root mean square error), the highest R^2 (determination coefficient) and χ^2 (the chi-square) give the most suitable model that describe LTHV drying characteristics for the anchovy (Jan et al., 2014; Kiliç, 2017).

Table 3 gives to the Midilli Kucuk, Demir et al, Logarithmic, Balbay and Şahin and Alibas as the selected most suitable models for LTHV thin layer anchovy drying at 4 °C with 7 m/s cold air velocity. Midilli- Kucuk, Demir et al, Logarithmic, Approximation Diff., Thompson, Hii et al, Balbay and Şahin, Aghbashlo et al,

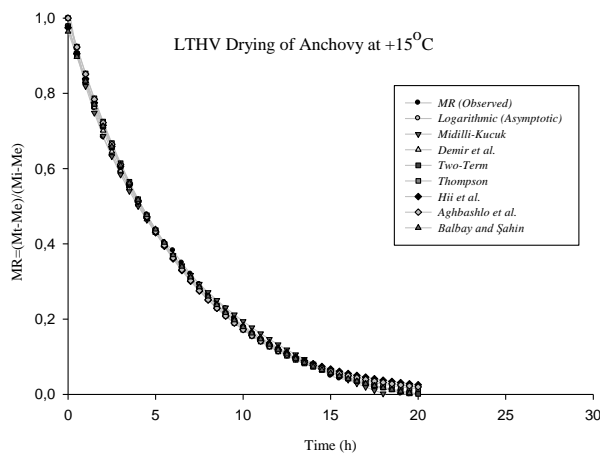
Simplified Fick diff., Modified Henderson, Two-term and Time- Parabolic models presents the most suitable models for thin layer drying of anchovy at 10 °C with 7 m/s air drying velocity. Midilli Kucuk, Logarithmic, Hii et al, Demir et al, Thompson, Aghbashlo et al, Balbay and Şahin and Two-Term models were chosen as the most suitable eight model for thin layer drying of anchovy at 15 °C by 7 m/s cold air velocity. Logarithmic, Midilli Kucuk, Demir et al, Balbay and Şahin were chosen the most suitable four models for drying of anchovy at 20 °C (Kiliç, 2017).



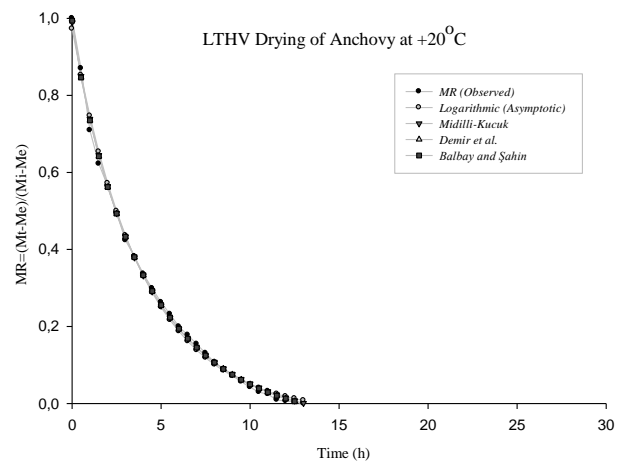
a)



b)



c)



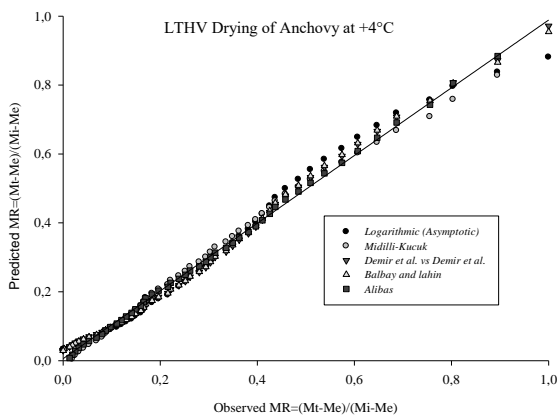
d)

Figure 5. (a, b, c, d). Comparison of Predicted and Observed Moisture Ratio with Time Depending (Kiliç, 2017)

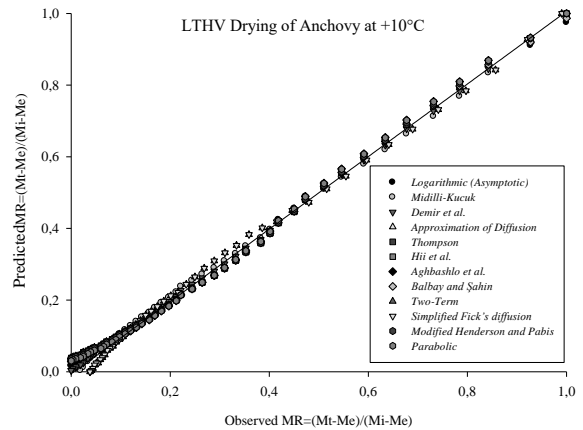
Figure 5 (a, b, c, d) presents predicted and observed dimensionless moisture ratio according to LTHV drying time comparatively and gives the most suitable common models of the LTHV drying models at different temperatures. The experimental applications of LTHV were applied for single layer LTHV drying modeling of anchovy (*E. encrasicolus*) with twenty-three most preferred mathematical models. In this regard, Logarithmic (Asymptotic), Midilli Kucuk, Demir et al, Balbay and Sahin were chosen the most suitable mathematical models for each

temperature (4, 10, 15 and 20 °C). On the other hand, some models were chosen the most suitable model for the specific temperature application of LTHV (Kilic, 2017).

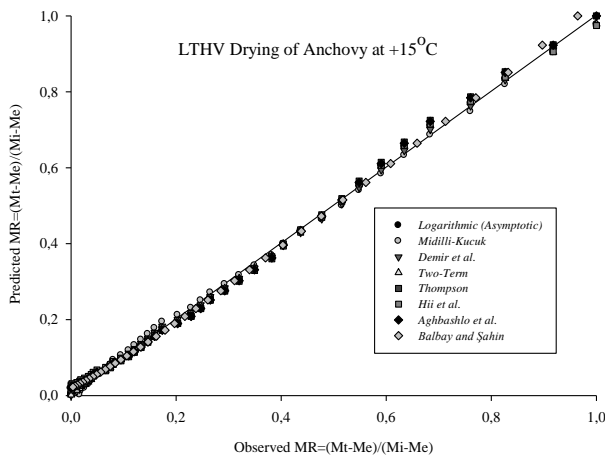
Figure 5
Figure 6. (a, b, c, d) gives a comparison of observed MR depending on the predicted MR of LTHV drying at 4, 10, 15 and 20 °C. The most suitable models were identified by the R², RMSE and χ^2 as the statistical criteria (Kilic, 2017).



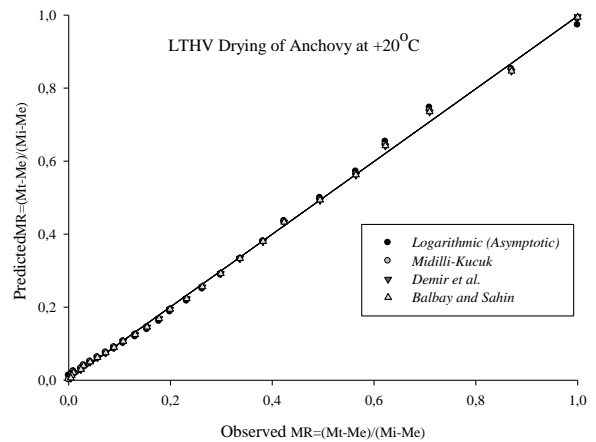
a)



b)



c)



d)

Figure 6. (a, b, c, d). Comparison of Observed Moisture Ratio with Predicted Values (Kilic, 2017)

We observed a good agreement between the observed and estimated moisture content of LTHV. These results seem to have a good agreement with the values observed by Kılıç (2017) that Midilli Kucuk, Logarithmic, Hii et al, Demir et al, Balbay-Şahin and Alibas were chosen for the LTHV application as the most suitable six models at 4 °C (Kılıç, 2017).

Conclusions

In this work, a LTHV application was applied for single layer drying of anchovy (*E. encrasicolus*) by using twenty-three most common mathematical drying models. All these semi theoretic and experimental mathematical models were used for the observed LTHV cold drying values performing non-linear regression analysis with Statistica software for single layer at different drying air temperatures of 4, 10, 15 and 20 °C (Midilli and Kucuk, 2003; Holl, 1980; Kılıç, 2017).

According to these results of the research, some conclusions are drawn as below;

-Logarithmic (Asymptotic), Midilli-Kucuk, Demir et al, Balbay and Şahin and Alibas were chosen as the most suitable five model for thin layer drying of anchovy at 4 °C (Kılıç, 2017).

-Logarithmic, Midilli-Kucuk, Demir et al, Approximation Diff., Thompson, Hii et al, Aghbashlo et al, Balbay and Şahin, Two-term, Simplified Fick diff., Modified Henderson and Pabis, Time- Parabolic models were chosen as the most suitable models for Anchovy at 10 °C (Kılıç, 2017).

-Logarithmic (Asymptotic), Midilli-Kucuk, Demir et al, Thompson, Hii et al, Aghbashlo et al, Balbay and Şahin and Two-Term models were chosen as the most suitable eight model for LTHV drying of anchovy at 15 °C with 7 m/s drying air velocity (Kılıç, 2017).

-Logarithmic (Asymptotic), Midilli-Kucuk, Demir et al, Balbay and Şahin models were chosen as the most suitable four models for LTHV drying of anchovy at 20 °C (Kılıç, 2017).

REFERENCES

AOAC (1995). Official methods of analysis. Association of Official Analysis Chemists, 16th Edition, V II, Arlington, VA, USA, pp. 938-940.

Akpınar, E. Kavak, Bicer, Y. (2008). Mathematical modelling of thin layer drying process of long green pepper in solar dryer and under open sun. *Energ Convers Manage*, 49(6): 1367-1375.

Chairi, H., Rebordinos, L. (2014). A rapid method for differentiating four species of the Engraulidae family. *J Agric Food Chem*, 62(13): 2803-2808.

Chin, S.K., Law, C.L., Supramaniam, C.V.S., Cheng, P.G., Mujumdar, A.S. (2008). Convective drying of *G. tsugae murrill* and effect of temperature on basidiospores. *Dry Technol*, 26(12): 1524-1533.

Cruess, W.V. (1958). Commercial fruit and vegetable products. McGraw Hill, New York, pp. 1958-884. ISBN: 13 9780070148086.

Cyprian, O. O., Nguyen, V. M., Sveinsdottir, K., Jonsson, A., Thorkelsson, G., Arason, S. (2015). Influence of lipid content and blanching on capelin drying rate and lipid oxidation under low temperature drying. *J Food Process Eng*, 39(3): 237-246.

Dincer, I. (1996). Sun drying of sultana grape. *Dry Technol*, 14(7):1827-1838.

Dincer, I. (1998). Moisture loss from wood products during drying Part 1: Moisture diffusivities and moisture transfer coefficients, *Energy Sources*, 20(1): 67-75.

Dongbang, W., Matthujak, A. (2013). Anchovy drying using infrared radiation. *Am J Appl Sci*, 10(4): 353-360.

Hall, C.W. (1980). *Drying and storage of agricultural crops*. AVI Publish Company, Inc., Westport, pp. 100-266. ISBN: 087055364X, 9780870553646.

Jan, K, Riar C.S., Saxena, D.C. (2014). Mathematical modelling of thin-layer drying kinetics of biodegradable pellets. *J Food Process Technol*, 5(9): 370, doi: 10.4172/2157-7110.1000370.

Key, R.B. (1992). Drying of loose and particulate materials. *Dry Technol*, 10(4): 1139-1141, doi.org/10.1080/07373939208916507.

- Kilic, A., Oztan, A. (2013). Effect of ascorbic acid utilization on cold smoked fish quality (*O. mykiss*) during process and storage. *Food Sci Technol Res*, 19(5) 823-831 p.
- Kilic, A. (2009). Low temperature and high velocity (LTHV) application in drying: Characteristics and effects on the fish quality, *J Food Eng*, 91(1): 173-182, doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.08.023.
- Kilic, A. (2017). Mathematical modeling of low temperature high velocity (LTHV) drying in Foods. *J Food Process Eng*, 40(2): e12378, doi:10.1111/jfpe.12378.
- Kilic, A., Kucuk, H., Midilli, A. (2014). Environmental friendly food smoking technologies. In: *Progress in Sustainable Energy Technologies*. Dincer, I., Midilli, A., Kucuk, H., (chief ed.), Springer press, USA, pp. 557-576.
- Kilic, A., Midilli, A., Dincer, I. (2009). A strategic program to reduce greenhouse gases emissions produced from food industry. In: *Global Warming: Engineering Solutions, Green Energy and Technology Series*. Dincer I., Hepbasli A., Midilli A., Karakoc T. (chief ed.), Springer press, USA, pp. 197-210.
- Kilic, A., Midilli, A., Dincer, I. (2010). A novel fish drying technique for better environment, quality and sustainability. *IJGW*, 2(3): 262-278, doi.org/10.1504/IJGW.2010.036137.
- Kosuke, N., Li, Y., Jin, Z., Fukumuro, M., O., Y., Akaishi, A. (2006). Low temperature desiccant based food drying system with airflow and temperature control. *J Food Eng*, 75(1): 71-77, doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.051.
- Kucuk, H., Midilli, A., Kilic, A., Dincer, I. (2014). A Review on Thin-layer drying curve equations. *Dry Technol*, 32(7): 757-773, doi.org/10.1080/07373937.2013.873047.
- Midilli A. (2001). Determination of pistachio drying behavior and conditions in a solar drying system. *Int J Energ Res*, 25: 715-725, doi: 10.1002/er.715.
- Midilli, A., Kucuk, H. (2003). Mathematical modeling of thin layer drying of pistachio by using solar energy. *Energ Convers Manage*, 44(7): 1111-1122, doi.org/10.1016/S0196-8904(02)00099-7.
- Midilli, A., Kucuk, H., Yapar, Z. A. (2002). New model for single layer drying. *Dry Technol*. 20(7): 1503-1513, doi.org/10.1081/DRT-120005864.
- Moraes, K. De, Pinto, L. A. De, A. (2013). Drying kinetics, biochemical and functional properties of products in convective drying of Anchovy (*E. anchoita*) fillets. *Int J Food Eng*, 9(4): 341-351, doi 10.1515/ijfe-2012-0213.
- Olgun, H., Kose S. (1999). Solar drying of Trout, *Int J Energ Res*, 23: 941-948.
- Putra, R. N., Ajiwiguna, T. A. (2017). Influence of air temperature and velocity for drying process. *Procedia Engineering*, 170: 516-519, doi.org/10.1016/j.proeng.2017.03.082.
- Van Loey, A.M., Smout, C., Indrawati H. M.E. (2005). Kinetic data for biochemical and microbiological processes during thermal processing. In: *Engineering Properties of Foods Microbiology*, Rao MA, Rizvi SSH, Datta Ak, (chief ed.), 3rd ed., CRC Press, Taylor & Francis, pp. 611-643.

LACTOBACILLUS SANFRANCISCENSIS'İN GELİŞMESİNDE ETKİLİ BİYOPROSES PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ VE OPTİMİZASYONU

Filiz Döner, Yekta Göksungur*

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 14.07.2017; Kabul / Accepted: 13.10.2017; Online baskı / Published online: 15.11.2017

Döner, F., Göksungur, Y. (2017). *Lactobacillus sanfranciscensis*'in gelişmesinde etkili biyoproses parametrelerinin belirlenmesi ve optimizasyonu. *GIDA* (2017) 42 (6): 666-675 doi: 10.15237/gida.GD17063

ÖZ

Son yıllarda, eski bir ekmeğin üretim metodu olan ekşi hamur ekmeğine yönelik talep artmıştır. *Lactobacillus sanfranciscensis*, heterofermantatif laktik asit bakterisidir ve maltozu kullanarak yüksek miktarlarda laktik asit ve asetik asit üreterek hamurun ekşimesine sebep olmaktadır. Bu çalışmada, farklı parametrelerinin *L. sanfranciscensis*'in gelişmesi üzerine etkisi incelenmiştir. En uygun azot kaynağı olarak maya ekstraktı, en uygun karbon kaynağı ise, maltoz olarak belirlenmiştir. En yüksek optik yoğunluk değerine fermantasyonun 48. saatinde ulaşılmıştır. pH, maltoz, maya ekstraktı ve Tryptic Soy Broth konsantrasyonlarının bakteri gelişimine etkisi incelenmiş ve bu parametrelerin optimum değerleri sırasıyla pH 6.5, %2 (w/v), %1.7 (w/v), %0.6 (w/v) olarak belirlenmiştir. Belirlenen optimum koşullar altında maksimum optik yoğunluk değeri 1.120 ± 0.007 (biyokütle konsantrasyonu: 1.818 ± 0.002 g/L) olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Lactobacillus sanfranciscensis*, starter kültür, optimizasyon, optik yoğunluk, azot kaynağı.

DETERMINATION AND OPTIMIZATION OF THE BIOPROCESS PARAMETERS EFFECTING GROWTH OF *LACTOBACILLUS SANFRANCISCENSIS*

ABSTRACT

In recent years, there is an increasing demand for sourdough bread, which is one of the oldest methods of bread production. *Lactobacillus sanfranciscensis* is a heterofermentative lactic acid bacteria which produce large amounts of lactic acid and acetic acid from maltose and thus it is responsible for souring activity in sourdough. In this study, the effect of different cultivation parameters on the growth of *L. sanfranciscensis* has been evaluated. Maximum optical density was obtained at the 48th hour of the fermentation. Yeast extract was determined as the most appropriate nitrogen source and maltose was determined as the most appropriate carbon source. The optimum levels of pH, maltose, yeast extract and Tryptic Soy Broth were found as pH 6.5, 2% (w/v), 1.7% (w/v), 0.6% (w/v), respectively. Under optimized conditions, the optical density of 1.120 ± 0.007 was obtained which corresponds to a biomass dry weight of 1.818 ± 0.002 g/L.

Keywords: *Lactobacillus sanfranciscensis*, starter culture, optimization, optical density, nitrogen source

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yekta.göksungur@ege.edu.tr ☎ (+90) 232 311 3027 /3027 📠 (+90) 232 342 7592

GİRİŞ

Ekmek, dünyada en çok tüketilen gıda maddelerindendir. İçerdiği karbonhidrat, protein, diyet lifi ve çeşitli vitaminler ile önemli bir besin kaynağı olmasının yanı sıra; diğer gıdalara göre ucuz ve doyurucu olması sebebiyle tercih edilmektedir. Son yıllarda, tüketici talebinin koruyucu madde içeriği düşük, doğal ürünler yönünde olduğu belirlenmiştir. Ekmek çeşitlerinden bir tanesi olan ekşi hamur ekmeği, günümüzde fazla talep edilen ekmek ürünlerinden birisidir (Göçmen, 2001; Hendek-Ertop ve Hayta, 2016).

Ekşi hamur ekmeği, geleneksel olarak üretimi yıllardır devam eden fermente bir gıda ürünüdür. Özellikle zengin aromatik özellikleri ve daha uzun raf ömrü sebebiyle tercih edilmektedir. Ekmeğin kalitesini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Ekşi hamurun mikroflorası bunlardan bir tanesidir. Ekşi hamur; un (buğday, pirinç, çavdar gibi) ile sudan meydana gelen hamurda, laktik asit bakterileri (LAB) ve mayaların metabolik aktivitesi sonucu oluşan bir ürün olarak tanımlanmaktadır (Vuyst ve Neysens, 2005; Ercolini vd., 2013). Ekşi hamur ekmeği üretiminde, fermantasyon işlemi boyunca meydana gelen bileşenler, ekmeğin besin değerini arttırmaktadır. Ayrıca, iyi bir fermantasyon işlemi yüksek hacimli, aromatik açıdan zengin, homojen ve tercih edilebilirliği yüksek ekmek iç yapısı meydana gelmesine ve raf ömrünün uzatılmasına katkı sağladığından önem arz etmektedir (Gobbetti vd., 2016).

Ekşi hamurun fermantasyonu için çeşitli yöntemler tercih edilmektedir. Geleneksel yöntemde, hamurun kendi doğal mikroflorasıyla spontan fermantasyon gerçekleştirilmektedir. Ancak bu yöntemde, fermantasyon işleminin kontrolsüz gerçekleşmesi sebebiyle, standart ürün eldesinde problem yaşanmakta, ürünün dokusal ve yapısal özelliklerinde istenmeyen kusurlar meydana gelebilmektedir. Karşılaşılan bu problemler sebebiyle, araştırmacılar laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanımını incelemişlerdir. Laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanımı istenilen kalite ve miktarda ürün elde edilmesine, fermantasyon işleminin kontrollü gerçekleşmesine, ekmeğin iç yapısının

iyileşmesine ve zengin aromatik yapının gelişmesine katkı sağlamaktadır (Paramithiotis vd., 2005; Decock ve Cappelle, 2005; Leroy ve De Vuyst, 2004).

Ekşi hamur fermantasyonunda pek çok mikroorganizma beraber görev almaktadır ve hakim mikroflorada mayalar ve laktik asit bakterileri (LAB) baskın olarak bulunmaktadır. Hamurun yapısında 50'den fazla laktik asit bakterisi suşu ve 20'den fazla maya suşu bulunmaktadır. LAB'lerinden en çok *Lactobacillus*, mayalardan ise en çok *Saccharomyces* ve *Candida* suşları bulunmaktadır (Rehman, 2006; De Vuyst vd., 2014). Laktik asit bakterilerinden homofermantatif olanlar şekeri fermente ederek laktik asit oluştururken; heterofermantatif LAB'leri laktik asit, CO₂, etil alkol, asetik asit, aromatik ve uçucu bileşikler de üretmektedir (Göçmen, 2001; Hammes vd., 2005).

L. sanfranciscensis, *Lactobacillus sanfransisco* olarak da bilinen ve genellikle çavdar veya buğday unu kullanılarak üretilen ekşi hamurlardan izole edilen gram pozitif, spor oluşturmaz, çubuk şeklinde ve mikroaerofilik bir laktik asit bakterisidir (Weiss ve Schillinger, 1984). Bu bakteri ekşi hamur yapısında bulunan en önemli LAB'lardan biridir. (Gobbetti ve Corsetti, 1997). 2-4 µm boyunda ve 0.6-0.8 µm çapındadır; optimum gelişme sıcaklığı 30°C olmakla beraber 13°C-40°C ortam sıcaklığında da gelişebilmektedir (Neubauer vd., 1994; Kline ve Sugihara, 1971).

Bu çalışma kapsamında *L. sanfranciscensis*'in gelişimi için etkili olan biyoproses koşullarının (karbon kaynağı, Tryptic Soy Broth miktarı, azot kaynağı ve pH) optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve belirlenen optimum koşullarda *L. sanfranciscensis*'in üreme kinetiği incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin, *L. sanfranciscensis*'in starter kültür olarak kullanılacağı diğer çalışmalara yol göstermesi hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Mikroorganizma ve Besiyerlerinin

Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak olan *L. sanfranciscensis* DSM 20451 suşu Pak Gıda San. Tic. Ltd. Şti. (PAKMAYA)'nden Doç. Dr. Mustafa TÜRKER

tarafından temin edilmiştir. *L. sanfranciscensis* aşağıda tarif edilen stok kültür ortamında +4°C'de saklanmıştır. Kültürler kullanılmadan önce taze besin ortamına ekim yapılarak 30°C'de 1 gün geliştirilmiştir. Stok kültürü ve aşı kültürü ortamı Kline ve Sugihara (1971)'dan modifiye edilen ortam olup bileşiminde (%w/v); %2 maltoz (Merck, Almanya), %1.3 maya ekstraktı (Applichem, Almanya), %0.6 Tryptic Soy Broth (Merck, Almanya), %0.03 (v/v) Tween 80 (Merck, Almanya), bulunmaktadır. Ortam pH'sı 1 M HCl kullanılarak pH 5.6'ya ayarlanmıştır.

Aşı Kültürünün Hazırlanması

Her üretim öncesinde 30°C'de 1 gün süreyle geliştirilen stok kültürlerden, 50 mL aşı kültürü ortamına %5 (v/v) oranında ekim yapılmıştır. Aşı kültürü 30°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. 24 saat sonunda aşı kültüründen fermantasyon ortamına %5 (v/v) oranında ekim yapılmıştır. Denemelerde anaerobik ortam yaratmak ve oksijeni uzaklaştırmak için 50 mililitrelik erlenler kullanılmış olup, fermantasyon ortamları 50 mL'lik erlenler içerisinde 50 mL ortam olacak şekilde hazırlanmıştır. Fermantasyon ortamının içeriği (w/v): %2 maltoz, %1.3 maya ekstraktı, %0.6 Tryptic Soy Broth'dan oluşmaktadır (pH:5.6) (Kline ve Sugihara (1971)).

Biyoproses Parametrelerinin Belirlenmesi

Değişik biyoproses parametrelerinin optik yoğunluk olarak hücre gelişimine etkisinin incelenmesi için deneyler yapılmıştır. Bu amaçla farklı karbon kaynaklarının, farklı azot kaynaklarının, maya ekstraktı ve Tryptic Soy Broth konsantrasyonunun, başlangıç ortam pH'sının bakterinin gelişimine etkisi incelenmiştir.

Maya ekstraktı konsantrasyonunun üremeye etkisini incelemek için %0.1, 0.7, 1.3, 1.7, 2.3, 2.7, 2.9, 3.1 (w/v) konsantrasyonlarında maya ekstraktı içeren üreme ortamı hazırlanmış ve 48 saat fermantasyon sonunda optik yoğunluk belirlenmiştir.

Farklı Azot kaynağının etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda maya ekstraktı (Applichem, Almanya), pepton (BD, Fransa), tripton (Applichem, Almanya), mısır ıslatma suyu (Sigma Aldrich, Amerika) ve malt

çimi (Türk Tuborg Bira ve Malt Sanayi Tic. A.Ş., İzmir) kullanılmıştır. Denenen azot kaynakları, önceden optimum olduğu belirlenen % 1.7 maya ekstraktı ile eşit azot temelinde kullanılmıştır. Bu amaçla azot oranları belirlenen maddelerin % 1.7 maya ekstraktı ile aynı oranda ortama azot verecek miktarları fermantasyon ortamına ilave edilmiştir. Çizelge 1'de denenen azot kaynakları, içerdikleri azot oranları (Göksungur, 1998) ve fermantasyon ortamına ilave edilen miktarları verilmiştir. Azot kaynakları fermantasyon ortamının rengini değiştirdiği için optik yoğunluk değeri ölçülemez. Bu sebeple 48 saatlik fermantasyon sonunda fermantasyon ortamından örnek alınarak canlı hücre sayısı belirlenmiştir.

Azot Kaynağı <i>Nitrogen Source</i>	Azot (%) <i>Nitrogen (%)</i>	Ortama İlave Edilen Miktar (%) <i>The amount added into the medium formulation (%w/v)</i>
Pepton <i>Peptone</i>	14.00	1.19
Maya ekstraktı <i>Yeast extract</i>	9.80	1.70
Tripton <i>Tryptone</i>	12.70	1.31
Malt çimi <i>Malt sprout</i>	5.29	3.14
Mısır ıslatma suyu <i>Corn steep liquor</i>	6.44	2.58

Çizelge 1. Fermantasyon ortamında kullanılan azot kaynakları (Göksungur,1998).

Table 1. The nitrogen sources used in the fermentation medium (Göksungur,1998).

Karbon kaynağının etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda maltoz (Merck, Almanya), laktoz (Merck, Almanya), fruktoz (Merck, Almanya), sakkaroz (Merck, Almanya), glukoz (Merck, Almanya) ve nişasta (Merck, Almanya) kullanılmıştır. 48 saat sonunda fermantasyon ortamlarından örnek alınarak optik yoğunluk değeri ölçülmüştür. Optimum maltoz miktarının belirlenmesi amacıyla %1, 2, 3, 4, 5, 6

(w/v) konsantrasyonlarında maltoz içeren fermantasyon ortamları hazırlanmıştır. 6., 24. ve 48 saat sonunda fermantasyon ortamlarından örnek alınarak optik yoğunluk değerleri ölçülmüştür.

Tryptic Soy Broth konsantrasyonunun etkisinin belirlenmesi amacıyla 4 farklı konsantrasyonda (%0.3, 0.6, 0.9, 1.2 (w/v)) fermantasyon ortamına ilave edilmiştir ve 48 saat sonunda fermantasyon ortamlarından örnek alınarak optik yoğunluk değeri ölçülmüştür.

Başlangıç ortam pH'sının etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı başlangıç ortam pH'larına sahip (pH: 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0) fermantasyon ortamları hazırlanmıştır ve fermantasyon ortamlarından 6., 24.ve 48. saatlerde örnek alınarak optik yoğunluk ve pH değerleri ölçülmüştür.

Biyokütle Miktarı

Fermantasyon ortamından alınan örnekler, 7500 rpm (5340g) değerinde 4°C'de 20 dakika süreyle santrifüj işlemine tabi tutularak hücreler fermantasyon ortamından ayrılmıştır ve saf su ile iki defa yıkanmıştır. Yıkanan hücreler 80°C'de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur (Bekers vd., 2002).

Spesifik üreme hızının belirlenmesi için logaritmik fazda olan bakteriler kullanılmış ve biyokütle miktarının süreye göre değişimi Göksungur (2011)'de belirtilen metoda göre incelenerek spesifik üreme hızı hesaplanmıştır.

Optik Yoğunluğun Belirlenmesi

Hücrelerin optik yoğunluğunu kontrol etmek amacıyla fermantasyon sonrasında 1.5 mL örnek alınarak Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda optik yoğunluk (O.D._{600nm}) değeri ölçülmüştür. Optik yoğunluk ile biyokütle arasında aşağıdaki korelasyon denkleminin belirlenmesi amacıyla 600 nm'deki farklı O.D. değerlerine karşılık gelen biyokütle miktarları ölçülmüştür ve biyokütle-optik yoğunluk grafiği çizilmiştir. Korelasyon grafiği kullanılarak aşağıdaki denklem elde edilmiş (1) ve optik yoğunluk değerine karşılık gelen hücre

konsantrasyonunun hesaplanmasında kullanılmıştır (Jaapar vd. 2011).

$$\text{Biyokütle (g/L)} = 1.3924 * \text{optik yoğunluk} + 0.1715 \quad (1)$$

Laktik Asit Bakterisi Sayımı

Hücre sayısının belirlenmesi için fermantasyon sonunda üretim ortamlarından aseptik koşullarda örnek alınarak %0.1'lik peptonlu su kullanılarak seri dilüsyonlar elde edilmiştir. Seri dilüsyonlardan 1 mL alınarak çift tabakalı dökme plak yöntemine göre Sour Dough Bacterium (SDB) agara ekim yapılmıştır. Bu yöntemde besiyeri iki kat halinde dökülmüştür. Katılardan besiyerinde 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir ve sonuç koloni oluşturan birim/mL (KOB/mL) olarak verilmiştir (Ünlütürk ve Turantaş, 2002).

pH

Örneklerde pH değerleri, pH metre (WTW Series pH 720) ile belirlenmiştir. Cihazın kalibrasyonu düzenli aralıklarla standart pH tampon çözeltileri ile yapılmıştır.

Bütün denemeler 2 tekrar, analizler ise 3 paralel halinde yapılmış ve standart sapma hesaplandığında sonuçların % 95 güven aralığı içerisinde kaldığı belirlenmiştir.

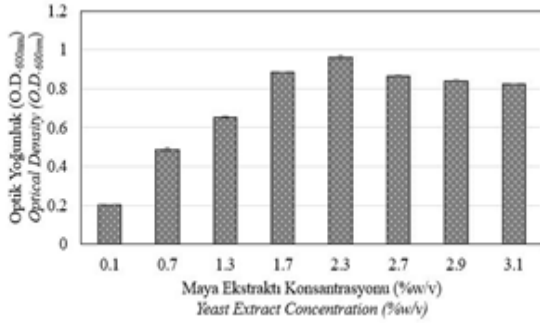
SONUÇ VE TARTIŞMA

Maya Ekstraktı Konsantrasyonunun *L. sanfranciscensis*'in Gelişimi Üzerine Etkisi

Laktik asit bakterileri gelişebilmeleri için nükleotitler, aminoasitler ve vitaminler gibi kompleks organik maddelere ihtiyaç duyarlar. Laktik asit üretiminde maya ekstraktı bakterilerin kompleks besin maddeleri ihtiyacını karşılamak için en çok kullanılan azot kaynağıdır (Göksungur, 1998).

Azot kaynağı olarak seçilen maya ekstraktının optimum konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla 8 farklı maya ekstraktı konsantrasyonu (%0.1, 0.7, 1.3, 1.7, 2.3, 2.7, 2.9, 3.1 (w/v)) fermantasyon ortamına ilave edilmiştir. Çalışma sonucunda % 2.3 (w/v) maya ekstraktı içeren ortamda en yüksek O.D._{600nm} değerine (0.961±0,007) ulaşılmıştır (Şekil 1). Şekil 1'de de

görüldüğü gibi en yüksek optik yoğunluk değeri % 2.3 maya ekstraktı kullanıldığında elde edilmesine rağmen, % 1.7 maya ekstraktı konsantrasyonu ile de benzer bir optik yoğunluk değeri (0.886 ± 0.0014) elde edilmiştir. Maya ekstraktı iyi bir azot kaynağı olmasına rağmen pahalı bir maddedir ve yüksek miktarlarda kullanılması maliyeti arttırmaktadır. Bu sebeple maya ekstraktı miktarının azaltılması önerilmektedir (Aeschlimann ve Von Stockar, 1990). Bu çalışma sonucunda optimum maya ekstraktı miktarı %2.3 (w/v) olarak belirlenmesine rağmen, iki optik yoğunluk değerleri arasındaki farkın önemli olmaması (%95 güven aralığında) sebebiyle çalışmanın devamında proses maliyetini düşürmek amacıyla %1.7 (w/v) konsantrasyonunda maya ekstraktı kullanılmıştır.



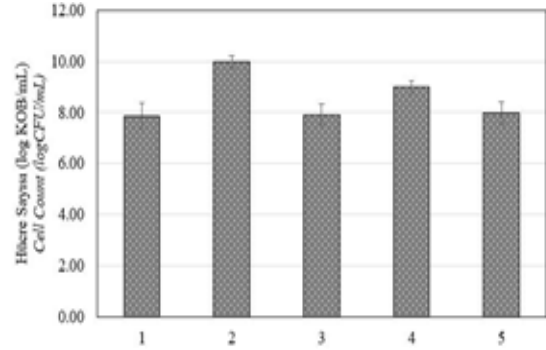
Şekil 1. Farklı maya ekstraktı konsantrasyonlarının *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi (%2 Maltoz, %0.6 Tryptic Soy Broth, pH 5.6).

Figure 1. Effect of different yeast extract concentrations on growth of *L. sanfranciscensis* (Maltoze 2%, Tryptic Soy Broth 0.6 %, pH 5.6).

Farklı Azot Kaynaklarının *L. sanfranciscensis*'in Gelişimi Üzerine Etkisi

Çalışmada farklı azot kaynaklarının *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla maya ekstraktı, mısır ıslatma suyu, pepton, tripton malt çimi kullanılmıştır. Şekil 2'de farklı azot kaynaklarının kullanılması sonucunda elde edilen hücre sayısı verilmiştir. Değişik azot kaynaklarının kullanıldığı denemelerde, hazırlanan ortamların bulanıklığı farklı olduğu için optik yoğunluk ile hücre gelişimi ölçülemedi, bunun yerine çift tabakalı dökme plak yöntemi ile hücre sayısı belirlenmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, en yüksek hücre sayısı ($9.97 \log \text{KOB}/\text{mL} \pm 0.246$), azot

kaynağı olarak maya ekstraktı kullanıldığında elde edilmiştir. Malt çiminin azot kaynağı olarak kullanımında ise, ikinci en yüksek hücre sayısına ($8.99 \log \text{KOB}/\text{mL} \pm 0.242$) ulaşılmıştır. Azot kaynağı olarak, pepton, tripton, mısır ıslatma suyu kullanılması sonucunda, hücre sayısının maya ekstraktı ve malt çimine kullanımına göre düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2. Farklı azot kaynaklarının *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi (%2 Maltoz, %0.6 Tryptic Soy Broth, pH 5.6, 1: Pepton, 2: Maya ekstraktı, 3: Tripton, 4: Malt çimi, 5: Mısır ıslatma suyu).

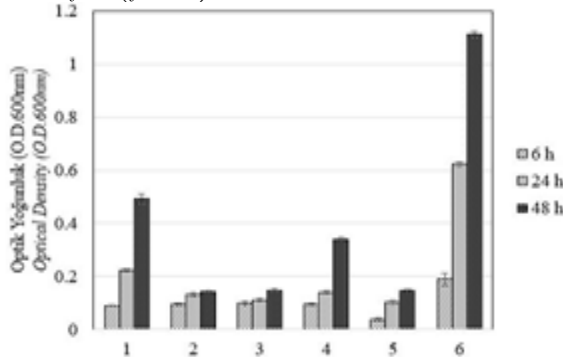
Figure 2. Effect of different nitrogen sources on growth of *L. sanfranciscensis* (Maltoze 2%, Tryptic Soy Broth 0.6 %, pH 5.6, 1: Peptone, 2: Yeast extract, 3: Tryptone, 4: Malt sprout, 5: Corn steep liquor).

Maya ekstraktının yapısında peptitler ve üreme faktörleri (B grubu vitaminler ve oligonükleotidler) bulunmaktadır. Bu sebeple yapısında üreme faktörleri içermeyen pepton gibi azot kaynaklarına göre hücre gelişimini daha fazla stimüle etmektedir (Amrane ve Prigent, 1997). Literatürde *L. sanfranciscensis*'in gelişimi için hazırlanan fermantasyon ortamlarında malt çiminin azot kaynağı olarak kullanımına yönelik çalışmaya yazarların bilgisi dahilinde rastlanmamıştır. Bu sebeple bu çalışmanın, bira üretiminde yan ürün olarak açığa çıkan malt çiminin azot kaynağı olarak biyoproseslerde değerlendirilmesine yönelik çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Farklı Karbon Kaynaklarının *L. sanfranciscensis*'in Gelişimi Üzerine Etkisi

Fermantasyon ortamının farklı karbon kaynaklarıyla desteklenmesi amacıyla

fermantasyon ortamına glukoz, fruktoz, laktoz, sakkaroz, nişasta ve maltoz eklenmiştir. En yüksek O.D._(600nm) değeri (1.112±0.011) maltoz içeren ortamda elde edilmiştir. Maltoz haricinde glukoz ve sakkarozun da *L. sanfranciscensis* tarafından kullanılabilirliği görülmüştür ancak maltoza kıyasla daha düşük O.D._(600nm) değerleri (0.495±0.178 ve 0.441±0.005) elde edilmiştir. Fruktoz, laktoz ve nişasta içeren ortamlarda ise O.D._(600nm) değerlerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı karbon kaynaklarının *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi (%0.6 Tryptic Soy Broth, maya ekstraktı %1.7, pH 6.5, 1: Glukoz, 2: Fruktoz, 3: Laktoz, 4: Sakkaroz, 5: Nişasta, 6: Maltoz).

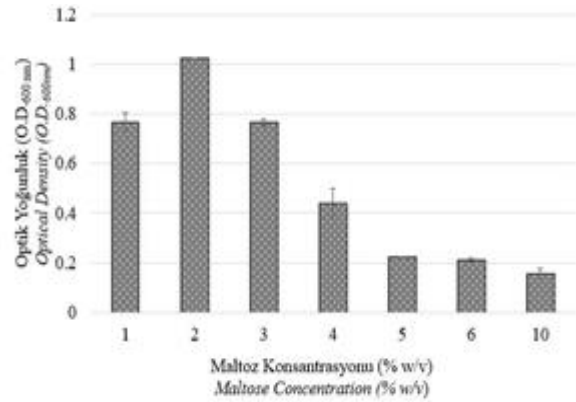
Figure 3. Effect of different carbon sources on growth of *L. sanfranciscensis* (Tryptic Soy Broth 0.6 %, yeast extract 1.7%, pH 6.5, 1: Glucose, 2: Fructose, 3: Lactose, 4: Sucrose, 5: Starch, 6: Maltose).

Farklı maltoz konsantrasyonları ile yapılan çalışmada ise en yüksek O.D._(600nm) değeri (1.025±0.0014) %2 maltoz içeren fermentasyon ortamında bulunmuştur. En düşük O.D._(600nm) değeri (0.157±0.019) ise %10 maltoz içeren ortamda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4). Çalışmada elde edilen sonuçlar literatür ile tutarlılık göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalarda (Neubauer vd.,1994; Stolz vd., 1993), maltoz ve glukoz içeren ortamlarda *L. sanfranciscensis*'in metabolizmasındaki değişimler incelenmiştir. *Lactobacillus* tarafından üretilen maltoz fosforilaz enzimi ile ortamdaki maltoz kullanılarak glukoz ve glukoz-1-fosfat üretiminin ATP harcanmadan gerçekleştirildiği ifade edilmiş, üretilen bu bileşenlerin daha sonra metabolik faaliyetlerde kullanılması amacıyla hücre dışına gönderildiği

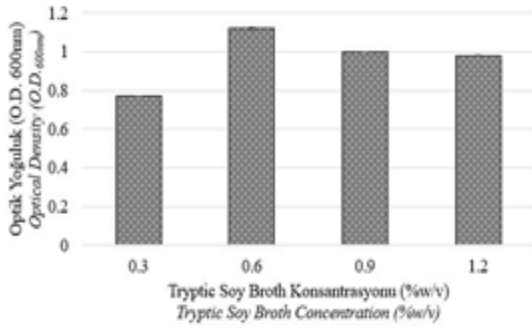
belirtilmiştir. Çalışmalar sonucunda, *L. sanfranciscensis*'in hücre dışı ortamda glukoz konsantrasyonunu artırdığı ve ürettiği glukozu, maltoz olmadığı durumlarda karbon kaynağı olarak kullandığını tespit etmişlerdir. Hücre dışı ortamda bulunan glukozun ekşi hamur gibi maltoz içeriği yüksek ortamlarda maltozu rekabetçi mikroorganizmalardan koruduğu ve bu sayede ekşi hamurun mikroflorasını etkilediği belirtilmiştir (Neubauer vd.,1994; Stolz vd., 1993).

Tryptic Soy Broth Miktarının *L. sanfranciscensis*'in Gelişimi Üzerine Etkisi

Tryptic Soy Broth konsantrasyonunun belirlenmesi için 4 farklı konsantrasyonda (%0.3, 0.6, 0.9, 1.2 (w/v)). Tryptic Soy Broth fermentasyon ortamına ilave edilmiştir (Şekil 5). En yüksek O.D._(600nm) değeri (0.114±0.008) %0.6 (w/v) konsantrasyonunda elde edilmiş ve bu miktarın üzerindeki konsantrasyonlarda O.D._(600nm) değerinin düştüğü belirlenmiştir. Tryptic Soy Broth özellikle zor gelişen mikroorganizmalar için kullanılmaktadır. Kline ve Sugihara (1971) yaptıkları çalışmada Trypticase'in *L. sanfranciscensis*'in gelişimini stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada kullanılan Tryptic Soy Broth yapısında bulunan Tripticase sebebiyle *L. sanfranciscensis*'in gelişimini stimüle etmektedir.



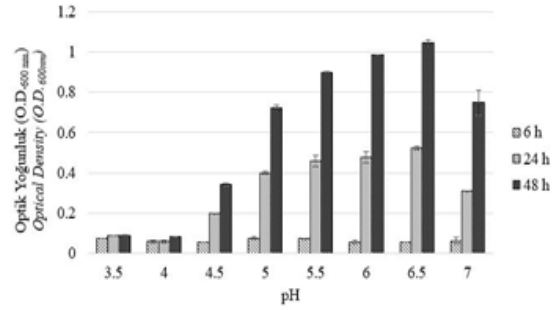
Şekil 4. Maltoz konsantrasyonunun *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi (%0.6 Tryptic Soy Broth, maya ekstraktı %1.7, pH 6.5).
Figure 4. Effect of different maltose concentrations on growth of *L. sanfranciscensis* (Tryptic Soy Broth 0.6 %, yeast extract 1.7%, pH 6.5).



Şekil 5. Tryptic Soy Broth konsantrasyonunun *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi (%2 Maltoz, maya ekstraktı %1.7, pH 6.5).
Figure 5. Effect of different Tryptic Soy Broth concentrations on growth of *L. sanfranciscensis* (Maltose 2%, yeast extract 1.7%, pH 6.5).

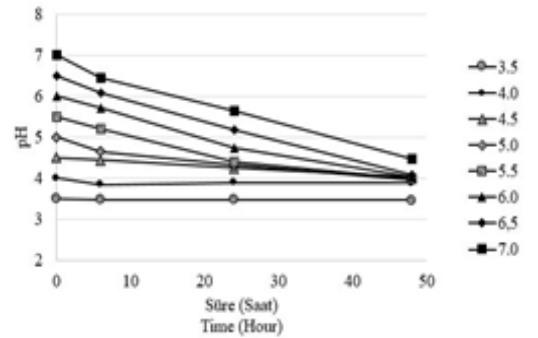
Başlangıç Ortam pH'sının *L. sanfranciscensis*'in Gelişimi Üzerine Etkisi

Başlangıç ortam pH'sı mikrobiyal mikrobiyal gelişimi etkileyen önemli parametrelerdendir (Messens vd., 2002). Başlangıç ortam pH'sının, *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi incelemek için farklı başlangıç ortam pH'larına sahip fermantasyon ortamları (pH: 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0) hazırlanarak 0., 6., 24 ve 48. saatlerde O.D. (600nm) değerleri ölçülmüştür. Bu ölçüm sonuçlarına göre en yüksek O.D. (600nm) değeri (1.045±0.015) ortam pH'sının 6.5, en düşük O.D. (600nm) değeri (0.0825±0.002) ise başlangıç ortam pH'sının 3.5 olduğu koşullarda elde edilmiştir (Şekil 6). Bu çalışmada optimum pH değeri 6.5 olarak belirlenmesine rağmen literatürde LAB'lerinin gelişmesi için optimum pH aralığının pH 5.5-6.0 arasında olduğu belirtilmiştir (Kulp ve Lorenz, 2003; Toit ve ark., 2011). Kline ve Sugihara (1971) tarafından yapılan çalışmada da ekşi hamurdan izole edilen farklı *L. sanfranciscensis* suşları için optimum ortam pH'sının 5.6 olduğunu ifade edilmiştir. Ekşi hamurun başlangıç pH'sının 5.0-6.2 değerleri arasında olduğu bilinmektedir (Vuyst ve Neysens, 2005). Neubauer vd. (1994) çavdar unu kullanılarak üretilen ekşi hamurun başlangıç pH'sının yaklaşık olarak 5.6 olduğunu, bu sebeple çavdar ekşi hamurdan izole edilen *Lactobacillus*'ların yaklaşık pH 5.6 değerinde geliştiğini bildirmişlerdir (Neubauer, 1994).



Şekil 6: Başlangıç ortam pH'sının *L. sanfranciscensis*'in gelişimi üzerine etkisi (%2 Maltoz, %0.6 Tryptic Soy Broth, maya ekstraktı %1.7).
Figure 6: Effect of initial medium pH on the growth of *L. sanfranciscensis* (Maltose 2%, Tryptic Soy Broth 0.6 %, yeast extract 1.7%).

Farklı başlangıç pH değerlerine sahip fermantasyon ortamlarının 48 saat boyunca pH değerlerinde meydana gelen değişim Şekil 7'de verilmektedir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, başlangıç pH'sının 3.5 olduğu ortamda 48 saat boyunca pH değerlerinde değişim gözlenmemiştir ve 48 saat sonunda pH değeri 3.5 olarak ölçülmüştür. En büyük pH değişiminin ise başlangıç ortam pH'sı 7.0 olan ortamda elde edildiği ve pH değerinin 48 saatte 7.0'dan 4.47'ye düştüğü belirlenmiştir. Ekşi hamurun pH'sının fermantasyon sonunda *L. sanfranciscensis* tarafından üretilen asetik asit ve laktik asit sebebiyle 4.3'e düştüğü belirtilmiştir (Kulp ve Lorenz, 2003).



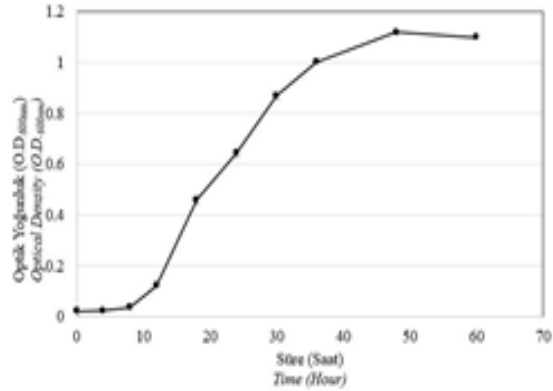
Şekil 7. Fermantasyon süresince ortam pH'sının değişimi (%2 Maltoz, %0.6 Tryptic Soy Broth, maya ekstraktı %1.7).
Figure 7. Change of medium pH during fermentation (Maltose 2%, Tryptic Soy Broth 0.6 %, yeast extract 1.7%).

L. sanfranciscensis'in Optimum Koşullardaki Üreme Kinetiği

L. sanfranciscensis'in gelişimine etki eden biyoproses parametreleri için optimum koşullar belirlendikten sonra optimum koşullarda (Maltoz: %2 (w/v); başlangıç ortam pH'sı: 6.5; maya ekstraktı miktarı %1.7 (w/v), Tryptic Soy Broth :%0.6 (w/v)) üreme kinetiği belirlenmiştir. Şekil 8'de belirtilen saat aralıklarında alınan örneklerde O.D._(600nm), biyokütle miktarı ve hücre sayısı belirlenmiştir. Şekil 8'de verilen üreme kinetiği verileri incelendiğinde, lag faz'ın 12 saat sürdüğü ve 12. saatten itibaren O.D._(600nm) değerinde artış olduğu tespit edilmiştir. 12.-30. saat aralığında ise bakteri hücresi logaritmik faza girmiştir. 30. saatte logaritmik üreme evresi son ermiş ve 60. saate kadar hücrelerin durağan fazda olduğu belirlenmiştir. En yüksek O.D._(600nm) değerine ulaşıldığı 48. saatte O.D._(600nm) değeri 1.120 ± 0.007 , biyokütle miktarı ise 1.818 ± 0.002 g/L olarak korelasyon grafiği kullanılarak belirlenmiştir. Fermantasyonun başlangıcında hücre sayısı 5.45×10^7 KOB/mL olarak belirlenmiş ve 48 saatte 2.16×10^{10} KOB/mL hücre sayısına ulaşılmıştır. L. sanfranciscensis için optimum koşullarda spesifik üreme hızı $\mu = 0.0226 \text{ sa}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Neubauer vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada kullanılan suşa ve ortamda bulunan karbon kaynağına göre lag faz süresinin farklılık gösterdiği belirtilmiştir. L. sanfranciscensis'in glukoz içeren ortama adaptasyonu uzun sürmekte ve bu sebeple lag faz 20 saat ile 150 saat arasında değişkenlik göstermektedir. Ancak maltoz içeren ortamda lag faz daha kısa sürmektedir. Bunun sebebi ise maltoz ve glukoz için farklı transport sistemleri kullanmasına bağlı olarak lag faz süresinin farklılık göstermesidir (Neubauer vd., 1994).

Çalışma kapsamında L. sanfranciscensis'in gelişimi için gerekli biyoproses parametrelerinin optimizasyon gerçekleştirilmiş ve optimum koşullarda yüksek miktarda hücre sayısı elde edilmiştir. Literatürde L. sanfranciscensis ile ilgili çalışmaların sayısı oldukça az olduğu görülmektedir ve özellikle son yıllarda L. sanfranciscensis'in gelişimini inceleyen hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma sayesinde farklı

azot, karbon kaynaklarının ve ortam pH'sının L. sanfranciscensis'in gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu sayede literatüre katkı sağlayarak L. sanfranciscensis'e ait literatürde daha fazla bilgi olmasına katkı sağlanmıştır. Deney sonuçlarına göre belirlenen optimum koşullar kullanılarak hazırlaması kolay ve yüksek miktarda canlı hücre sayısı elde edilmesini sağlayan bir besiyeri formülasyonu elde edilmiştir. Bu çalışma, L. sanfranciscensis'in gelişimi için farklı ortam formülasyonlarının oluşturulmasında ve bu bakteri ile yapılacak yeni çalışmalar için yol gösterici özellik taşımaktadır.



Şekil 8: Optimum koşullarda optik yoğunluk değerinin süreye göre değişimi (%2 Maltoz, %0.6 Tryptic Soy Broth, maya ekstraktı %1.7, pH 6.5).
Figure 8. Variation of optical density value over time in optimum conditions (Maltose 2%, Tryptic Soy Broth 0.6 %, yeast extract 1.7%, pH 5.6).

Teşekkür

Bu çalışma "Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi" tarafından 16-MÜH-115 numaralı BAP projesi kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Aeschlimann, A., Von Stockar, U. (1990). The effect of yeast extract supplementation on the production of lactic acid from whey permeate by *Lactobacillus helveticus*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 32:398–402, doi: 10.1007/BF00903772.

Amrane, A., Prigent, Y. (1997). Growth and lactic acid production coupling for *Lactobacillus helveticus* cultivated on supplemented whey: Influence of peptidic nitrogen deficiency. *J Biotechnol*, 55(1): 1–8, doi:10.1016/S0168-1656(97)00041-2.

- Bekers, M., Laukevics, J., Upite, D., Kaminska, E., Vigants, A., Viesturs, A., Pankova, L. and Danilevich, A. (2002). Fructooligosaccharide and levan producing activity of *Zymomonas mobilis* extracellular levansucrase, *Process Biochem*, 38:701-706, doi: 10.1016/S0032-9592(02)00189-9.
- De Vuyst, L., Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci Technol*, 16:43-56, doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012.
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H.M., Weckx, S. (2014). Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform? *Food Microbiol*, 37:11-29, doi: 10.1016/j.fm.2013.06.002.
- Decock, P., Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. *Trends Food Sci Technol*, 16(1-3): 113-120, doi:10.1016/j.tifs.2004.04.012.
- Ercolini, D., Pontonio, E., De Filippis, F., Minervini, F., La Storia, A., Gobbetti, M., Di Cagno, R. (2013). Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Appl. Environ Microbiol*, 79 (24):7827-7836, doi: 10.1128/AEM.02955-13.
- Gobbetti, M., Corsetti, A. (1997). *Lactobacillus sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium: a review. *Food Microbiol*, 14:175-187.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., Cagno, R.D. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends Food Sci Technol*, 16:57-69, doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.013.
- Gobbetti, M., Minervini, F., Pontonio, E., Di Cagno, R., De Angelis, M. (2016). Drivers for the establishment and composition of the sourdough lactic acid bacteria biota. *Int J Food Microbiol*, 239:3-18, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.022.
- Göçmen, D. (2001). Ekşi hamur ve laktik asit starter kullanımının ekmekte aroma oluşumu üzerine etkileri. *GIDA*, 26(1):13-16.
- Göksungur, Y. (1998). Melastan laktik asit üretiminde farklı üretim tekniklerinin kullanılabilirliği ve ortam şartlarının optimizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 155s.
- Göksungur, Y. (2011). *Reaction and fermentation kinetics in food engineering*. Sidaş Medya Ltd. Şti., İzmir, Türkiye, 143s. ISBN: 978-9944-5660-1-8.
- Hammes, W.P., Brandt, M.J., Francis, K.L., Rosenheim, J., Seitter, M.F.H., Vogelmann, S.A. (2005). Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends Food Sci Technol*, 16: 4-11, doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.010.
- Hendek Ertop, M., Hayta, M. (2016). Ekşi hamur fermantasyonunun ekmeği biyoaktif bileşenleri ve biyoyararlanım üzerindeki etkileri. *GIDA*, 41(2): 115-122, doi: 10.15237/gida.GD15053.
- Jaapar, S.Z.S., Ali, E., Kalil, S., Anuar, N. (2011). Effects of different initial pH, argon gas and nitrogen gas on cell growth and hydrogen production using *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Bacteriol*, 1(1): 8-15, doi: 10.3923/bj.2011.8.15.
- Kline, L., Sugihara, T.F. (1971). Microorganisms of the San Francisco sour dough bread process. II. Isolation and characterization of undescribed bacterial species responsible for the souring activity. *Appl Microbiol*, 21 (1971):459-465.
- Kulp, K., Lorenz, K. (ed.), Wirtz, R.L., Stolz, P., Maloney, D.H., Foy, J.J., Martinez- Anaya-M.A., Kulp, K., Sugihara, T.F., Lorenz, K., Poitrenaud, B., Katina, K., Kerojoki, H. Valjakka, T.T, Bruemmer, J.M., Benedito, Carmen, Rosell, C.M. (2003). Handbook of sourdough Fermentations. Marcel Dekker Inc, New York, USA. 303p.
- Leroy, F., De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci Technol*, 15: 67-78, doi:10.1016/j.tifs.2003.09.004.
- Messens, W., Neysens P., Vansielegheem, W., Vanderhoeven, J., De Vuyst, L. (2002). Modeling growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* dce 471 in response to temperature and pH values used for sourdough fermentations. *Appl Environ Microbiol*, 63:1431-1435, doi: 10.1128/AEM.68.3.1431-1435.2002.
- Neubauer, H., Glaasker, E., Hammes, W.P., Poolman, B., Konings, W.I.L.N. (1994). Mechanism of maltose uptake and glucose excretion in *Lactobacillus sanfrancisco*. *J. Bacteriol*, 1(5): 3007-3012, doi: 0021-9193/94/\$04.00+0.

Paramithiotis, S., Chouliaras, Y., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G. (2005). Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure. *Process Biochem*, 40:2813–2819, doi:10.1016/j.procbio.2004.12.021.

Rehman, S., Paterson, A., Piggott, J.R. (2006). Flavour in sourdough breads: a review. *Trends Food Sci Technol*, 17: 557-566, doi:10.1016/j.tifs.2006.03.006.

Stolz, P., Böcker, G., Vogel, R.F., Hammes, W.P. (1993). Utilisation of isolated from maltose and

glucose by sourdough *Lactobacilli* isolated from sourdough. *FEMS Microbiol Lett*, 109: 237-242.

Toit, M. D., Engelbreht, L., Lern, E., Krieger-Weber, S. (2011) *Lactobacillus*: the next generation of malolactic fermentation starter cultures-an overview. *Food Bioprocess Technol*, 4:876-906, doi: 10.1007/s11947-010-0448-8.

Ünlütürk, A., Turantaş, F. (2002). Gıdaların mikrobiyolojik analizi, Meta Basım ve Matbaacılık İşleri, İzmir, Türkiye, 186s.

Weiss, N., Schillinger, U. (1984). *Lactobacillus sanfrancisco* sp. Nov., nom. Rev. *Syst Appl Microbiol*, 5: 230-232..



LİYOFİLİZE BAZI MİKROALG TÜRLERİNİN SAKIZ BİLEŞİMİNDE DOĞAL RENKLENDİRİCİ OLARAK KULLANIMI

İbrahim Palabıyık*

Namık Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş / Received: 21.07.2017; Kabul / Accepted: 26.10.2017; Online baskı / Published online: 15.11.2017

Palabıyık, İ. (2017). Liyofilize bazı mikroalg türlerinin sakız bileşiminde doğal renklendirici olarak kullanımı. *GIDA* (2017) 42 (6): 676-681 doi: 10.15237/gida.GD17067

ÖZ

Bu çalışmada, *Nannochloropsis sp.*, *Isochrysis galbana* ve *Tetraselmis sp.* türleri kütlece %1 ve %3 oranında kullanılarak şekerli sakız model gıdasında doğal yeşil renklendirici olarak kullanılması araştırılmıştır. Sakızların renk analizi sonuçlarına göre mikroalg ilavesi ve kullanım düzeylerinin birbirinden farklı yeşil tonlarda sakız elde edilmesini sağladığı tespit edilmiş ve a^* değerleri -5 ila -20 arasında değişim göstermiştir. Kullanılan mikroalgelerin sakız tekstürüne önemli düzeyde etki etmediği gözlenmiş, yalnız *Isochrysis galbana* türü ilavesinin sakızda sertlik değerini düşürdüğü görülmüştür ($P < 0.05$). Tekstür sonucuna göre sertlik değerleri 113 ila 356 g arasında değişiklik göstermiştir. Duyusal olarak ise %1 *Nannochloropsis sp.* ve *Tetraselmis sp.* ilaveli sakızlarda yosun tadı hissedilmemiş ve en fazla genel beğeni kazanan yeşil sakız örnekleri olmuşlardır ($P < 0.05$).

Anahtar kelimeler: şekerleme, doğal renklendirici, yeşil, tekstür, duyuşal özellikler

EFFECT OF LYOPHILIZED MICROALGAE ADDITION ON QUALITY PARAMETERS OF CHEWING GUM

ABSTRACT

In this study, *Nannochloropsis sp.*, *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis sp.* were investigated as a natural green coloring agent in chewing gum model system at different concentrations. According to color analysis, it was found that microalgae addition and usage levels gave chewing gums different green tones and a^* values varied from -5 to -20. It was observed that the microalgae usage did not affect chewing gum texture. Only the addition of *Isochrysis galbana* reduced the hardness value in the samples. According to texture results, the hardness values varied between 113 and 356 g. Considering sensory analysis, algal taste was not perceived in samples including 1% *Nannochloropsis sp.* and *Tetraselmis sp.*, therefore, they had the highest overall acceptability scores.

Keywords: confectionery, natural colorant, green, texture, sensory properties

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ipalabiyik@nku.edu.tr

☎ (+90) 554 231 3361

☎ (+90) 282 250 9929

GİRİŞ

Sakız, dünya genelinde her yaş insan tarafından farklı amaçlar için tüketilen önemli gıda maddelerindedir. Sakız ilk çıktığında sadece şekerli olarak piyasada bulunurken 1950'lerden sonra diş problemlerini önlemek amacıyla ticari olarak şekerli ve şekersiz olarak üretilmeye başlanmıştır. Şekerli sakızlarda sakkaroz, glikoz gibi maddeler kullanılırken şekersiz sakızlarda ksilitol, mannitol, sorbitol ve maltitol gibi şeker alkoller kullanılmaktadır (Konar vd., 2016). Sakız içerikleri genel olarak; şeker bazlı sakız için: %20 sakız mayası, %60 şeker, %18-20 glikoz şurubu, %1'er poliöl, gliserin ve tatlandırıcılardan oluşurken, şekersiz sakız için: %25-30 sakız mayası, %50-60 polioller, %5-6 gliserin, %1-2 aroma ve tatlandırıcılardan oluşmaktadır (Potineni ve Peterson, 2008).

Yapay renklendiriciler gibi kimyasal gıda katkı maddeleri, gıda ürünlerinin renklendirilmesi için yaygın olarak uygulanmış olsa da, insan sağlığı üzerindeki toksikolojik etkileri nedeniyle gıda endüstrisinde hala tartışmalı bir konudur. Yapay renklendirici maddelerin tüketimi çocuklarda alerji gelişimiyle (Inomata vd., 2006) ve artan kanser riski ile ilişkilendirilmiştir (Sasaki vd., 2002). Bu nedenle çok sayıda ülkelerde geçerli olan genel düzenlemeler ve dünya genelindeki tüketim ve tüketici trendleri, gıda üreticilerini doğal bileşen veya maddeler ile gıdaların renklendirilmesine yöneltmektedir. Sakız model sisteminde renklendiricilerin kullanımı ve özellikleri hakkında oldukça kısıtlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Chranioti vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada safran ve kırmızı pancar ekstraktlarını gam arabik ve modifiye nişasta ile enkapsülasyonu sonrasında sakız üretiminde renklendirici olarak kullanımı incelenmiş ve bu enkapsüle ekstraktların renklendirici performansları olumlu olarak değerlendirilmiştir. Bir başka potansiyel doğal renklendirici kaynağı ise mikroalglerdir. Mikroalgler, bileşimlerinde çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) gibi biyoaktif bileşenleri de bulundurması, renklendirici etkisinin yanısıra tüketici sağlığını destekleyici bir başka unsur olarak da belirtilebilir.

Mikroalgler doğal renklerin önemli bir kaynağı olarak kabul edilmektedir ve üretim ve yenilenebilir nitelikteki sürdürülebilirlikleri nedeniyle sentetik ve hatta diğer doğal kaynakları aşacakları düşünülmektedir (Dufossé vd., 2005). Daha önceki çalışmalarda çeşitli gıdalara renk ve fonksiyonel özellik vermek amacıyla mikroalg biyokütlesi ilavesi araştırılmıştır. Bunlar arasında yoğurt (Robertson vd., 2016), mayonez/salata sosları (Gouveia vd., 2006), pudingler/jöleli tatlılar (Batista vd., 2012), bisküvi/kurabiye (Gouveia vd., 2008) ve makarna (Fradique vd., 2010) bulunmaktadır fakat sakız bileşiminde ve üretiminde mikroalg veya mikroalg orijinli maddelerin kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, liyofilize edilerek kurutulmuş *Nannochloropsis sp.*, *Isochrysis galbana* ve *Tetraselmis sp.* türlerine ait biyoküteller %1 ve %3 oranlarında sakız formülasyonuna eklenerek, çalışılan tür ve konsantrasyon faktörlerinin sakız renk, tekstür ve duyuşsal özellikleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada sakız model ürününe yeşil türevi renk verebilmek amacıyla üç farklı yeşil mikroalg türü eklenmiştir. Bu amaçla *Nannochloropsis sp.*, *Isochrysis galbana* ve *Tetraselmis sp.* (phyto bloom, Necton, Portekiz) liyofilize edilmiş halde toz formda kullanılmıştır. Sakız mayası Maykim, Tekirdağ tarafından sağlanmıştır. Sakız yapımında lokal marketten alınan pudra şekeri ile glukoz şurubu (Cargill), aroma (Firmenich, Yenergıda), gliserin, lesitin ve sorbitol (Askimya) kullanılmıştır.

Sakız Yapım Yöntemi

Sakız mayası bir fırında 70°C'ye ısıtıldı ve içeriklerin eklenmesi için fırından çıkarılmıştır. İlk olarak mikroalgler homojen karışım için glikoz şurubu ile karıştırılmıştır. Daha sonra, sakız mayasına mikroalgler (%1 ve %3) ve glikoz şurubu (% 20), toz şeker (% 52.5 veya % 50.5), gliserin (%1), lesitin (%0.25) ve sorbitol (%25) ilave edilerek 5 dakika karıştırılmıştır. Karıştırmayı kolaylaştırmak için karışım 70°C'deki fırına tekrar

5 dakika süreyle konulup tekrar dışarı alınarak homojen bir karışım elde etmek için 10 dakika süreyle daha karıştırılmıştır. Sonrasında elle şekil verilip analiz öncesine kadar ağzı kapalı kapta oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Sakızların renk özelliklerinin saptanması

Sakız numunelerinin renk parametreleri, kolorimetre (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla L* (açıklık-koyuluk), a* (kırmızı-yeşil), b* (sarı-mavi) değerleri saptanmıştır.

Sakızların tekstür özelliklerinin saptanması

Numunelerin dokusal özellikleri, 5 kg yük hücresi ile donatılmış tekstür analiz cihazı (TA.HD Plus, Stable Micro sistemleri, Godalming, İngiltere) kullanılarak tespit edilmiştir. Analiz için silindirik P/2 probu (2 mm çap) kullanılmıştır. 2 gramlık küp şeklinde kalıba sokulan sakız örneklerinde iki kez prob bastırılıp çekilme deneyi uygulanmış ve ön test, test ve son test hızları sırasıyla 1mm/s, 5mm/s ve 5mm/s olarak ayarlanmıştır.

Sakızların duyu özelliklerinin saptanması

Numunelerin duyu parametreleri (görünüm, çiğneme, yapışkanlık, alg tadı, genel kabul

edilebilirlik) on panelist tarafından değerlendirilmiştir. Eğitimli panelistler farklı konsantrasyonlarda farklı mikroalg kaynaklarının eklenmesiyle oluşan örnekler arasında su ve kraker tüketmiş ve faktörlerin duyu özellikler üzerindeki etkilerini değerlendirmede hedonik test (1-5) kullanılmıştır.

İstatistiksel Analiz Yöntemi

Mikroalg katılmış sakızların renk, tekstür ve duyu özelliklerinde türün ve konsantrasyonun etkilerinin istatistiksel açıdan anlamlı olup olmadığı ANOVA analizi (MINITAB-16) uygulanarak bulunmuştur ($P < 0.05$).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Sakız kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda, genel olarak renk özellikleri, özellikle Time-Intensity tekniği olmak üzere, duyu analiz ile incelenmiştir (McGowan vd., 2005). Mikroalgler içeren sakızların renk özelliklerinin enstrümental yöntemler ile incelendiği bir çalışma ile karşılaşılmamıştır. Her üç mikroalg türünü içeren sakız örneklerinde, örneklerin elde edilmesini takiben, CIE-Lab tekniği kullanılarak L* (siyahlık-beyazlık), a* (kırmızı-yeşil) ve b* (sarı-mavi) renk özellikleri belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Farklı konsantrasyonlarda mikroalg türü içeren sakız örneklerinin renk parametreleri
Table 1. Color parameters of chewing gum containing microalgae at different concentrations

Mikroalg çeşidi ve konsantrasyonu <i>Microalgae type and concentration</i>	L*	a*	b*
Kontrol (<i>Control</i>)	83.2±0.5 ^a	3.9±0.1 ^a	5.6±0.3 ^d
<i>Nannochloropsis sp.</i> %1	60±1 ^b	-5±0.1 ^b	8±1 ^c
<i>Nannochloropsis sp.</i> %3	40±2 ^c	-6±0.2 ^c	7±1 ^c
<i>Isobrysis galbana</i> %1	52±5 ^b	-20±0.2 ^g	34±2 ^a
<i>Isobrysis galbana</i> %3	20±2 ^d	-7.6±0.1 ^d	6.4±0.9 ^{cd}
<i>Tetraselmis sp.</i> %1	60±1 ^b	-10±0.4 ^e	17±1 ^b
<i>Tetraselmis sp.</i> %3	20±1 ^d	-18±0.2 ^f	6±1 ^{cd}

Değerler yanındaki farklı harfler önemli değişim olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$). L*; açıklık. a*; ±kırmızı-yeşil. b*; ±sarı-mavi.

Different superscript lowercase and uppercase letters show the significant differences between the samples ($P < 0.05$). L*; brightness. a*; ±red-green. b*; ±yellow-blue.

Genel olarak bakıldığında, sakız model ürününe yeşil tonlarında renk verilebilmesi kapsamında yürütülen bu çalışmanın başarılı olduğu görülmüştür. Çünkü kontrol örneğine katılmış her bir mikroalg türünün ve konsantrasyon oranlarının yeşil renkle alakalı olan a^* değerini istatistiksel açıdan önemli şekilde değiştirdiği gözlenmiş ($P < 0.05$) ve birbirinden farklı tonda yeşil renkli sakızlar elde edilmiştir. a^* değeri kontrolde 3.9 olmakla beraber mikroalg ilaveleriyle -5 ila -20 arasında değişmiştir.

Örneklerde, her bir mikroalg türü için kullanım miktarının artışı ile birlikte beyazlığın (L^*) azaldığı ve kararmanın/koyulaşmanın başladığı görülmüştür ($P < 0.05$). Bu durum ürünün tüketiciler nezdindeki algısını olumsuz yönde etkileyebilecek bir değişimdir.

Isochrysis galbana türü için, kullanım düzeyi artışı hedeflenen ve beklenen yeşil renk açısından dezavantaj yaratmıştır. Çünkü bu artış ile birlikte a^* değeri -20'den -7.6'ya yükselmiştir ($P < 0.05$). Ancak, *Nannochloropsis sp.* ve *Tetraselmis sp.* türlerinde a^* değeri konsantrasyonla beraber düşüş göstermiştir. Tüm türlerin %1 ilavesinde kontrol örneğine göre b^* değerlerinde önemli bir artış gözlenmiş (5.6'dan 34'e) ve yeşil-sarı tonlu örnekler elde edilmiştir. Fakat mikroalglerden %3

ilave edilmesiyle b^* değerleri *Nannochloropsis sp.* türü hariç düşüş göstermiştir ($P < 0.05$). Bu durum, sakız örneklerinde saf yeşil renk elde edilmesi açısından avantaj sağlayabilir.

Avrupa Birliği'nde tüketicilerin %46'sının nane, %24'ünün ise nane ve meyve karışımı aromaya sahip sakızları tercih etmektedirler (Hearty vd., 2014). Bu aromaların en çok ilişkilendirildiği renkler arasında ise yeşil renk bulunmaktadır. Elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, çalışılan türlerin sakıza farklı tonlarda yeşil renk kazandırmada başarılı olduğu ve bu amaçla kullanılacak doğal bir alternatif doğal renklendirici olduğu görülmüştür.

Sakız, ağızda en uzun süre kalan gıda ürünü olarak tanımlanabilir. Bu nedenle, sakız kalitesinin incelenmesinde dikkate alınması gereken en önemli parametrelerden birisi, tekstür olarak belirtilebilir. Ancak Tekstür Profil Analizi (TPA) gibi enstrümental yöntemler ile sakız tekstür özelliklerinin incelendiği çalışma sayısı sınırlıdır. Farklı düzeylerde (%1-%3) mikroalg biyomasları kullanılarak renklendirilen sakız örneklerinde gerçekleştirilen tekstür profil analizi ile, buna ait parametrelerden sertlik, yapışkanlık, esneklik, bağlılık, çiğnenebilirlik ve elastiklik özellikleri belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Farklı konsantrasyonlarda mikroalg türü içeren sakız örneklerinin tekstür parametreleri
Table 2. Textural properties of chewing gum containing microalgae at different concentrations

Mikroalg çeşidi ve Konsantrasyonu <i>Microalgae type and concentration</i>	Sertlik (g) <i>Hardness</i>	Yapışkanlık (J) <i>Adhesiveness</i>	Esneklik <i>Springiness</i>	Bağlılık <i>Cohesiveness</i>	Çiğnenebilirlik (g) <i>Chewiness</i>	Elastiklik <i>Resilience</i>
Kontrol (Control)	246±44 ^c	-236±88 ^{ab}	0.83±0.25 ^a	0.39±0.18 ^{ab}	83±47 ^a	0.017±0.001 ^{ab}
<i>Nannochloropsis sp.</i> %1	273±32 ^{bc}	-310±94 ^b	0.91±0.11 ^a	0.40±0.11 ^{ab}	81±57 ^a	0.016±0.001 ^{abc}
<i>Nannochloropsis sp.</i> %3	332±54 ^{ab}	-234±106 ^{ab}	0.79±0.06 ^a	0.30±0.08 ^b	71±46 ^a	0.014±0.001 ^{cd}
<i>Isochrysis galbana</i> %1	116±9 ^d	-204±34 ^{ab}	0.98±0.02 ^a	0.49±0.05 ^a	56±5 ^a	0.017±0.001 ^{ab}
<i>Isochrysis galbana</i> %3	113±8 ^d	-144±21 ^a	0.87±0.1 ^a	0.41±0.07 ^{ab}	40±8 ^a	0.012±0.002 ^d
<i>Tetraselmis sp.</i> %1	258±30 ^{bc}	-322±62 ^b	0.92±0.09 ^a	0.41±0.08 ^{ab}	66±50 ^a	0.018±0.001 ^a
<i>Tetraselmis sp.</i> %3	356±63 ^a	-320±37 ^b	0.88±0.08 ^a	0.37±0.06 ^{ab}	95±43 ^a	0.015±0.001 ^{bc}

Değerler yanındaki farklı harfler önemli değişim olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

Different superscript lowercase and uppercase letters show the significant differences between the samples ($P < 0.05$).

Isochrysis galbana türü hariç diğer türlerin kullanımı sakızın sertlik değerini önemli ölçüde arttırmış ve konsantrasyon arttıkça sertlik değeri daha fazla artış göstermiştir ($P < 0.05$). *Isochrysis galbana* türü ilavesi ise kontrol sakız örneğinin sertlik değerini önemli ölçüde azaltmıştır (246 g'dan 113 g'a) fakat konsantrasyonun %1'den %3'e çıkması sertlik değerini etkilememiştir ($P < 0.05$). Sakız örneklerinde yapışkanlık parametresi ele alındığında yalnızca %3 oranında *Isochrysis galbana* türü içeren sakız örneklerinde yapışkanlık düşmüş diğer örneklerde önemli bir değişim olmamıştır ($P < 0.05$). Elastiklik özelliği için örnekler arasında farklılık olsa da ($P < 0.05$), oldukça dar bir aralıkta (0.012-0.018) değişim göstermesi nedeni ile ihmal edilebilir olarak kabul edilmiştir. Tekstürel analiz sonucuna ait diğer parametrelerden esneklik ve çiğnenebilirlik değerlerinde mikroalg tür ve kullanım oranının önemli bir değişime sebep olmadığı gözlenmiştir ($P < 0.05$). Bu da sakız tekstürünü etkilemeden renklendirme işleminin sağlanması açısından olumlu bir özellik olarak yorumlanmıştır.

Tüm örnekler için sertlik değerlerinin, daha önceki çalışmalarda belirlenen sakız sertlik değerlerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Santos vd., 2014). Tüketici kabul edilebilirliği ve kalite açısından bu olumlu bir durumdur. Çünkü düşük sertliğe sahip olan sakızlar tüketiciler tarafından daha olumlu olarak değerlendirilmektedirler (McGowan vd., 2005). Aynı şekilde çiğnenebilirlik değerleri de tüm örneklerde düşük düzeydedir (40-95 g). Düşük çiğnenebilirlik değerleri, sakızların çiğnenmesi sırasında düşük enerji gereksinimi nedeni ile avantaj sağlayabilir.

Bir gıda matrisinin yapısını oluşturan iç bağların gücünün göstergesi olan bağlılık, sakız için daha önceki çalışmalarda 0.86'nın altında belirlenmiş olup (Santos vd., 2014), bu çalışmada ise daha düşük değerler (0.30-0.49) tespit edilmiştir. Düşük bağlılık değerlerinin, sakız matrisinde yer alan ve ağızdaki proses sırasında salınımı istenen bileşiklerin serbest kalması için avantaj yaratabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak tekstürel parametrelerdeki değişimler dikkate alındığında tüm mikroalg türlerinin renklendirici olarak kullanımının sakız tekstürü açısından olumsuz bir durum meydana getirmediği görülmektedir.

Çalışmamızda farklı düzeylerde mikroalg türü kullanımının sakızların duyu özellikleri üzerine etkisi de incelenmiştir (Çizelge 3). Genel olarak bakıldığında görünüm açısından *Isochrysis galbana* türü haricindeki mikroalg ilaveleri her kullanım düzeyinde kontrol örneğine yakın beğeni kazanmıştır ($P < 0.05$). Duyusal yapışkanlık değeri, enstrümental yapışkanlık analiz sonuçlarına uygun olarak %3 *Isochrysis galbana* türü için en düşük puanlamayı almıştır. Gıdalarda mikroalg kullanımını duyu açıdan olumsuz etkileyecek en önemli parametre yosunumsu tattır. Bu değere bakıldığında kontrol örneğine en yakın sakız örnekleri %1 *Nannochloropsis sp.* ve *Tetraselmis sp.* türleri içeren sakızlar olmuştur. *Isochrysis galbana* türü için bütün kullanım oranlarında, diğer türlerde ise %3 kullanım oranlarında şiddetli yosun tadı hissedilmiştir. Bu durum genel beğeni etkilemiş ve en çok %1 oranında *Nannochloropsis sp.* ve *Tetraselmis sp.* türleri içeren sakızlar tercih edilmiştir.

Çizelge 3. Farklı konsantrasyonlarda mikroalg türü içeren sakız örneklerinin duyu özellikleri

Table 3. Sensory properties of chewing gum containing microalgae at different concentrations

Mikroalg çeşidi ve konsantrasyonu <i>Microalgae type and concentration</i>	Görünüm <i>Appearance</i>	Çiğnenebilirlik <i>Chewiness</i>	Yapışkanlık <i>Adhesiveness</i>	Yosun tadı <i>Algal Taste</i>	Genel beğeni <i>Overall acceptability</i>
Kontrol (<i>Control</i>)	4.8±0.4 ^a	4.6±0.5 ^{ab}	4.6±0.5 ^a	1±0 ^b	4.9±0.2 ^a
<i>Nannochloropsis sp.</i> %1	4.2±0.4 ^{ab}	4.2±0.4 ^{ab}	4.4±0.5 ^a	1.4±0.5 ^b	4.2±0.8 ^a
<i>Nannochloropsis sp.</i> %3	3.8±0.4 ^{abc}	3.6±0.5 ^{abc}	4.3±0.7 ^a	3.8±0.4 ^a	3±1 ^{ab}
<i>Isochrysis galbana</i> %1	3.2±0.8 ^{bc}	3.4±0.5 ^{bc}	4±1 ^{ab}	4.0±0.7 ^a	3±1 ^{ab}
<i>Isochrysis galbana</i> %3	2.5±1 ^c	3±1 ^c	2.8±0.8 ^b	4.8±0.4 ^a	1.8±1.5 ^b
<i>Tetraselmis sp.</i> %1	4.4±0.5 ^{ab}	4.8±0.4 ^a	4.4±0.5 ^a	1.4±0.5 ^b	4.5±0.5 ^a
<i>Tetraselmis sp.</i> %3	4±0.7 ^{ab}	3.8±0.4 ^{abc}	4.4±0 ^a	4.6±0.5 ^a	2.8±0.8 ^{ab}

Değerler yanındaki farklı harfler önemli değişim olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

Different superscript lowercase letters show the significant differences between the samples ($P < 0.05$).

KAYNAKLAR

- Batista, A.P., Nunes, M.C., Fradinho, P., Gouveia, L., Sousa, I., Raymundo, A., Franco, J.M. (2012). Novel foods with microalgal ingredients effect of gel setting conditions on the linear viscoelasticity of *Spirulina* and *Haematococcus* gels. *J Food Eng*, 110: 182-189.
- Chranioti, C., Nikoloudaki, A., Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in chewing gum system. *Carbohydr Polym*, 127: 252-263.
- Dufossé, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S.M., Blanc, P., Murthy, K.N.C., Ravishankar, G.A. (2005). Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality?. *Trends Food Sci Technol*, 16: 389-406.
- Fradique, M., Batista, A.P. Nunes, M.C., Gouveia, L., Bandarra, N.M., Raymundo A. (2010). *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass incorporation in pasta products. *J Sci Food Agric*, 90: 1656-1664.
- Gouveia, L., Batista, A.P., Raymundo, A., Sousa, I., Empis J. (2006). *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. *Eur Food Res Technol*, 222: 362-367.
- Gouveia, L., Coutinho, C., Mendonça, E., Batista, A.P., Sousa, I., Bandarra, N.M., Raymundo A. (2008). Sweet biscuits with *Isochrysis galbana* microalga biomass as a functional ingredient. *J Sci Food Agric*, 88: 891-896.
- Hearty, A., Lau, A., Roberts, A. (2014). Chewing gum intake in Europe: a survey of intakes in France, Germany, Italy, Spain and the UK. *Food Addit Contam: Part A*, 31(7): 1147-1157.
- Inomata, N. Osuna, H., Fujita, H., Ogawa, T., Ikezawa Z. (2006). Multiple chemical sensitivities following intolerance to azo dye in sweets in a 5-year-old girl. *Allergologia Int*, 55(2): 203-205.
- Konar, N., Toker, O.S., Palabiyik, I. Sagdic, O. (2016). Chewing Gum: Production, Quality Parameters and Opportunities for Delivering Bioactive Compounds. *Trends Food Sci Technol*, 55:29-38.
- McGowan, B. A., Padua, G. W., & Lee, S.-Y. (2005). Formulation of corn zein chewing gum and evaluation of sensory properties by the time-intensity method. *J Food Sci*, 70(7): 475-481.
- Potineni, R. V., Peterson, D. G. (2008). Mechanisms of flavor release in chewing gum: Cinnamaldehyde. *J Agr Food Chem*, 56: 3260-3267.
- Robertson, R.C., Mateo, M.R.G., O'Grady, M.N., Guihéneuf, F., Stengel, D.B., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Kerry, J.P., Stanton, C. (2016). An assessment of the techno-functional and sensory properties of yoghurt fortified with a lipid extract from the microalga. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 37: 237-246.
- Santos, M. G., Carpinteiro, D. A., Thomazini, M., Rocha-Selmi, G. A., da Cruz, A. G., Rodrigues, C. E. C., Favaro-Trindade, C. S. (2014). Coencapsulation of xylitol and menthol by double emulsion followed by complex coacervation and microcapsule application in chewin gum. *Food Res Int*, 66: 454-462.
- Sasaki, Y., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K. (2002). The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. *Mutat Res*, 519(1): 103-119.



**INVESTIGATING THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND
IN VITRO BIOACCESSIBILITY OF PHENOLICS AND ANTIOXIDANT
CAPACITY OF ROOIBOS HERBAL TEA BEVERAGE**

Senem Suna*

University of Uludag, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Bursa, Turkey

Received / Geliş: 07.06.2017; Accepted / Kabul: 25.09.2017; Published online / Online baskı: 15.11.2017

Suna, S. (2017). Investigating the physicochemical properties and in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of rooibos herbal tea beverage. *GIDA* (2017) 42 (6): 682-692 doi: 10.15237/gida.GD17050

ABSTRACT

In this research, production of novel beverages was planned and evaluation of physicochemical properties, total phenolics, antioxidant capacity, and bioaccessibility of products were aimed. Accordingly, 1% rooibos extract, citric and ascorbic acids, natural lemon flavor were added all types of beverages. Sucrose, agave, aspartame and acesulfame-K were respectively added to the beverages coded as RS, RA and RSW. Mixtures were plate filtered, filled into 200 mL glass bottles and pasteurized at 98 °C for 15 min. Total phenolic content and antioxidant capacity with FRAP, CUPRAC and DPPH assays were determined in beverages and rooibos extract. An *in vitro* model simulating gastrointestinal (GI) digestion system was also adapted to assess the bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity. Total phenolics were determined more bioaccessible in RS (405.02±4.57 mg GAE/100 mL) while the highest bioaccessibilities of antioxidant capacity was obtained from RA with CUPRAC (7.19%) and FRAP (1.82%) resulting with the highest functionality.

Key words: Rooibos, herbal tea beverage, bioaccessibility, antioxidant capacity

**ROOİBOS ÇAYI İÇECEĞİNİN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ
İLE FENOLİK MADDE VE ANTIÖKSİDAN KAPASİTE YÖNÜNDEN
BİYOALINABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZ

Bu çalışmada yeni içecek çeşitlerinin üretilmesi ve bu ürünlerin fizikokimyasal bileşimlerinin yanı sıra, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasiteleri ile biyoalınabilirliklerinin ortaya konulması hedeflenmiştir. Bu amaçla içerisinde %1 rooibos ekstraktı bulunan içeceklerin her birine, sitrik ve askorbik asit ile doğal limon aroması eklenmiştir. Ayrıca RS, RA ve RSW olarak kodlanan içeceklere sırasıyla sükröz, agave, aspartam ve asesülfam-K ilave edilmiştir. Karışımlar plakalı filtreden geçirilerek, 200 mL'lik cam şişelere doldurulmuş, taç kapakla kapatılmış ve 98°C'de 15 dk pastörize edilmiştir. İçecek çeşitleri ve rooibos ekstraktında toplam fenolik madde analizi yapılmış, antioksidan kapasiteleri ise FRAP, CUPRAC ve DPPH yöntemleri ile tayin edilmiştir. Bununla birlikte, toplam fenollerin ve antioksidan kapasitenin biyoalınabilirliklerinin belirlenmesi için *in vitro* sindirim modeli uygulanmıştır. Toplam fenollerin biyoalınabilirliği RS içeceğinde en yüksek olarak saptanırken (405.02±4.57 mg GAE/100 mL), antioksidan özellik gösteren bileşenlerin biyoalınabilirliği %7.19 (CUPRAC) ve %1.82 (FRAP) oranları ile en yüksek olarak RA örneğinden elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Rooibos, bitki çayı içeceği, biyoalınabilirlik, antioksidan kapasite

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ syonak@uludag.edu.tr

☎ (+90) 224 294 1492

☎ (+90) 224 294 1402

INTRODUCTION

Natural herbal extracts have gained importance due to their bioactive components in functional beverages. Between the herbs marketed worldwide, rooibos has taken attention with its consumption as an ingredient in ready to drink beverages and a quantity of food products like ice tea, yoghurt, instant cappuccino and bread (Joubert and de Beer, 2011). Rooibos (*Aspalathus linearis* (Burm.f.) R.Dahlgren) is an endemic South African plant which is cultivated mainly for herbal tea production. Rooibos has been marketed especially in Germany, the Netherlands, the United Kingdom, the United States of America and Japan (Walters et al., 2017). Caffeine-free and anti-ageing properties played an important role on its distribution around the world. Health beneficial effects of rooibos were reported for the abatement of allergies, asthma, infantile colic and dermatologic disorders (Joubert et al., 2008). Additionally, beneficial effects of rooibos especially its anti-diabetic properties is focused on its major flavonoid dihydrochalcone aspalathin. While fresh leaves of rooibos contain polyphenols as flavanols, dihydrochalcones and aspalathin, processed leaves and stem include benzoic and cinnamic acid (Muller et al., 2016). Additionally, anti-cancer properties of rooibos demonstrated in rat liver, oesophagus, and skin carcinogenesis models, have been attributed to their polyphenolic compounds (Marnewick et al., 2009; Sissing et al., 2011).

As it is known, health effects of polyphenols depend on the consumed amount and their bioaccessibility, which is defined as the amount of an ingested food constituent that is available for absorption in the gut after digestion (Palafox-Carlos et al., 2011). In this point, it is necessary to know the bioaccessibility of antioxidants because phytochemicals must be previously available to exert their biological activities (Costa et al., 2014). There is very limited information about the bioaccessibility changes of phenolics and antioxidant capacity of herbs or herbal drinks.

Tea is traditionally prepared by brewing the fresh or dried leaves, stems, roots or seeds with boiled water or using ready to infuse commercial tea

bags. However, brewing methods and parameters of plant species differ from each other and improper applications might minimize the expected benefits and lead to deleterious health effects. The main objective of this study was to produce novel herbal tea beverages to benefit from the nutritional and functional properties of rooibos. Together with physicochemical properties, bioaccessibilities of total phenolic content and antioxidant capacity of the beverages were investigated. Moreover, standardizing the production process of a new functional rooibos herbal tea beverage, preventing the mistakes applied in traditional techniques and producing a microbiologically safe value added product were aimed.

MATERIAL AND METHOD

Chemicals

All reagents used were in analytical grade. TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) and bile salts were purchased from Fluka (Switzerland). Trolox ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), neocuproine (2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline), DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl), methanol, sodium carbonate, gallic acid, oxalic acid and sodium hydroxide were purchased from Sigma Aldrich (Germany). Pepsin, pancreatin, iron (III) chloride hexahydrate, Folin-Ciocalteu reagent, 2,6-dichlorophenol indophenol, copper (II) chloride, ammonium acetate and hydrochloric acid were supplied from Merck (Germany).

Materials

Rooibos (*Aspalathus linearis*) leaves were purchased from an importer company in dried form. Natural lemon flavor was obtained from Aromsa Company (Kocaeli, Turkey) and organic agave syrup (The LifeCo) was acquired from market.

Methods

Production of herbal tea beverages

Herbal tea beverages were produced in a pilot scale. Initially, 1% plant material placed in a synthetic cloth bag was infused with boiling water. Then the obtained extract was cooled down to room temperature, used as the main ingredient of

the beverages and coded as RE (Rooibos extract). RE, citric acid, ascorbic acid and natural lemon flavor were added to all types of the beverages differing from the addition of sucrose for the beverage coded as RS (Sucrose added herbal tea beverage), natural sweetener agave for RA (Agave added herbal tea beverage) and aspartame and acesulfame-K for RSW (Sweetener added herbal tea beverage). Mixtures were then plate filtered (Plate filter 60X60 CFP, Zambelli Enotech, Italy), filled into 200 mL glass bottles and pasteurized at 98 °C for 15 min after sealing with crown caps. Pasteurization was chosen as the conservation method according to the beverages pH value (3.42-3.55). In general for acidic products, pH < 4.5, pathogenic organisms do not cause a problem and only a mild heat treatment is required for stabilising the product (Richardson, 2004). Afterwards, bottles were cooled and stored at room temperature until analyzed. Taste and flavor balance were taken into consideration in the recipes of the beverages. Moreover, for RSW, substituted aspartame and acesulfame-K in the place of sugar were calculated according to the sweetness value of the sweeteners. The quantities of the ingredients used in beverage production could not be given because the products are patented (2012/09534).

ANALYSES

Determination of some physical and chemical properties of herbal tea beverages

Dry matter content of dried rooibos leaves was determined by oven drying method while RA-500 model KEM refractometer was used for the determination of total soluble solid content (brix) (AOAC, 1990). The pH was measured by using a Sevencompact pH/Ion Mettler Toledo pH meter and titratable acidity was determined with potentiometric method (Cemeroğlu, 2007). Shimadzu UV 1208 model spectrophotometer was used for the determination of ascorbic acid content, which was determined by using a 2,6 dichlorophenol indophenol dye (Cemeroğlu, 2007). The color of the beverages were measured by using a HunterLab Colour Analyzer (MSEZ4500L; HunterLab, Virginia, USA) and expressed as L^* , a^* and b^* values (Bakker et al.,

1986). All analyses were performed in three replicates

In vitro digestion procedure

In order to assess the functional properties of the beverages, water extracts and physiological extracts were investigated for the determination of antioxidative capacity and total phenolic content. Due to the fact that, beverages were produced from rooibos extract (RE), which was obtained with the infusion of dried plant material in water, analyzed amounts were taken directly from RE and the beverages (RS, RA, RSW) for water extracts (Sengul et al., 2014). This method was chosen to support gastrointestinal digestion. Additionally, extracts obtained by an *in vitro* digestion method (physiological extract) were used for the determination of the same analyses. Bioaccessibility was also calculated as the percentage of total phenolic content and antioxidant capacity (Vitali et al., 2009). For the determination of physiological extracts, an *in vitro* digestion enzymatic extraction method that mimics the conditions in the gastrointestinal tract was used as described by Glahn et al. (1998) with slight modifications. Briefly, 10 mL of distilled water and 0.5 mL of pepsin (20 g/L in 0.1 mol/L HCl) were added to 1 mL of sample, pH was adjusted to 2 by using 5 mol/L HCl and sample was incubated at 37°C in a shaking water bath for 1 h. Simulation of gastric digestion was stopped by the addition of 1 M NaHCO₃ (to adjust pH to 7.2). 2.5 mL of bile/pancreatin solution (2 g/L of pancreatin and 12 g/L of bile salt in 0.1 M NaHCO₃) and 2.5 mL of NaCl/KCl (120 mmol/L NaCl and 5 mmol/L KCl) were added to the sample and simulation of intestinal digestion was conducted for the following 2 h. Samples were centrifuged at 3500 rpm for 10 min and the supernatant was used for the analyses.

Determination of phenolic content

Folin-Ciocalteu spectrophotometric method was used for the determination of total phenolic content (Singleton and Rossi, 1965; Mahdavi et al., 2010). Gallic acid solution was used for the calibration of the standard curve ($R^2=0.9835$) and the results were expressed as gallic acid equivalents (GAE).

Determination of antioxidant capacity

For the determination of antioxidant capacity, many methods are developed and it is recommended to use several of them together in order to determine the *in vitro* available antioxidant capacity. The methods used in this research were 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay, ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay and cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay. Results of these assays were calculated as trolox equivalent and given as “ $\mu\text{mol trolox/mL}$ ”.

DPPH assay of total antioxidant capacity

Antioxidant capacity of herbal tea beverages was measured using a modified version of the Katalinic et al. (2006). Firstly, 0.1 mL sample was added to 3.9 mL of 6×10^{-5} M methanolic solution of DPPH radical and vortexed (Vortex Mixer Classic, Velp Scientifica, Italia) for 15-30 s. The reaction was allowed to proceed in the dark at room temperature for 30 min, and the absorbance was then measured at 515 nm. A trolox calibration curve ($R^2=0.9974$) was conducted by measuring the reduction in absorbance of the DPPH solution.

FRAP assay of total antioxidant capacity

According to Benzie and Strain (1996), 3 mL of daily prepared FRAP reagent (incubated at 37°C) was mixed with 300 μL of distilled water and 100 μL of the test sample. Then samples were incubated at 37°C for 30 min. At the end of incubation, absorbance was measured immediately at 595 nm. The FRAP reagent was prepared by mixing 25 mL of 0.3 mol L^{-1} acetate buffer (pH 3.6), 2.5 mL of 20 mmol L^{-1} $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ and 2.5 mL 10 mmol L^{-1} TPTZ solution in 40 mmol L^{-1} HCl. A trolox calibration curve ($R^2=0.9896$) was used for expressing the results.

CUPRAC assay of total antioxidant capacity

Estimation of cupric ion reducing antioxidant capacity was conducted according to the method of Apak et al. (2008). 1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2^+ + 1 mL 7.5×10^{-3} M neocuproine + 1 mL 1 M NH_4Ac were added to $x \text{ mL } 10^{-3}$ M antioxidant neutral solution + $(1-x) \text{ H}_2\text{O:VT} = 4 \text{ mL}$; and the final absorbance was measured at 450 nm after 30 min

Calculation of antioxidant capacity was done as trolox equivalents ($R^2=0.9987$).

Sensory analyses

Herbal tea beverages were organoleptically evaluated for their quality attributes, such as colour, odour, appearance and taste by using a ranking test with 6 panelists (Altuğ and Elmacı, 2011). Panelists granted points to the samples from the best preferred to least preferred beverage. Due to number of the panelists and the beverages, samples were statistically evaluated. According to this method, the sample taken below 8 point was accepted as preferred, above 16 point were accepted as rejected and when the sample was granted points between 8-16, this means there was no significant difference ($P<0.05$).

Statistical analysis

The experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. The results were statistically evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) using the JMP software package version 6.0 (SAS Institute Inc. NC, 27513). When significant differences were found ($P < 0.05$), the Least Significant Difference (LSD) test was used to determine the differences among means.

RESULTS AND DISCUSSION**Physicochemical properties**

Dry matter content of dried rooibos leaves was measured as $92.87 \pm 0.04 \text{ g/100g}$ (7.13 g/100g as moisture). This result was appropriate according to Turkish Standards Institution limits which were subjected as maximum 10 g/100g moisture for dried herbs (Anonymous, 2014).

Physicochemical properties of RE was determined as $0.09 \pm 0.00 \text{ g/100g}$ for total soluble solid content, 7.63 ± 0.02 for pH, $0.77 \pm 0.10 \text{ mg/100mL}$ for ascorbic acid content and 0.00 g/100mL for titratable acidity. Color of the RE was recorded as 1.32 ± 0.01 , 7.65 ± 0.04 and 2.28 ± 0.02 respectively for L^* , a^* and b^* values. Physicochemical properties of the beverages were shown in Table 1. All data in tables are expressed as means \pm standard deviations ($n = 3$).

Table 1. Physicochemical properties of rooibos herbal tea beverages

Sample	Total soluble solid content (g/100g)	Titratable acidity (g/100mL)**	pH	Ascorbic acid (mg/100mL)	Color		
					<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *
RS	4.03±0.05 ^a	0.06±0.00	3.42±0.01 ^c	1.24±0.35 ^b	31.63±0.13 ^b	14.25±0.07 ^b	47.37±0.22 ^a
RA	3.16±0.05 ^b	0.06±0.00	3.55±0.01 ^a	1.12±0.62 ^b	26.16±0.11 ^c	17.25±0.07 ^a	42.53±0.14 ^b
RSW	0.12±0.02 ^c	0.06±0.00	3.52±0.01 ^b	2.59±0.27 ^a	33.30±0.02 ^a	12.70±0.01 ^c	47.16±0.02 ^a

** : Citric acid

Mean values within a column with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$)

Data are expressed as means \pm standard deviations (n=3).

RS: sucrose added herbal tea beverage, RA: agave added herbal tea beverage, RSW: sweetener added herbal tea beverage

Total soluble solid content of RE was analysed as 0.09 g/100g. This value was determined as 4.03, 3.16 and 0.12 g/100g for RS, RA and RSW respectively, as the result of different sucrose amounts in formulations. Analysis results between total soluble solid content of the beverages were significantly different ($P < 0.05$).

Titratable acidity values of the beverages were adjusted after the analysis results of market survey in similar beverages. Titratable acidity of RE was analysed as 0.00 g/100mL whereas beverages titratable acidity were all determined 0.06 g/100mL which were not found significantly different ($P > 0.05$). İncedayı (2017) reported titratable acidity as 0.22 g/100mL in a carbonated linden herbal tea beverage which were found higher than our results because of the different formulation and the material.

pH of RE was analysed as 7.63 while this value ranged from 3.24 to 3.55 in in beverages as a result of acid addition to the formula ($P < 0.05$). Phelan and Rees (2003) determined similar pH values of some commercial tea beverages like blackcurrant, ginseng and vanilla as 3.45, echinacea and raspberry as 3.49 and traditional lemon as 3.69.

Ascorbic acid was added to the beverages as an antioxidant source and preservative with a contribution to the acidity (Kitchens and Owens,

2007; Riachi and De Maria, 2015). At the same time, it provided the formation of taste-flavor balance together with citric acid. Ascorbic acid content of RE was analysed as 0.77 mg/100 mL. As a result of ascorbic acid addition to the formula, ascorbic acid content of the beverages were found higher than RE, which was ranged from 1.12 to 2.59 mg/100 mL. The highest ascorbic acid content was determined in RSW with 2.59 mg/100 mL. Results of ascorbic acid analysis were found lower than the added amount and this reduction could be explained by the loss during heat treatment (Lešková et al. 2006). Costa et al. (2012) reported the ascorbic acid content as 7.20 mg/100 mL in a beverage prepared with 0.75% rooibos red tea leaves (*Aspalathus linearis*). As a result of the diversity in production method, our data was differed from this result. Additionally, the differences between the beverages were found significant ($P < 0.05$).

According to the results of the statistical analysis, the overall color parameters for the beverages were found significantly different ($P < 0.05$). The highest *L** (brightness), *a** (redness) and *b** (yellowness) values were determined from RSW, RA and RS beverages respectively. Color of RE was determined as 1.32, 7.65 and 2.28 for *L**, *a** and *b** values respectively.

Bioaccessibility of total phenolics

Phenolic compounds play an important role regarding antioxidant effects and defensive action in plants or the human body (Boo et al., 2012). But during GI digestion, polyphenols might either interact with other food constituents (e.g., chelation of ions), be further degraded (such as anthocyanins in the small intestine), or metabolized, such as by hydrolysis via deglycosylation or cleavage by esterases. These structural changes could affect both their further uptake and their bioactivity (Bouayed et al., 2011). Additionally, bioaccessibility of polyphenols are affected by the chemical composition of the food, its release from the food matrix, interactions with other food constituents and the presence of

suppressors or cofactors (Parada and Aguilera, 2007). Besides, it is revealed that, non extractable food polyphenols might become bioactive in human gut when it is released from the food matrix by the action of digestive enzymes in the small intestine and bacterial degradation in the large intestine (Jenner et al., 2005).

RE showed the highest total phenolic content with 14800.90 ± 123.77 mg GAE/100 mL, and 15926.30 ± 782.23 mg GAE/100 mL in physiological extract. Bioaccessibility of total phenolic content of RE was calculated 107.58% as the percentage of total phenolic content. Total phenolic contents and the bioaccessibilities of the beverages (RS, RA, RSW) were given in Table 2.

Table 2. Bioaccessibility of total phenolic contents of herbal tea beverages

Sample	TP (mg GAE*/100 mL)	TP Physiological extract (mg GAE*/100 mL)	TP Bioaccessibility (%)**
RS	371.08 ± 2.25^b	405.02 ± 4.57^b	109.15
RA	479.55 ± 2.90^b	504.12 ± 11.60^b	105.12
RSW	9419.76 ± 129.20^a	9038.84 ± 122.09^a	95.97

Mean values within a column with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$)

Data are expressed as means \pm standard deviations (n=3).

*GAE: gallic acid equivalent

**Bioaccessibility was calculated as the percentage of total phenolic content

RS: sucrose added herbal tea beverage, RA: agave added herbal tea beverage, RSW: sweetener added herbal tea beverage

Santos et al. (2016) studied the effects of different extraction time (5, 7.5, 10 min) and temperature (65°C, 75°C, 85°C) applications on total phenolics of red rooibos (*Aspalathus linearis*) and displayed the results between 1623 ± 151 mg GAE/100g for 65 °C 5 min and 2493 ± 114 mg GAE/100g for 85°C 10 min. Joubert and de Beer (2012) revealed total polyphenols of rooibos infusion as 25.78 ± 1.12 g GAE/100g soluble solids. Magcwebeba et al. (2016) reported total polyphenols of rooibos methanol and aqueous extracts as 35.07 ± 3.44 mg GAE/100 g and 25.05 ± 2.84 mg GAE/100 g extracts respectively.

Oh et al. (2013) also determined total phenolic content of the water extracts (5%) of rooibos as 38.66 mg GAE/g tea. Our results are in disagreement with literature data despite the

differences in extraction method and concentration. Among samples, RSW had the highest amount in total phenolics as a result of the higher amount of RE addition to the formula. However, the highest bioaccessibility ratio (109.15 ± 1.24) was obtained from RS.

Previous studies revealed *in vitro* increment of total phenolics, which is in agreement with our results. Henning et al. (2014) studied the effects of *in vitro* digestion on total phenolic content and antioxidant activity in some dietary supplements and determined the ratio of total phenolic content (mg GAE/L) of nondigested (water extracts) and digested extracts. They reported the total phenolics maintained after gastrointestinal digestion of resveratrol dietary supplement as 139.67 %. Related with our results, total

procyanidin and total flavone contents of the food and the digested samples were determined in a study respectively as 716-3191, 258-559 $\mu\text{g/g}$ for cocoa liquor and 376-870, 299-438 $\mu\text{g/g}$ for cocoa powder (Ortega et al., 2009). All of these results confirm that different formulations and then food matrix have an influence on the release of total phenols and, therefore, they affect the bioaccessible fraction.

Antioxidant capacity

Antioxidant capacity of RE was analysed with FRAP, CUPRAC and DPPH methods and

determined respectively as 44.53 ± 6.07 $\mu\text{mol trolox/mL}$, 11.75 ± 0.14 $\mu\text{mol trolox/mL}$ and 8.83 ± 0.07 $\mu\text{mol trolox/mL}$. For the physiological extracts, these values were recorded as 0.95 ± 0.10 $\mu\text{mol trolox/mL}$ and 0.70 ± 0.03 $\mu\text{mol trolox/mL}$ in FRAP and CUPRAC assays while it could not be analyzed in DPPH method. Correspondingly, bioaccessibility of the antioxidant capacity was calculated as 2.13% and 5.96% in FRAP and CUPRAC assays. Bioaccessibilities of the antioxidant capacity of the beverages (RS, RA, RSW) were also given in Table 3.

Table 3. Bioaccessibility of antioxidant capacities of herbal tea beverages

Sample	FRAP ($\mu\text{mol trolox/mL}$)	FRAP Physiological extract	FRAP Bioaccessibility (%)**	CUPRAC ($\mu\text{mol trolox/mL}$)	CUPRAC Physiological extract	CUPRAC Bioaccessibility (%)**	DPPH ($\mu\text{mol trolox/mL}$)*
RS	48.66 ± 11.30	0.71 ± 0.00^b	1.52 ± 0.37	6.90 ± 0.14^b	0.28 ± 0.01^b	4.05 ± 0.18	7.79 ± 0.75
RA	49.16 ± 8.31	0.87 ± 0.07^a	1.82 ± 0.45	8.53 ± 0.32^a	0.61 ± 0.13^a	7.19 ± 1.75	8.21 ± 0.33
RSW	49.71 ± 8.23	0.81 ± 0.10^{ab}	1.66 ± 0.33	6.89 ± 0.23^b	0.12 ± 0.03^b	1.73 ± 0.60	7.76 ± 0.59

Mean values within a column with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$)

Data are expressed as means \pm standard deviations ($n=3$).

* DPPH Bioaccessibility of the beverages could not be analyzed and shown in the table

**Bioaccessibility was calculated as the percentage of total antioxidant capacity

RS: sucrose added herbal tea beverage, RA: agave added herbal tea beverage, RSW: sweetener added herbal tea beverage

The different values obtained from the three assays are a consequence of the evidence that the test materials (i.e. DPPH, Cu^{2+} and Fe^{3+}) quenched/reduced by beverages react according to different mechanism and kinetics (Jeszka-Skowron et al., 2015). The differences between FRAP and DPPH antioxidant capacities were not found significant ($P > 0.05$) whereas results from CUPRAC assay were significantly different ($P < 0.05$) as presented in Table 3. Santos et al. (2016) determined antioxidant capacity of rooibos teas in the range between 63-73 % inhibition for DPPH and 2947-3380 mg ascorbic acid equivalent/100g for FRAP assays. Pellegrini et al. (2003) analysed antioxidant activity of some commercial beverages like ice tea, green tea, coffee (espresso) and expressed the results as 2.28, 6.01 and 36.54 mmol trolox/kg with TEAC and 7.43, 18.00 and 129.38 mmol Fe^{2+} /kg with FRAP methods. Joubert and de Beer (2012) reported total antioxidant capacity of rooibos infusion as

1777 ± 114 $\mu\text{mol trolox equivalents/g}$ soluble solids with DPPH method. According to the results of another study, FRAP antioxidant activity of methanolic and aqueous extracts were reported as 3.04 ± 0.19 mmol trolox equivalent/g and 2.24 ± 0.18 mmol trolox equivalent/g respectively (Magcwebeba et al., 2016). Our results were consistent with literature data.

Bioaccessibility of antioxidant capacities were determined higher in the order of CUPRAC (5.96%) and FRAP (2.13%) assays in RE. In accordance with these results, the highest bioaccessibility ratios were obtained from RA respectively in CUPRAC and FRAP assays (Table 3). Likewise, RA had the highest antioxidant capacity with 8.53 ± 0.32 $\mu\text{mol trolox/mL}$ and 8.21 ± 0.33 $\mu\text{mol trolox/mL}$ both in CUPRAC and DPPH assays (Table 3). A possible reason of varying bioaccessibility of antioxidant capacity values could be associated with several factors

related to the process conditions, chemical interactions with other phytochemicals, biomolecules present in the food and also the protocols used for the measurements (Parada and Aguilera, 2007). In agreement with our data, Henning et al. (2014) reported a 21.5% and 8.1% decrement of TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) in green tea and grape seed samples during *in vitro* simulated digestion. In another study, Değirmencioglu et al. (2016) concluded DPPH bioaccessibilities of fermented vegetable juices between 16-32%. In spite of the fact that polyphenols supply major antioxidant potency of the samples, our results displayed that digestion may alter antioxidant properties depending on the variations in polyphenol content (Henning et al., 2014). Besides it is known that, structural changes after gastrointestinal digestion affect both further polyphenol uptake and result in a significant loss of the antioxidant activity (Rodríguez-Roque et al., 2013).

Results of sensory analyses

The result of the sensorial analysis was depicted in Figure 1.

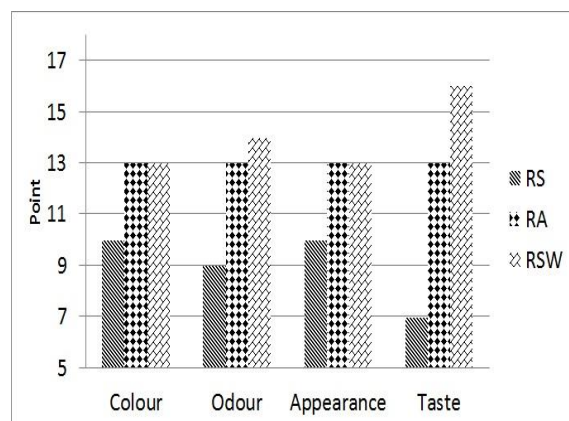


Figure 1. Sensorial properties of rooibos herbal tea beverages

Samples were tested for color (it should have typical rooibos tea colour), odour (it should have typical rooibos tea odour and not have any strange odor), appearance (it should be clear and not contain any particles) and taste (it should have typical rooibos tea taste and not have any strange taste). During the analysis, RE was served to the panelists to inform them about the typical properties of rooibos. There were no significant

differences in colour, odour and appearance values between samples. For taste criteria, RS was the most favorite one while RA and RSW were accepted by the panelists ($P < 0.05$).

CONCLUSION

According to the results of our study, agave added herbal tea beverage was thought to be the most nutritional and beneficial beverage among our products depending on the highest bioaccessibilities of antioxidant capacity determined with FRAP and CUPRAC assays and total antioxidant capacity analysed with DPPH method. Total phenolics were also found more bioaccessible in sugar added beverage. In overall evaluation, all of the samples were accepted by the panelists, supporting the goal of our study which is to produce novel and functional ready to drink herbal tea beverages.

Acknowledgement

Products in this study were patented by Turkish Patent Institute (2012/09534).

REFERENCES

- AOAC (1990). Official methods of analysis. Association of Official Analysis Chemists. Washington DC, USA.
- Altuğ, T., Elmacı, Y. (2011). *Gıdalarda Duyusal Değerlendirme*. 2. Baskı. Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 134 s. ISBN:978-9944-5660-8-7.
- Anonymous (2014). <https://www.tse.org.tr>, siyah çay, bitkisel çaylar, kahve, baharatlar, çeşni maddeleri ve gıda katkıları.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchim Acta*, 160: 413-419.
- Bakker, J., Bridle, P., Timberlake, C.F. (1986). Tristimulus measurements (CIELAB 76) of port wine colour. *Vitis*, 25: 67-78.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay, *Anal Biochem*, 239: 70-76.

- Boo, H.O., Hwang, S. J., Bae, C. S., Park, S. H., Heo, B.G., Gorinstein, S. (2012). Extraction and characterization of some natural plant pigments. *Ind Crops Prod*, 40: 129-135.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem*, 128: 14-21.
- Cemeroğlu, B. S. (2007). *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No. 34. Bizim Büro Basımevi, Ankara, Türkiye, 535 s. ISBN: 9759857868.
- Costa, P., Grevenstuk, T., Rosa da Costa, A. M., Gonçalves, S., Romano, A. (2014). Antioxidant and anti-cholinesterase activities of *Lavandula viridis* L'Hér extracts after *in vitro* gastrointestinal digestion. *Ind Crops Prod*, 55: 83-89.
- Costa, A.S.G., Nunes, M.A., Almeida I.M.C., Carvalho, M. R., Barroso, M.F., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P. (2012). Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds. *LWT - Food Sci Technol*, 49: 324-328.
- Değirmencioglu, N., Gürbüz, O., Şahan, Y. (2016). The monitoring, via an *in vitro* digestion system, of the bioactive content of vegetable juice fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. *J Food Process Proserv* 40: 798-811.
- Glahn, R.P., Lee, O.A., Yeung, A., Goldman, M.I., Miller, D.D. (1998). Caco-2 cell ferritin formation predicts nonradiolabeled food iron availability in an *in vitro* digestion/Caco-2 cell culture model. *J Nutr*, 128: 1555-1561.
- Henning, S. M., Zhang, Y., Rontoyanni, V. G., Huang, J., Lee, R., Trang, A., Nuernberger, G., Heber, D. (2014) Variability in the antioxidant activity of dietary supplements from pomegranate, milk thistle, green tea, grape seed, goji, and acai: effects of *in vitro* digestion. *J Agric Food Chem*, 62: 4313-4321.
- İncedayı, B. (2017). Gazlı ıhlamur çayı içeceğinin bazı özelliklerinin araştırılması. *GIDA* 42 (4): 355-363, doi: 10.15237/gida.GD17025.
- Jenner, A. M., Rafter, J., Halliwell, B. (2005). Human fecal water content of phenolics: The extent of colonic exposure to aromatic compounds, *Free Radical Biology & Medicine*, 38: 763-772.
- Jeszka-Skowron, M., Krawczyk, M., Zgola-Grześkowiak, A. (2015). Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *J Food Compos Analys*, 40: 70-77.
- Joubert, E., de Beer, D. (2012). Phenolic content and antioxidant activity of rooibos food ingredient extracts, *J Food Compos Analys*, 27: 45-51.
- Joubert, E., de Beer, D. (2011). Rooibos (*Aspalathus linearis*) beyond the farm gate: From herbal tea to potential phytopharmaceutical. *S Afr J Bot*, 77: 869-886.
- Joubert, E., Gelderblom, W. C .A., Louw, A., de Beer, D. (2008). South African herbal teas: *Aspalathus linearis*, *Cyclopia spp.* and *Athrixia phylicoides*: A review, *J Ethnopharmacol*, 119: 376-412.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*, 94(4): 550-557.
- Kitchens, M., Owens, B.M. (2007). Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high energy drinks, and bottled water on the *in vitro* erosion characteristics of dental enamel. *J ClinPediatr Dent*, 31: 153-159.
- Lešková, E., Kubíková, J., Kováčiková, E., Košická, M., Porubská, J., Holčíková, K. (2006). Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *J Food Compos Anal*, 19: 252-276.

- Magcwebeba T. U., Riedel, S., Swanevelder, S., Swart, P., De Beer D., Joubert, E., Gelderblom, W. C. A. (2016). The potential role of polyphenols in the modulation of skin cell viability by *Aspalathus linearis* and *Cyclopia* spp. Herbal tea extracts *in vitro*. *J Pharm Pharmacol*, 68: 1440-1453.
- Mahdavi, R., Nikniaz, Z., Rafrat, M., Jouyban, A. (2010). Determination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and commercial fruit juices. *Pakistan J Nutr*, 9 (10): 968-972.
- Marnewick J. L., van der Westhuizen, F. H., Joubert, E., Swanevelder, S., Swart, P., Gelderblom, W. C. A. (2009). Chemoprotective properties of rooibos (*Aspalathus linearis*), honeybush (*Cyclopia intermedia*) herbal and green and black (*Camellia sinensis*) teas against cancer promotion induced by fumonisin B1 in rat liver. *Food Chem Toxicol*, 47: 220-229.
- Muller, C. J. F., Malherbe, C. J., Chellan, N., Yagasaki, K., Miura, Y., Joubert, E. (2016). Potential of Rooibos, its Major C-Glucosyl Flavonoids and Z-2-(β -D-Glucopyranoloxo)-3-phenylpropenoic acid in Prevention of Metabolic Syndrome. *Critic Rev Food Sci Nutr*, doi: 10.1080/10408398.2016.1157568.
- Oh, J., Jo, H., Cho, A. R., Kim, S. J., Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. *Food Control*, 31(2): 403-409.
- Ortega N., Reguant, J., Romero, M. P., Macia, A., Motilva, M. J. (2009). Effect of fat content on the digestibility and bioaccessibility of cocoa polyphenol by an *in vitro* digestion model. *J. Agric Food Chem*, 57: 5743-5749.
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., Gonz'alez-Aguilar, G. A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *J Food Sci*, 76(1): 6-15.
- Parada, J., Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci*, 72: 21-32.
- Phelan, J., Rees, J. (2003). The erosive potential of some herbal teas. *Journal of Dentistry*, 31: 241-246.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salavatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J Nutr*, 133: 2812-2819.
- Riachi, L.G., De Maria, C.A.B. (2015). Peppermint antioxidants revisited. *Food Chem*, 176: 72-81.
- Richardson, P. (2004). *Improving the thermal processing of foods*. Woodhead, Cambridge. 507 p.
- Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Graü, M. A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. (2013). Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chem*, 136: 206-212.
- Santos, J. S., Deolindo, C. T. P., Esmerino, L. A., Genovese, M. A., Fujita, A., Marques, M. B., Rosso, N. D., Daguier, H., Valesse, A. C., Granato, D. (2016). Effects of time and extraction temperature on phenolic composition and functional properties of red rooibos (*Aspalathus linearis*) *Food Res Int*, 89: 476-487.
- Sengul, H., Sürek, E., Nilufer-Erdil, D. (2014). Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punica granatum*) phenolics and anthocyanins using an in-vitro gastrointestinal digestion model, *Food Res Int*, 62: 1069-1079.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16: 144-158.
- Sissing L, Marnewick J, de Kock M, Swanevelder S, Joubert E, Gelderblom W. (2011). Modulating effects of rooibos and honeybush herbal teas on the development of esophageal papillomas in rats, *Nutr Cancer*, 63(4): 600-10. doi: 10.1080/01635581.2011.539313.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J Agric Food Chem*, 46: 4113-4117.

Vitali, D., Dragojević, I. V., Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chem*, 114(4): 1462-1469.

Walters, N. A., de Villiers, A., Joubert, E., de Beer, D. (2017). Improved HPLC method for rooibos phenolics targeting changes due to fermentation, *J Food Compos Anal*, 55: 20-29.

TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TRADITIONAL PICKLES

Mehmet Tokatlı¹, Simel Bağder Elmacı², Nurdan Arslankoz İşleyen³, Filiz Özçelik^{2,*}

¹Gaziosmanpaşa University, Faculty of Natural Sciences and Engineering, Department of Food Engineering, Tokat, Turkey

²Ankara University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey

³Abant İzzet Baysal University, Yeniçağa Yaşar Çelik Vocational School, Bolu, Turkey

Received / Geliş: 05.11.2017; Accepted / Kabul: 13.11.2017; Published online / Online baskı: 16.11.2017

Tokatlı, M., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., Özçelik, F. (2017). Technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles, *GIDA* (2017) 42 (6): 693-707 doi: 10.15237/gida.GD17097

ABSTRACT

In order to select eligible strains as starter cultures for the production of pickles and other fermented vegetable products, the technological characterization of the 75 lactic acid bacteria (LAB) strains was performed on the basis of salt tolerance, growth at different pH values, acid production ability, enzymatic profile and biogenic amine production. The technological characterization revealed that, among the tested LAB species (*Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. namurensis*, *L. parabrevis*, *Pediococcus ethanolidurans*, *P. parvulus* and *Enterococcus casseliflavus*), *L. plantarum* species showed the most suitable characteristics. The investigated *L. plantarum* strains, except for one strain (MF219), could be considered as potential starter cultures because of their desirable properties of having high rate and extent of acidification, high tolerance to pH 4.0 and 10% NaCl, and non-production of biogenic amines. It was also important to note that the tested *P. ethanolidurans* strains showed high salt tolerance and acid production. Most of the tested strains shared similar enzymatic characteristics including absence of proteolytic and lipolytic activities, and presence of peptidase, glucosidase and galactosidase activities.

Keywords: Lactic acid bacteria, autochthonous, pickle, starter culture, technological property, enzymatic profile

GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ

ÖZ

Turşu ve diğer fermente sebze ürünleri için uygun starter kültür seçimi amacıyla, 75 adet laktik asit bakterisi (LAB) suşunun tuza dayanıklılık, farklı pH değerlerinde gelişme, asit üretim yeteneği, enzimatik profil ve biyojen amin üretimi gibi teknolojik özellikleri araştırılmıştır. Test edilen LAB türleri (*Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. namurensis*, *L. parabrevis*, *Pediococcus ethanolidurans*, *P. parvulus* and *Enterococcus casseliflavus*) arasında *L. plantarum* suşlarının en uygun teknolojik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bir suş (MF219) dışındaki tüm *L. plantarum* suşlarının, yüksek asit üretim hızı ve yetenekleri, pH 4.0 ve %10 NaCl'e karşı dayanıklılık ve biyojen amin üretmeme gibi, starter için arzulanan özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir. Çalışmada denenen *P. ethanolidurans* suşlarının yüksek tuz toleransına ve asit üretim yeteneğine sahip oldukları da belirlenmiştir. Deneme kapsamındaki LAB suşlarının peptidaz, glikozidaz ve galaktozidaz aktivitelerinin varlığı, proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin bulunmaması gibi, enzimatik aktivite yönünden benzer özelliklere sahip oldukları görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri, yerel; turşu, starter kültür, teknolojik özellik, enzimatik profili

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉fozcelik@ankara.edu.tr

☎ (+90) 312 203 3300 / 3608

☎ (+90) 312 317 8711

INTRODUCTION

Pickles refer, in the most general sense, to any vegetable or fruit that is stabilised with salt and lactic acid produced by lactic acid bacteria (LAB) (Hutkins, 2006; Çon and Karasu, 2009). Cucumbers, cabbages, green peppers, green tomatoes and carrots are the most common vegetables used for pickling in Turkey (Çetin, 2011; Kabak and Dobson, 2011). These plant-based substrates harbor not only LAB responsible for lactic fermentation, but also undesirable microbial communities that could cause several technological problems and product defects such as bloating, floating and softening (Hutkins, 2006; Wouters et al., 2013b). However, the harsh conditions of pickle environment, typically characterized by high concentrations of salt and organic acids and low pH (less than 4.5), are inhibitory to coliforms, pseudomonads, bacilli, clostridia, and other non-lactic acid bacteria, while favourable for lactic acid bacteria (Hutkins, 2006).

The manufacture of pickles still relies on a system of small and medium enterprises, with uncontrolled fermentation. The fermentation of pickles, in contrast to meat and dairy products, is a natural and spontaneous process that occurs on the raw material by the indigenous lactic flora (Hutkins, 2006; Bağder Elmacı et al., 2015). However, spontaneous fermentation can lead to variations in the sensory quality, the safety, and the stability of the final product, since the indigenous LAB flora varies depending on the quality of the raw material, temperature and harvesting conditions (Gardner et al., 2001; Bevilacqua et al., 2010). The main obstacles with regard to the application of starter cultures in fermented vegetables and fruits are the natural microbial succession that occurs during the course of fermentation and the inability to inactivate endogenous microbiota by pasteurization without causing adverse effects to the product texture (Josephsen and Jespersen, 2004; Wouters et al., 2013a,b). Nevertheless, the use of starter cultures for the production of fermented pickles is becoming increasingly necessary to ensure safety and to standardize product properties (Bonomo et al., 2008; Essid et al., 2009). It will also be of great interest if the

appropriate starter cultures are selected from indigenous LAB of traditional pickles, since these strains are more competitive and well adapted to stressful conditions of the pickle, in comparison with industrial bulk starters, often from various origins. In addition, because of their high metabolic capacities, they can beneficially affect product quality and safety, preserving the typical sensory quality of traditional fermented product (Bonomo et al., 2008; Beganović et al., 2014).

The selection of starter cultures for use in controlled fermentation of vegetables is based on several criteria, including minimum nutritional requirements, ability to grow at low temperatures, ability to ferment diverse carbohydrate substrates, ability to compete against wide array of organisms, ability to produce desirable flavor, rapid growth and acid production, tolerance to acids, low pH, salt and antimicrobial phenolics, resistance to bacteriophage, lack of pectinolytic activity, inability to produce dextrans or other polysaccharides and biogenic amines and minimum loss of viability during storage (Hutkins, 2006).

In Turkey, the use of starter culture in the production of pickles is not a common practice. In addition, only a few studies have attempted to study the selection of appropriate starter cultures for pickle fermentation (e.g., Çon and Karasu, 2009; Karasu et al., 2010). In our recent study (Bağder Elmacı et al., 2015), we isolated and identified 152 LAB strains from fermented pickles produced in Çubuk region of Ankara, Turkey. Seventy five of these, which were selected based on their growth ability in MRS broth, were evaluated for some important technological traits, including growth at different salt concentrations and pH values, the rate and extent of acid production, enzymatic profile and biogenic amine production. In this way, it was aimed to select autochthonous LAB strains that can be potential candidates as starter cultures in the manufacture of pickles and other fermented vegetable products.

MATERIAL AND METHODS

Bacterial strains

Seventy five indigenous LAB strains isolated from pickles produced in Ankara-Çubuk region were used in this study. The tested strains included 26 *L. plantarum*, 10 *L. brevis*, 6 *L. buchneri*, 2 *L. namurensis*, 1 *L. parabrevis*, 24 *P. ethanolidurans*, 5 *P. parvulus* and 1 *E. casseliflavus* strains which were previously identified by molecular methods, and maintained in the Culture Collection of the Food Engineering Department of Ankara University. The GenBank accession numbers for the 16S rRNA gene sequences of the strains were reported previously (Bağder Elmacı et al., 2015).

Growth at different salt concentrations

The LAB strains were cultured in MRS broth at 30 °C for 24 h. Aliquots of the culture broth (5 µL) were then inoculated into 5 mL of MRS broth containing 0%, 3%, 6.5%, 10% or 12% NaCl. After 1 week of incubation at 30 °C, bacterial growth was evaluated as absorbance values at 600 nm by using a spectrophotometer (UV-1208 Shimadzu, Japan). The spectrophotometer was set to zero by using uninoculated MRS broth (Chao et al., 2009).

Growth at different pH values

Five milliliter aliquots of MRS broth adjusted to pH values of 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.5 or 9.6 by the addition of 2 N NaOH or 2 N HCl were inoculated with active LAB cultures at an inoculum size of 0.1% (v/v). After incubation at 30 °C for 48 h, bacterial growth was evaluated as absorbance values at 600 nm (Vinderola and Reinheimer, 2003).

The rate and extent of acid production

Ten milliliter aliquots of MRS broth were inoculated with active LAB cultures at an inoculum size of 0.1% (v/v). The culture tubes were incubated at 30 °C, and the acid production was determined by measuring the titratable acidity on the 24th and 48th hour of incubation. The titratable acidity, expressed as g lactic acid/100 mL, was calculated by titrating the culture broth with 0.01 N NaOH with 0.1% (w/v) phenolphthalein as the indicator.

Enzymatic profile

The enzymatic profile of LAB strains were assayed using commercial API-ZYM galleries (BioMérieux, France) following the manufacturer's instructions.

Production of biogenic amines

Production of biogenic amines from histidine, lysine and tyrosine was assessed by the improved medium described by Bover-Cid and Holzapfel (1999). The result was considered as positive for biogenic amine production if the colour of the medium changed from yellow to purple-violet.

Statistical analyses

All experiments were conducted in two biological replicates, each with two technical replicates. Experimental data were analysed with one- or two-way ANOVA using the Minitab statistical software, version 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA). Statistical differences among means were determined by the Duncan's multiple range tests at the 5% significance level.

RESULTS AND DISCUSSION

Growth at different salt concentrations

During vegetable fermentations, one of the important stress conditions to which LAB are exposed is high salt concentrations, and therefore high osmotic pressures (Hutkins, 2006). The salt concentration is a major environmental factor which influences the type and numbers of microorganisms carrying out the fermentation (Daeschel and Fleming, 1984; Reina et al., 2005). In cabbage fermentations where low salt (approximately 2% NaCl) is prevalent, the fermentation is initiated by heterofermentative LAB such as *Leuconostoc* or *Weissella* spp., and followed by homofermentors. High salt concentration, which is typical for cucumber and olive fermentations (6% or greater NaCl), favors the growth of homofermentative LAB such as *L. plantarum* (Reina et al., 2005).

Table 1 shows the results for the growth at different NaCl concentrations (0%, 3%, 6.5%, 10% and 12%). Within each data set referred to each LAB species, there were significant two-way interactions between LAB strains and salt

concentration for OD₆₀₀ values ($P < 0.05$). Almost all tested strains were able to grow in the presence of 3% and 6.5% NaCl, with the exception of a few strains of *E. casseliflavus* and *L. buchneri* which were sensitive to 6.5% NaCl. Most *E. casseliflavus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. namurensis*, *L. parabrevis* and *P. parvulus* strains tested showed weak or no growth at 10% NaCl whereas *L. plantarum* and *P. ethanolidurans* strains were able to maintain growth to different extent. In accordance with the present results, Seseña et al. (2005) reported that *L. plantarum* and *L. pentosus* strains obtained from brines of spontaneous fermentation of “Almagro” eggplants showed higher resistance to salt compared to *L. brevis* and *L. fermentum* strains. Similarly, Papamanoli et al. (2003) reported that *L. plantarum* strains which were isolated from naturally fermented dry sausages could grow at 6.5-10% NaCl. On the other hand, Karasu et al. (2010) showed that *L. plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables tolerated up to 8% NaCl. The highest salt concentration tested (12%) exerted a strong effect on LAB strains, as most of the tested strains were completely or significantly inhibited. Among *P. ethanolidurans* strains, resistance to 12% NaCl was significantly higher ($P < 0.05$) in strains MF11, MF196, MF167, MF48 and MF194, with OD₆₀₀ values greater than 0.100. For all LAB species tested, the salt tolerance appeared as a strain-dependent property, as it varied significantly among strains within the same species. This suggestion is in agreement with the previous studies (Papamanoli et al., 2003; Benito et al., 2007). However, at the species level, the majority of *L. plantarum* and *P. ethanolidurans* strains showed higher resistance to salt in comparison with *E. casseliflavus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. namurensis*, *L. parabrevis* and *P. parvulus* strains.

Growth at different pH values

Table 2 represents the ability of the LAB strains to grow at pH values ranging between 2.0 and 9.6 after 48 h of incubation. Within each set of 8 LAB species, there was a significant two-way

interaction for OD₆₀₀ values of growth due to LAB strains and pH values ($P < 0.05$). Apart from a few *L. plantarum* strains showing scanty growth, most of the strains could not tolerate the lowest pH values tested, 2.0 and 3.0. Concerning the growth at pH 4.0, almost all tested strains showed varying levels of growth. In particular, *L. plantarum* strains appeared to be the most resistant to acidic conditions, with OD₆₀₀ values ranging from 1.266 to 1.916 at pH 4.0. The high acid tolerance of the tested *L. plantarum* strains makes them promising candidates as starter cultures for the production of pickles where the pH varies between 3.1 and 3.5 (Di Cagno et al., 2013). The tolerance of this species to acidic environment is attributed to their ability to maintain pH homeostasis at low external pH. Therefore, *L. plantarum* usually predominates at the end of most vegetable fermentations (McDonald et al., 1990; Mäkimattila et al., 2011). The highest growth was observed at pH 5.0 and 6.5 for all tested strains of each species, with the exception of two strains (*E. casseliflavus* MF535, *L. namurensis* MF275). With a few rare exceptions (*E. casseliflavus* MF535, *L. namurensis* MF275), the tested LAB strains were not able to grow at pH 9.6. In addition, a few *L. plantarum* strains showed scanty growth at pH 9.6, with OD₆₀₀ values lower than 0.100. The ability to grow at pH 9.6 is one of the tolerance tests used for the identification of LAB species. In accordance with our results, it is known that *Enterococcus* can grow at pH 9.6, whereas *Lactobacillus* and *Pediococcus* cannot (Axelsson, 2004). From the technological point of view, the ability to grow at extreme alkaline pH (~10) could also be an important selection criteria for the LAB strains intended for use in table olives, since this pH can be found in olive brines throughout the lye treatment or in the first fermentation phase (Bevilacqua et al., 2010; Heperkan, 2013).

Table 1. Growth (OD₆₀₀ value) of LAB strains isolated from pickles in MRS broth containing different concentrations of NaCl

Spc	Strain no.	0% NaCl	3% NaCl	6.50% NaCl	10% NaCl	12% NaCl
<i>E. ca</i>	MF535	0.851±0.021 ^{n.d.}	0.642±0.004 ^{n.d.}	0.000 ^{n.d.}	0.000 ^{n.d.}	0.000 ^{n.d.}
	MF105	2.098±0.005 ^{ABa}	1.727±0.024 ^{BCDb}	1.586±0.004 ^{CDb}	0.142±0.032 ^{ABc}	0.020±0.003 ^{Ac}
	MF158	2.067±0.030 ^{ABa}	1.562±0.018 ^{DEb}	1.694±0.008 ^{BCb}	0.095±0.011 ^{ABc}	0.000 ^{Ac}
	MF243	2.079±0.013 ^{ABa}	1.749±0.032 ^{BCb}	1.621±0.006 ^{BCb}	0.106±0.002 ^{ABc}	0.000 ^{Ac}
	MF250	2.201±0.006 ^{Aa}	1.615±0.028 ^{CDc}	2.014±0.000 ^{Ab}	0.011±0.006 ^{Bd}	0.010±0.013 ^{Ad}
	MF314	2.165±0.000 ^{ABa}	1.721±0.004 ^{BCDb}	1.425±0.114 ^{Dc}	0.131±0.021 ^{ABd}	0.021±0.000 ^{Ad}
	MF343	2.139±0.005 ^{ABa}	1.737±0.011 ^{BCDb}	1.628±0.004 ^{BCb}	0.252±0.007 ^{Ac}	0.012±0.003 ^{Ad}
	MF354	2.161±0.006 ^{ABa}	1.836±0.008 ^{ABb}	1.798±0.002 ^{Bb}	0.168±0.059 ^{ABc}	0.029±0.004 ^{Ac}
	MF493	2.232±0.000 ^{Aa}	1.962±0.011 ^{Ab}	1.445±0.013 ^{Dc}	0.053±0.013 ^{Bd}	0.032±0.002 ^{Ad}
	MF494	2.108±0.009 ^{ABa}	1.903±0.009 ^{ABb}	1.664±0.556 ^{BCc}	0.075±0.018 ^{ABd}	0.000 ^{Ad}
MF531	1.979±0.014 ^{Ba}	1.432±0.085 ^{Eb}	2.116±0.049 ^{Aa}	0.018±0.013 ^{Bc}	0.014±0.019 ^{Ac}	
<i>L. bu</i>	MF12	2.150±0.000 ^{Aa}	1.995±0.000 ^{Ab}	0.858±0.040 ^{Cc}	0.010±0.012 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}
	MF102	2.034±0.033 ^{Ca}	1.876±0.011 ^{Cb}	0.139±0.040 ^{Dc}	0.008±0.011 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}
	MF114	2.063±0.008 ^{BCa}	1.948±0.004 ^{ABb}	0.021±0.001 ^{Ec}	0.000 ^{Ac}	0.000 ^{Ac}
	MF117	2.121±0.000 ^{ABa}	1.962±0.017 ^{ABb}	0.064±0.005 ^{Ec}	0.000 ^{Ac}	0.000 ^{Ac}
	MF271	2.076±0.026 ^{BCa}	1.907±0.004 ^{BCb}	1.473±0.136 ^{Bc}	0.000 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}
	MF272	1.967±0.024 ^{Da}	1.860±0.000 ^{Cb}	1.729±0.022 ^{Ac}	0.000 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}
<i>L. na</i>	MF192	2.003±0.011 ^a	1.610±0.075 ^b	0.836±0.032 ^c	0.055±0.008 ^d	0.067±0.030 ^d
	MF275	2.048±0.004 ^a	1.315±0.089 ^b	0.769±0.083 ^c	0.658±0.081 ^c	0.119±0.044 ^d
<i>L. pd</i>	MF231	2.081±0.000 ^{n.d.}	1.812±0.002 ^{n.d.}	1.626±0.009 ^{n.d.}	0.015±0.004 ^{n.d.}	0.000 ^{n.d.}
	MF4	2.490±0.011 ^{ABCDEa}	2.301±0.000 ^{BCDEb}	2.185±0.017 ^{BCDEc}	1.693±0.013 ^{Ad}	0.036±0.004 ^{Ac}
	MF33	2.507±0.012 ^{ABCDa}	2.290±0.000 ^{CDEFb}	2.146±0.006 ^{CDEc}	1.346±0.051 ^{Cd}	0.050±0.003 ^{Ac}
	MF99	2.571±0.000 ^{ABa}	2.466±0.000 ^{Aa}	2.223±0.013 ^{BCDEb}	1.075±0.049 ^{Fc}	0.034±0.004 ^{Ad}
	MF118	2.533±0.000 ^{ABCa}	2.270±0.000 ^{DEFb}	2.346±0.000 ^{Ab}	0.854±0.249 ^{Gc}	0.068±0.009 ^{Ad}
	MF143	2.395±0.018 ^{DEFa}	2.189±0.023 ^{EFb}	2.358±0.000 ^{Aa}	1.272±0.177 ^{CDc}	0.032±0.045 ^{Ad}
	MF150	2.459±0.011 ^{BCDEa}	2.415±0.010 ^{ABa}	2.146±0.006 ^{CDEb}	1.257±0.047 ^{CDc}	0.100±0.033 ^{Ad}
	MF169	2.459±0.011 ^{BCDEa}	2.422±0.000 ^{ABa}	2.158±0.022 ^{BCDEb}	1.305±0.177 ^{CDc}	0.022±0.002 ^{Ad}
	MF178	2.499±0.023 ^{ABCDEa}	2.265±0.007 ^{DEFb}	2.214±0.013 ^{BCDEb}	0.362±0.258 ^{Kc}	0.052±0.005 ^{Ad}
	MF205	2.552±0.027 ^{ABa}	2.459±0.011 ^{Aa}	2.232±0.000 ^{BCDb}	1.280±0.075 ^{CDc}	0.041±0.008 ^{Ad}
	MF213	2.323±0.000 ^{Fa}	2.245±0.021 ^{DEFa}	2.210±0.018 ^{BCDEa}	1.500±0.014 ^{Bb}	0.033±0.000 ^{Ac}
	MF219	2.098±0.005 ^{Ga}	1.838±0.011 ^{Gc}	1.948±0.004 ^{Fb}	0.248±0.059 ^{KLd}	0.030±0.018 ^{Ac}
	MF232	2.451±0.000 ^{BCDEa}	2.459±0.011 ^{Aa}	2.099±0.051 ^{Eb}	0.482±0.045 ^{Jc}	0.016±0.008 ^{Ad}
	MF239	2.571±0.000 ^{ABa}	2.474±0.011 ^{Aa}	2.140±0.036 ^{CDEb}	0.794±0.190 ^{Gc}	0.015±0.004 ^{Ad}
	MF265	2.490±0.011 ^{ABCDEa}	2.318±0.008 ^{BCDb}	2.260±0.000 ^{ABCb}	0.385±0.073 ^{Jc}	0.046±0.007 ^{Ad}
	MF303	2.552±0.000 ^{ABa}	2.358±0.000 ^{ABCb}	2.166±0.044 ^{BCDEc}	0.308±0.036 ^{KLd}	0.023±0.003 ^{Ac}
	MF305	2.408±0.000 ^{CDEFa}	2.466±0.000 ^{Aa}	2.166±0.033 ^{BCDEb}	0.761±0.174 ^{Gc}	0.063±0.004 ^{Ad}
	MF322	2.382±0.000 ^{EFa}	2.270±0.000 ^{DEFb}	2.260±0.000 ^{ABCb}	0.369±0.138 ^{Ij}	0.034±0.005 ^{Ad}
	MF352	2.474±0.011 ^{BCDEa}	2.165±0.000 ^{Fb}	1.853±0.032 ^{Fc}	0.399±0.021 ^{Ijd}	0.045±0.004 ^{Ac}
	MF357	2.498±0.000 ^{ABCDEa}	2.312±0.000 ^{BCDEb}	2.214±0.013 ^{BCDEb}	1.210±0.034 ^{DEc}	0.023±0.006 ^{Ad}
	MF376	2.552±0.000 ^{ABa}	2.323±0.000 ^{BCDb}	2.165±0.000 ^{BCDEc}	1.123±0.095 ^{EFd}	0.035±0.001 ^{Ac}
	MF377	2.533±0.000 ^{ABCa}	2.312±0.000 ^{BCDEb}	2.162±0.016 ^{BCDEc}	1.536±0.001 ^{Bd}	0.065±0.011 ^{Ac}
	MF380	2.474±0.011 ^{BCDEa}	2.291±0.015 ^{CDEFb}	2.280±0.000 ^{ABb}	0.626±0.138 ^{Hc}	0.000 ^{Ad}
	MF404	2.482±0.000 ^{ABCDEa}	2.335±0.016 ^{BCDb}	1.691±0.083 ^{Gc}	0.872±0.028 ^{Gd}	0.058±0.006 ^{Ac}
	MF513	2.571±0.000 ^{ABa}	2.482±0.000 ^{Aa}	2.150±0.021 ^{CDEb}	1.097±0.007 ^{EFc}	0.020±0.001 ^{Ad}
	MF548	2.498±0.000 ^{ABCDEa}	2.408±0.000 ^{ABCa}	2.143±0.011 ^{CDEb}	0.204±0.028 ^{Lc}	0.026±0.004 ^{Ad}
	MF556	2.602±0.016 ^{Aa}	2.251±0.027 ^{DEFb}	2.125±0.005 ^{DEc}	1.353±0.023 ^{Cd}	0.067±0.001 ^{Ac}

Table 1 continued

	MF11	2.033±0.000 ^{GHIa}	1.836±0.008 ^{CDEb}	0.992±0.010 ^{FGc}	1.016±0.081 ^{FGc}	0.391±0.042 ^{Ad}
	MF14	2.072±0.013 ^{FGHIa}	1.915±0.003 ^{ABCDb}	1.456±0.040 ^{CDc}	1.294±0.005 ^{BCd}	0.000 ^{De}
	MF48	2.045±0.008 ^{FGHIa}	1.983±0.047 ^{ABCa}	1.293±0.004 ^{Eb}	1.158±0.001 ^{CDEc}	0.140±0.025 ^{BCDd}
	MF50	2.128±0.010 ^{DEFGHa}	1.853±0.011 ^{CDEb}	1.110±0.017 ^{Fd}	1.311±0.013 ^{ABc}	0.000 ^{De}
	MF78	1.890±0.008 ^{JKa}	1.396±0.021 ^{Gb}	0.493±0.042 ^{Id}	0.651±0.023 ^{Hc}	0.000 ^{De}
	MF82	1.954±0.000 ^{IJKa}	1.522±0.006 ^{FGb}	0.508±0.037 ^{Ic}	0.541±0.077 ^{Hc}	0.026±0.000 ^{Dd}
	MF83	1.874±0.002 ^{Ka}	1.488±0.001 ^{FGb}	0.538±0.159 ^{Ic}	0.310±0.000 ^{Id}	0.011±0.005 ^{De}
	MF86	1.864±0.006 ^{Ka}	1.472±0.022 ^{FGb}	0.430±0.099 ^{Ic}	0.298±0.038 ^{Id}	0.000 ^{De}
	MF107	2.223±0.000 ^{ABCDEa}	1.927±0.000 ^{ABCDb}	1.775±0.035 ^{Bc}	1.329±0.040 ^{ABd}	0.071±0.000 ^{CDe}
	MF115	2.312±0.000 ^{Aa}	1.858±0.003 ^{BCDEb}	0.943±0.016 ^{Gd}	1.289±0.025 ^{BCc}	0.049±0.022 ^{De}
	MF136	2.232±0.000 ^{ABCDEa}	1.927±0.000 ^{ABCDb}	1.372±0.189 ^{DEc}	0.653±0.015 ^{Hd}	0.087±0.001 ^{CDe}
<i>P. et</i>	MF167	2.214±0.000 ^{ABCDEa}	1.886±0.008 ^{ABCDb}	1.104±0.139 ^{Fc}	1.162±0.028 ^{CDEc}	0.195±0.033 ^{BCd}
	MF179	2.237±0.020 ^{ABCDa}	1.734±0.033 ^{Eb}	0.924±0.011 ^{GHd}	1.428±0.011 ^{Ac}	0.035±0.001 ^{De}
	MF180	2.173±0.011 ^{BCDEFa}	1.955±0.006 ^{ABCDb}	1.372±0.030 ^{DEc}	1.352±0.049 ^{ABc}	0.000 ^{Dd}
	MF183	2.005±0.000 ^{HIIa}	1.813±0.020 ^{DEb}	1.264±0.048 ^{Ec}	0.916±0.014 ^{Gd}	0.000 ^{De}
	MF185	2.027±0.000 ^{GHIa}	1.591±0.006 ^{Fb}	0.813±0.018 ^{Hd}	1.114±0.023 ^{EFc}	0.015±0.004 ^{De}
	MF187	2.181±0.000 ^{ABCDEFa}	1.950±0.000 ^{ABCDb}	1.534±0.260 ^{Cc}	1.142±0.035 ^{DEFd}	0.056±0.037 ^{De}
	MF194	2.101±0.000 ^{EFGHa}	1.847±0.003 ^{CDEb}	1.248±0.033 ^{Ec}	1.135±0.006 ^{DEFc}	0.119±0.043 ^{BCDd}
	MF196	2.161±0.006 ^{BCDEFGa}	1.899±0.021 ^{ABCDb}	1.032±0.095 ^{FGd}	1.223±0.001 ^{BCDEc}	0.237±0.072 ^{Be}
	MF214	2.135±0.000 ^{CDEFGHa}	2.025±0.012 ^{Ab}	1.937±0.039 ^{Ab}	0.316±0.016 ^{Ic}	0.045±0.007 ^{Dd}
	MF229	2.143±0.011 ^{CDEFGHa}	1.962±0.004 ^{ABCb}	1.837±0.038 ^{ABc}	0.104±0.002 ^{Jd}	0.007±0.008 ^{Dd}
	MF230	1.851±0.030 ^{Ka}	1.573±0.035 ^{Fb}	1.109±0.436 ^{Fc}	0.331±0.007 ^{Id}	0.043±0.023 ^{De}
	MF251	2.286±0.022 ^{ABa}	1.939±0.016 ^{ABCDb}	1.092±0.013 ^{Fd}	1.248±0.020 ^{BCDc}	0.054±0.005 ^{De}
	MF269	2.270±0.000 ^{ABCa}	2.000±0.007 ^{ABb}	1.010±0.051 ^{FGd}	1.302±0.025 ^{ABc}	0.030±0.001 ^{De}
<i>P. pa</i>	MF152	2.260±0.000 ^{Aa}	1.964±0.107 ^{ABb}	0.230±0.010 ^{Cc}	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Ad}
	MF233	2.057±0.017 ^{Ba}	1.900±0.000 ^{Bb}	1.585±0.003 ^{Ac}	0.329±0.063 ^{Bd}	0.036±0.012 ^{Ae}
	MF244	2.189±0.000 ^{Aa}	2.016±0.000 ^{Ab}	1.538±0.000 ^{Ac}	0.703±0.010 ^{Ad}	0.073±0.103 ^{Ae}
	MF245	2.177±0.006 ^{Aa}	1.925±0.107 ^{ABb}	1.274±0.061 ^{Bc}	0.147±0.066 ^{Cd}	0.014±0.020 ^{Ae}
	MF249	2.206±0.012 ^{Aa}	1.984±0.007 ^{ABb}	1.609±0.008 ^{Ac}	0.699±0.092 ^{Ad}	0.000 ^{Ae}

Values are expressed in mean ± standard deviation.

Values with different capital letters within a column indicate significant differences between LAB strains ($P < 0.05$). Values with different lower case letters within a row indicate significant differences between NaCl concentrations ($P < 0.05$).

Spc: Species, *E. ca*: *E. casseliflavus*, *L. br*: *L. brevis*, *L. bu*: *L. buchneri*, *L. na*: *L. namurensis*, *L. pa*: *L. parabrevis*, *L. pl*: *L. plantarum*, *P. et*: *P. ethanolidurans*, *P. pa*: *P. parvulus*

The rate and extent of acid production

Rapid acid production by lactic acid bacteria is one of the primary criterion in the selection of starter cultures used for vegetable fermentation technology (Çon and Karasu, 2009), as that is essential for lowering of pH and, thus, inhibiting the growth undesirable bacteria during the initial stage of fermentation (Daeschel and Fleming, 1984). As shown in Table 3, there were significant differences ($P < 0.05$) between the strains of each LAB species with respect to both the rate of acidification, taken as the total acid production after 24 h, and the extent of acidification, taken as the total acid production after 48 h. The only exception was that no significant differences (P

> 0.05) were found between *L. buchneri* strains with respect to the extent of acidification. On the basis of acid production, the LAB strains were classified into three groups: fast ($> 0.6\%$ acidity), moderate (0.5-0.6% acidity) and slow acidifiers ($< 0.5\%$ acidity). Only the strains of *L. plantarum* (except for strain MF219) showed fast acidifying activity after 24 h of incubation in MRS broth, whereas the other strains ascribed to the species *P. ethanolidurans*, *P. parvulus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. parabrevis*, *L. namurensis* and *E. casseliflavus* were characterized as slow acid producers. The acidification developed by strains of *L. plantarum*, *P. ethanolidurans*, *P. parvulus* and *L. brevis* was higher than that produced by the strains of *E. casseliflavus*,

L. parabrevis, *L. buchneri* and *L. namurensis* after 48 h of incubation. Although *P. ethanolidurans* and *P. parvulus* strains produced low amount of lactic acid after 24 h of incubation, the acid production was enhanced after 48 h, and the final acidity was similar to that of *L. plantarum*. This kind of behaviour was also observed in LAB strains

isolated from cheese (Aquilanti et al., 2007). Consequently, twenty-five *L. plantarum* strains with the highest rate and extent of acid production revealed to be suitable as starter culture for fermented vegetable products.

Table 2. Growth (OD₆₀₀ value) of LAB strains isolated from pickles in MRS broth adjusted to different pH values

Spc	Strain no	pH 2.0	pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.5	pH 9.6
<i>E. ca</i>	MF535	0	0.0195±0.002	0.005±0.007	0.04±0.033	1.266±0.010	1.782±0.007
	MF105	0.027±0.000 ^{ABd}	0.033±0.003 ^{Bd}	0.800±0.001 ^{Bc}	1.022±0.035 ^{Fa}	0.972±0.016 ^{Fb}	0.000 ^{Ad}
	MF158	0.000 ^{Bd}	0.005±0.007 ^{Bd}	0.846±0.021 ^{Ac}	1.056±0.013 ^{Ea}	1.025±0.084 ^{Db}	0.000 ^{Ad}
<i>L. br</i>	MF243	0.052±0.016 ^{Ad}	0.009±0.012 ^{Bc}	0.705±0.035 ^{Cc}	0.952±0.024 ^{Gb}	1.121±0.011 ^{Ca}	0.000 ^{Ac}
	MF250	0.030±0.023 ^{ABdc}	0.043±0.030 ^{Bd}	0.584±0.008 ^{Ec}	1.009±0.006 ^{Fa}	0.788±0.018 ^{Fb}	0.000 ^{Ac}
	MF314	0.000 ^{Bd}	0.000 ^{Bd}	0.633±0.010 ^{Dc}	1.185±0.017 ^{Ca}	1.115±0.001 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
	MF343	0.011±0.016 ^{Bc}	0.079±0.020 ^{Ad}	0.640±0.014 ^{Dc}	1.136±0.009 ^{Db}	1.247±0.005 ^{Aa}	0.000 ^{Ac}
	MF354	0.000 ^{Bc}	0.000 ^{Bc}	0.797±0.052 ^{Bb}	1.223±0.018 ^{Ca}	1.199±0.020 ^{Ba}	0.000 ^{Ac}
	MF493	0.000 ^{Bd}	0.000 ^{Bd}	0.657±0.016 ^{Dc}	1.385±0.024 ^{Aa}	1.208±0.008 ^{Bb}	0.000 ^{Ad}
	MF494	0.000 ^{Bd}	0.000 ^{Bd}	0.655±0.007 ^{Dc}	1.314±0.011 ^{Ba}	1.185±0.028 ^{Bb}	0.000 ^{Ad}
	MF531	0.000 ^{Bd}	0.033±0.003 ^{Bd}	0.436±0.006 ^{Fc}	0.887±0.001 ^{Hb}	1.201±0.005 ^{Ba}	0.000 ^{Ad}
	MF12	0.024±0.034 ^{Ad}	0.040±0.007 ^{Ad}	0.852±0.059 ^{Ac}	1.121±0.013 ^{Aa}	1.016±0.003 ^{Ab}	0.000 ^{Ad}
<i>L. bu</i>	MF102	0.000 ^{Ac}	0.000 ^{Ac}	0.063±0.037 ^{Cb}	0.639±0.030 ^{Da}	0.670±0.037 ^{Ca}	0.000 ^{Ac}
	MF114	0.008±0.011 ^{Ad}	0.055±0.015 ^{Ad}	0.385±0.001 ^{Bc}	0.953±0.004 ^{Ba}	0.710±0.013 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
	MF117	0.000 ^{Ac}	0.000 ^{Ac}	0.000 ^{Dc}	0.682±0.025 ^{Da}	0.439±0.035 ^{Db}	0.000 ^{Ac}
	MF271	0.040±0.008 ^{Ac}	0.000 ^{Ac}	0.048±0.005 ^{CDc}	0.851±0.064 ^{Ca}	0.329±0.013 ^{Eb}	0.000 ^{Ac}
	MF272	0.023±0.033 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}	0.379±0.008 ^{Bc}	0.805±0.081 ^{Cb}	0.957±0.052 ^{Ba}	0.000 ^{Ad}
<i>L. na</i>	MF192	0.013±0.018 ^e	0.076±0.001 ^d	0.688±0.006 ^b	0.858±0.034 ^a	0.570±0.004 ^c	0.000 ^e
	MF275	0.000 ^f	0.092±0.018 ^e	0.842±0.017 ^c	1.076±0.031 ^b	0.598±0.005 ^d	1.595±0.057 ^a
<i>L. pa</i>	MF231	0.000	0.032±0.015	0.331±0.031	0.683±0.007	0.578±0.001	0.000
	MF4	0.065±0.013 ^{CDEFd}	0.093±0.000 ^{FGd}	1.632±0.003 ^{Kc}	2.352±0.008 ^{EFGHb}	2.474±0.011 ^{CDa}	0.082±0.001 ^{ABd}
	MF33	0.000 ^{Hc}	0.112±0.023 ^{EFd}	1.733±0.021 ^{FGc}	2.341±0.025 ^{FGHb}	2.444±0.031 ^{CDEFa}	0.000 ^{De}
	MF99	0.106±0.018 ^{ABe}	0.319±0.040 ^{Ad}	1.895±0.021 ^{ABc}	2.451±0.000 ^{Aa}	2.395±0.000 ^{FGHb}	0.000 ^{Df}
	MF118	0.081±0.043 ^{BCDd}	0.108±0.001 ^{EFd}	1.266±0.022 ^{Oc}	2.201±0.006 ^{Mb}	2.371±0.035 ^{GHa}	0.000 ^{De}
	MF143	0.097±0.016 ^{ABCd}	0.219±0.026 ^{CDc}	1.821±0.040 ^{DEb}	2.409±0.019 ^{ABCa}	2.444±0.011 ^{CDEFa}	0.000 ^{De}
	MF150	0.097±0.016 ^{ABCe}	0.251±0.025 ^{BCd}	1.696±0.000 ^{GHc}	2.260±0.000 ^{KLb}	2.307±0.023 ^{Ia}	0.000 ^{Df}
	MF169	0.109±0.021 ^{ABd}	0.195±0.018 ^{Dc}	1.533±0.071 ^{Lb}	2.346±0.000 ^{EFGHa}	2.365±0.043 ^{HLa}	0.000 ^{De}
	MF178	0.078±0.017 ^{BCDd}	0.094±0.001 ^{FGd}	1.406±0.016 ^{Nc}	2.323±0.000 ^{GHb}	2.482±0.000 ^{BCa}	0.000 ^{De}
	MF205	0.112±0.004 ^{ABd}	0.309±0.006 ^{Ac}	1.825±0.007 ^{CDEb}	2.395±0.000 ^{BCDa}	2.395±0.000 ^{FGHa}	0.009±0.013 ^{De}
	MF213	0.072±0.012 ^{BCDEc}	0.291±0.001 ^{ABd}	1.795±0.002 ^{Ec}	2.275±0.007 ^{IJKb}	2.346±0.000 ^{Ia}	0.045±0.005 ^{BCDe}
	MF219	0.059±0.001 ^{CDEFd}	0.045±0.003 ^{Gd}	1.421±0.023 ^{Nc}	1.974±0.014 ^{Oa}	1.909±0.000 ^{Kb}	0.000 ^{De}
	MF232	0.138±0.049 ^{Ac}	0.213±0.003 ^{CDd}	1.494±0.025 ^{LMc}	2.162±0.016 ^{Nb}	2.451±0.000 ^{CDEa}	0.000 ^{Df}
	MF239	0.049±0.008 ^{DEFGc}	0.280±0.066 ^{ABd}	1.832±0.003 ^{CDEc}	2.402±0.009 ^{BCDb}	2.459±0.011 ^{CDa}	0.000 ^{Df}
	MF265	0.081±0.008 ^{BCDd}	0.190±0.003 ^{De}	1.872±0.000 ^{BCb}	2.370±0.017 ^{CDEFa}	2.358±0.000 ^{HLa}	0.084±0.016 ^{ABd}
	MF303	0.025±0.035 ^{EFGHc}	0.138±0.010 ^{Ed}	1.471±0.034 ^{Mc}	2.256±0.006 ^{KLb}	2.436±0.000 ^{CDEFa}	0.033±0.004 ^{CDc}
	MF305	0.063±0.038 ^{CDEFc}	0.123±0.023 ^{EFd}	1.752±0.011 ^{Fc}	2.389±0.027 ^{BCDEb}	2.515±0.000 ^{ABa}	0.000 ^{Df}
	MF322	0.063±0.006 ^{CDEFc}	0.309±0.002 ^{Ad}	1.916±0.009 ^{Ac}	2.312±0.000 ^{HJb}	2.409±0.019 ^{EFGa}	0.058±0.001 ^{ABCc}
	MF352	0.000 ^{Hc}	0.055±0.013 ^{Gd}	1.386±0.013 ^{Nc}	2.223±0.000 ^{LMb}	2.444±0.011 ^{CDEFa}	0.038±0.007 ^{BCDd}
	MF357	0.019±0.027 ^{FGHe}	0.105±0.010 ^{EFd}	1.610±0.016 ^{Kc}	2.346±0.000 ^{EFGHb}	2.515±0.000 ^{ABa}	0.086±0.013 ^{Ad}
	MF376	0.024±0.034 ^{FGHf}	0.199±0.003 ^{Dd}	1.511±0.008 ^{LMc}	1.988±0.040 ^{Ob}	2.534±0.026 ^{Aa}	0.063±0.002 ^{ABCc}
	MF377	0.032±0.045 ^{EFGHc}	0.178±0.004 ^{Dd}	1.721±0.024 ^{FGc}	2.382±0.000 ^{BCDEfb}	2.533±0.000 ^{Aa}	0.036±0.050 ^{BCDc}
	MF380	0.075±0.000 ^{BCDd}	0.095±0.028 ^{FGd}	1.667±0.023 ^{HJc}	2.261±0.028 ^{KLb}	2.408±0.000 ^{EFGa}	0.000 ^{De}

Table 2 continued

	MF404	0.014±0.019 ^{GHe}	0.078±0.006 ^{FGd}	1.713±0.060 ^{FGHe}	2.364±0.008 ^{DEFGb}	2.482±0.000 ^{BCa}	0.063±0.003 ^{ABCd}
<i>L. pl</i>	MF513	0.114±0.006 ^{ABd}	0.212±0.020 ^{CDc}	1.845±0.016 ^{BCDb}	2.422±0.000 ^{ABa}	2.430±0.030 ^{DEFa}	0.000 ^{De}
	MF548	0.070±0.029 ^{BCDEc}	0.122±0.004 ^{EFd}	1.663±0.018 ^{Uc}	2.370±0.000 ^{CDEFb}	2.552±0.000 ^{Aa}	0.013±0.004 ^{Df}
	MF556	0.064±0.014 ^{CDEFc}	0.200±0.014 ^{Dd}	1.486±0.025 ^{LMc}	2.265±0.007 ^{JKb}	2.482±0.023 ^{BCa}	0.062±0.001 ^{ABCe}
	MF11	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Dd}	0.229±0.011 ^{HJc}	1.120±0.025 ^{Ka}	0.942±0.018 ^{Fb}	0.000 ^{Ad}
	MF14	0.030±0.014 ^{ABCDd}	0.019±0.002 ^{BCDd}	0.218±0.011 ^{HJc}	1.169±0.012 ^{Ja}	0.780±0.028 ^{Fb}	0.000 ^{Ad}
	MF48	0.019±0.027 ^{BCDe}	0.062±0.037 ^{ABd}	0.511±0.021 ^{Dc}	1.368±0.049 ^{Ea}	0.566±0.052 ^{Kb}	0.000 ^{Ac}
	MF50	0.040±0.041 ^{ABCDd}	0.000 ^{Dd}	0.191±0.008 ^{lc}	1.258±0.000 ^{Ha}	0.973±0.005 ^{EFb}	0.000 ^{Ad}
	MF78	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Dd}	0.433±0.001 ^{Ec}	1.128±0.011 ^{Ka}	0.467±0.028 ^{Lb}	0.000 ^{Ad}
	MF82	0.006±0.008 ^{CDd}	0.040±0.019 ^{ABCDd}	0.524±0.001 ^{Db}	1.229±0.003 ^{Ha}	0.353±0.004 ^{Mc}	0.000 ^{Ad}
	MF83	0.000 ^{Dd}	0.046±0.000 ^{ABCc}	0.439±0.009 ^{Eb}	1.049±0.006 ^{Ma}	0.444±0.037 ^{Lb}	0.000 ^{Ad}
	MF86	0.000 ^{Dc}	0.048±0.005 ^{ABCd}	0.515±0.001 ^{Db}	1.094±0.011 ^{KLMa}	0.454±0.008 ^{Lc}	0.000 ^{Ac}
	MF107	0.000 ^{Dd}	0.029±0.019 ^{BCDd}	0.377±0.003 ^{Fc}	1.457±0.006 ^{Da}	1.288±0.045 ^{Bb}	0.000 ^{Ad}
	MF115	0.010±0.014 ^{CDd}	0.000 ^{Dd}	0.238±0.003 ^{HJc}	1.328±0.032 ^{EFa}	0.796±0.027 ^{Hb}	0.000 ^{Ad}
	MF136	0.009±0.012 ^{CDd}	0.007±0.010 ^{CDd}	0.323±0.004 ^{Gc}	1.554±0.013 ^{Ba}	1.112±0.023 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
<i>P. et</i>	MF167	0.000 ^{Dd}	0.026±0.013 ^{BCDd}	0.359±0.018 ^{FGc}	1.257±0.013 ^{GHa}	1.140±0.006 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
	MF179	0.069±0.021 ^{Ad}	0.000 ^{Dc}	0.144±0.005 ^{Kc}	1.326±0.021 ^{Fa}	0.858±0.021 ^{Gb}	0.000 ^{Ac}
	MF180	0.037±0.013 ^{ABCDd}	0.000 ^{Dd}	0.661±0.036 ^{Bc}	1.232±0.030 ^{Ha}	0.985±0.064 ^{Fb}	0.000 ^{Ad}
	MF183	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Dd}	0.218±0.011 ^{HJc}	1.086±0.032 ^{KLMa}	0.632±0.027 ^{Jb}	0.000 ^{Ad}
	MF185	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Dd}	0.102±0.028 ^{Lc}	1.070±0.018 ^{LMa}	0.704±0.095 ^{Ib}	0.000 ^{Ad}
	MF187	0.000 ^{Dc}	0.081±0.011 ^{Ad}	0.491±0.002 ^{Dc}	1.298±0.018 ^{FGa}	0.573±0.007 ^{Kb}	0.000 ^{Ac}
	MF194	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Dd}	0.256±0.015 ^{Hc}	1.440±0.002 ^{Da}	1.144±0.054 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
	MF196	0.022±0.001 ^{BCDd}	0.034±0.001 ^{BCDd}	0.579±0.016 ^{Cb}	1.306±0.018 ^{Fa}	0.464±0.072 ^{Lc}	0.000 ^{Ad}
	MF214	0.040±0.008 ^{ABCDe}	0.039±0.012 ^{ABCDe}	0.946±0.027 ^{Ab}	1.095±0.010 ^{KLa}	1.103±0.009 ^{Ca}	0.000 ^{Ac}
	MF229	0.053±0.001 ^{ABCc}	0.038±0.053 ^{ABCDe}	0.558±0.001 ^{Cb}	1.920±0.004 ^{Aa}	1.886±0.003 ^{Aa}	0.000 ^{Ad}
	MF230	0.000 ^{Dd}	0.000 ^{Dd}	0.205±0.009 ^{Jc}	1.203±0.016 ^{Ia}	0.800±0.028 ^{Fb}	0.000 ^{Ad}
	MF251	0.064±0.010 ^{ABd}	0.000 ^{Dc}	0.211±0.013 ^{Jc}	1.505±0.006 ^{Ca}	1.036±0.002 ^{Db}	0.000 ^{Ac}
	MF269	0.012±0.017 ^{CDd}	0.000 ^{Dd}	0.341±0.021 ^{FGc}	1.533±0.005 ^{BCa}	1.137±0.020 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
	<i>P. pa</i>	MF152	0.000 ^{Ad}	0.012±0.017 ^{Ad}	0.058±0.005 ^{Ec}	0.470±0.006 ^{Ea}	0.286±0.006 ^{Db}
MF233		0.021±0.030 ^{Ad}	0.021±0.001 ^{Ad}	0.766±0.011 ^{Ac}	1.272±0.006 ^{Cb}	1.299±0.013 ^{Ba}	0.000 ^{Ad}
MF244		0.000 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}	0.259±0.035 ^{Dc}	1.510±0.001 ^{Aa}	1.383±0.023 ^{Ab}	0.000 ^{Ad}
MF245		0.015±0.021 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}	0.569±0.004 ^{Bc}	1.051±0.005 ^{Da}	0.991±0.013 ^{Cb}	0.000 ^{Ad}
MF249		0.009±0.012 ^{Ad}	0.000 ^{Ad}	0.303±0.001 ^{Cc}	1.444±0.013 ^{Ba}	1.306±0.011 ^{Bb}	0.000 ^{Ad}

Values are expressed in mean ± standard deviation.

Values with different capital letters within a column indicate significant differences between LAB strains ($P < 0.05$).

Values with different lower case letters within a row indicate significant differences between pH values ($P < 0.05$).

Sp: Species, *E. ca*: *E. casseliflavus*, *L. br*: *L. brevis*, *L. bu*: *L. buchneri*, *L. na*: *L. namurensis*, *L. pa*: *L. parabrevis*, *L. pl*: *L. plantarum*, *P. et*: *P. ethanolidurans*, *P. pa*: *P. parvulus*

Production of biogenic amines

Biogenic amines are organic, basic, nitrogenous compounds which occur in a wide range of foods, including sauerkraut, fishery products, cheese, wine, beer, dry sausages and other fermented fruits and vegetables (Tamang et al., 2009; Spano et al., 2010; Sonar and Halami, 2014). In fermented foods, these compounds are mainly formed by decarboxylation of the corresponding amino acids through substrate specific enzymes of the microorganisms present in foods (Belgacem et al., 2010). The biogenic amines commonly found in fermented vegetables (e.g. sauerkraut, kimchi, and fermented olives) include histamine (from histidine), tyramine (from

tyrosine), cadaverine (from lysine) and putrescine (from arginine) (Hutkins, 2006).

The production of biogenic amines is an undesirable trait for LAB strains to be selected as starter cultures (Buckenhüskes, 1993) since the consumption of foods containing large amounts of biogenic amines may cause toxicological problems (Spano et al., 2010). None of the tested strains showed biogenic amine production from histidine, lysine or tyrosine in the method applied. These results support the data that LAB of vegetable origin have weak capability to decarboxylate aminoacids, as reported by Daeschel et al. (1987). Similarly, the disability to

produce biogenic amines was also observed previously for *Lactobacillus* strains isolated from fermented vegetables (Seseña et al., 2005; Tamang et al., 2009; Bevilacqua et al., 2010). As a result, the inability of LAB strains from the fermented pickles to produce biogenic amines is a good indication of their potential for the possible

development as starter culture. However, it is important to point out that the non-production of biogenic amines by LAB strains needs to be confirmed by qualitative and quantitative analysis of biogenic amines in the fermented vegetable products, rather than in synthetic medium.

Table 3. Acid production of LAB strains isolated from pickles

Spc	Strain no.	% Acidity-24h	% Acidity-48h	Spc	Strain no.	% Acidity-24 h	% Acidity-48 h
<i>E. ca</i>	MF535	0.02±0.00	0.41±0.22	<i>L. pl</i>	MF357	1.17±0.01 ^{CDE}	1.51±0.02 ^{DEFGH}
	MF105	0.34±0.01 ^{BC}	0.67±0.02 ^D		MF376	1.08±0.02 ^{FG}	1.53±0.02 ^{CDEF}
	MF158	0.27±0.01 ^D	0.70±0.02 ^C		MF377	1.29±0.03 ^A	1.48±0.02 ^{GHI}
	MF243	0.16±0.02 ^E	0.59±0.01 ^F		MF380	1.22±0.01 ^{BC}	1.47±0.02 ^{HI}
	MF250	0.20±0.12 ^E	0.81±0.02 ^A		MF404	1.20±0.02 ^{BC}	1.53±0.01 ^{CDEF}
	MF314	0.38±0.01 ^B	0.73±0.02 ^B		MF513	1.20±0.06 ^{BC}	1.52±0.01 ^{CDEFG}
	MF343	0.46±0.04 ^A	0.75±0.03 ^B		MF548	1.25±0.05 ^{AB}	1.56±0.03 ^{BC}
	MF354	0.39±0.03 ^B	0.63±0.01 ^E		MF556	1.10±0.01 ^{EFG}	1.41±0.03 ^J
	MF493	0.29±0.01 ^{CD}	0.65±0.00 ^{DE}		MF11	0.34±0.01 ^{BC}	0.94±0.02 ^F
MF494	0.35±0.03 ^{BC}	0.67±0.01 ^D	MF14	0.30±0.02 ^{CDE}	1.09±0.02 ^C		
MF531	0.35±0.02 ^{BC}	0.67±0.02 ^D	MF48	0.33±0.01 ^{BCD}	1.00±0.02 ^D		
<i>L. br</i>	MF12	0.12±0.01 ^A	0.51±0.04	MF50	0.36±0.02 ^B	0.95±0.03 ^{EF}	
	MF102	0.06±0.02 ^C	0.48±0.18	MF78	0.24±0.02 ^{FGH}	0.98±0.04 ^{DE}	
	MF114	0.08±0.01 ^B	0.51±0.02	MF82	0.28±0.03 ^{EF}	0.95±0.02 ^{EF}	
	MF117	0.09±0.02 ^B	0.57±0.03	MF83	0.29±0.02 ^{DE}	0.92±0.03 ^{FG}	
	MF271	0.02±0.00 ^D	0.42±0.04	MF86	0.27±0.02 ^{EFG}	0.94±0.01 ^F	
	MF272	0.05±0.01 ^C	0.48±0.01	MF107	0.33±0.01 ^{BCD}	0.80±0.01 ^I	
	MF192	0.21±0.01	0.55±0.02	MF115	0.34±0.01 ^{BC}	1.09±0.01 ^C	
<i>L. bu</i>	MF275	0.18±0.01	0.50±0.01	MF136	0.44±0.01 ^A	1.18±0.01 ^A	
	MF192	0.21±0.01	0.55±0.02	MF167	0.41±0.06 ^A	1.00±0.03 ^D	
<i>L. na</i>	MF231	0.16±0.02	0.44±0.03	MF179	0.29±0.02 ^{DE}	1.07±0.03 ^C	
	MF4	1.31±0.02 ^A	1.60±0.01 ^A	MF180	0.33±0.01 ^{BCD}	1.00±0.02 ^D	
<i>L. pa</i>	MF33	1.25±0.02 ^{AB}	1.52±0.02 ^{CDEFG}	MF183	0.21±0.02 ^H	0.89±0.03 ^{GH}	
	MF99	1.10±0.02 ^{FG}	1.48±0.02 ^{GHI}	MF185	0.28±0.01 ^{EF}	0.92±0.02 ^{FG}	
	MF118	1.00±0.15 ^{HI}	1.41±0.02 ^J	MF187	0.27±0.02 ^{EFG}	1.18±0.01 ^A	
	MF143	1.11±0.10 ^{EFG}	1.43±0.02 ^J	MF194	0.33±0.03 ^{BCD}	0.95±0.00 ^{EF}	
	MF150	1.13±0.03 ^{DEF}	1.54±0.01 ^{CDE}	MF196	0.30±0.02 ^{CDE}	1.13±0.00 ^B	
	MF169	1.21±0.01 ^{BC}	1.50±0.02 ^{EFGH}	MF214	0.12±0.07 ^I	0.55±0.04 ^J	
	MF178	0.95±0.06 ^I	1.52±0.03 ^{CDEFG}	MF229	0.35±0.03 ^B	0.77±0.02 ^I	
	MF205	1.07±0.02 ^{FG}	1.59±0.03 ^{AB}	MF230	0.23±0.01 ^{GH}	0.87±0.02 ^H	
	MF213	0.96±0.01 ^I	1.47±0.02 ^{HI}	MF251	0.26±0.01 ^{EFG}	1.17±0.05 ^A	
	MF219	0.29±0.00 ^J	0.69±0.03 ^K	MF269	0.26±0.04 ^{EFG}	0.92±0.04 ^{FG}	
	MF232	1.11±0.03 ^{EFG}	1.55±0.03 ^{CD}	MF152	0.06±0.02 ^D	0.40±0.02 ^D	
	MF239	1.05±0.01 ^{GH}	1.50±0.02 ^{EFGH}	MF233	0.34±0.01 ^A	1.21±0.03 ^A	
	MF265	1.12±0.02 ^{EFG}	1.56±0.05 ^{BC}	MF244	0.32±0.01 ^B	1.06±0.06 ^B	
	MF303	1.08±0.02 ^{FG}	1.47±0.03 ^{HI}	MF245	0.26±0.01 ^C	0.97±0.03 ^C	
MF305	1.17±0.01 ^{CDE}	1.44±0.05 ^J					
MF322	1.19±0.02 ^{BCD}	1.49±0.02 ^{FGH}					

Values are expressed in mean ± standard deviation.

Values with different capital letters within a column indicate significant differences between LAB strains ($P < 0.05$). Spc: Species, *E. ca*: *E. casseliflavus*, *L. br*: *L. brevis*, *L. bu*: *L. buchneri*, *L. na*: *L. namurensis*, *L. pa*: *L. parabrevis*, *L. pl*: *L. plantarum*, *P. et*: *P. ethanolidurans*, *P. pa*: *P. parvulus*

Enzymatic profile

The enzymatic activities of the LAB strains, as evaluated by the semiquantitative API-ZYM system, are shown in Table 4. High or at least intermediate leucine and valine aminopeptidase activities were observed for all tested strains except for *E. casseliflavus* MF535, which showed no activity. However, cystine aminopeptidase activity was low or absent. Only two strains of *P. ethanolidurans* (MF136, MF229) showed definite cystine aminopeptidase activity (around 20 nanomole hydrolyzed substrate). Similar results with regard to aminopeptidase activities were also observed by Boulares et al. (2012) for *L. plantarum*, *L. paracasei* and *L. brevis*. The tested strains showed higher peptidase activities than proteinases (trypsin, chymotrypsin), as also reported by other authors (Georgieva et al., 2009; Tamang et al., 2009; Boulares et al., 2012; Taboada et al., 2014). Lipolytic activities of esterase (C4), esterase lipase (C8) and lipase (C14) were weak or absent, in the range of 0-2, for the majority of tested strains. In contrast, *L. brevis* and *L. namurensis* strains exhibited intermediate or high esterase activity. Our results support the evidence that *Lactobacillus* species are weakly lipolytic (Montel et al., 1998). The presence of lipolytic activity is often desired, since it can improve the flavour of foods (e.g. fermented olives) through the formation of volatile compounds that can be generated by the catabolism of free fatty acids (Rodríguez-Gómez et al., 2012; Bleve et al., 2015). The degradation of amino acids, such as leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, methionine, into volatile molecules, such as aldehydes, alcohols and acids, plays an important role in flavour development of food products (Montel et al., 1998; Ammor et al., 2005). However, highly proteolytic strains are not eligible starter cultures since excessive proteolysis may lead to uncontrolled production of bitter peptides and other undesirable compounds, or may result in an over-soft final product (Zeng et al., 2014). Overall, the absence of proteinases (trypsin and chymotrypsin) and presence of strong peptidase (leucine-, valine-, and cystine-arylamidase) and esterase-lipase (C4 and C8) activities produced by the LAB strains are

desirable properties for their use in the production of typical flavour (Thapa et al., 2006; Dewan and Tamang, 2007; Tamang et al., 2009). Tamang et al. (2009) reported that high phosphatase activity of LAB strains showed their possible role in phytic acid degradation in fermented vegetables. In this study, acid phosphatase and phosphohydrolase activities were shown for most strains whereas weak alkaline phosphatase activities were detected in some strains, as similarly reported by Papamanoli et al. (2003) for *L. plantarum* and Taboada et al. (2014) for pediococci. Corroborating with the results of Taboada et al. (2014), β -galactosidase activities of the tested lactobacilli (particularly *L. brevis* and *L. buchneri*) were generally higher than in pediococci. α -galactosidase activity was generally absent or low in the tested strains, apart from some strains of *L. brevis*, *L. buchneri* and *L. plantarum*. With a few rare exceptions (*E. casseliflavus* MF535, *L. namurensis* strains, a few strains of *P. ethanolidurans*), the tested LAB strains exhibited α -glucosidase activity, albeit to different extent. Similar results were also observed for the β -glucosidase activities. With regard to β -glucoaminidase, the most significant activity was observed for *L. plantarum*, followed by *P. ethanolidurans*. Most of the tested strains did not show β -glucuronidase, α -fucosidase and α -mannosidase activities, with the exception of *L. buchneri* MF12 with high β -glucuronidase activity, as well as a few strains of *L. brevis* with moderate β -glucuronidase activity. The presence of the enzyme activities correlated with carbohydrate catabolism such as glucosidase and galactosidase is of vital importance for strains with proper utilization of sugars found in foods (Belgacem et al., 2010). The high glucosidase and galactosidase activities, and low activities toward other carbon sources (mannose, fructose and glucuronides) suggest that most of the tested LAB strains prefer glucose and lactose as their carbon and energy sources. In addition, the high β -galactosidase activity of LAB strains makes them suitable as starter cultures for food products intended to be used for lactose intolerant people.

Table 4 Enzymatic profiles of LAB strains isolated from pickles using API-zym system

Species	Strain no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>E. ca</i>	MF535	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	MF105	0	0	3	2	0	4	4	1	0	0	3	2	4	5	2	4	4	0	0	0
	MF158	0	1	3	2	0	4	5	2	0	0	3	2	4	5	0	4	3	1	0	0
	MF243	0	1	2	1	0	3	4	1	0	0	3	1	2	5	2	3	4	0	1	1
	MF250	0	0	2	0	1	4	3	1	0	0	2	1	3	5	1	2	3	0	0	1
<i>L. br</i>	MF314	0	0	2	1	0	4	4	1	0	0	1	1	2	4	0	4	3	0	0	0
	MF343	0	0	3	1	0	5	5	2	0	0	2	1	3	5	0	3	3	0	0	0
	MF354	0	0	3	2	0	4	3	0	0	0	2	1	0	4	0	3	4	0	0	0
	MF493	0	0	4	3	0	5	4	2	0	0	3	1	0	5	2	3	4	0	0	0
	MF494	0	0	3	2	0	5	4	2	0	0	2	1	0	5	2	3	5	0	0	0
	MF531	0	1	3	2	0	5	5	2	0	0	2	1	0	5	0	3	4	0	0	0
	MF12	0	0	1	1	0	4	3	0	0	0	1	1	3	5	4	1	3	0	0	0
	MF102	0	0	0	2	1	3	2	0	0	0	2	2	4	5	0	2	3	0	0	0
<i>L. bu</i>	MF114	0	0	1	1	0	4	3	1	0	0	1	1	3	5	1	1	2	0	0	0
	MF117	0	0	1	2	0	4	3	1	0	1	2	1	4	5	1	1	3	0	0	0
	MF271	0	1	1	1	0	4	2	1	0	0	2	1	3	5	0	3	4	0	0	0
	MF272	0	1	1	1	0	3	2	2	0	0	1	1	3	5	1	3	4	0	0	0
<i>L. na</i>	MF192	0	0	3	2	0	4	3	2	0	0	2	3	1	4	0	0	2	0	1	0
	MF275	0	0	3	2	0	4	2	1	0	0	3	2	0	4	0	0	4	0	0	0
<i>L. pa</i>	MF231	0	0	2	2	0	5	3	0	0	0	1	1	1	3	2	2	2	0	0	0
	MF4	0	0	0	1	0	5	5	1	0	0	1	2	0	3	0	1	2	2	0	0
	MF33	0	1	1	0	1	4	3	0	0	0	3	1	3	5	0	5	4	5	0	0
	MF99	0	2	1	1	2	4	3	0	0	0	2	2	0	3	0	1	3	4	0	0
	MF118	0	1	1	2	0	4	4	1	0	0	3	3	3	5	0	4	3	4	0	0
	MF143	0	2	2	1	0	4	3	2	0	0	2	3	0	5	0	2	4	4	1	0
	MF150	0	0	1	1	0	4	4	1	0	0	3	2	1	3	0	5	4	5	1	1
	MF169	0	1	1	1	1	4	4	2	1	0	2	2	0	5	0	3	4	4	0	0
	MF178	0	1	0	1	0	4	3	2	0	0	2	1	0	2	0	3	4	4	0	0
	MF205	0	1	0	1	0	3	3	2	0	0	2	2	0	4	0	3	3	1	0	0
	MF213	0	1	1	2	1	4	3	2	0	0	2	2	0	4	0	4	3	4	0	0
	MF219	0	0	2	1	0	5	3	1	0	0	2	1	0	5	0	1	2	0	0	0
	MF232	0	1	1	1	0	3	2	2	0	0	2	3	0	5	0	4	4	4	0	0
<i>L. pl</i>	MF239	0	1	0	2	1	3	2	0	1	0	1	2	0	1	0	1	4	2	0	0
	MF265	0	1	1	1	0	4	2	1	0	0	2	2	0	3	0	3	4	4	0	0
	MF303	0	1	1	1	0	4	3	2	0	0	1	1	1	5	0	4	3	5	0	0
	MF305	0	0	0	0	0	4	4	1	0	0	2	1	0	3	0	2	3	3	0	0
	MF322	0	0	1	1	0	4	3	1	0	0	2	2	0	4	0	3	3	3	0	0
	MF352	0	0	1	1	0	4	3	1	0	0	1	1	0	3	0	2	2	3	0	1
	MF357	0	0	0	1	0	4	3	0	0	0	2	1	1	3	0	3	4	3	0	0
	MF376	0	1	1	1	1	3	3	1	0	0	2	1	0	4	0	3	3	4	0	0
	MF377	0	1	1	1	0	5	4	1	0	0	1	2	0	4	0	3	3	2	0	0
	MF380	0	0	1	1	0	4	4	1	0	0	2	2	1	4	0	4	4	5	0	0
	MF404	0	2	1	1	0	4	4	1	0	0	1	1	1	3	0	2	4	2	0	0
	MF513	0	0	0	0	0	4	3	1	0	0	2	1	0	3	0	3	3	4	0	0
	MF548	0	0	1	1	0	4	4	2	0	0	1	2	0	2	0	2	3	4	0	0
	MF556	0	1	1	1	1	4	2	1	0	0	2	2	0	4	0	4	3	4	0	1

Table 4 continued

	MF11	0	0	0	1	0	5	5	1	0	0	1	1	0	0	0	2	3	2	0	0
	MF14	0	0	0	1	0	5	5	2	0	0	1	2	0	0	0	4	4	2	0	0
	MF48	0	1	0	1	1	5	3	0	0	0	2	2	2	2	0	5	5	3	0	0
	MF50	0	0	0	0	1	5	5	1	0	0	1	2	0	0	0	0	3	2	0	0
	MF78	0	0	0	0	1	4	3	0	0	0	0	2	0	0	0	2	3	3	0	0
	MF82	0	0	0	1	1	4	4	0	0	0	1	2	0	0	0	3	4	3	0	0
	MF83	0	0	1	0	1	5	5	1	0	0	1	1	0	0	0	3	4	3	0	0
	MF86	0	0	1	1	1	4	4	1	0	0	1	2	2	0	0	4	4	3	0	0
	MF107	0	0	0	1	0	4	4	1	0	0	2	1	0	0	0	4	4	3	0	0
	MF115	0	0	1	1	1	4	4	1	0	0	2	2	0	0	0	3	4	2	0	1
	MF136	0	1	1	0	1	5	5	3	1	0	1	2	1	0	0	3	3	2	0	0
<i>P. et</i>	MF167	0	0	2	1	1	4	4	1	0	0	1	1	0	0	0	3	4	1	0	0
	MF179	0	0	1	1	1	5	4	1	0	0	1	1	0	0	0	3	2	1	0	0
	MF180	0	0	2	0	0	5	4	1	0	0	1	2	0	0	0	0	3	1	0	0
	MF183	0	0	0	1	0	4	4	1	1	0	1	2	0	0	0	2	3	3	0	0
	MF185	0	0	1	1	0	4	2	0	0	0	1	1	0	0	0	2	2	1	0	0
	MF187	0	0	2	1	2	5	4	2	0	0	1	2	0	0	0	4	4	3	0	0
	MF194	0	0	0	0	1	5	5	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
	MF196	0	0	1	1	1	5	5	1	0	0	1	1	0	0	0	2	3	2	0	0
	MF214	0	0	2	2	1	3	4	0	0	0	2	1	1	4	0	3	2	0	1	1
	MF229	0	0	3	2	1	5	4	3	0	0	2	1	0	4	0	2	4	0	0	0
	MF230	0	0	1	1	1	5	4	1	0	0	1	2	0	0	0	3	2	2	0	0
	MF251	0	0	0	1	0	5	3	0	0	0	1	2	0	0	0	0	3	0	0	0
	MF269	0	0	1	1	1	4	4	1	0	0	2	3	0	0	0	1	4	2	0	0
	MF152	0	0	2	2	0	4	4	1	0	0	0	2	0	0	0	2	2	3	0	0
	MF233	0	0	0	1	0	4	3	0	0	0	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>P. pa</i>	MF244	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	3	2	0	0	0	1	1	0	0	0
	MF245	0	1	0	1	0	4	5	1	0	0	3	2	0	0	0	1	2	0	1	0
	MF249	0	0	0	1	0	5	3	1	0	0	2	2	0	0	0	2	2	0	0	0

1: control; 2: alkaline phosphatase; 3: esterase (C4); 4: esterase lipase (C8); 5: lipase (C14); 6: leucine aminopeptidase; 7: valine aminopeptidase; 8: cystine aminopeptidase; 9: trypsin; 10: a-chymotrypsin; 11: acid phosphatase; 12: naphthol-As-Bi-phosphohydrolase; 13: α -galactosidase; 14: β -galactosidase; 15: β -glucuronidase; 16: α -glucosidase; 17: β -glucosidase; 18: N-acetyl- β -glucosaminidase; 19: α -mannosidase; 20: α -fucosidase.

0: no activity, 1: low activity, 2-3: intermediate activity, 4-5: high activity

E. ca: *E. casseliflavus*, *L. br*: *L. brevis*, *L. bu*: *L. buchneri*, *L. na*: *L. namurensis*, *L. pa*: *L. parabrevis*, *L. pl*: *L. plantarum*, *P. et*: *P. ethanolidurans*, *P. pa*: *P. parvulus*

CONCLUSIONS

Although significant intra-species differences in the primary technological characteristics within each set of 8 LAB species (*L. plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. namurensis*, *L. parabrevis*, *P. ethanolidurans*, *P. parvulus* and *E. casseliflavus*), *L. plantarum* species were apparently distinguished by their high acidification rate, tolerance to low pH and salt. The investigated *L. plantarum* strains, except for one strain (MF219), could be considered as potential starter cultures because of their desirable properties of having a high rate and extent of acidification, high tolerance to pH 4.0

and 10% NaCl, and non-production of biogenic amines. In addition, the tested strains of *P. ethanolidurans* could also be considered as promising strains due to their high salt tolerance and acid production. With respect to enzymatic activities, most of the tested strains shared similar characteristics including absence of proteolytic and lipolytic activities, and presence of peptidase, glucosidase and galactosidase activities. Consequently, further studies with the selected 25 *L. plantarum* strains, either alone or in combination, should be carried out in model fermentation systems in order to assess their

effectiveness as starter cultures for pickles and other fermented vegetable products. This work was a preliminary study in the development of autochthonous starter cultures in order to standardize the manufacture of pickles, to preserve their typical sensory characteristics and to improve the quality of final product.

Acknowledgements

This study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (Project No. 108O491).

REFERENCES

- Ammor, S., Dufour, E., Zagorec, M., Chaillou, S., Chevallier, I. (2005). Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *Food Microbiol*, 22: 529-538.
- Aquilanti, L., Silvestri, G., Zannini, E., Osimani, A., Santarelli, S., Clementi, F. (2007). Phenotypic, genotypic and technological characterization of predominant lactic acid bacteria in Pecorino cheese from central Italy. *J Appl Microbiol*, 103: 948-960.
- Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. (eds), Marcel Dekker, New York, pp. 1-66.
- Bağder Elmacı, S., Tokatlı, M., Dursun, D., Özçelik, F., Şanlıbaba, P. (2015). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles of the Çubuk region in Turkey. *Folia Microbiol*, 60: 241-251.
- Beganović, J., Kos, B., Pavunc, A.L., Uroić, K., Jokić, M., Šušković, J. (2014). Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures. *Microbiol Res*, 169: 623-632.
- Belgacem, Z.B., Abriouel, H., Omar, N.B., Lucas, R., Martinez-Canamero, M., Galvez, A., Manai, M. (2010). Antimicrobial activity, safety aspects, and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat. *Food Control*, 21: 462-470.
- Benito, M.J., Martín, A., Aranda, E., Pérez-Nevado, F., Ruiz-Moyano, S., Córdoba, M.G. (2007). Characterization and selection of autochthonous lactic acid bacteria isolated from traditional Iberian dry-fermented Salchichón and Chorizo sausages. *J Food Sci*, 72: M193-M201.
- Bevilacqua, A., Altieri, C., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Ouoba, L.I.I. (2010). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Italian Bella di Cerignola table olives: selection of potential multifunctional starter cultures. *J Food Sci*, 75: M536-M544.
- Bleve, G., Tufariello, M., Durante, M., Grieco, F., Ramires, F.A., Mita, G., Tasioula-Margari, M., Logrieco, A.F. (2015). Physico-chemical characterization of natural fermentation process of Conservolea and Kalamàta table olives and development of a protocol for the pre-selection of fermentation starters. *Food Microbiol*, 46: 368-382.
- Bonomo, M.G., Ricciardi, A., Zotta, T., Parente, E., Salzano, G. (2008). Molecular and technological characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy). *Meat Sci*, 80: 1238-1248.
- Boulares, M., Aouadhi, C., Mankai, M., Moussa, O.B., Essid, I., Hassouna, M. (2012). Characterisation, identification and technological properties of psychotrophic lactic acid bacteria originating from Tunisian fresh fish. *J Food Safety*, 32: 333-344.
- Bover-Cid, S., Holzapfel, W.H. (1999). Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 53: 33-41.
- Buckenhüskes, H.J. (1993). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol Rev*, 12: 253-272.
- Çetin, B. (2011). Production of probiotic mixed pickles (Tursu) and microbiological properties. *Afr J Biotechnol*, 10: 14926-14931.

- Chao, S.H., Wu, R.J., Watanabe, K., Tsai, Y.C. (2009). Diversity of lactic acid bacteria in suan-tsai and fu-tsai, traditional fermented mustard products of Taiwan. *Int J Food Microbiol*, 135: 203-210.
- Çon, A.H., Karasu, N. (2009). Determination of antagonistic starter cultures for pickle and olive fermentation processes. *Czech J Food Sci*, 27: 185-193.
- Daeschel, M.A., Fleming, H.P. (1984). Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations. *Food Microbiol*, 1: 303-313.
- Daeschel, M.A., Andersson, R.E., Fleming, H.P. (1987). Microbial ecology of fermenting plant materials. *FEMS Microbiol Rev*, 46: 357-367.
- Dewan, S., Tamang, J.P. (2007). Dominant lactic acid bacteria and their technological properties isolated from the Himalayan ethnic fermented milk products. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92: 343-352.
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol*, 33: 1-10.
- Essid, I., Medini, M., Hassouna, M. (2009). Technological and safety properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. *Meat Sci*, 81: 203-208.
- Gardner, N.J., Savard, T., Obermeier, P., Caldwell, G., Champagne, C.P. (2001). Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *Int J Food Microbiol*, 64: 261-275.
- Georgieva, R., Iliev, I., Haertlé, T., Chobert, J.M., Ivanova, I., Danova, S. (2009). Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Int Dairy J*, 19: 696-702.
- Heperkan, D. (2013). Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters. *Front Microbiol*, 4: Article no. 143, 1-11.
- Hutkins, R.W. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, USA, pp. 233-259.
- Josephsen, J., Jespersen, L. (2004). Starter Cultures and Fermented Products. In: *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, Hui, Y.H. (ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 23-49.
- Kabak, B., Dobson, A.D.W. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51: 248-260.
- Karasu, N., Şimşek, Ö., Çon, A.H. (2010). Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables. *Ann Microbiol*, 60: 227-234.
- Mäkimattila, E., Kahala, M., Joutsjoki, V. (2011). Characterization and electrotransformation of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paraplantarum* isolated from fermented vegetables. *World J Microbiol Biotechnol*, 27: 371-379.
- McDonald, L.C., Fleming, H.P., Hassan, H.M. (1990). Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol*, 56: 2120-2124.
- Montel, M.C., Masson, F., Talon, R. (1998). Bacterial role in flavour development. *Meat Sci*, 49: S111-S123.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci*, 65: 859-867.
- Reina, L.D., Breidt, F., Fleming, H.P., Kathariou, S. (2005). Isolation and selection of lactic acid bacteria as biocontrol agents for nonacidified, refrigerated pickles. *J Food Sci*, 70: M7-M11.
- Rodríguez-Gómez, F., Romero-Gil, V., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A., Arroyo-López, F.N. (2012). Multivariate analysis to discriminate yeast strains with technological applications in table olive processing. *World J Microbiol Biotechnol*, 28: 1761-1770.

- Seseña, S., Sánchez, I., Palop, L. (2005). Characterization of *Lactobacillus* strains and monitoring by RAPD-PCR in controlled fermentations of “Almagro” eggplants. *Int J Food Microbiol*, 104: 325-335.
- Sonar, N.R., Halami, P.M. (2014). Phenotypic identification and technological attributes of native lactic acid bacteria present in fermented bamboo shoot products from North-East India. *J Food Sci Technol*, 51: 4143-4148.
- Spano, G., Russo, P., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H., Grandvalet, C., Coton, E., Coton, M., Barnavon, L., Bach, B., Rattray, F., Bunte, A., Magni, C., Ladero, V., Alvarez, M., Fernández, M., Lopez, P., de Palencia, P.F., Corbi, A., Trip, H., Lolkema, J.S. (2010). Biogenic amines in fermented foods. *Eur J Clin Nutr*, 64: S95-S100.
- Taboada, N., Núñez, M., Medina, R., Alzogaray, M.S.L. (2014). Characterization and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditional Argentinean goat's milk products. *Food Biotechnol*, 28: 123-141.
- Tamang, J.P., Tamang, B., Schillinger, U., Guigas, C., Holzapfel, W.H. (2009). Functional properties of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented vegetables of the Himalayas. *Int J Food Microbiol*, 135: 28-33.
- Thapa, N., Pal, J., Tamang, J.P. (2006). Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *Int J Food Microbiol*, 107: 33-38.
- Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res Int*, 36: 895-904.
- Wouters, D., Bernaert, N., Anno, N., Van Droogenbroeck, B., De Loose, M., Van Bockstaele, E., De Vuyst, L. (2013a). Application and validation of autochthonous lactic acid bacteria starter cultures for controlled leek fermentations and their influence on the antioxidant properties of leek. *Int J Food Microbiol*, 165: 121-133.
- Wouters, D., Grosu-Tudor, S., Zamfir, M., De Vuyst, L. (2013b). Applicability of *Lactobacillus plantarum* IMDO 788 as a starter culture to control vegetable fermentations. *J Sci Food Agric*, 93: 3352-3361.
- Zeng, X., Xia, W., Wang, J., Jiang, Q., Xu, Y., Qiu, Y., Wang, H. (2014). Technological properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional low salt fermented whole fish. *Food Control*, 40: 351-358.



ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİNE DAYALI NANOSENSÖRLERİN GIDA ALANINDAKİ UYGULAMALARI

Meryem Yılmaz, Aylin Altan*

Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mersin

Geliş / *Received*: 21.09.2017; Kabul / *Accepted*: 01.10.2017; Online baskı / *Published online*: 16.11.2017

Yılmaz, M., Altan A. (2017). Elektroegirme yöntemine dayalı nanosensörlerin gıda alanındaki uygulamaları. *GIDA* (2017) 42 (6): 708-725 doi: 10.15237/gida.GD17057

ÖZ

Son yıllarda, nanoteknoloji ile çok farklı özelliklerle donatılmış yeni nesil nano ürünler üretilmektedir. Geliştirilen en önemli nanoteknoloji ürünlerinden biri nanosensörlerdir. Tıp, sağlık, ilaç, elektronik gibi farklı alanlarda kullanılabilen nanosensörler; günümüzde gıda alanında da yeni yeni kendine yer edinmeye başlamıştır. Özellikle gıdalarda tespit edilmesi istenen unsurlar için hızlı, ekonomik ve güvenilir bir ölçüm olanağı sunan nanosensörler; elektriksel alan çekimiyle nanometre inceliğinde materyal üretimi sağlayan elektroegirme yöntemiyle de üretilebilmektedir. Gıda alanı dâhil pek çok alanda kullanılmakta olan bu yöntemle yeni özellikler kazandırılmış fonksiyonel nano ölçekli sensörler tasarlanabilir. Bu derlemede, gıdaların kalitesi ve güvenliği hakkındaki bilgilere erişim kolaylığı sağlayan elektroegirme yöntemiyle üretilmiş nanosensörlerden bahsedilmektedir.

Anahtar kelimeler: Elektroegirme, nanosensör, gıda

APPLICATIONS OF ELECTROSPINNING-BASED NANOSENSORS IN FOOD FIELD

ABSTRACT

In recent years, a new generation of nano products with many different features has been produced by nanotechnology. One of the most important nanotechnology products developed are nanosensors. Nanosensors currently used in different fields such as medicine, health, and electronics have started to take their place in the field of food as well. Nanosensors offering fast, economical and reliable measurements for the elements that required to be detected in the foods can also be produced by the electrospinning method which provides material production with nanometer diameter using electrical field attraction. Functional nanosensors with new features can be designed with electrospinning method which is used in many areas including the food area. This review paper is about nanosensors produced by electrospinning, providing easy access to quality and food safety information.

Keywords: Electrospinning, nanosensor, food

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ aaltan@mersin.edu.tr

☎ (+90) 324 361 0001

☎ (+90) 324 361 0032

GİRİŞ

Gıdalarda kalite kontrol amaçlı gerçekleştirilen kimyasal analizler genellikle klasik ve enstrümental analiz yöntemleriyle yapılmaktadır. Günümüzde klasik (gravimetrik ve volumetrik) analiz yöntemlerinin kullanımının azalmasının ana nedenleri yavaş olması, düşük konsantrasyonların tayin edilememesi ve otomasyona uygun olmamasıdır (Baltacı ve Gündoğdu, 2012; Gamlı, 2014). Temeli klasik analiz tekniklerine dayalı olan enstrümental yöntemler; spektrofotometri, refraktometri, kolorimetri, polarimetri, potansiyometri, amperometri gibi yöntemlerden oluşmaktadır (Baltacı ve Gündoğdu, 2012). Bu yöntemlerde kullanılan cihazlar laboratuvarında kendine ait bir yer istemekle birlikte oldukça pahalı ve özel bakıma ihtiyaç duyarlar. Dolayısıyla gıda analizlerinde bu cihazlar özel eğitim almış insanlar tarafından kullanılmaktadırlar. Ayrıca enstrümental analizler, çok küçük konsantrasyonları tespit etmek için kullanılabilirken yüksek konsantrasyonlu maddelerde uygulanamazlar (Robinson vd., 2005). Sonuç olarak hem klasik yöntemlerin hem de enstrümental yöntemlerin pek çok olumsuz özellikleri bulunmaktadır. Fakat nanoteknolojinin gıda alanındaki gelişmeleri incelenip araştırılır ise bu olumsuzlukların giderilmesi mümkündür. Çünkü klasik ve enstrümental analiz yöntemlerini nano boyutta birleştirmeye yardımcı olan nanoteknoloji ile nanosensörler geliştirilebilir. Bu sayede gıda kalite kontrolünde kullanılmak üzere tasarlanan nanosensörler ile gıda; bulunduğu yerden pratik, hızlı, ekonomik ve duyarlı bir şekilde analiz edilebilir (Perez-Lopez ve Merkoci, 2011).

Son yıllarda önemli bir araştırma konusu olan nanosensörler ile gıdaların bileşimi ve besleyicilik değerleri belirlenebilir, tazelik durumları değerlendirilebilir ya da çevresel etkenlerden veya kontaminasyondan kaynaklanan toksik maddeler tespit edilebilir. Ayrıca gıda ambalajı içerisine yerleştirilen nanosensörler ile tedarik zinciri boyunca iç ve dış koşullarda gıdanın durumu izlenebilir (Qureshi vd., 2012). Nanosensörler, tüketicilerin satın aldıkları gıdaların kalitesinin kontrol edilmesini sağlarken aynı zamanda gıda güvenliğini artırarak gıda kaynaklı

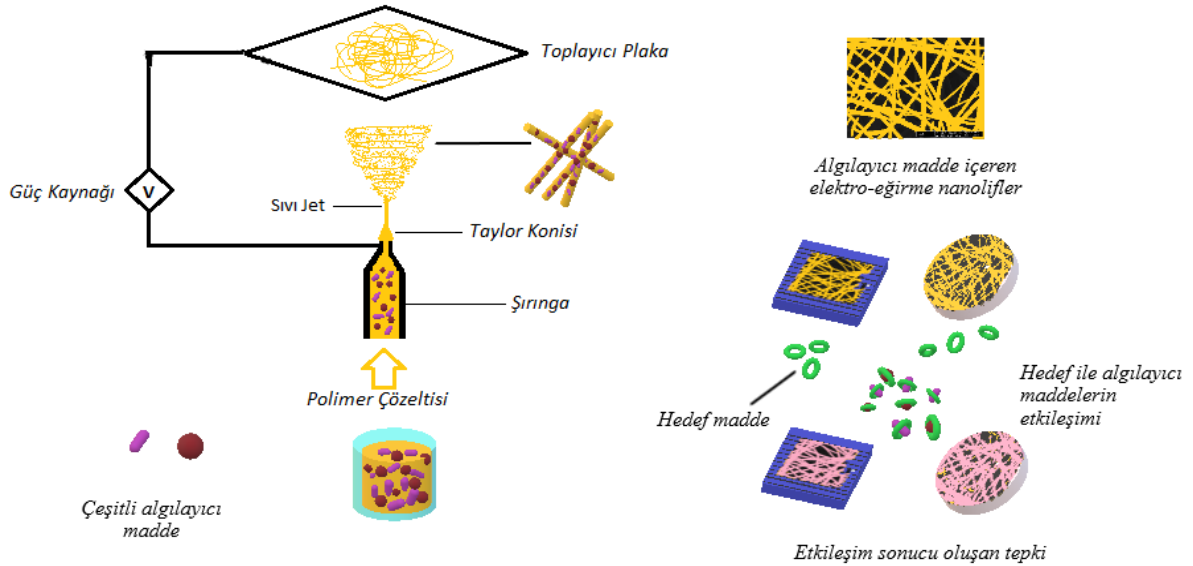
zehirlenmelerin görülme oranını da azaltabilir (Duncan, 2011). Bütün bunları gerçekleştirirken klasik ve enstrümental analiz yöntemlerinden daha duyarlı, hızlı ve ekonomiktir. Bu kapsamda kullanılabilirliği yüksek olan nanosensörleri, çeşitli yöntemlerle geliştirebilmek mümkündür. Bu yöntemlerden elektroegirme yöntemi ile çok geniş yüzey alanına ve gözenekliliğe sahip nano yapılar üretmek daha kolay ve düşük maliyetlidir (Erdem ve Sancak, 2013). Sonuç olarak gıda alanında nanosensör tasarlamada kullanılacak en uygun yöntemlerden birinin elektroegirme olduğu söylenebilir.

ELEKTRO-EGİRME YÖNTEMİ

Nano boyutlu ürünlerin üretilmesinde kullanılan elektroegirme yöntemi; tıp, ilaç, elektronik, bilgisayar, tekstil, biyoteknoloji, çevre, tarım ve gıda gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Tarhan vd., 2010). Elektroegirme özellikle gıda alanında, çok yeni bir teknoloji olduğu için bilim insanlarının ilgisini daha çok çekmektedir. Bu doğrultuda tarımdan gıda üretimine, besin takviyelerinden gıda ambalajlama sistemlerine kadar gıda sanayisinin neredeyse her alanında bu yöntemin muhtemel kullanım alanları araştırılmaktadır (Duncan vd., 2011; Mirjalili ve Zohoori, 2016). Örneğin bu yöntem; gıdaların oksidasyondan korunmasında, kapsüllenmiş besin maddelerinin, vitaminlerin ve lezzet maddelerinin kontrollü salımında, gıda ambalajlarının gaz ve nem engelleyici tabakalarla geliştirilmesinde ya da akıllı ve aktif paketleme sistemleri için nano materyallerin tasarlanmasında kullanılabilir. Ayrıca elektroegirme yöntemiyle tasarlanan nanosensörler ile gıdalardaki patojenler tespit edilebilir, gıdaların kalite kontrol analizleri yapılabilir ve nakliye sırasında ürünlerin durumu izlenebilir (Qureshi vd., 2012; Mihindukulasuriya, 2012). Bu yöntemin gıda alanında bu kadar geniş bir yer edinebilmesinin nedeni, elektrik alan kuvvetlerinin etkisiyle çekilen polimerlerden nano yapıların oluşumunu sağlayabilmesidir (Bezir vd., 2014).

Elektroegirme yönteminde öncelikle polimerlerin, uygun çözücülerde çözündürülerek ya da ısıyla eritilerek hazırlanması gerekmektedir. Böylelikle hazırlanan bu polimer çözeltileri, cam bir pipete

veya şırıngaya konularak elektroğirme cihazında kullanılabilir (Haider vd., 2015). Şekil 1'de elektroğirme düzeneği basit bir şekilde gösterilmektedir. Cihazın çalışma sisteminde ilk olarak şırıngadaki polimer çözeltisi, şırınga pompası ile besleme ucuna gönderilir. Bu sırada besleme ucuna bağlı olan yüksek voltajlı bir güç kaynağı ile elektrik alan oluşturulmaktadır. Eğer güç kaynağıyla uygulanan voltaj artırılır ise elektriksel kuvvetler, besleme ucundaki çözeltinin viskoelastik kuvvetleriyle mücadeleye gireceğinden şırınga ucundaki sıvının şekli değişir (Chen vd., 2016). Bu kuvvetler eşitlendiği anda ise



Şekil 1. Basit bir elektroğirme düzeneği ve nanosensörün algılama mekanizmasının şematik diyagramı

ELEKTRO-EĞİRME YÖNTEMİNDE ETKİLİ OLAN FAKTÖRLER

Elektroğirme yöntemiyle elde edilen nanoliflerin morfolojik özellikleri, geliştirilmek istenen ürünün kullanılabilirliğini etkileyen önemli bir etmendir. Bu nedenle farklı alanlarda kullanıma uygun morfolojiye sahip nano yapılar meydana getirmek için elektroğirme yöntemini etkileyen parametrelerin optimize edilmesi son derece önemlidir. Bu parametreler; polimer çözeltisinin özellikleri (molekül ağırlığı, konsantrasyonu, viskozite, elektrik iletkenliği, yüzey gerilimi, çözücünün dielektrik sabiti, pH), prosesle ilgili parametreler (uygulanan voltaj, toplayıcı-iğne

şırınga ucundaki sıvı, Taylor konisi olarak tanımlanan konik bir şekle dönüşür. İşte bu konik şekli aldığı andaki voltaja kritik voltaj denir ve bu voltaj besleme ucunda fiskeye şeklinde bir jet oluşumunu sağlar. Bu sırada polimer çözeltisi bir kıvrılma/bükülme kararsızlığından geçer ve çözelti içindeki çözücü buharlaşır. Bunun sonucunda toplayıcıya doğru hareket eden parçacıkların çapları mikro veya nano ölçülere kadar azalır ve böylece istenen özellikte ürünler geliştirilir (Ahmed vd., 2015; Khalf ve Madihally, 2017).

arasındaki mesafe, polimer çözeltisi besleme hızı ve sıcaklığı, toplayıcı çeşidi ve ortam koşulları (sıcaklık, nem, basınç) olarak üç ana başlık altında toplanmaktadır (Chen vd., 2016; Li ve Wang, 2013). Çizelge 1'de elektroğirme işlemini etkileyen birkaç parametrenin nanolif morfolojisine etkileri özetlenmektedir.

Polimer çözeltisinin özellikleri

Elektroğirme işleminin meydana gelmesi için hazırlanan polimer çözeltisinde kullanılacak olan polimerin yeterli molekül ağırlığına sahip olması gerekmektedir. Çünkü molekül ağırlığı elektroğirmeyi etkileyen diğer (viskozite,

konsantrasyon gibi) onemli degiskenlerle bire bir baglantilidir. Polimerin molekul aghriliginin arttirilmasi polimer zincir uzunluguna bagli olarak viskoziteyi arttirir ve buyulece elektroegirme sirasinda polimer jetinin zincir karmaşikliginin da

artmasına neden olur. Bunun sonucunda da daha kalın lifler meydana getirilir ve boncuk olusumunda azalma gercekleşir (Mihindikulasuriya, 2012).

Çizelge 1. Elektroegirme parametrelerinin nanolif morfolojisi uzerine etkileri
(Chen vd., 2016; Li ve Wang, 2013)

Parametreler	Nanolif morfolojisine etkileri
Polimer çözeltisinin özellikleri	
Molekül ağırlık	Arttıka viskozite artar, boncuk sayısı azalır, kalın lifler oluşur.
Konsantrasyon	Arttıka lif çapı da artar.
Viskozite	Molekül ağırlığıyla doğru orantılı tepki verir.
Elektrik iletkenliği	Arttıka lif çapı azalır.
pH	Düşük pH değerinde boncuksuz, yüksek pH'da düz ve ince lif oluşur.
Dielektrik sabiti	Arttıka boncuksuz yapı ve lif çapı azalır.
Prosesle ilgili parametreler	
Uygulanan voltaj	Arttıka lif çapı başlangıçta azalırken sonra artar.
Akış hızı	Arttıka lif çapı artar, yüksek akış hızında lifler kuruyamaz ve boncuk oluşumu gercekleşir.
Toplayıcı çeşidi	Değiştirilerek örgülü, düzgün sıralı veya rastgele lifler üretilebilir.
Toplayıcı ile iğne arasındaki mesafe	Azaldıkça lifler yeterince kuruyamaz, boncuklaşır ve yassılaşıır.
Çözelti sıcaklığı	Arttıka çözücünün buharlaşma hızı artar böylece daha düzgün nanolifler elde edilir.
Ortam koşulları	
Sıcaklık	Arttıka çözücünün buharlaşma hızı artar lif çapı azalır.
Nem	Arttıka lif yüzeyinde gözenekler oluşabilir, ıslak ve kalın lifler oluşabilir.

Elektroegirmede polimer jetinin devamlı düzgün bir şekilde oluşması için polimer çözeltisinin viskozitesi ile konsantrasyonunun belli miktarda olması gerekmektedir. Konsantrasyonun çok düşük olması çözeltiden lif oluşumunun gözlenmesi için yeterli viskoziteye sahip olmadığı anlamına gelir. Belli bir oranda artırılması ise molekül aghriliginin artışında olduğu gibi benzer liflerin oluşmasını sağlamaktadır. Çok fazla artırılmasında ise iğne ucunda tıkanıklığa yol açarak boncuklanmış kusurlu nanolif üretimine hatta elektroegirme işleminin gercekleşmemesine sebep olabilir (Şirin vd., 2013; Haider vd., 2015).

Yüzey gerilimi; çözelti konsantrasyonu ile ters, viskozitesi ile doğru orantılı olarak artıp azalmaktadır. Polimer çözeltisinin birim hacimdeki yüzey alanını azaltma etkisine sahip olan yüzey geriliminin artırılması, çözücü moleküllerinin bir araya toplanma ve çözeltinin

damlacıklara dönüşme eğilimini arttırmaktadır. Böylece yüzey gerilimi, elektroegirme sırasında oluşan liflerde boncuk oluşumuna neden olmaktadır (Şirin vd., 2013; Chen vd., 2016). Polimer çözeltisinin elektrik alan içerisinde çekilebilmesi için belli bir iletkenlik değerine sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle iletkenliği olmayan polimer çözeltilerinden lif elde edilemezken iletkenliğin çok yüksek olduğu değerlerde Taylor konisi ve jet oluşumu yerine çoklu jet oluşumu gercekleşebilir. Fakat polimer çözeltisinin iletkenliğinin belli elektroegirme işlem aralıklarında artırılması daha küçük çaplarda nanolif üretimini sağlamaktadır (Mihindikulasuriya, 2012). Yapılan bazı çalışmalarda çözeltilerin pH değerinin değişmesi sonucunda elektrik iletkenliğinin de değiştiği belirtilmektedir. Asidik çözeltilerde polimerin proton fazlalığından dolayı boncuklu liflerin oluştuğu, bazik değerlerindeki çözeltilerde ise

daha ince ve düzgün liflerin meydana geldiği söylenmektedir (Beypazar 2013). Çözeltinin ne miktarda elektriksel yükü kendisinde hapsedebileceğini ifade eden dielektrik sabiti, çözelti içerisindeki elektriksel yüklerin eşit olarak dağılımını sağlayarak daha düzenli ve homojen elektroçirme nanoliflerinin üretilmesine yardımcı olmaktadır. Dielektrik sabitinin yükselmesiyle boncuk sayısı ve lif çapı azalır ve birim alanda daha çok nanolif toplanmaktadır (Beypazar, 2013; Chen vd., 2016).

Prosesle ilgili parametreler

Elektroçirme yöntemiyle üretim yapabilmek için çözeltiliye belirli bir voltaj değerinin uygulanması gerekmektedir. Uygulanan voltaj ile polimer çözeltisi elektriksel yüklerle yüklendiği için nanolif çapı değişmektedir. Fakat bu değişim voltajda meydana gelen değişimle her zaman aynı sonucu vermemektedir. Voltajın artmasıyla daha fazla elektriksel yük yüklenen çözelti, iğne ucunda kararsız bir jet oluşumuna sebep olur. Böylece daha ince nanolifler oluşabilmekte ve voltaj daha da arttırılınca daha kalın lifler hatta boncuklar gözlemlenebilmektedir (Haider, 2015; Li ve Wang, 2013). Toplayıcı ile iğne arasındaki mesafenin arttırılması ise elektro-çirime işlemi sırasında liflerin havadaki uçuş süresini uzatmaktadır. Sürenin uzaması daha kuru ve küçük çaplarda lif oluşumunu gerçekleştirirken mesafe çok kısaltılırsa lifler kurumadan toplayıcıya ulaşacağından ıslak ve boncuklu yapıda lifler oluşabilmektedir (Mihindukulasuriya, 2012; Mirjalili ve Zohoori, 2016). Polimer çözeltisinin akış hızı ile toplayıcı-iğne arasındaki mesafe arasında ters orantı mevcut olup lif yapısını etkilemektedir. Elektroçirme nanolif morfolojisini etkileyen diğer bir değişken de polimer çözeltisinin sıcaklığıdır. Çözeltinin konsantrasyonu sabit tutulup sıcaklığı arttırılırsa polimer zincirleri arasındaki etkileşimler azalarak zincirler açılır ve böylelikle viskozite azalır. Ayrıca çözücünün buharlaşma hızı arttığı için daha düzgün ve ince lifler elde edilebilir (Şirin vd., 2013).

Elektroçirme yönteminde farklı toplayıcılar kullanıldığında farklı konumlanma şekillerine sahip lifler üretilmekte ve ürünün yüzey

özellikleri değiştirilebilmektedir. Örneğin; sabit plaka üzerinde lifler rastgele toplanırken hareketli toplayıcılarla bilezik, çerçeveler gibi sabit toplayıcılar ile daha kontrollü, istenen özellikte lifler toplanabilmektedir. Toplayıcıda liflerin daha orantılı olarak dağılması ve liflerdeki gözenekliliğin daha kontrollü olarak gelişmesi için hareketli toplayıcılar kullanılmaktadır (Beypazar, 2013; Haider, 2015).

Ortam koşulları

Elektroçirme işleminin yapıldığı ortamın sıcaklığı arttırılırsa çözücünün buharlaşma oranı artacağından toplayıcıda daha düzgün dağılımlı ince lifler elde edilebilmektedir. Fakat ortamın nemi artarsa lifler tam kuruyamadan toplayıcıya ulaşır veya lif yüzeyinde gözeneklilik ve lif çapında artış oluşur (Li ve Wang, 2013; Haider, 2015; Chen vd., 2016).

ELEKTROÇİRME YÖNTEMİNE DAYALI NANOSENSÖRLER

Sensörler, tespit edilmesi istenen değişkenleri fiziksel, elektriksel, kimyasal, optiksel, termal ve manyetik olarak algılama işlemi yapan sistem ya da yapılarıdır. Bunlardan kimyasal bileşikleri veya iyonları birbirinden ayırt edebilen ve miktarlarını elektriksel olarak algılayabilenlerine elektrokimyasal sensörler denilmektedir (Dai, 2016). Bu sensörlerin yapılarına enzim, antikor, hücre, mikroorganizma, reseptörler gibi biyolojik olarak aktif maddeler eklenir ise biyosensörler olarak isimlendirilirler. Fakat bir biyosensör kimyasal veya biyolojik hedef maddeye seçici, sürekli ve hızlı tepki verebilmelidir. Bunun için de bir biyoaktif ya da biyoalgılama materyeli içererek tespit edilmesi istenen maddeyi tanımalı ve transdüserine iletebilmelidir (Dai, 2016). Bir nanosensörün hedef maddeyi algılama mekanizması Şekil 1'de gösterilmektedir.

Fonksiyonel bir sensör sistemi geliştirmede, aktif bileşenleri bir arada tutmak için bir taşıyıcıya gereksinim vardır. Bu da genellikle aktif bileşiklerin bir polimerik film matrisi içine hapsedilmesiyle sağlanmaktadır. Fakat sensörlerin hassasiyetini ve dayanıklılığını iyileştirebilmek için, taşıyıcı olarak kullanılan polimer algılanacak maddeye karşı oldukça geçirgen olmalıdır. Eğer

bu koşul sağlanırsa analit, taşıyıcı matris boyunca iyi bir şekilde dağılıbilir ve reaktif bileşiklerle hızlı tepki verebilir. Ayrıca, geniş bir yüzey alanına sahip bir taşıyıcı tercih edilerek sensör üretiminde kullanılır ise tespit edilmek istenen maddeye karşı sensörün doğru tepki verme oranı da artırılmış olacaktır (Kong vd., 2000). Bu amaçla, elektroegirme yöntemiyle üretilen nano ve mikro lifler en iyi taşıyıcılardır. Çünkü bu malzemeler ultra-ince çaplarına bağlı olarak çok büyük bir yüzey/hacim oranına sahiptirler. Ek olarak elektroegirme nano materyalleri ile maliyet açısından az miktarda malzeme kullanılarak büyük bir miktarda ürün elde edilebilmektedir (Bezir vd., 2014). Bu yöntemle tasarlanan sensörler sayesinde gıdaların özel ekipmanlarla donatılmış laboratuvarlara getirilme zorunluluğu ortadan kalkar ve gıdalar oldukları yerde istenen nitelik açısından analiz edilebilir. Sonuç olarak bu yöntemle hassas, hızlı cevap veren, ön hazırlık gerektirmeyen, iyi eğitilmiş kullanıcılara ihtiyaç duymayan, gıdaların buldukları yerde kullanımına uygun olan, taşınımı kolay, küçük yani oldukça kullanışlı ve etkili sensörler geliştirilebilir (Duncan, 2011; Ahmed vd., 2015).

Son yıllarda gıdalardaki kalite kayıplarını belirlemeye yönelik nanosensörler geliştirmek için elektroegirme yöntemi kullanılmaktadır. Bu kapsamda geliştirilen nanosensörler Çizelge 2'de, nanosensörlerin optimizasyon koşulları ve nanolif çapları ise Çizelge 3'de gösterilmektedir.

Elektrokimyasal nanosensörler

Elektrik ile kimyanın etkileşiminin birleşmesiyle ortaya çıkan elektrokimyanın yardımıyla kimyasal bilgilerden elektriksel veriler elde edilebilmektedir. Elektrokimyasal nanosensörler ile tespit edilmek istenen madde; öncelikle nano yapıları tanımlayıcı elemana temas eder ve temas sonucunda oluşan kimyasal reaksiyon elektriksel cihazlar ile akım, yük, potansiyel gibi elektriksel verilere dönüştürülerek algılanır (Dai, 2016). Elektroegirme yöntemi kullanılarak tasarlanmış elektrokimyasal nanosensörlerin gıda alanındaki uygulamalarıyla ilgili yapılan bilimsel çalışmalar aşağıda açıklanmaktadır.

Ksantin (Xa) ve trimetilamin (TMA) balıklarda gıda kalite kontrolünün belirlenmesinde önemli

parametrelerdir. Bozulma sürecine giren balıklarda ksantin ve hipoksantin (Hxa) birikimi, adenin nükleotid bozunmasının başlıca metabolitleri olarak meydana gelmektedir. Bu nedenle, balıkların tazelik durumları Hxa veya Xa konsantrasyonu ile yansıtılabilir. Bu konsantrasyon değerlerini belirlemek için genellikle yüksek maliyet ve uzun süren ön hazırlık gibi olumsuz özelliklere sahip olan enzimatik yöntemler kullanılmaktadır (Dalkıran vd., 2017). Fakat enzimatik olmayan elektrokimyasal yaklaşım oldukça hassas, ucuz ve hızlıdır. Bu anlamda, Tang ve diğerleri (2011) elektroegirme yöntemiyle poliakrilonitril (PAN) nanolifinden oluşan modifiye elektrot içerikli (Çizelge 3), duyarlı, enzimatik olmayan amperometrik bir Xa nanosensörünü tasarlamışlardır. Bu çalışmada önerilen enzimatik olmayan Xa nanosensör, 0.85 V'de (Hxa'nın bu potansiyel altında müdahalesi olmadığından) Xa konsantrasyonunu belirleyerek balıkların tazeliğini tahmin etmek için kullanılmıştır. Balık örneklerinde yapılan deneyler sonucunda, nanosensörün balıkların tazeliğini belirlemede uygun ölçümler sağlayabildiği, hızlı tepki, düşük algılama limiti, iyi kararlılık ve seçicilik gösterdiği belirtilmektedir (Tang, 2011). Li ve diğerleri (2015) farklı NiO içeriğine sahip p-tipi NiO/n-tipi ZnO heterokavşaklı, polivinilpirolidon (PVP) nanolifleri elektroegirme (Çizelge 3) ve kalsinasyon ile sentezleyerek TMA sensörünü geliştirmişlerdir. Sensörün TMA algılama performansı incelendiğinde, NiO içeriğinin performans üzerinde önemli bir etkisinin olduğu söylenmektedir. Ayrıca çalışmada p-tipi NiO/n-tipi ZnO heterokavşaklı nanolif yapısına sahip olan sensörün; iyi seçicilik, doğrusallık ve hızlı tepki özellikleri ile pratik TMA analizleri için umut verici olduğu belirtilmektedir (Li vd., 2015). Li ve diğerleri (2016) koaksiyel elektroegirme yöntemiyle (Çizelge 3), metal oksit yarı iletken (MOS) çekirdek kabuklu hetero-yapılı PVP nanoliflere dayanan TMA sensörünü tasarlamışlar ve sensörün gaz algılama özelliğini araştırmışlardır. Geliştirilen sensörün; tekli MOS nanolif tabanlı sensörlere göre yüksek seçicilik, hızlı tepki verdiği ve TMA'yı tespit etmeye yönelik gelişmiş bir gaz algılama özelliğine sahip olduğu ifade edilmektedir (Li vd., 2016).

Çizelge 2. Gıda alanında elektroğirme yöntemiyle üretilen sensörler

Sensör çeşidi	Algılanan madde	Kullanım amacı	Kaynak
Elektrokimyasal nanosensörler	Ksantan		Tang vd., 2011
	Trimetilamin (TMA)	Balıkların tazeliğini belirlemede	Li vd., 2015; Li vd., 2016
	Aflatoksin B1 (AFB1)	Gıda kalite kontrolü	Babakhanian vd., 2015; Xu vd., 2016
	Askorbik Asit (AA)	Meyve ve sebzelerin kalite kontrolü	Fuenmayor vd., 2014
	Biyojen aminler	Gıda kalite kontrolü	Marega vd., 2015
	E. coli	Gıda güvenliği	Shaibani vd., 2016
	Tetrasiklin	Gıda kalite kontrolü	Scagion vd., 2016
Enzime dayalı elektrokimyasal nanobiyosensörler	Fenolik bileşikler	Meyve ve sebzelerin kalite kontrolü	Arecchi vd., 2010
	Pirimifos-metil	Gıda kalite kontrolü	El-Moghazy vd., 2016
	Glikoz	Gıda kalite kontrolü	Scampicchio vd., 2010, Mason vd. 2016
Aptamere dayalı elektrokimyasal biyosensör	Bisphenol A	Gıda kalite kontrolü	Kim vd., 2016
Kolorimetrik nanosensör	Uçucu aroma bileşikleri	Gıda kalite kontrolü	Yoon vd., 2007
	Oksijen	Gıda ambalajında sızıntı göstergesi	Mihindukulasuriya, 2012
	Hidrojen peroksit	Gıda kalite kontrolü	Senthamizhan vd., 2016
	pH		Devarayan ve Kim, 2015
	Biyojen aminler, pH	Gıda kalite kontrolü	Geltmeyer vd., 2016
Gravimetrik sensör	Uçucu aroma bileşikleri	Gıda kalite kontrolü	Khoshaman ve Bahreyni, 2012

Çizelge 3. Geliştirilen sensörlerin optimizasyon koşulları ve nanolif çapları

Algılanan madde	Polimer Çözücü	Optimizasyon	Ortalama nanolif çapı	Kaynak
Ksantan (Xa)	PAN DMF	Uyg. voltaj: 30 kV Mesafe: 30 cm Kons: %8	200-400 nm	Tang vd., 2011
Fenolik bileşikler	naylon-6 formik asit	Akış hızı: 0.03 mL/h Uyg. voltaj: 24 kV Mesafe: 80 mm Toplayıcı: bakır tel halka (80 mm çapında)		Arecchi vd., 2010
Uçucu aroma bileşikleri	TEOS,PEO Kloroform	Uyg. voltaj: 15 kV Toplayıcı: alüminyum plaka		Yoon vd., 2007
Biyojen amin, pH	TEOS, APTES DCM, etanol	Akış hızı: 1 mL/h Uyg. voltaj: 20-24kV Mesafe: 15 cm Toplayıcı: dönen silindir Nem: %34 Sıcaklık: 20±1 °C	570-674 nm	Geltmeyer vd., 2016
Glikoz	Naylon-6 Formik asit	Akış hızı: 0.03 mL/h Uyg. voltaj: 24 kV Mesafe: 80 mm Toplayıcı: bakır tel halka (80 mm çapında)		Scampicchio vd., 2010
Uçucu aroma bileşikleri	MOF Aseton	Akış hızı: 0.6 mL/h Uyg. voltaj: 15 kV Mesafe: 20 cm Kons: %2		Khoshaman ve Bahreyni, 2012
Hidrojen peroksit	Polisülfon DMAc	Akış hızı: 0.75 mL/h Uyg. voltaj: 16 kV Mesafe: 15 cm Nem: %20 Sıcaklık: 22 °C Kons: %35	526-648nm	Senthamizhan vd., 2016
Pirimifos-metil	CS, PVA su, asetik asit	Uyg. voltaj: 18 kV Mesafe: 15 cm Toplayıcı: SP elektrot Kons: %8 (PVA), %3 (CS); 60:40	100nm	El-Moghazy vd., 2016
Aflatoksin B1 (AFB1)	PAN Su	Akış hızı: 0.008 mL/min Uyg. voltaj: 18 kV Mesafe: 20 cm Nem: %47 Toplayıcı: GC elektrot	300-500nm	Babakhanian vd., 2015
Tetrasiklin	PANI, PA6 HFID	Akış hızı: 0.01 mL/h Uyg. voltaj: 16 kV Mesafe: 5 cm Toplayıcı: dönen ID elektrot Kons: %5 (PA6), %5 (PA6/PANI)	276nm (PA6) 137nm (PA6/PANI)	Scagion vd., 2016
Trimetilamin (TMA)	PVP DMF, etanol	Uyg. voltaj: 20 kV Mesafe: 20 cm	100nm	Li vd., 2015
Trimetilamin (TMA)	PVP DMF	Koaksiyal iç/dış Akış hızı: 0.4/0.6 mL/h Uyg. voltaj: 16 kV Mesafe: 15 cm	160-180nm	Li vd., 2016

Çizelge 3 devam ediyor

Biyojen aminler	PVA su, etanol	Akış hızı: 0.003 mL/min Uyg. voltaj: 12 kV	140-180nm	Marega vd., 2015
pH	CA Aseton, dimetil asetamid	Uyg. voltaj: 10 kV Mesafe: 18 cm Nem: %40-50 Sıcaklık: 25°C Kons: %7-8	228±118nm	Devarayan ve Kim, 2015
Bisphenol A	PAN, PMMA DMF	Akış hızı: 10 mL/min Uyg. voltaj: 18 kV Mesafe: 15 cm	300nm	Kim vd., 2016
Oksijen	PEO etanol, su	Uyg. voltaj: 6-7 kV Mesafe: 20 cm Nem: %60 Sıcaklık: 22°C Kons: %5	400-800nm	Mihindikulasuriya, 2012
Askorbik Asit (AA)	Naylon-6 Formik asit	Akış hızı: 0.15 mL/h Uyg. voltaj: 25 kV Mesafe: 11 cm Kons: %23	95±25nm	Fuenmayor vd., 2014
Glikoz	Naylon-6 Formik asit	Akış hızı: 0.02 mL/min Uyg. voltaj: 25 kV Mesafe: 13 cm Nem: %40 Toplayıcı: sabit plaka		Mason vd. 2016
Aflatoksin B1 (AFB1)	PMMA, n,n-Dimetil formamid	Uyg. voltaj: 20 kV Kons: %8	200nm	Xu vd., 2016
<i>E. coli</i>	PAA*, PVA MilliQ water	Akış hızı: 0.3 mL/h Uyg. voltaj: 20 kV Mesafe: 15 cm	340±50nm	Shaibani vd., 2016

*PAA: poliakrilik asit, PVA: polivinil alkol, TEOS: tetraetilortosilikat, PEO: polietilen oksit, CA: selüloz asetat, PMMA: Polimetilmetakrilat, PA6: poliamid-6, PANI: polianilin, APTES: (3-aminopropil) trietoksisilan, PAN: poliakrilonitril, PVP: polivinilpirolidon, MOF: metal organik sistem (metal organic framework), HFID: 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol, DMF: dimetilformamid.

Gıdaların taşınması ve depolanması sırasında bulaşan ve insan sağlığına zararlı mikotoksinlerden birisi olan aflatoksinler; çeşitli gıdalarda değişen miktarlarda AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 gibi formlarda bulunmaktadır (Bakırcı, 2014; Can ve Velioglu, 2017). Babakhanian ve diğerleri (2015) elektroegirme yöntemiyle (Çizelge 3), Lake Red C (LRC) pigmentlerini içeren PAN nanoliflerini çıplak camı karbon (GC) elektrotunun yüzeyine doğrudan kaplayarak modifiye edilmiş GC/LRC-PAN elektrotlu yeni bir elektrokimyasal nanosensör geliştirmişlerdir. AFB1'i tespit etmek için geliştirilen bu nanosensör kümes hayvanlarının kan serumu ve yem örneklerinde test edilmiştir. Tekrarlanan testler sonucunda sensörün, herhangi bir engelle karşılaşmadan örneklerdeki AFB1'i kolaylıkla ayırt ettiği ve miktarını da yüksek duyarlılıkla analiz edebildiği belirtilmiştir (Babakhanian vd., 2015). Xu ve diğerleri (2016) AFB1'in tespiti için ilk kez etiketsiz elektrokemilüminesans (label-free ECL) immünosensörünü, manyetik elektrot üzerinde Fe₃O₄ ile polimetil metakrilattan oluşan çözüldüden elde edilen elektroegirme nanolifleri (Fe₃O₄-NFs) (Çizelge 3), karbon nanotüpler (CNHs) ile birleştirerek tasarlamışlardır. Yüksek alan yüzeyi ve iyi biyo uyumluluk içeren Fe₃O₄-NF'ler sayesinde antikora çok sayıda bağlanma alanı oluşturulmuştur. Böylece sensörün, AFB1 için yüksek duyarlılık ve düşük algılama limitine sahip olduğu belirtilmektedir (Xu vd., 2016).

Gıdalara çeşitli yollarla bulaşan *Escherichia coli* (*E. coli*) insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Gıda zehirlenmelerine yol açan *E. coli*'nin gıdalarda varlığı, gıda güvenliği kapsamında aranmaktadır (Basu vd., 2014, Li vd., 2017). Bu nedenle de tespit süresinin kısaltılmasına yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Shaibani ve diğerleri (2016) ışıkla yön gösterilebilir potansiyometrik sensörün (LAPS, light addressable potentiometric sensor) hassas tabakasını elektroegirme poliakrilik asit/polivinil alkol (PAA/PVA) nanolifler (Çizelge 3) ile birleştirerek *E. coli* varlığını başarılı bir şekilde tespit etmişlerdir. Nanolifler ile D-mannozun çapraz olarak bağlanmasıyla geliştirilen LAPS

sensörüyle *E. coli* tespitinin 60 dakika sürdüğü ifade edilmektedir (Shaibani vd., 2016).

Gıdalardaki bileşenleri, meydana gelen değişimleri ve bulaşmaları elektriksel yolla tespit eden elektronik dil (electronic tongue) teknolojisi insan dili temel alınarak geliştirilmektedir (Wadehra ve Patil, 2016). Bu teknolojinin en iyi şekilde çalışabilmesi için son derece hassas, hızlı ve doğru ölçüm yapabilen algılama birimlerine sahip olması gerekmektedir. Dolayısıyla bu birimleri oluşturan sensörün aktif katmanının nano çaplı malzemelerle güçlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir (Mercante vd., 2015; Phat vd., 2016). Scagion ve diğerleri (2016) gıdalarda, veteriner tıbbi ürünlerine bağlı antibiyotik kalıntılarında en çok karşılaşılan olan tetrasiklinleri (TCs) süt örneklerinde tespit etmeye yönelik elektroegirme yöntemiyle üretilmiş nanoliflerle sensörün aktif algılama katmanını oluşturmuşlardır. Bu poliamid-6/polianilin (PA6/PANI) nanolif katmanı (Çizelge 3), altın iç içe geçmiş mikro elektrotlara (IDEs) başarılı bir şekilde yerleştirilerek bir empedimetrik elektronik dil sensörünü meydana getirmiştir. Süt örneklerinde test edilen bu sensör ile izin verilen maksimum kalıntı seviyesinin altındaki tetrasiklin miktarları tespit edilebilmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada; elektroegirme nanoliflerin iletilmesiyle oluşturulan elektronik dil sensörünün, süt örneklerinin rutin analizlerinde kolaylıkla kullanılabilceği vurgulanmaktadır (Scagion vd., 2016).

Meyve ve sebzelerde değişken miktarlarda bulunan askorbik asit (C vitamini), hastalıklardan korunmada (Çöteli ve Karataş, 2014) ve bazı endüstriyel gıdaların üretiminde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Fuenmayor ve diğerleri (2014) farklı meyve türlerinde askorbik asiti (AA) tespit etmek için yüzey baskılı (screen-printed, SP) karbon elektrodunu elektroegirme Naylon-6 (SP-NFM) nanolifler (Çizelge 3) ile kaplayarak tek kullanımlık bir amperometrik sensör oluşturmuşlardır. Çalışmada SP-NFM sensör ile meyve örneklerinden herhangi bir özüt alınmadan, direk meyve üzerinden AA tespit edilebildiği belirtilmektedir. Elektroegirme nanoliflerin sensöre; hız, seçicilik, duyarlılık

katmakla birlikte fenolik bileşiklere karşı da seçici bir bariyer sağladığı vurgulanmaktadır (Fuenmayor vd., 2014).

Biyojen aminler, özellikle proteince zengin ve fermente edilmiş gıda maddelerinin üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında oluşmaktadır ve gıdaların bozulmasına, gıda zehirlenmesine yol açan bileşiklerdir (Yerlikaya ve Gököglü, 2002). Marega ve diğerleri (2015) gümüş nano partüküllerini (AgNP) içeren polivinil alkolden (PVA) oluşan nanolifleri (Çizelge 3), elektroçirme yöntemiyle cam substratların yüzeyine çöktürerek biyojen aminlerin tespiti için lokalize yüzey plazmon rezonans (LSPR) sensörünü tasarlamışlardır. Etilendiamin (EDA) buharı ve taze karides etinden yayılan biyojen amin buharına maruz bırakılan sensörün başarılı bir şekilde çalıştığı belirtilmiştir (Marega vd., 2015).

Enzime dayalı elektrokimyasal nanobiyosensörler

Biyosensörler, tespit edilmesi istenen maddeyi biyolojik tanımlayıcı elementler (biyoreseptör) ve fiziksel detektörler ile analiz eden araçlardır. Biyoreseptör; enzimlerden, proteinlerden, antikorlardan, antijenlerden, mikroorganizmalardan, hücrelerden vb. meydana gelebilir ve biyolojik sinyal üretir. Bu sinyal bir transformatör tarafından tespit edilen elektrik çıkışına dönüştürülür. Transformatörler (elektrokimyasal, optik, termal vb) analitin biyolojik element ile interaksyonu sonucu açığa çıkan sinyali elektrik sinyali, sıcaklık ya da kütle değişimi gibi daha kolay ölçülebilir sinyallere dönüştürmektedir (Wei, 2012). Genel olarak, bir biyoreseptör molekülü transformatör yüzeyine tutunur ve analit moleküle seçici olarak bağlanması beklenmektedir. Biyoreseptörün sensör yüzeyine tutunması, biyosensörün son performansını etkileyen temel etmendir. Bu kapsamda nanolif ve nano ağlar gibi nano büyüklükteki materyaller, biyosensörlerin üretilmesi ve geliştirilmesinde önemli katkılarda bulunabilirler (Perez-Lopez ve Merkoci, 2011; Wei, 2012). Aşağıda gıda alanında yapılan bilimsel çalışmalardan enzime dayalı elektroçirme nanolif

tabanlı elektrokimyasal nanobiyosensörler açıklanmaktadır.

Fenolik bileşikler, gıdaların tüketimi açısından önemli olan (oksidatif stabilite, renk, tat ve lezzet gibi) kalite özelliklerini etkileyen ve aktif birer doğal antioksidan olarak vücut savunmasında olumlu etkileri olan bileşenlerdir (Sernikli, 2015). Bu önemli bileşiklerin analizinde gaz kromatografisi ve spektrofotometri gibi birçok yöntem kullanılmakla birlikte çok sayıda amperometrik biyosensör de geliştirilmiştir. Arcchi ve diğerleri (2010) da elektroçirme yöntemini bu fenolik bileşiklerin tespitinde bir nanosensör geliştirmek için uygulamışlardır. Bunun sonucunda elektroçirme yöntemiyle üretilmiş naylon-6 nanolif (Çizelge 3) esaslı tirozinaz elektrotlu amperometrik bir biyosensör tasarlanmıştır. Gerçek örneklerde yapılan deneylerde geliştirilen biyosensörün işlevişi test edilerek 16 saniyelik bir tepki süresi, 0.05 μM 'lik bir tespit limiti ve 100 μM 'ye kadar bir doğruluk gösterdiği belirtilmektedir. Ayrıca elektroçirme yöntemiyle tasarlanan bu tirozinaz biyosensörünün; yüksek hassasiyet, uzun ömür ve tekrarlanabilirlik özelliklerine de sahip olduğu söylenmektedir (Arcchi vd., 2010).

Gıda ürünlerinin üretilmesinde ve depolanmasında kullanılan pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz olarak kullanımı (Kataoka ve Takagi, 2013; Özdal vd., 2016); zararlılarda dayanıklılık geliştirmekte ve kalıntıları insan sağlığını ve çevreyi olumsuz etkilemektedir (Vymazal ve Brezinova, 2015, Kaplan, 2016). Bu pestisitler arasında yer alan pirimifos-metil; temas ya da solunum yoluyla hedef organizmada biyokimyasal etki oluşturur ve böylece asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek ürünleri, zararlılara karşı korumaktadır (EFSA, 2015). Bu nedenle, El-Moghazy ve diğerleri genetiği değiştirilmiş asetilkolesterazı hareketsizleştirmek için destek maddesi olarak, toksik olmayan, biyolojik olarak bozunur ve maliyet açısından ucuz olan kitosan (CS) ve poli(vinilalkol) (PVA) polimerlerinden oluşan biyoaktif nanolifleri elektroçirme yöntemiyle üretmişlerdir (Çizelge 3). Nanoliflere biyoaktif özellik kazandırmak için doğrudan yüzey baskılı (screen-printed, SP)

elektrot eklenmiştir ve sonucunda geliştirilen nanobiyosensör, zeytinyağının içindeki pirimifosmetili tespit etmek için test edilmiştir. Pirimifosmetil konsantrasyonunun, uluslararası düzenlemelere göre izin verilen maksimum kalıntı limiti 164 nM olmasına rağmen geliştirilen biyosensörün bu pestisit için tespit limiti 0.2 nM olduğu belirtilmektedir. Ayrıca çalışmada, biyosensörün işlevsel kararlılığıyla ilgili olarak yapılan ardışık ölçümler sonucunda mükemmel bir kararlılık ve tekrarlanabilirlik gösterdiği ve 4°C'de kapalı plastik kutularda 42 günlük depolamadan sonra sensörün aktivitesinin %10'dan az azaldığından bahsedilmektedir. Ek olarak da biyosensörün; basit bir sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemiyle zeytinyağı örneklerinde kullanılabilirdiği ifade edilmektedir (El-Moghazy vd., 2016).

Glikoz algılayıcılar; diyabet kontrolüne ek olarak, biyoproses izlemeden gıda analizine kadar değişen önemli uygulamalar için büyük bir kullanım alanına sahiptirler. Bu kapsamda glikozu tanımlamak için enzim biyosensörleri arasında en çok araştırılan sınıf glikoz biyosensörleridir. Çünkü bu biyosensörler hem pratik hem de enzim aktivitesinden dolayı yüksek dayanıklılık da göstermektedirler (Wang, 2008). Elektroegirme yöntemini kullanan Scampicchio ve diğerleri (2010) naylon-6'dan üretilen naylon nanoliflerden (NyNF) glikoz biyosensörünü tasarlamışlardır (Çizelge 3). Bu sensörün glikozu algılama birimi, glikoz oksidaz enziminin kovalent olarak bağlandığı NyNF ile kaplanmış camsı bir karbon elektrotuna dayanmaktadır. Geliştirilen glikoz biyosensörünün performansı bu çalışmada ticari bir kolorimetrik glikoz kitiyle de karşılaştırılmıştır. Bunun için bal, sindirilmiş süt, kola ve enerji içecekleri gibi farklı gıdalar kullanılmış ve bu gıdaların her birine glikoz algılayıcılarıyla ayrı ayrı glikoz analizi yapılmıştır. Elde edilen verilerin karşılaştırılması sonucunda elektroegirme yöntemiyle geliştirilen biyosensörün, kolorimetrik test kitine göre daha kesin bir hassasiyet göstermiş olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çoklu reaktif madde tüketimi gerektiren kolorimetrik analiz kitinin aksine, naylon nanolif glikoz sensörü sadece yardımcı madde eklenerek örneklerin hazırlanmasında zaman alıcı ön işlem

gerektirmemesinden dolayı basit olduğu söylenmektedir. Elektroegirme ile elde edilen nanoliflerin sahip olduğu yüksek yüzey alanı, enzimlerin çok sayıda aktif bölgeye adsorbe etmesine zemin hazırlamaktadır. Dolayısıyla tasarlanan glikoz biyosensörünün yüksek duyarlılık, uzun ömür ve bir ay yoğun kullanım da dahi mükemmel tekrarlanabilirlik gibi özellikler gösterdiği belirtilmektedir (Scampicchio vd., 2010). Mason ve diğerleri (2016) glikoz oksidaz (GOX) enziminin tutuklandığı işlevselleştirilmiş çok duvarlı karbon nanotüpleri (MWCNT) ile elektroegirme Nylon-6 nanoliflerini (Çizelge 3) camsı bir karbon elektrotu üzerinde birleştirerek bir elektrokimyasal glikoz biyosensörü geliştirmişlerdir. Meyve suyu içeceklerinde glikoz içeriğinin analizi ve bira üretim sürecinde glikoz miktarının izlenmesi için bu biyosensörün potansiyel yararlılığı incelenmiştir. Sonuç olarak biyosensörün; bir aydan daha fazla tekrar kullanılabilir olduğu, glikoza karşı oldukça duyarlı olduğu ve bira gibi çok karmaşık sıvıların üretim sürecinin izlenmesi için de uygun olduğu belirtilmektedir (Mason vd., 2016).

Aptamere dayalı elektrokimyasal biyosensör

Yaygın olarak polikarbonat plastikler ile yapay reçinelerin üretiminde kullanılan bisphenol A (BPA), gıda ve içecek ambalajlarından gıdaya bulaşan, insan sağlığına zararlı bir endüstriyel kimyasaldır (Chouhan ve ark., 2014; Omak vd., 2016). Aptamer ise kısa ve işlevsel oligonükleotid gruplarından oluşur ve moleküler tanıma elementi olarak sensör üretiminde kullanılabilir. Kim ve diğerleri (2016) BPA'yı tespit etmek için, BPA-bağlayıcı aptamerler ile polimetil metakrilat (PMMA) ve PAN polimerlerinden oluşan (Çizelge 3) modifiye edilmiş çok kanallı karbon nanoliflere (MCNFs) dayalı bir alan-etkili transistör (FET) sensörünü elde etmişlerdir. Geliştirilen sensörde aptamerleri hareketsizleştirerek bağlayabilmek için tek uçlu elektroegirme yöntemi kullanılmış ve üretilen nanolifler ardında asitle oksitlendirilmiştir. Böylece sensör, çok kanallı bir yapıyla birlikte çok geniş spesifik yüzey alanına ve çok fazla işlevselleştirilmiş aptamere sahip olmaktadır. Bunun sonucunda da yüksek hassasiyet ve doğrulukla BPA tespiti yapabildiği, ayrıca dört

hafta boyunca tekrar kullanılabilirdiği belirtilmektedir (Kim vd., 2016).

Kolorimetrik nanosensörler

Bir maddeyi renk değişim yoluyla tespit etmeye yarayan hızlı, hassas ve çok yönlü nano yapıları sensörlerdir. Kolorimetrik sensörler ile toksik endüstriyel kimyasal maddelerden patojen bakteri ve mantarlara kadar çok farklı maddeler tespit edilebilmektedir (Askim ve Suslick, 2015). Bu amaçla gıda alanında, elektrodeleme ile üretilen kolorimetrik nanosensörler hakkındaki bilimsel çalışmalar aşağıda belirtilmektedir.

Gıda ürünlerinden salınan uçucu aroma bileşiklerini (VOC) tespit edebilen sensörler, gıda alanında kalite kontrol, tazelik değerlendirme, üretim sürecini izleme, gerçeklik analizi gibi uygulamalarda kullanımı mümkündür (Park vd., 2015). Yoon ve diğerleri (2007) VOC'ları tespit etmek için alternatif bir yöntem olarak elektrodeleme ile kolorimetrik sensör geliştirmişlerdir. Bu sensör tetraetil ortosilikat (TEOS), diasetilen (DA) monomeri ve polietilen oksit (PEO) karışımından oluşmaktadır (Çizelge 3). Üretilen kolorimetrik sensör, VOC'lara maruz bırakıldığında renk değişimine uğramakta ve böylece ortamdaki VOC varlığı algılanmış olmaktadır. Bu çalışmada sadece dört VOC çeşidi için ayırt edici renk dönüşümü elde edildiği belirtilmektedir. Fakat sensörde yapısal olarak farklı DA monomer kombinasyonu kullanıldığında tespit edilecek olan VOC çeşidi sayısı da arttırılabileceği vurgulanmaktadır (Yoon vd., 2007).

Gıdaları ambalajlarken modifiye ve kontrollü atmosferle paketlenme, vakum altında paketlenme gibi teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerin temel prensibinde oksijen gazı ya tamamen uzaklaştırılır ya da sınırlı oranda ambalaj içerisinde tutulmaktadır. Bu kapsamda hem ambalajın bütünlüğünü hem de tepe boşluğundaki oksijen seviyesini kontrol eden kullanışlı bir oksijen sensörüne ihtiyaç vardır (Robertson, 2012, Yılmaz vd., 2016). Bu nedenle; Mihindukulasuriya (2012) elektrodeleme yöntemini kullanarak titanyum dioksit (TiO₂), gliserol ve metilen mavisinden (MB) oluşan karışımı nano parçacıklar halinde

poli (etilen oksit) (PEO) liflerinin (Çizelge 3) içerisine kapsülleyerek bir çeşit sensör olan oksijen göstergesini geliştirmiştir. Bu çalışmada göstergenin oksijene ve ultraviyole ışığına olan duyarlılıkları araştırılmış ve göstergenin oksijene olan duyarlılığının çeşitli bileşenlerin oranlarının değiştirilerek ayarlanabileceği belirtilmiştir. Bu ayarlanabilme özelliği farklı oksijen gazı oranlarında paketlenmiş gıdalar için oksijen göstergesinin kullanılabilirliğini arttırmaktadır (Mihindukulasuriya, 2012).

Hidrojen peroksit (H₂O₂) çoğu ülkede ambalaj sterilizasyonunda, meyve ve sebzelerin yüzey sterilizasyonunda, bazı gıdalarda kükürt dioksitin uzaklaştırılmasında ve süt ürünleri olmak üzere çeşitli gıdalarda doğrudan katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ancak H₂O₂; askorbik asiti, antosiyaninleri, proteinleri olumsuz yönde etkileyerek gıdanın besleyici yönden kalitesinin azalmasına neden olmaktadır (Özkan ve Kırcı, 2001). Bu kapsamda Senthamizhan ve diğerleri (2016) H₂O₂'nin hızlı ve görülebilir olarak tespiti için elektrodeleme yöntemiyle kolorimetrik bir nanosensör tasarlamışlardır. Bu nanosensörün yapısı polisülfon nanolif (Çizelge 3) katmanı üzerine altın nanokütlelerinin (AuNC) donatılmasıyla elde edilen esnek flüoresan nanolif membrandan (FNFM) oluşmaktadır. Bu çalışmada yapılan denemeler sonucunda H₂O₂'nin yoğunluğu arttırıldığında; sensörün renginin hızlı ve kademeli olarak kırmızıdan maviye değiştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca bu renk değişiminin hızlı olmasının nedeni olarak nanolifler sayesinde daha geniş yüzey alanına sahip AuNC'nin, analitler ile etkileşiminin artmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Senthamizhan vd., 2016).

Geltmeyer ve diğerleri (2016) tetraetilorto silikat (TEOS) ile (3-aminopropil) trietoksilan (APTES) etkileşiminden (Çizelge 3) oluşan TEOS-APTES (TA) içine PH-indikatör boyalarından metil sarısını (MY) ve metil kırmızısını (MR) elektrodeleme yöntemiyle kombine etmişlerdir. Böylece iki tane katkılı (TA/MR ile TA/MY) kolorimetrik sensör ile bir tane de TA-MR kovalent bağlı kolorimetrik sensör tasarlamışlardır. Geliştirilen nanosensörlerin duyarlılıklarını tespit etmek için

çeşitli deneyler yapılmıştır. Öncelikle suda pH-sensörü olarak kullanılabilirliği denenmiş ve sonuç olarak MY, MR katkılı ve MR-APTES kovalent bağlı nanosensörlerin benzer bir algılama davranışı gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat güçlü sulu asidik ortamlarda pH-sensörü olarak sadece kovalent bağlı TA-MR'nin boyayı daha iyi tuttuğundan kullanımının uygun olduğu belirtilmiştir. Daha sonra sensörlerin, hidrojen klorür (HCl) ve amonyak (NH₃) buharlarını algılama duyarlılıkları araştırılmıştır. Araştırma sonucunda nanosensörlerin her biri için HCl ve NH₃ buharlarına karşı yüksek hassasiyet ve hızlı tepki verdiği bulunmuştur. Son olarak nanosensörlerin çok yönlülüğünü değerlendirmek için biyojen aminlere karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre MR katkılı nanolif sensörlerin pembeden turuncuya veya sarıya bir dakikadan az bir süre içinde net bir renk değişikliği gösterirken, TA-MR turuncudan sarıya daha az görsel fakat yine de gözle görülür bir renk değişikliği verdiği tespit edilmiştir (Geltmeyer vd., 2016).

Devarayan ve Kim (2015) kırmızılahanadan elde ettikleri pigment ile elektroegirme selüloz (Çizelge 3) nanoliflerini adsorpsiyon ve kimyasal çapraz bağlama teknikleriyle işlevselleştirerek çevre dostu, evrensel bir kolorimetrik pH sensörü geliştirmişlerdir. Sensörün her bir pH değerine karşı farklı gözle görülebilir renk değişimi göstermesi, sensöre evrensel pH algılama özelliğini katmaktadır (Devarayan ve Kim, 2015).

Gravimetrik nanosensör

Aranan maddedeki çok küçük kütle değişimini algılayıp ve miktarını hesaplayabilen yüzey sensörüdür. Temeli klasik bir gıda analiz yöntemine dayalı olan bu gravimetrik sensör elektroegirme ile tasarlanırsa daha kullanışlı hale getirilebilir (Kökbaş, 2013, Gamlı, 2014). Khoshaman ile Bahreyni (2012) VOC'ları tespit etmek için elektro-püskürtme yöntemiyle nano gözenekli hassas metal organik sistemleri (MOFs) (Çizelge 3) kuvarz rezonatörlerin yüzeyinin üzerine yerleştirilerek bir gravimetrik sensör tasarlamıştır. Bu çalışmada üretilen sensörlerin tepkileri, VOC sensörlerinin geleneksel üretiminde kullanılan damlatarak kaplama (drop-

casting) yöntemi ile hazırlanan sensörlerin tepkileri ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak elektro-püskürtme ile elde edilen sensörün hızlı cevap verdiği, az miktardaki VOC'ları dahi tespit ettiği ve daha kaliteli olduğu belirtilmiştir (Khoshaman ve Bahreyni, 2012).

SONUÇLAR

Mevcut gıda kalite kontrol yöntemlerinden daha basit, hızlı, duyarlı ve ekonomik olmasıyla dikkat çeken nanosensörler, elektroegirme yöntemiyle başarılı bir şekilde geliştirilebilmektedir. Çünkü bu yöntem bilim insanlarına nano boyutta kolay bir şekilde çalışma fırsatı sunmaktadır. Böylece tespit edilmesi istenen maddeye göre işlevleştirilmiş nanosensörler rahatlıkla tasarlanabilmektedir. Sonuç olarak elektroegirme yöntemiyle tasarlanan yeni nesil fonksiyonel nanosensörler ile gıdaların kalite kontrol süreci iyileştirilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP), 2017-2-TP2-2371 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, F. E., Lalia, B. S., Hashaïkeh, R. (2015). A review on electrospinning for membrane fabrication: challenges and applications, *Desalination* 356: 15-30, doi:10.1016/j.desal.2014.09.033.
- Arecchi, A., Scampicchio, M., Drusch, S., Mannino, S. (2010). Nanofibrous membrane based tyrosinase-biosensor for the detection of phenolic compounds, *Anal Chem Acta* 659(1-2):133-136, doi: 10.1016/j.aca.2009.11.039.
- Askim, J. R., Suslick, K. S. (2015). Hand-held reader for colorimetric sensor arrays. *Anal Chem* 7810-7816, doi:10.1021/acs.analchem.5b01499.
- Babakhanian, A., Momeneh, T., Aberoomand-azar, P., Kaki, S., Torki, M., Kiaie, S.H., Sadeghi, E., Dabirian, F. (2015). A fabricated electro-spun sensor based on Lake Red C pigments doped into PAN (polyacrylonitrile) nano-fibers for electrochemical detection of Aflatoxin B1 in poultry feed and serum samples. *Analyst* 140(22): 7761-7767, doi: 10.1039/c5an01602a.

- Bakırcı, G.T. (2014). Tahıl ve tahıl ürünlerinin aflatoksin, okratoksin A, zearalenon, fumonisin ve deoksinivalenol mikotoksinleri yönünden incelenmesi. *Akademik Gıda* 12(2): 46-56.
- Baltacı, C., Gündoğdu, A. (2012). *Enstrümental gıda analizleri*. Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane, 94s.
- Basu, P. K., Indukuri, D., Keshavan, S., Navratna, V., Vanjari, S. R. K., Raghavan, S., Bhat, N. (2014). Graphene based *E. coli* sensor on flexible acetate sheet. *Sens Actuators B* 190: 342– 347, doi:10.1016/j.snb.2013.08.080.
- Beypazar, Ö. (2013). Nanolif üretiminde çap kontrolü. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 86 s.
- Bezir, N. Ç., Evcin, A., Oktay. (2014). Ag katkılı TiO₂ nanofiberlerin üretim ve karakterizasyonu. *AKÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 14(3): 315-318.
- Can, N., Velioglu, S. D. (2017). Tekirdağ'da satışa sunulan ihlamur (*Tilia spp.*) ve kuşburnu (*Rosa canina*) örneklerinde aflatoksin varlığının araştırılması. *GIDA* 42(3): 287-296, doi: 10.15237/gida.GD16087.
- Chen, Z., Zhang, A., Hu, J., Wang, X., Yang, Z. (2016). Electrospun nanofibers for cancer diagnosis and therapy. *Biomater Sci* 4(6): 922-932, doi: 10.1039/c6bm00070c.
- Chouhan, S., Yadav, S.K., Prakash, J., Swati., Singh, S.P. (2014). Effect of bisphenol A on human health and its degradation by microorganisms: A review. *Ann Microbiol* 64(1): 13-21, doi:10.1007/s13213-013-0649-2.
- Çötel, E., Karataş, F. (2014). Maydanozdaki (Petroselinum sativum) askorbik asit oksidasyonunun zamana bağlı olarak araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 26(2): 133-137.
- Dai, M. (2016). Functionalized electrospun nanofibers for food science applications. Ph.D. Dissertation, University of Massachusetts, Amherst, USA, 123p.
- Dalkıran, B., Erden, P. E., Kılıç, E. (2017). Construction of an electrochemical xanthine biosensor based on graphene/cobalt oxide nanoparticles/chitosan composite for fish freshness detection. *JOTCSA* 4(1): 23-44, doi: 10.18596/jotcsa.54485.
- Devarayan, K., Kim, B.S. (2015). Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sens Actuators B* 209, 281–286, doi: 10.1016/j.snb.2014.11.120.
- Duncan, T.V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *J Colloid Interface Sci* 363(1): 1–24, doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2015). Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels (MRLs) for pirimiphos-methyl according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA J* 13(1): 3974, 50s, doi: 10.2903/j.efsa.2015.3974.
- El-Moghazy, A. Y., Soliman, E. A., Ibrahim, H. Z., Marty, J. L., Istamboulie, G., Nogue, T. (2016). Biosensor based on electrospun blended chitosan-poly (vinyl alcohol) nanofibrous enzymatically sensitized membranes for pirimiphos-methyl detection in olive oil. *Talanta* 155: 258-264, doi: 10.1016/j.talanta.2016.04.018.
- Erdem, R., Sancak E. (2013). Elektroçekim yöntemiyle elde edilen poliamid-6/kitosan bazlı nanoliflerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi. *İTÜ Fen Bilimleri Dergisi* 12(24): 53–65.
- Fuenmayor, C. A., Benedetti, S., Pellicano, A., Cosio, M.S., Mannino, S. (2014). Direct in situ determination of ascorbic acid in fruits by screen-printed carbon electrodes modified with nylon-6 nanofibers. *Electroanalysis* 26(4): 704-710, doi:10.1002/elan.201300595.
- Gamlı, F.Ö. (2014). *Laboratuvar Teknikleri ve Temel Gıda Analizleri*. Dora yayınları, İstanbul, 232s.
- Geltmeyer, J., Vancoillie, G., Steyaert, I., Breyne., B., Cousins, G., Lava, K., Hoogenboom, R., Buysse, K.D., Clerck, K.D. (2016). Colorimetric sensors: dye modification of nanofibrous silicon oxide membranes for colorimetric HCl and NH₃ sensing. *Adv Funct Mater* 26: 5987–5996, doi: 10.1002/adfm.201602351.

- Haider, A., Haider, S., Kang, I. K. (2015). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian J Chem* 1-24, doi: 10.1016/j.arabjchem.2015.11.015.
- Kaplan, E. (2016). GAP Bölgesinde kullanılan pestisitlerin güvenilir gıda ve tarım etiğine etkisi. *Türkiye Biyoteknik Dergisi* 3(4): 198-205, doi: 10.5505/tjjob.2016.74436.
- Kataoka, R., Takagi, K. (2013). Biodegradability and biodegradation pathways of endosulfan and endosulfan sulphate. *Appl Microbiol Biotechnol* 97(8): 3285–3292, doi: 10.1007/s00253-013-4774-4.
- Khalf, A., Madihally, S. V. (2017). Recent advances in multiaxial electrospinning for drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 112:1-17, doi: 10.1016/j.ejpb.2016.11.010.
- Khoshaman A.H., Bahreyni B. (2012). Application of metal organic framework crystals for sensing of volatile organic gases. *Sens Actuators B: Chem* 162(1):114-119, doi:10.1016/j.snb.2011.12.046.
- Kim, S. G., Lee, J. S., Jun, J., Shin, D. H., Jang, J. (2016). Ultrasensitive Bisphenol A field-effect transistor sensor using an aptamer-modified multichannel carbon nanofiber transducer. *ACS Appl Mater Interfaces* 8(10): 6602–6610, doi: 10.1021/acsami.5b11159.
- Kong, J., Franklin, N.R., Zhou, C., Chapline, M.G., Peng, S., Cho, K., Dai, H. (2000). Nanotube molecular wires as chemical sensors. *Science* 287(5453): 622-625, doi:10.1126/science.287.5453.622.
- Kökbaşı U., Kayrın L., Tuli A. (2013). Biyosensörler ve tıpta kullanım alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 22(4): 499-513.
- Li, C., Feng, C., Qu, F., Liu, J., Zhu, L., Lin, Y., Wang, Y., Li, F., Zhou, J., Ruan, S. (2015). Electrospun nanofibers of p-type NiO/n-type ZnO heterojunction with different NiO content and its influence on trimethylamine sensing properties. *Sens Actuators B* 207: 90-96, doi: 10.1016/j.snb.2014.10.035.
- Li, F., Gao, X., Wang, R., Zhang, T., Lu, G., Barsan, N. (2016). Design of core-shell heterostructure nanofibers with different work function and their sensing properties to trimethylamine. *ACS Appl Mater Interfaces* 8(30): 19799-19806, doi: 10.1021/acsami.6b04063.
- Li, Y., Sun, Q., Luo, Y., Li, Y., Gong, A., Zhang, H., Liu, D. (2017). High sensitive and selective *Escherichia coli* detection using immobilized optical fiber microprobe. 25th International Conference on Optical Fiber Sensors, 23 April, Jeju, Korea, 10323(103232): 1-4, doi: 10.1117/12.2263456.
- Li, Z., Wang, C. (2013). Effects of working parameters on electrospinning. In: *One dimensional Nanostructures: Electrospinning Technique and Unique Nanofibers*. Springer (ed.), Chapter 2, SpringerBriefs in Materials, Berlin, pp. 15-29.
- Marega C., Maculan J., Rizzi G. A., Saini R., Cavaliere E., Gavioli L., Cattelan M., Giallongo G., Marigo A., Granozzi G. (2015). Polyvinyl alcohol electrospun nanofibers containing Ag nanoparticles used as sensors for the detection of biogenic amines. *Nanotechnology* 26(7): 075501(9pp), doi:10.1088/0957-4484/26/7/075501.
- Mason, M., Longo, E., Scampicchio, M. (2016). Monitoring of glucose in beer brewing by a carbon nanotubes based nylon nanofibrous biosensor. *J Nanomater* 11p, doi:10.1155/2016/5217023.
- Mercante, L. A., Scagion, V. P., Pavinatto, A., Sanfelice, R. C., Mattoso, L. H. C., Correa, D. S. (2015). Electronic tongue based on nanostructured hybrid films of gold nanoparticles and phthalocyanines for milk analysis. *J Nanomater* 16 (1): 402, doi:10.1155/2015/890637.
- Mihindukulasuriya, S.D.F. (2012). Investigations of heat seal parameters and oxygen detection in flexible packages. PhD Thesis, Department of Food Science, University of Guelph, Canada, 212p.
- Mirjalili, M., Zohoori, S. (2016). Review for application of electrospinning and electrospun nanofibers technology in textile industry. *J Nanostruct Chem* 6(3): 207-213, doi: 10.1007/s40097-016-0189-y.

- Omak, G., Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L. (2016). Biyolojik Detoksifikasyon ve Probiyotikler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 30(1): 157-168.
- Özdal, Ö. G., Özdal, M., Algur, Ö. F., Sezen, A. (2016). Böcek mikroflorasından α -endosülfanı parçalayabilen bakterilerin izolasyonu ve tanısı. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 4(4): 248-254.
- Özkan, M., Kırca, A. (2001). Gıdalarda hidrojen peroksit uygulamaları. *GIDA* 26 (1): 17-24.
- Park, H., Lee, E., Chung, Y., Lee, S., Ahn, H., Kim D. J. (2015). VOC gas sensors fabricated with graphene oxide composites for food safety and quality. *ECS Trans* 69(38): 41-45, doi:10.1149/06938.0041ecst.
- Perez-Lopez, B., Merkoci, A. (2011). Nanomaterials based biosensors for food analysis applications. *Trends Food Sci Technol* 22(11): 625-639, doi:10.1016/j.tifs.2011.04.001.
- Phat, C., Moon, B., Lee, C. (2016). Evaluation of umami taste in mushroom extracts by chemical analysis, sensory evaluation, and an electronic tongue system. *Food Chem* 192: 1068-1077, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.07.113.
- Qureshi, M.A., Karthikeyan, S., Karthikeyan, P., Khan, P.A., Uprit, S., Mishra, U.K. (2012). Application of nanotechnology in food and dairy processing: An Overview. *Pak J Food Sci* 22(1): 23-31.
- Robertson, G.L. (2012), *Food Packaging: Principles and Practice*, Taylor & Francis Group, London, 687s.
- Robinson, J.W., Frame, E.M.S., Frame, G.M. (2005). *Undergraduate instrumental analysis*. Marcel Dekker, New York, 1204p.
- Scagion, V. P., Mercante, L. A., Sakamoto, K. Y., Oliveira, J. E., Fonseca, F. J., Mattoso, L. H. C., Ferreira, M. D., Correa, D. S. (2016). An electronic tongue based on conducting electrospun nanofibers for detecting tetracycline in milk samples. *RSC Adv* 6(105): 1-16, doi: 10.1039/C6RA21326J.
- Scampicchio, M., Arecchi, A., Bianco, A., Bulbarello, A., Bertarelli, C., Mannino, S., (2010). Nylon nanofibrous biosensors for glucose determination. *Electroanalysis* 22(10): 1056-1060, doi: 10.1002/elan.200900446.
- Senthamizhan, A., Balusamy, B., Aytac, Z., Uyar, T. (2016). Ultrasensitive electrospun fluorescent nanofibrous membrane for rapid visual colorimetric detection of H₂O₂. *Anal Bioanal Chem* 408(5): 1347-1355, doi: 10.1007/s00216-015-9149-5.
- Sernikli, C. (2015). Karadut (*Morus nigra*) suyunda toplam fenolik madde ve suda çözünen vitaminlerin ısı parçalanma kinetiği. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye, 97s.
- Shaibani, P. M., Jiang, K., Haghghat, G., Hassanpourfard, M., Etayash, H., Naicker, S., Thundat, T. (2016). The detection of *Escherichia coli* (*E. coli*) with the pH sensitive hydrogel nanofiber-light addressable potentiometric sensor (NF-LAPS). *Sens Actuators B Chem* 226: 176-183, doi: 10.1016/j.snb.2015.11.135.
- Şirin, Ş., Çetiner, S., Saraç, A. S. (2013). Elektro çekim yoluyla polimer nanolifler: nanolif kalitesini etkileyen faktörler. *KSU Mühendislik Bilimleri Dergisi* 16(2): 1-12.
- Tang, X., Liu, Y., Hou, H., You, T. (2011). A Nonenzymatic sensor for xanthine based on electrospun carbon nanofibers modified electrode. *Talanta* 83(5):1410-1414, doi: 10.1016/j.talanta.2010.11.019.
- Tarhan, Ö., Gökmen, V., Harsa, Ş. (2010). Nanoteknolojinin gıda bilim ve teknolojisi alanındaki uygulamaları. *GIDA* 35(3): 219-225.
- Vymazal, J., Březinová, T. (2015). The use of constructed wetlands for removal of pesticides from agricultural runoff and drainage: a review. *Environ Int* 75: 11-20, doi:10.1016/j.envint.2014.10.026.
- Wadhwa, A., Patil, P. S. (2016). Application of electronic tongues in food processing. *Anal Methods* 8(3), 474-480.

Wang J. (2008). Electrochemical glucose biosensor. *Chem Rev* 108(2): 814-825, doi:10.1021/cr068123a.

Wei, Q. (2012). *Functional nanofibers and their applications*. Woodhead Publishing Limited, UK, 448 p.

Xu G., Zhang S., Zhang Q., Gong L., Dai H., Lin Y. (2016). Magnetic functionalized electrospun nanofibers for magnetically controlled ultrasensitive label-free electrochemiluminescent immune detection of aflatoxin B1. *Sens Actuators B: Chem* 222: 707-713, doi: 10.1016/j.snb.2015.08.129.

Yerlikaya, P., Gkoęlu, N. (2002). Gıdalarda biyojen aminler ve nemi. *Gıda Mhendislięi Dergisi* 6(12): 24-30.

Yılmaz, M., Atay, E., Altan, A. (2016). Evaluation of methods for the detection of oxygen in packaged food products. 3rd International Congress of Biosensors, 5-7 October, Ankara, Türkiye, 144 p.

Yoon, J., Chae, S. K., Kim, J. M. (2007). Colorimetric sensors for volatile organic compounds (vocs) based on conjugated polymer-embedded electrospun fibers. *J Am Chem Soc* 129(11): 3038-3039, doi: 10.1021/ja067856+.



**EXAMINATION OF FIRIK PRODUCED IN HATAY REGION
IN TERMS OF NUTRITIONAL ASPECT**

Erdem Carsanba, Ismail Akca, Mahir Timur*

Mustafa Kemal Üniversitesi, Altınözü Tarım Bilimleri Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Hatay, Turkey

Received / Geliş: 13.07.2017; Accepted / Kabul: 04.11.2017; Published online / Online baskı: 16.11.2017

Carsanba, E., Akca, I., Timur, M. (2017). Examination of firik produced in Hatay region in terms of nutritional aspect. *GIDA* (2017) 42 (6): 726-730 doi: 10.15237/gida.GD17064

ABSTRACT

In this study, nutritional value of Firik produced in Hatay region was examined by using four Firik samples collected from local farmers. Amount of protein, ash, moisture, total sugar, fat, salt, raw cellulose and fatty acid profile were determined and estimated values were compared with similar foods such as bulgur and rice. Protein and ash contents of Firik samples were higher than bulgur and rice, while sugar and fat contents were lower. In addition, higher amount of linoleic acid and remarkably adequate amount of linolenic acid generally known as essential fatty acids were obtained. The results showed that Firik produced in Hatay can be considered to use as a reinforcement ingredient for improving nutritional value of daily meals, as it has better nutritional properties than the other resemble carbohydrate-based foods.

Keywords: Firik, green wheat, roasted green wheat, Hatay

**HATAY BÖLGESİNDE ÜRETİLEN FIRIĞIN
BESİNSEL DEĞERLERİNİN İNCELENMESİ**

ÖZ

Bu çalışmada, Hatay bölgesinde üretilen Firiğin besin değeri, dört Firik numunesi kullanılarak incelenmiştir. Firik örneklerinin protein, kül, nem, toplam şeker, yağ, tuz, ham selüloz içerikleri ve yağ asidi profili belirlenerek elde edilen değerler bulgur ve pirinç gibi benzer gıdalar ile karşılaştırılmıştır. Firiğin, protein ve kül içeriği bulgur ve pirinçten yüksek, şeker ve yağ içeriği ise daha düşüktür. Buna ek olarak, esansiyel yağ asitleri olarak bilinen yüksek miktarda linoleik asit ve oldukça uygun miktarda linolenik asit elde edilmiştir. Sonuç olarak, Hatay'da üretilen Firiğin karbonhidrat esaslı diğer gıdalardan daha iyi besinsel özelliklere sahiptir. Elde edilen veriler Firik günlük diyetin besin değerini artırmak için kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Firik, yeşil buğday, kavrulmuş yeşil buğday, Hatay

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ mahirtimur@gmail.com,

☎ (+90) 326 311 2275/135

☎ (+90) 326 311 2276

INTRODUCTION

Hatay is a pretty Mediterranean city with a long history, diverse culture and so many traditional foods. It was a cradle to lot of civilization and has a rich cultural and historical saving. It grants privilege to Antakya from other cities in that it has a wide range of specific food in cultural treasures. However the most of these traditional food products are not well known in other regions of the Turkey (Dizlek 2010, Dizlek and Şahin 2013). Firik is the one of these products. Firik (Frekeh, Frikeh or Freekeh) also called as roasted green wheat is a carbohydrate based traditional food generally known in Turkey, Greece, Cyprus, Middle East, North Africa and even Continent of Australia regions (Ozkaya et al. 1999; Williams and El-Haremein 1985; Dick and Matsuo 1988). In the production process of Firik, early harvested spikes are burned on fire then roasted spikes are dried under sun and at the end threshed are removed from hulls. Roasting process gives characteristic flavour and texture to Firik like slightly sweet, chewy with a desirable smoked flavour (Musselman and Mouslem 2001; Williams and El-Haremein 1985).

Nutritional composition of Firik from different regions is usually 77% of carbohydrate, 12.7% of protein, 16.5% of dietary fibre, small amounts of vitamin A, B1, B2, C, E and high amounts of potassium, magnesium and calcium in mineral composition (Bird and Mular 2003). According to literature, Firik has many health benefits such as being low in glycaemic index (GI) and fat, high in fibre and protein, rich in calcium, iron, zinc, zeaxanthin and lutein as well as having a good prebiotic effect. Due to the low cholesterol and high diet fibre characteristics, Firik helps the absorption of minerals in intestines and prevents cardiovascular, diabetic diseases and obesity as well. Because of all these positive attributes, Firik is called as a functional-traditional food (D'Edigio and Cecchini 1998; Humphries and Khachik 2003).

In studies related with chemical composition of wheat has been illustrated that maturation conditions and harvesting time have significant effect on ash and moisture contents and also

amino acid composition of proteins (Ozkaya et al. 1999). Pythic acid content increases, while fibre content decreases with late maturation period. Due to these reason, early harvesting time (early stage of maturation) is considered as appreciate time for good nutritional value of Firik (Ozboy et al. 2001).

Firik consumption in Hatay region resembles rice and bulgur, and the most known dish is Firik-Pilav which includes Firik, bulgur, butter, some vegetables and spices (black pepper and salt). As a traditional food; Firik, has been sold in plastic film package with small portions (500-1000 g) and its price is eight times higher than durum wheat that brings local farmers economical advantage to sell their crops in higher prices. In this context, Firik has been thought as having high commercial value.

One of the important concepts in food industry is to determine nutritional values and modernize by formulating traditional foods and improving production methods (Dizlek et al. 2009). The objective of this study was to investigate nutritional content of Firik samples produced by local farmers in Hatay and compare this content with similar products such as bulgur and rice. Although, there have been a few works on Firik, as far as we have known that there have not been studies on nutritional composition of Firik which is produced in Hatay.

MATERIALS AND METHODS

Material

Four Firik samples collected from villages of Altinozu, Hatay (sample 1:Altinkaya, sample 2: Cetenli, sample 3: Boynuyogun and sample 4: Karbeyaz) were prepared in small pieces by grinding before each test and kept in dry, cool place until analyses.

Chemical Analysis

In order to determine nutritional content of Firik samples, chemical analyses such as moisture, protein, ash, fat, total sugar, salt, and raw cellulose were performed. Moisture, protein, and ash contents were determined according to American Association of Cereal Chemists International

(AACCI) approved Methods 44-15.02, 46-12.01, and 08-01.01, respectively (Anonymus 1995). Moreover, Soxhlet apparatus were used to obtain fat content by using petroleum ether as organic solvent. Salt analysis was performed by using potassium chromate-titrimetric method (Mohr method) and raw cellulose analysis was conducted according to Kürschner-Hanack method which is based on insolubility of cellulose in water and its resistance to action of dilute acids and bases (Kraszkiewicz et al. 2015). In addition, total sugar content was also determined by the method of Dubois (Dubois et al. 1956). All analyses of Firik samples were performed triplicate and average values were calculated on dry basis.

Analytical Analysis

For the determination of fatty acids profile, firstly lipids were esterified in a two-step reaction with methanolic sodium and hydrochloric methanol (AFNOR 1984) and then analysed by using HP 6890 Gas Chromatography equipped with HP Innowax column. Helium was used as a carrier gas

with the flow of 0.9 ml/min and the fatty acid methyl esters were detected by the comparison of retention times with known standards.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed to investigate significant differences in mean values by using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey-b tests (multiple range test at $P < 0.05$) of SPSS 16.0 statistical software (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

Chemical Analysis

Results presented in Table 1 illustrate that there are slightly differences between nutritional components of all samples. For instance, total sugar contents were ranged from 60.85 to 68.48% and sample C showed higher value of 68.48% than others. In addition, ash and moisture contents varied between 1.6 to 2.0% and 10 to 11%, respectively.

Table 1. Chemical composition of Firik samples (%)

Products	Ash	Moisture	Protein	Fat	Salt	Raw Cellulose	Total Sugars
A	1.61 ^c	10.72 ^b	13.42 ^a	1.56 ^b	0.26 ^{ab}	4.75 ^a	60.85 ^d
B	2.01 ^a	10.00 ^d	8.91 ^c	1.58 ^b	0.26 ^{ab}	4.65 ^b	61.47 ^c
C	1.85 ^b	10.94 ^a	11.23 ^b	1.86 ^a	0.31 ^a	2.63 ^d	68.48 ^a
D	1.98 ^a	10.65 ^c	12.19 ^b	1.90 ^a	0.24 ^b	3.19 ^c	61.90 ^b
Average	1.86	10.58	11.44	1.73	0.27	3.81	63.18
ANOVA	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$

^aDifferent lowercase letters within the same column indicate significantly different values among different type of samples results in the same product-test type conditions (Tukey-b test, $p < 0.05$)

One of the important goals from this work was to examine protein content of Firik samples which was obtained average of 13%. Tukey-b test in Table 1 demonstrates that order regarding protein values is sample A with highest (13.42%) in the first group, C (11.23%) and D (12.19%) in the second group and sample B (8.91%) in the third group. Ozkaya et al (1999) and Ozboy et al (2001) displayed also same contents of protein in Firik samples which were produced in different maturation stages by boiling and roasting process.

At these studies protein and ash content decreased slightly during maturation time.

As an assumption, average values of nutrient contents were found as; ash- 1.86%, protein 11.44%, fat-1.73%, salt- 0.27%, raw cellulose- 3.81%, total sugar-63.18% and moisture-10.58% (Table 1). These results were slightly similar with the values found by Bird and Mular (2003).

Table 2. Chemical compositions of Bulgur, Rice and Firik (%)

Products	Ash	Moisture	Protein	Fat	Crude Fibre	Carbohydrate	References
White Rice	0.50	15.50	7.3	3.6	0.4	80.10	(Food Standards Agency and Institute of Food Research 2002)
Bulgur	0.92	11.20	9.00	N.A	5.6	69.3	(Caba et al, 2012)
Firik	1.86	10.58	11.44	1.73	3.81	63.18	In this study

Analytical Analysis

Results illustrated in Table 3 indicate that average fatty acids composition is 45.08% of linoleic acid (C18:2), 26.35% of oleic acid (C18:1), 22.5% of palmitic acid (C16:0), 2.99% of linolenic acid (C18:3), 2.14% of stearic acid (C18:0) and small quantity of other fatty acids (0.83% of C20:1 and 0.1% of C15:0). Moreover, ANOVA result displays that there are significant differences

between samples according to palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acid quantities ($P < 0.05$). For instance, the highest amount of linoleic acid was identified in sample B, while the lowest amount was determined in sample A which had the highest oleic acid. These differences might be explained that fat content and profile can be affected by the climate, soil, harvesting time, processing conditions, etc.

Table 3. Fatty acid compositions of Firik samples
Fatty Acid Composition %

Sample	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1)	Linoleic acid (C18:2)	Linolenic acid (C18:3)	Paullinic acid (C20:1)
A	0.11 ^a	23.32 ^b	2.46 ^a	28.34 ^a	42.30 ^d	2.67 ^c	0.80 ^a
B	0.10 ^a	21.17 ^d	1.82 ^d	26.49 ^b	46.91 ^a	2.71 ^c	0.80 ^a
C	0.10 ^a	23.52 ^a	2.12 ^c	25.78 ^c	44.73 ^c	2.97 ^b	0.78 ^a
D	0.10 ^a	22.00 ^c	2.17 ^b	24.80 ^d	46.39 ^b	3.61 ^a	0.93 ^a
Average	0.10	22.50	2.14	26.35	45.08	2.99	0.83
ANOVA	$P > 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$

^aDifferent lowercase letters within the same column indicate significantly different values among different type of samples results in the same product-test type conditions (Tukey-b test, $P < 0.05$)

DISCUSSION

When comparison was made with bulgur and rice (Table 2), it can be noticed that Firik samples from Hatay region exhibited high protein content than other resemble cereals. Furthermore, ash content was also almost double time higher than bulgur and four times from rice (see Table 2) while total sugar value was lower than these cereals with the value of around 70 to 80%. In addition, amount of raw cellulose was higher than bulgur and rice due to production process of Firik made from early harvested green wheat which is

usually collected when they are ripe. This might be explained that in the maturation period of grains, total sugar increases while cellulose content decreases in late harvested time.

It could be highlighted that Firik has average of 25% saturated fatty acids mainly composed of palmitic acid and of 75% unsaturated fatty acids included mostly linoleic and oleic acids. Here it should be considered that linoleic acid quantity was highest between all other fatty acids. As effects on human health for linoleic and linolenic acid is thought, Firik can be counted as healthy

nutritional food in daily diet due to possessing essential fatty acids in its own fat composition.

The high amount of ash, protein, essential fatty acids, raw cellulose and low amount of total sugar, salt in Firik samples can contribute health benefits and play a role in prevention of diseases such as diabetic, coronary artery, obesity and colon cancer etc. Firik can be advisable to use it on a daily diet, as it has better nutritional properties than other carbohydrate-based foods. Studies on this area are limited and due to many health's contributing characteristics of this functional food, research effort is required. It is expected that this paper might be helpful to fulfil the gap about importance of such a traditional food.

REFERENCES

- Afnor (1984). Recueil des normes françaises des corps gras, grains oléagineux et produits dérivés, 3rd edn. *Association Française pour Normalisation*, Paris, p 95
- Anonymous (1995). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (9th ed.). St. Paul, MN: The Association.
- Bird, A.R., Mular, M. (2003). Product analysis: green wheat Freekeh. *CSIRO Health Sciences and Nutrition, product analysis report*, (p. 4).
- Caba, Z.T., Boyacioglu, M.H., Boyacioglu, D. (2011). Bioactive healthy components of bulgur. *Int J Food Sci Nutr*, 63 (2): 250-256.
- D'Edigio, M.G., Cecchini, C. (1998). Immature wheat grains as functional foods. *Italian Food & Beverage Technology*, 14: 34.
- Dick, J.W., Matsuo, R.R. (1988). Durum Wheat and Pasta Products. In Y. Pomeranz (Ed.), *Wheat chemistry and technology* (Vol. II, pp. 507-547). St. Paul, MN: *Am. Assoc. Cereal Chem.*American Assoc. Cereal Chem.
- Dizlek, H., Gül, H. and Özer, M. S. (2009). Künefe. The Second Traditional Foods Symposium, 27-29 May 2009, *Symposium Book*, Van/TURKEY. 520-523.
- Dizlek, H. (2010). Kulce. The First International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus", April 15-17, 2010, *Symposium Book*, Tekirdağ/TURKEY.478-480.
- Dizlek, H. and Şahin, T. (2013). A Traditional Delicious Belongs to Antakya Region: Peppery Bread. The 2nd International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic toCaucasus", October 24-26, 2013, *Symposium Book*, Struga-Ohrid/MACEDONIA. 245.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28 (3): 350-356.
- Food Standards Agency and Institute of Food Research (2002). McCance and Widdowson's The Composition of Foods, Sixth Summary Edition. *Royal Society of Chemistry*, Cambridge.
- Humphries, J.M., Khachik, F. (2003). Distribution of lutein, zeaxanthin, and related geometrical isomers in fruit, vegetables, wheat, and pasta products. *J Agric Food Chem*, 51(5): 1322-1327.
- Kraszkievicz, A., Kachel-Jakubowska, M., Lorencowicz, E., Przywara, A. (2015). Influence of cellulose content in plant biomass on selected qualitative traits of pellets. *Agric. Agric. Sci. Procedia*, 7: 125-130.
- Musselman, L.J., Mouslem, A.B. (2001). Frikeh, roasted green wheat. *Econ Bot*, 55 (2):187-189.
- Ozboy, O., Ozkaya, B., Ozkaya, H., Koksel, H. (2001). Effects of wheat maturation and cooking method on dietary fiber and phytic acid contents of firik, a wheat-based local food. *Nahrung*, 45 (5): 347-349.
- Ozkaya, B., Ozkaya, H., Eren, N., Unsal, A.S., Koksel, H. (1999). Effects of wheat maturation stage and cooking method on physical and chemical properties of firiks. *Food Chem.*, 66 (1): 97-102.
- Ozkaya, B., Ozkaya, H., Koksel, H. (1998). Physical and chemical properties of firiks. *Getreide Mehl Brot*, 52 (5): 298-301.
- Williams, P.C., El-Haremein, F.J. (1985). Frekeh making in Syria-A small but significant local industry. *Rachis*, 3 (2): 28-30.

SOĞAN DİLİMLERİNİN KURUTULMASI ESNASINDA RENK DEĞİŞİMİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLERİN YANIT YÜZEY YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Hande Demir*, Seda Sezer, Özge Süfer

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Karacaoğlan Yerleşkesi, Osmaniye, Türkiye

Geliş / *Received*: 16.06.2017; Kabul / *Accepted*: 05.11.2017; Online baskı / *Published online*: 21.11.2017

Demir, H, Sezer, S, Süfer, Ö. (2017). Soğan dilimlerinin kurutulması esnasında renk değişimine etki eden faktörlerin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi, *GIDA* (2017) 42 (6): 731-742 doi: 10.15237/gida.GD17059

ÖZ

Kurutulmuş soğan, gıda sanayiinde özellikle yemekçilik sektörü ile hazır çorba, soslar, salata ve marine edilmiş çeşitli gıdalarda kullanım potansiyeli olan bir gıda maddesidir. Bu nedenle kurutma koşullarını optimum hale getirmek (fiziksel ve kimyasal kayıpları en aza indirerek), ürün kalitesinin artırılabilmesinde önem teşkil etmektedir. Bu çalışmada, konveksiyonel, mikrodalga ve vakumlu fırında kurutulmuş soğan dilimlerinin, tüketici açısından en önemli kalite kriterlerinden biri olan renk üzerine, bazı bağımsız değişkenlerin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, her bir kurutma yöntemi için, yanıt değer olarak kabul edilen toplam renk değişimi (ΔE) değeri üzerine, kurutma sıcaklığı/gücü ($^{\circ}C$ veya W), tuzluluk (%) ve dilim kalınlığının (mm) etkisi tarama ve optimizasyon basamakları ile araştırılmıştır. Konveksiyonel, mikrodalga ve vakum altında kurutma için belirlenen optimum koşullarda soğan dilimlerinin toplam renk değişimi değerleri birbirine yakındır. Yapılan denemeler sonucunda tüm kurutma teknikleri için, soğan dilimlerinin toplam renk değişimini (ΔE) ifade eden birer polinomiyel model önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Soğan, kurutma, renk, optimizasyon

DETERMINATION OF FACTORS AFFECTING TOTAL COLOR CHANGE OF ONION SLICES DURING DRYING USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

ABSTRACT

Dried onion is a food material which has potential for using in instant soup, sauce, salad formulations, marinated foods as well as catering sector. Hence, it is important to optimize drying conditions (by reducing physical and chemical losses) for enhancing food quality. In this study, some independent parameters which affect color - one of the significant quality criteria with respect to consumers - of onion slices dried by conventional, microwave and vacuum techniques were investigated. For that purpose, the impacts of drying temperature/power ($^{\circ}C$ or W), saltness (%) and thickness (mm) on total color change levels (ΔE) of onions as the response values were screened and optimized for each dehydration procedure. The total color change values obtained under the optimum conditions of conventional, microwave and vacuum drying have approximated. As a result of experiments, polynomial equations that defined the ΔE of slices was suggested for each technique.

Keywords: Onion, drying, color, optimization

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ hande.genckal@gmail.com,

☎ (+90) 328 827 1000/3654

☎ (+90) 328 827 1046

GİRİŞ

Soğan (*Allium cepa*) Liliaceae familyasına ait, dünya çapındaki en önemli sebzelerden biri olmakla birlikte, içerdiği sülfürlü bileşiklerden dolayı kendine özgü tadı ve aroması ile bilinen bir bitkidir. Son yıllarda gıda endüstrisinde, kalite özellikleri yüksek olan kurutulmuş soğanlar tercih sebebi olmaktadır (Rao 1995; Sarsavadia vd., 1999). Kurutulmuş soğan; dilimlenmiş, toz haline getirilmiş ve pulcuk şeklinde pazarda yerini almakta ve et ve tavuk ürünleri ile çorbalarda, turşularda ve salata soslarında kullanılmaktadır (Adam vd., 2000; Süfer vd., 2017).

Gıdaları fiziksel olarak korumakta kullanılan en eski yöntem kurutmadır ve bu proseste gıda maddesinin nemi çeşitli yöntemlerle azaltılır (Moses vd., 2014). Taşınımla kurutmada, ısı ve kütle transferi eş zamanlı olarak gerçekleşir ve ortamdaki suyun uzaklaşması difüzyon yardımıyla olur (Sahin ve Dincer, 2005; Demiray ve Tulek, 2014). Ticari ölçekte, taşınımla kurutma soğan kurutmada en çok tercih edilen yöntemdir (Mitra vd., 2012), çünkü ekipman ve kurulum masrafları diğer yöntemlerden oldukça ucuzdur. Ancak buna karşılık, kurutma süresi bu teknikte daha uzundur, işletme ve enerji masrafları oldukça fazladır, aynı zamanda üründe kalite kayıpları da bir hayli çok olabilmektedir. Bu olumsuz yanların bazılarını azaltmak için, besin öğelerinin ve aroma bileşenlerinin gıda içinde tutulmasını sağlamak amacıyla vakum ile kurutmada faydalanılabilmektedir (Pap 1995; Are'valo-Pinedo ve Murr 2006; Mitra vd., 2011b). Mikrodalga kurutmada ise, sıcak hava ve vakum altında kurutmaya kıyasla çok daha yüksek kurutma hızlarına erişilmektedir (Reyes vd., 2007; Süfer vd., 2017).

Gıda işleme süreçlerinde verimin ve tüketici tarafından ürünün kabul edilebilirliğinin yüksek olması amacıyla optimizasyon çalışmaları, gıda mühendisliğinde 2000 yılından itibaren önemli bir yer bulmaktadır. Yanıt yüzey yöntemi olarak isimlendirilen bu istatistiksel teknikte, proses parametrelerine bağımsız değişkenler, yanıtlara (response) ise bağımlı değişkenler denilmektedir. Pastörizasyon, fırında pişirme, ekstrüzyon, püskürtmeli ve akışkan yatak kurutma koşullarının

optimizasyonu bu prosedürün kullanıldığı uygulamalardan sadece bir kaçıdır (Koç ve Ertekin, 2009).

Yapılmış olan bu çalışmayla, kurutulmuş soğanda en önemli duyuşsal kriterlerden biri olan renk özelliği için; konvektif, mikrodalga ve vakum altında kurutma ile en düşük toplam renk değişimini veren optimum işlem koşullarının belirlenmesi ve soğan dilimlerinin bu 3 yöntemle kurutulmasının yanıt yüzey metodu kullanılarak renk açısından ilk kez karşılaştırılması hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Soğan kurutma için gerekli olan soğanlar (*Allium cepa* L.) Osmaniye Sebze ve Meyve Hal'inden 2016 yılı ilkbahar mevsiminde temin edilmiştir. Tedarik edilen soğanlar işlem görene kadar en çok 15 gün +4°C'de muhafaza edilmiştir. Soğan, el ile olarak kabuklarından ayrılmış ve dijital bir kumpas kullanılarak istenilen kalınlıklarda (2, 2.61, 2.87, 2.92, 3, 4, 6, 7 ya da 9 mm) dilimlenmiştir. Ön işleme tabi tutulmayan soğan dilimleri hemen kurutulmuştur. Ön işlem uygulaması için ise, dilimler %8'lik (w/v) NaCl çözeltisinde, oda sıcaklığında, bir petri kabı içerisinde 40 dakika bekletilmiştir. Sonrasında dilimler çözelti içerisinde çıkartılarak tartılmış ve bekletilmeden kurutulmuştur. Tüm deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin başlangıç nem içerikleri (% 88.50±0.5) AOAC (1990) yöntemine göre belirlenmiştir. Kurutma deneylerine ürünün ağırlığında değişim gözlemlenmeyene kadar devam edilmiştir.

Yöntem

Taşınımla Kurutma

Kurutma için, 0-200 g aralığında 0.001 g duyarlılığa sahip dijital analitik bir terazi ile (Radwag, AS/X, Polonya) kombine edilmiş, 2.5 kW gücünde laboratuvar tipi doğal konveksiyonlu bir fırın (JSR, JSON-250, ABD) kullanılmıştır. Süfer vd. (2017)'e göre soğan örnekleri 120×17 mm boyutlarına sahip cam bir petri içerisine konulmuş, petri üç farklı noktasından 4 mm çapındaki bakır tellerle bağlanarak, çengel oluşturacak şekilde dijital terazinin aparatına

iliştirilmiştir. Soğan dilimlerinin ağırlığındaki değişimler, 10 saniyelik zaman aralıklarıyla Pominar, Win 5 yazılımı kullanılarak, bilgisayar yardımıyla kaydedilmiştir. Deneylerden önce, çalışma sıcaklığına erişebilmek için fırın, örneksiz bir şekilde 5-6 dakika çalıştırılmıştır. Çalışma sıcaklıkları 50, 60 ve 70°C ($\pm 0.3^\circ\text{C}$)'dir. Kararlı koşullara erişildikten sonra, soğan dilimleri petrilere konulmuş ve kurutma başlatılmıştır. Tüm kurutma deneylerinde hava hızı 1.5 m/s'dir.

Mikrodalga Kurutma

Mikrodalga kurutma deneylerini gerçekleştirmek için, 49.6×29.4×39.7 cm boyutlarında, 17 L kapasiteye, 1200 W teorik güce ve 6 farklı güç seviyesine sahip mikrodalga fırın (Arçelik, MD 574, Türkiye) kullanılmıştır. Süfer vd. (2017)'e göre soğan dilimi 120×17 mm boyutlara sahip petri içerisine konulmuştur. Petri kabı mikrodalga fırın içerisindeki 245 mm çapa sahip döner tabla üzerine yerleştirilmiştir. Dilim ağırlığı, belirli zaman periyotlarında fırının durdurulması, petri kabının sistem dışına alınıp, tartılmasıyla belirlenmiştir. Her bir tartım yaklaşık 10 s sürmüştür. Çalışılan güç değerleri 80, 240, 400 W olup, veri alma sıklıkları sırasıyla 180, 15, 10 saniyedir. Güç seviyesi arttıkça hedef nem içeriğine ulaşma süresi kısaldığından dolayı, veri alma sıklığı da azalmıştır.

Vakum Altında Kurutma

Vakum altında kurutma, 0.37 kW ısıtma gücüne, 111 L iç hazneye ve 40 mm çaplı entegre boruya sahip vakum fırını vasıtasıyla (Vacucell-111 standart, Almanya) gerçekleştirilmiştir. Fırın içerisindeki basınç, 0.37 kW motor gücüne, 2 L/s pompalama ve 1400 rpm dönüş hızına sahip döner vana tipi vakum pompası (Zhejiang Sujing, Wx-2 model, Çin) yardımıyla 100 mbar seviyesine düşürülmüştür. Süfer vd. (2017)'e göre 90 mm çapa sahip alüminyum petri kapları örneklerin kurutulması için kullanılmış ve kurutma verileri manuel olarak kaydedilmiştir. Tartım işlemleri diğer kurutma tekniklerinde olduğu gibi en fazla 10 saniye süre içerisinde tamamlanmıştır.

Vakum fırını yaklaşık 90 dakika boş bir şekilde istenilen sıcaklığa gelene kadar çalıştırılmıştır. Çalışma sıcaklıkları 50, 60 ve 70°C ($\pm 0.1^\circ\text{C}$)'dir.

Dilimlerin ağırlıklarındaki değişimler 30 dakikada bir kaydedilmiştir.

Renk Analizi

Soğan dilimlerinin L*, a* ve b* renk değerleri, Konica Minolta CR 400 model portatif renk ölçüm cihazı ile CIELab skalasına göre ölçülmüştür. Dilimin 3 farklı noktasından ölçüm alınmış ve ortalamaları hesaplanmıştır. Her bir örnek için üç paralel olacak şekilde ölçüm alınmıştır. Örneklerin toplam renk değeri farklılığı (ΔE), Denklem 1 yardımıyla hesaplanmış ve referans olarak (L_{ref} , a_{ref} , b_{ref}) yaş soğan dilimlerinden alınan renk ölçümleri kabul edilmiştir.

$$\Delta E = \sqrt{[(L - L_{ref})^2 + (a - a_{ref})^2 + (b - b_{ref})^2]} \quad (1)$$

Deney Tasarımı ve İstatistiksel Analiz

Her bir kurutma yöntemi için, yanıt değer olarak kabul edilen toplam renk değişimi (ΔE) değeri üzerine, kurutma sıcaklığı/gücü ($^\circ\text{C}$ veya W), tuzluluk (%) ve dilim kalınlığının (mm) etkisi tarama ve optimizasyon basamakları ile incelenmiştir. Güvenlik seviyesi P-değeri 0.05 olarak alınmıştır. Tarama basamağında 2 tekerrürlü 2^3 tam faktöriyel deney tasarımı kullanılmış olup, her bir kurutma yöntemi için incelenen faktörler ve seviyeleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Tarama aşamasından elde edilen sonuçlar doğrultusunda tasarlanan optimizasyon aşamasında her bir yöntem için toplam renk değişimi (ΔE) üzerine etki eden çeşitli faktörlerin ve seviyelerinin optimum noktalarının belirlenmesi için yüzey merkezli merkezi kompozit tasarım (face-centred central composit design, FCCD) deney tasarımı kullanılmıştır. Güvenlik seviyesi P-değeri yine 0.05 olarak alınmıştır. Optimizasyon denemelerinde incelenen faktörler ve seviyeleri de Çizelge 2-a, 2-b ve 2-c'de özetlenmiştir.

Deney tasarımı kapsamında elde edilen yanıt değerleri ikinci-dereceden polinomiyel bir modele uydurulmuştur. Denklem 2'de verilmiş olan model eşitliği, bağımsız değişkenlerin lineer, kuadratik ve/veya etkileşim etkilerini tahmin etmek için kullanılmıştır (Selvamuthukumaran ve

Khanum, 2014). Modeldeki kayda değer terimler, elde edilen varyans analizi (ANOVA) çizelgeleri yardımı ile belirlenmiştir. Deney tasarımı, varyans

analizi ve grafik çizimleri için Design Expert 7.0.0 (Stat-Ease, 2005) yazılımı kullanılmıştır.

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{23}X_2X_3 + \beta_{13}X_1X_3 \quad (2)$$

Bu denklemde $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}, \beta_{12}, \beta_{23}, \beta_{13}$ ve X_1, X_2, X_3 sırasıyla regresyon katsayılarını ve bağımsız değişkenleri temsil etmektedir.

Çizelge 1. Kurutma koşullarının taranması için incelenen faktörler ve seviyeleri

Table 1. Factors and their levels of drying conditions for screening

Faktör Factor	Simge Term	Gerçek Seviyeler Actual Levels					
		Taşınım ile kurutma Convective drying		Mikrodalga kurutma Microwave drying		Vakumla kurutma Vacuum drying	
		(-1)	(+1)	(-1)	(+1)	(-1)	(+1)
Tuzluluk (%) Saltness (%)	X ₁	0	8	0	8	0	8
Sıcaklık (°C) ya da Güç (W) Temperature (°C) or Power (W)	X ₂	50	70	80	400	50	70
Kalınlık (mm) Thickness (mm)	X ₃	3	7	3	7	3	7

Çizelge 2. Optimizasyon denemelerinde incelenen faktörler ve seviyeleri (yüzey merkezli kompozit tasarım) a) taşınım ile kurutma, b) mikrodalga kurutma, c) vakumla kurutma

Table 2. Factors and their levels for optimization experiments (face centered composite design) a) convectional drying, b) microwave drying, c) vacuum drying

[a] Faktör Factor	Simge Term	Gerçek Seviyeler Actual Levels		
		(-1)	(0)	(+1)
Tuzluluk (%) Saltness (%)	X ₁	0	6	12
Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	X ₂	40	50	60
Kalınlık (mm) Thickness (mm)	X ₃	2	4	6

[b] Faktör Factor	Simge Term	Gerçek Seviyeler Actual Levels		
		(-1)	(0)	(+1)
Tuzluluk (%) Saltness (%)	X ₁	0	6	12
Kalınlık (mm) Thickness (mm)	X ₂	2	4	6

[c] Faktör Factor	Simge Term	Gerçek Seviyeler Actual Levels		
		(-1)	(0)	(+1)
Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	X ₁	50	70	90
Kalınlık (mm) Thickness (mm)	X ₂	3	6	9

Doğrulama aşamasında ise bağımsız değişkenler “aralık içinde” (in range), toplam renk değişimi (ΔE) ise “minimize” olarak tercih edilmiştir. Seçilen deneylerin istenilirlik (desirability) fonksiyonları 1.000’dir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Kurutulmakta olan ve kurutulmuş ürünlerin renkleri L^* ; parlaklık, a^* ; kırmızılık-yeşillik, b^* ; sarılık-mavilik değerlerinin ölçülmesi ile takip edilir. Meyve ve sebzelerin kurutulması işleminde renk değişikliği genellikle enzimatik ya da enzimatik olmayan yolla esmerleşme reaksiyonları sonucunda gerçekleşir. a^* -değerinin artışı daha kırmızı bir renk anlamına gelir ki bu da esmerleşme reaksiyonlarının göstergesi olarak kabul edilir. Mikrodalga kurutma kırmızılık (a^*) değerinde ufak bir artışa sebep olur, bu da konveksiyonel kurutulmuş ürünlere göre ürünün daha az esmerleşmiş olduğu anlamına gelir (Vadiwambal ve Jayas, 2007).

Çizelge 3’te tarama deneyleri için yapılmış ve her bir kurutma yöntemi için geçerli olan deney tasarımı ve renk analizleri sonucunda elde edilen ΔE değerleri (responses) verilmiştir. Bu çizelgedeki değerlere bakıldığında genel olarak taşınım ile kurutma işlemi için oldukça yüksek ΔE değerleri (15.3-24.3) elde edildiği açıkça görülmektedir. ANOVA tablosu incelendiğinde ise taşınım ile kurutma işleminde toplam renk değişimi üzerine etki eden en önemli faktörün kalınlık ve diğer üç etkileşim terimleri olduğu (X_1X_2 , X_2X_3 , X_1X_3) belirlenmiştir. Tarama sonuçları daha detaylı incelendiğinde, kalınlığın düşük olduğu seviyede toplam renk değişimi düşük olmuştur. Bu nedenle optimizasyon aşamasında kalınlık; 2 ila 6 mm seviyesine düşürülmüştür. Tuzluluk-sıcaklık ve tuzluluk-kalınlık grafiklerine bakıldığında ise düşük ΔE seviyesinin yüksek tuzluluk (%8) seviyesinde elde edildiği görülmüş, bu nedenle optimizasyon aşamasında tuzluluk seviyesi genişletilerek, %12 seviyesine çıkarılmıştır (ANOVA tablosu ve etkileşim grafikleri gösterilmemiştir). ΔE değeri, L^* (parlaklık) değeri ile yakından ilişkilidir ve NaCl moleküllerinin parlaklık değerleri oldukça yüksek ve de soğan dilimlerinin işlem görmeden önceki L^* değerine çok yakındır. Aynı zamanda, NaCl

inorganik bir molekül olduğundan, ısı etkisi ile kararmamakta, yanmamakta ve kül olmamaktadır. Ortamda tuzun varlığı, dejenerasyon etkisi olan ısının soğan diliminin hücrelerinden önce, NaCl molekülüne çarpmasını sağlamış ve bu moleküller de oksidasyon reaksiyonları sonucu oluşabilecek karartıcı etkiyi çoğunlukla elimine etmiştir. Kurutma sırasında tuz, kristal şeklinde ürün yüzeyinde birikmiş olduğundan, kararmanın büyük oranda önüne geçerek soğanın ilk rengine yakın kalmasına olanak sağlamış ve bu nedenle orjinal renkten uzaklaşmanın bir ölçüsü olarak kabul edilebilecek ΔE seviyesinin düşük olmasına sebebiyet vermiştir (Tan vd., 2001).

Tarama aşamasında elde edilen sonuçlar doğrultusunda minimum ΔE değerini veren optimum koşulların belirlenmesi amacıyla yüzey merkezli merkezi kompozit tasarım (face-centred central composit design, FCCD) kullanılmış olup, kurutma süresi 20 saat olarak sabit tutulmuştur. Optimizasyon basamağı sonucunda elde edilen ANOVA tablosuna göre, soğan dilimlerinin taşınım ile kurutulması işlemi üzerine etkili olan faktörler; sıcaklık ve tuzluluk faktörünün kuadratik formu olup, modele dâhil edilen terimler ile oluşturulan modelin denklemi Denklem 3’te verilmiştir. İlgili modele ait regresyon katsayısı 0.89 olarak belirlenmiştir. Düşük toplam renk değişimi elde edilen seviyelerdeki deneysel toplam renk değişimi değeri, tarama aşamasında elde edilen (%0, 70°C, 3 mm koşullarında) değerler ile karşılaştırıldığında yapılan optimizasyon işlemi ile toplam renk değişiminde yaklaşık %75’lik bir iyileşme sağlandığı söylenebilir (ANOVA tablosu gösterilmemiştir). Ayrıca, taşınım ile kurutmaya ait yanıt yüzey grafiğine Şekil 1-a’da yer verilmiştir. Şekil 1a’ya bakıldığında ΔE değerleri, tuzluluk oranı %0 – 6 arasında iken düşüş göstermiştir. ΔE değerlerinin, tuzluluk oranı %0 – 6 arasında iken düşüş göstermesi tarama aşaması ile uyumludur. Fakat, Şekil 1a’ya göre tuzluluk %6 – 12 arasında olduğunda, ΔE artmıştır. Karathanos, vd. (1990) ile Rahman ve Mujumdar (2007) bu durumun sebebinin; gıda sistemlerindeki şeker ve tuz moleküllerinin, hücre çeperlerini tıkayarak, suyun uzaklaşmasını engellemesi, hareket eden tuz moleküllerinin doku (yüzey) sertleşmesine yol açması ile açıklamışlardır.

Çizelge 3. Kurutma denemeleri için geçerli olan deney tasarımı ve renk analizi sonuçları
 Table 3. Design of experiments for drying trials and responses of color analysis

Deney no Trial no	Tuzluluk Saltness (%)	Sıcaklık/Güç Temperature/ Power (°C/W)	Kalınlık Thickness (mm)	ΔE (taşınımla kurutma) Convective drying	ΔE (mikrodalga kurutma) Microwave drying	ΔE (vakumla kurutma) Vacuum drying
1	0	70/400	3	15.9	50.8	21.3
2	8	70/400	3	16.6	4.1	17.9
3	0	70/400	3	15.4	48.7	20.4
4	8	50/80	3	16.5	4.0	21.0
5	0	50/80	7	21.7	45.8	21.5
6	8	70/400	3	16.3	8.6	20.7
7	0	50/80	3	20.6	32.5	24.7
8	0	70/400	7	21.4	61.6	14.6
9	8	50/80	7	17.4	3.8	21.4
10	8	70/400	7	29.1	16.1	23.1
11	0	50/80	3	23.0	37.5	23.6
12	0	50/80	7	20.0	41.8	19.8
13	8	50/80	7	18.9	4.2	19.6
14	8	50/80	3	15.3	1.2	20.9
15	8	70/400	7	24.3	12.2	23.7
16	0	70/400	7	20.8	52.0	14.5

$$\Delta E = 7.09 - 2.32 * X_1 + 7.93 * X_2 + 2.55 * X_3 - 2.26 * X_1 X_3 + 2.14 * X_2 X_3 + 6.05 * X_1^2 + 3.38 * X_2^2 + 0.82 * X_3^2 \quad (3)$$

Taşınımla kurutma için doğrulama deneyleri kapsamında elde edilen sonuçlar (Çizelge 4), modelin tahmin ettiği sonuçlara oldukça uzak kalmıştır. Deneysel sonuçların tahmini sonuçlardan yüksek olmasının nedeninin; özellikle b* değerlerinin sarılık (+b) yönünde tarama ve optimizasyon aşamalarına göre oldukça yüksek çıkması olduğu düşünülmektedir. Bu durumun soğanların satın alınan partiler arasında değişiklik göstermesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Cabezas-Serranoa vd., 2009). Bunun yanı sıra yine Çizelge 4'te verilmiş olan ve 11.3-12.8 aralığında olan deneysel verilere bakıldığında söz konusu sonuçların literatür ile uyum içerisinde olduğu, hatta bazı bulgulardan daha düşük olduğu söylenebilir. Kumar vd. (2005) 60°C 2 m/s hızla sıcak hava üfleyen bir sistemde 340 dakika boyunca kuruttukları soğan dilimlerindeki (2 mm) toplam renk değişimini 26.6 olarak elde etmişlerdir. Grewal vd. (2015) ise

50°C'de konveksiyonel olarak kuruttukları soğan dilimlerinde (3 mm) toplam renk değişimini 17.9 olarak tespit etmişlerdir. Sahoo vd. (2015) sıcak hava ile 60°C'de kurutma uyguladıkları işlem görmüş (%5 tuz çözeltisi) ve görmemiş soğan dilimlerinde sırasıyla 12.8 ve 13.5 toplam renk değişimi gözlemlenmiştir.

Çizelge 3'te verilmekte olan mikrodalga uygulaması ile kurutulmuş dilimlerin ΔE değerlerine bakıldığında (1.2 – 61.6), bu çıktıkların oldukça geniş bir aralıkta olduğu söylenebilir. Tarama deneyleri sonucunda elde edilen ANOVA tablosu incelendiğinde (bu tablo gösterilmemiştir) toplam renk değişimi üzerine etki eden önemli faktörlerin tuzluluk, mikrodalga gücü ve kalınlık olduğu belirlenmiştir. Yüksek tuzluluk seviyesinde toplam renk değişimi düşük elde edildiğinden, optimizasyon aşamasında tuzluluk seviyesi %12'ye kadar genişletilmiştir. Ayrıca, mikrodalga seviyesinin düşük olduğu 80 W güçte toplam renk

değişimi değerleri düşüktür. Kullanılmakta olan mikrodalga fırında en düşük güç seviyesi 80 W olup, daha düşük bir güç seviyesini incelemek mümkün değildir. Bu durum nedeniyle optimizasyon aşamasında mikrodalga gücü bir bağımsız değişken olarak incelenmemiş ve 80

W'ta sabitlenmiştir. Kalınlık faktörünün düşük olduğu seviyede toplam renk değerinin düşük elde edilmesi de optimizasyonda kalınlık seviyesinin taşınımıyla kurutmada olduğu gibi 2-6 mm aralığına kaydırılmasına sebep olmuştur.

Çizelge 4. Taşınımıyla kurutma için doğrulama deney koşulları ve sonuçları
Table 4. The conditions and results of validation experiments for convective drying

Deney no <i>Trial no</i>	Tuzluluk <i>Saltness</i> (%)	Sıcaklık <i>Temperature</i> (°C)	Kalınlık <i>Thickness</i> (mm)	ΔE		
				Tahmini <i>Predicted</i>	DeneySEL <i>Experimental</i>	Hata <i>Error (%)</i>
1	6.46	42.12	2.61	2.5	12.6	80.1
2	6.49	40.72	2.87	2.5	11.3	77.9
3	5.56	40.08	2.92	2.5	12.8	80.5

Mikrodalga kurutmanın optimizasyon basamağında elde edilmiş olan ΔE değerleri ise 9.7 ile 23.8 aralığındadır (bu değerlerin gösterildiği tablo verilmemiştir). Optimizasyon sonucunda elde edilen ANOVA tablosu incelendiğinde ise (bu tablo gösterilmemiştir) soğan dilimlerinin mikrodalga ile kurutulması işleminde toplam renk değişimi üzerine etki eden en önemli faktörler; dilim kalınlığı ve bu faktörün kuadratik formudur. İncelenen aralıklarda toplam renk değişimini ifade eden model denklik ise denklem 4'te verilmektedir. Söz konusu model denklik ile oluşturulmuş model grafiği; düşük toplam renk değişimi değerlerinin 2 mm dilim kalınlığı ve % 3

ila 7 tuzluluk oranlarında elde edildiğini açığa çıkartmaktadır (bu grafik gösterilmemiştir). Bu seviyelerde deneysel olarak elde edilen ΔE değerleri 9.7 ve 13.5 olup, bu değerler tarama aşamasında ölçülen en düşük değerler olan 4.0 ve 1.2 (%8 tuzluluk, 80 W, 3 mm) değerlerinden oldukça yüksektir. Optimizasyon aşamasında ΔE değeri beklenildiği şekilde düşük elde edilmemiştir. Bunun sebebinin ise kullanılan soğan partileri arasındaki renk farkı olduğu düşünülmektedir (Cabezas-Serranoa vd., 2009). Bu kurutma çeşidine ait yanıt yüzey grafiğine de Şekil 1-b'de yer verilmiştir.

$$\Delta E = 18.94 + 0.40 * X_1 + 3.50 * X_2 - 1.52 * X_1 X_2 + 2.08 * X_1^2 - 3.87 * X_2^2 \quad (4)$$

Denklem 4'te verilmiş olan model denkleminin doğrulanması amacıyla DesignExpert yazılımının önerdiği 3 adet deney gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar Çizelge 5'te verilmiştir. Buna göre elde edilen deney sonuçları ile modelin tahmin ettiği değerler arasındaki farkı ifade eden hata yüzdelere bakıldığında söz konusu modelin incelenen seviye aralığında mikrodalga ile kurutma işleminde gerçekleşen toplam renk değişimini tahmin etme gücünün özellikle 2 mm dilim kalınlığına sahip olan soğan dilimleri için yüksek olduğu söylenebilir. İlgili modele ait regresyon katsayısı 0.79 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 5'e göre, soğan dilimlerinin mikrodalga ile kurutulması işleminde optimum koşullar; 80 W mikrodalga gücü, %3.2 tuzluluk ve 2 mm dilim

kalınlığı şeklinde belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada; Sahoo vd. (2015) mikrodalga ile 240 W güçte kurutma uyguladıkları işlem görmüş (%5 tuz çözeltisi) ve görmemiş soğan dilimlerinde sırasıyla 13.7 ve 16.0 ΔE değeri gözlemlemişlerdir. Bu durumda bu çalışma kapsamında toplam renk değişimi bakımından Sahoo vd. (2015) ile uyumlu bir sonuç elde edilmiş olup, bu renk değişimi Sahoo vd. (2015)'e göre daha düşük bir güç seviyesi olan 80 W'ta elde edilmiştir. Roknul vd. (2014) ise kuşkonmaz marulu dilimleri üzerinde yaptıkları çalışmada sıcak hava destekli mikrodalga kurutma uygulaması (1200 W) sonrasında dilimlerdeki toplam renk değişimini 11.3 olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 5. Mikrodalga kurutma için doğrulama deney koşulları ve sonuçları
 Table 5. The conditions and results of validation experiments for microwave drying

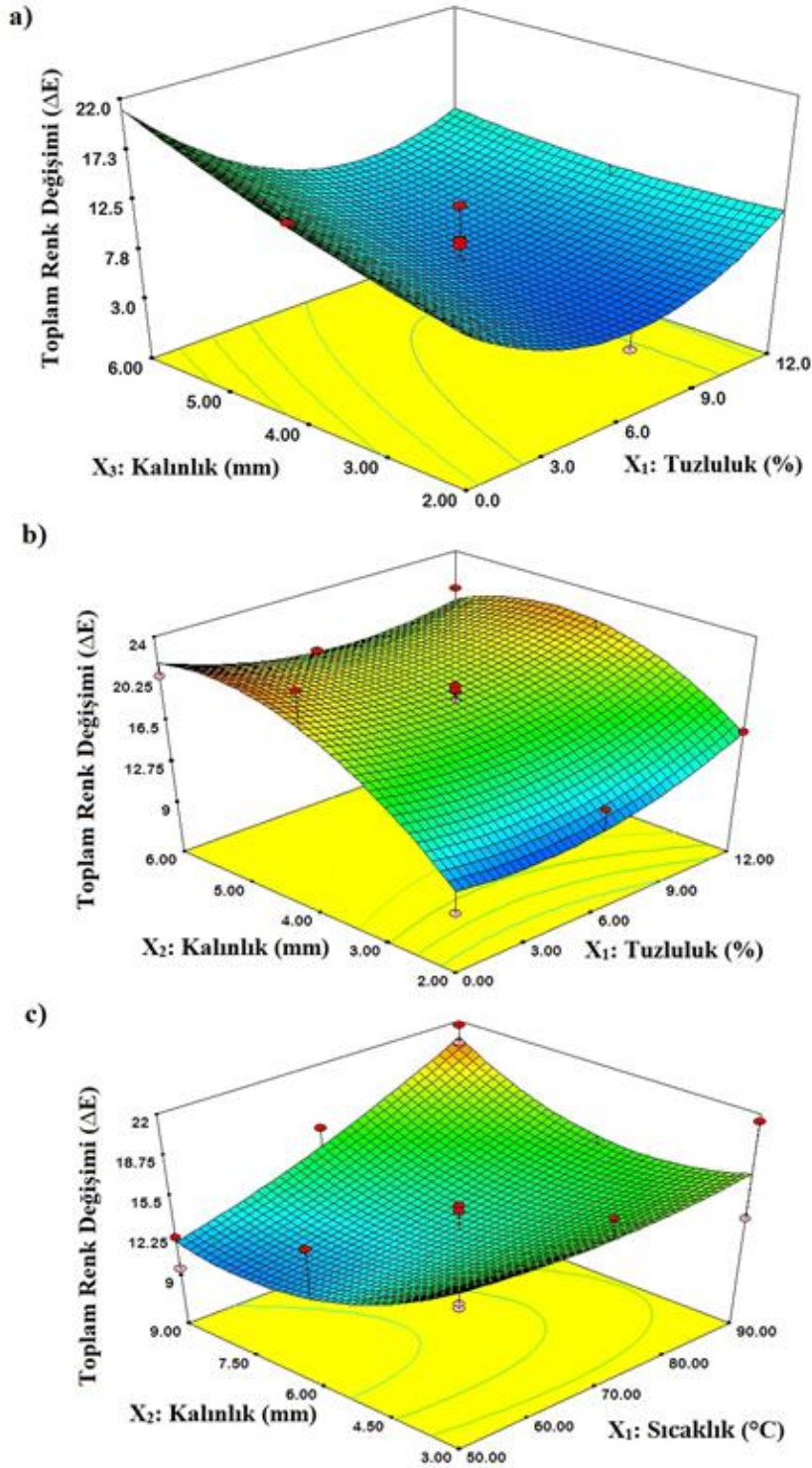
Deney no <i>Trial no</i>	Tuzluluk <i>Saltness</i> (%)	Kalınlık <i>Thickness</i> (mm)	ΔE		
			Tahmini <i>Predicted</i>	DeneySEL <i>Experimental</i>	Hata <i>Error (%)</i>
1	3.23	2.00	11.13	12.2	-0.39
2	4.42	2.00	11.23	10.6	-6.31
3	7.61	6.00	18.41	23.4	21.18

Çizelge 3 vakum altında kurutma deneyleri kapsamında incelendiğinde, bu kurutma çeşidi için toplam renk değişimi (ΔE) değerlerinin 14.5 ile 23.7 arasında değiştiği görülmektedir. Elde edilen ANOVA tablosuna göre (bu tablo gösterilmemiştir) toplam renk değişimi üzerine etki eden önemli faktörlerin; sıcaklık ve kalınlık terimlerinin yanı sıra tuzluluk-sıcaklık, tuzluluk-kalınlık, tuzluluk-sıcaklık-kalınlık etkileşim terimlerinin olduğu belirlenmiştir. Tarama aşamasında düşük renk değişiminin %0 tuzluluk, 70°C ve 7 mm kalınlık seviyelerinde (ΔE: 14.5 ve 14.6) elde edildiği tespit edilmiştir. Deney tasarımı kullanımında, tarama aşamasında, ilgilenilen bölgenin mümkün olduğu kadar geniş tutulması, dolayısıyla incelenen faktör sayısının fazla olması önemlidir. Bunun yanında, değişkenlerin hangisinin daha önemli olduğu ya da hangi seviyelerde iyi sonuç elde edildiği öğrenildikçe, ilgilenilen bölge daraltılmalıdır (Montgomery 2001). Bundan hareketle; incelenen üç bağımlı değişkenden, tuzluluk faktörünün, %0 tuzluluk seviyesinde, %8 seviyesine oranla, çok daha düşük ΔE değerleri vermesi nedeniyle, optimizasyon aşamasında yeniden bağımlı değişken olarak incelenmesine gerek olmadığına ve %0'da sabit tutulması ile minimum ΔE değeri elde edilebileceğine karar verilmiştir. Bunun yanında, tarama aşamasında 70°C'de elde edilen düşük ΔE değerleri nedeniyle, optimizasyon

aşamasında 70°C'nin üzerine çıkılması gerektiği düşünülmüş ve sıcaklık seviyesi 90°C'ye kadar genişletilmiştir. Benzer şekilde tarama aşamasında 7 mm kalınlık seviyesinde düşük ΔE elde edilmesi nedeniyle optimizasyon aşamasında 9 mm kalınlığın incelenmesine karar verilmiştir.

Taşınım ve mikrodalga ile kurutmada olduğu gibi, vakum altında kurutmada da optimizasyon aşamasında yüzey merkezli merkezi kompozit tasarım (face-centred central composite design, FCCD) kullanılmış olup, kurutma süresi 5 saat, tuzluluk seviyesi ise %0 olarak sabit tutulmuştur. Bu basamakta elde edilmiş olan toplam renk değişimi değerleri 9.5 ile 21.7 arasındadır (bu değerlerin gösterildiği tablo verilmemiştir). Bu basamağın ANOVA tablosuna göre ise (bu tablo gösterilmemiştir) soğan dilimlerinin vakum ile kurutulması işleminde toplam renk değişimi üzerine etki eden en önemli faktörlerin sıcaklık ve sıcaklık ile kalınlığın etkileşimi olduğu görülmüştür. Denklem 5 ile ifade edilen modelin grafiğine göre (bu grafik gösterilmemiştir) düşük ΔE değerlerinin 5 ile 9 mm kalınlık ve 50 ile 55°C sıcaklık aralığında yaklaşık 11.3 olarak tahminlendiği söylenebilmektedir. Vakum altında kurutmaya ait yanıt yüzey grafiğine ise Şekil 1-c'de yer verilmiştir.

$$\Delta E = 13.40 + 2.21 * X_1 - 0.57 * X_2 - 2.24 * X_1 X_2 + 0.78 * X_1^2 + 2.72 * X_2^2 \quad (5)$$



Şekil 1. Farklı kurutma teknikleri için oluşturulmuş yanıt yüzey grafikleri a) Taşınımla kurutma, b) Mikrodalga kurutma, c) Vakumla kurutma
Figure 1. Response surfaces for different drying methods a) Convictional drying, b) Microwave drying, c) Vacuum drying

İlgili modele ait regresyon katsayısı 0.63 olarak belirlenmiştir. Buna göre; vakum ile soğan dilimi kurutma işleminde, sıcaklık ve dilim kalınlığı faktörleri ile oluşturulan model, ΔE değerindeki varyasyonun %63'ünü açıklayabilmektedir. Modele ait P -değerinin önemli bulunması (P : 0.03) modelde yer verilen faktörlerin yanıt üzerinde etkili olduğuna işaret eder, fakat R^2 değerinin düşük çıkması elde edilen yanıt değerlerinin regresyon çizgisinden uzakta kaldığını gösterir. Mitra vd. (2011a) soğan dilimlerinin vakumla kurutulması üzerine yaptıkları bir çalışmada, soğan dilimlerinde renk gelişiminin enzimatik olmayan esmerleşmeye bağlı olduğu bildirilmiştir. Bilindiği gibi enzimatik olmayan esmerleşme tepkimeleri amino asitler ile indirgen şekerler arasında gerçekleşmektedir (Burdurlu ve Karadeniz, 2002). Çalışma esnasında kullanılan soğanlar arasındaki olası indirgen şeker içeriği farklılıklarının, kurutma esnasında soğan diliminde oluşan renk gelişimi konusunda varyasyon yarattığı öngörülmektedir. Bu durumda, vakumla kurutma esnasında elde edilen

ΔE değerlerinde varyasyonun yüksek olması, R^2 'nin düşük çıkmasına sebep olmuştur. Model denkleminin doğrulanması amacıyla Design Expert yazılımının önerdiği 3 adet deneyin sonuçları Çizelge 6'da özetlemiştir. Çizelgeye bakıldığında deneysel sonuçların modelin tahmin ettiği sonuçlara en çok %10.6 ve en az %31.9 oranında yaklaştığı görülmektedir. Buna göre; dilim kalınlığı arttıkça, elde edilen modelin deneysel sonuçları tahmin etme gücü azalmıştır. Şu halde soğan dilimlerinin vakumla kurutulmasında optimum koşullar; 50°C sıcaklık, %0 tuzluluk ve 5.65 mm dilim kalınlığı şeklinde tespit edilmiştir. Bu seviyelerde yapılan vakumla kurutma işlemi sonrasında soğan dilimlerinin toplam renk değişimi 14.2 olarak elde edilmiştir. Vakum altında soğan dilimi kurutan çalışmalarda toplam renk değişimi inceleyen bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bunun yanında, elma dilimlerini vakum altında (0.98 bar) kurutan Çelen (2010) incelediği en düşük sıcaklık olan 70°C'de 5 mm'lik elma dilimlerindeki toplam renk değişimini 40.5 olarak hesaplamıştır.

Çizelge 6. Vakumla kurutma için doğrulama deney koşulları ve sonuçları
Table 6. The conditions and results of validation experiments for vacuum drying

Deney no <i>Trial no</i>	Sıcaklık <i>Temperature (°C)</i>	Kalınlık <i>Thickness (mm)</i>	ΔE		
			Tahmini <i>Predicted</i>	Deneysel <i>Experimental</i>	Hata <i>Error (%)</i>
1	50	5.65	12.72	14.2	10.6
2	50	5.70	12.75	18.7	31.9
3	50	6.11	11.23	16.2	30.5

Kullanılan kurutma yöntemlerinin maliyetlerine bakıldığında; işlem sıcaklığı, süresi ve kurutucudaki hava hızı, kurutucunun gücü, örnek kalınlığı, örneğin başlangıç ve sonuç nem içeriği, ön işlemlerin varlığı vb. gibi faktörlere göre oldukça değişkenlik göstermekte olduğu bildirilmiştir (Wilcke, 2004). Hedef nem içeriğine ulaşma süreleri ve kullanılan kurutucuların (teorik) güçleri göz önüne alınıp, yatırım maliyetleri hariç tutulduğunda, taşınımla kurutmanın en pahalı yöntem, mikrodalga ile kurutmanın ise en ucuz yöntem olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, soğan dilimlerinin kurutulması için incelenmiş ve işlem koşulları optimize edilmiş olan 3 kurutma yöntemi birbiri ile karşılaştırıldığında, toplam renk değişiminin en düşük düzeyde elde edildiği kurutma yönteminin taşınımla kurutma (%6 tuzluluk, 40 °C, 2 mm dilim kalınlığı) olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra 3 kurutma yönteminin de optimum noktalarında elde edilen toplam renk değişimi değerleri birbirine çok yakın değerlerdir. Renk değişimi kalite özelliği açısından değerlendirilen soğan dilimlerinin kurutulması işlemi için maliyetin en düşük olduğu kurutma yöntemi olarak tercih edilebilecektir. Endüstriyel boyutta

soğan dilimlerinin incelenen yöntemlerden herhangi biri ile kurutulabilmesi amacıyla gerekli olan cihaz tasarımının yapılması için bu çalışmayla elde edilen verilerin temel oluşturduğuna inanılmaktadır. Bu çalışmanın devamında soğan dilimleri, renk değişimi dışında diğer kalite özellikleri açısından da incelenmeli ve en uygun kurutma yöntemleri belirlenmelidir.

Teşekkür

Bu çalışma Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: OKÜ-BAP-2015-PT3-017) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Adam, E., Mühlbauer, W., Esper, A., Wolf, W., Spiess, W. (2000). Quality changes of onion as affected by the drying process, *Nahrung*, 44(1): 32-37.

AOAC (1990). Official method of analysis. Association of official analytical chemists (No. 934.06), Arlington, VA.

Arevalo-Pinedo, A., Murr, F.E.X. (2006). Kinetics of vacuum drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*): modeling with shrinkage. *J Food Eng*, 76: 562-567.

Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. (2002). Gıdalarda Maillard reaksiyonu. *GIDA*, 27(2): 77-83.

Cabezas-Serrano, A.B., Amodiob, M.L., Cornacchiab, R., Rinaldib, R., Colelli, G. (2009). Suitability of five different potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) to be processed as fresh-cut products. *Postharvest Biol Technol*, 53: 138-144.

Çelen, S. (2010). Mikrodalga ve vakum kurutucuda bazı gıda ürünlerinin kurutulması ve modellenmesi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Edirne, Türkiye, 152 s.

Demiray, E., Tulek, Y. (2014). Drying characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) slices in a convective hot air dryer. *Heat Mass Transf*, 50(6): 779-786.

Grewal, M.K., Jha, S.N., Patil, R.T., Dhatt, A.S., Kaur, A., Jaiswal, P. (2015). A less energy intensive process for dehydrating onion. *J Food Sci Technol*, 52(2): 1131-1137.

Karathanos, V.T., Villalobos, G., Saravacos, G.D. (1990). Correlation of two methods of estimation of the effective moisture diffusivity from drying data. *J Food Sci*, 55: 218-223.

Koç, B., Kaymak-Ertekin, F. (2009). Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları. *GIDA*, 35(1): 63-70.

Kumar, D.G.P., Hebbar, H.U., Sukumar, D., Ramesh, M.N. (2005). Infrared and hot air drying of onions. *J Food Process Preserv*, 29(2): 132-150.

Mitra, J., Shrivastava, S.L., Srinivasa Rao, P. (2011a). Process optimization of vacuum drying of onion slices. *Czech J Food Sci*, 29(6): 586-594.

Mitra, J., Shrivastava, S.L., Srinivasa Rao, P. (2011b). Vacuum dehydration kinetics of onion slices. *Food Bioprod Process*, 89(1): 1-9.

Mitra, J., Shrivastava, S.L., Rao, P.S. (2012). Onion dehydration: A review. *J Food Sci Technol*, 49(3): 267-277.

Montgomery D., (2001). *Design and Analysis of Experiments*. (5. baskı) John Wiley & Sons. New York, 15 p.

Moses, J.A., Norton, T., Alagusundaram, K., Tiwari, B.K. (2014). Novel drying techniques for the food industry. *Food Eng Rev*, 6(3): 43-55.

Pap, L. (1995). Production of pure vegetable juice powders of full biological value. *Fruit Process*, 3: 55-60.

Rahman, S.M.A., Mujumdar, A.S. (2007). Effect of osmotic treatment with concentrated sugar and salt solutions on kinetics and color in vacuum contact drying. *J Food Process Preserv*, 31(6): 671-687.

Rao, V.K.R. (1995). Onion exports. *Food Dig*, 18(2): 75.

Reyes, A., Cerón, S., Zúniga, R., Moyano, P. (2007). A comparative study of microwave-assisted air drying of potato slices. *Biosyst Eng*, 98: 310-318.

Roknul, A.S.M., Zhang, M., Mujumdar, A.S., Wang, Y. (2014). A comparative study of four drying methods on drying time and quality characteristics of stem lettuce slices (*Lactuca sativa* L.). *Drying Technol*, 32: 657-666.

- Sahin, A.Z., Dincer, I. (2005). Prediction of drying times for irregular shaped multi-dimensional objects. *J Food Eng*, 71: 119-126.
- Sahoo, N.R., Bal, L.M., Pal, U.S., Sahoo, D. (2015). Impact of pretreatment and drying methods on quality attributes of onion shreds. *Food Technol Biotechnol*, 53(1): 57-65.
- Sarsavadia, P.N., Sawhney, R.L., Pangavhane, D.R., Singh, S.P. (1999). Drying behaviour of brined onion slices. *J Food Eng*, 40: 219-226.
- Selvamuthukumar, M., Khanum, F. (2014). Effect of modified atmosphere packaging on physicochemical, sensory and microbiological properties of spray-dried sea buckthorn fruit juice powder. *J Food Qual*, 37: 149-156.
- Süfer, Ö., Sezer, S., Demir, H. (2017). Thin layer mathematical modeling of convective, vacuum and microwave drying of intact and brined onion slices. *J Food Process Preserv*, (article in press) DOI: 10.1111/jfpp.13239.
- Tan, M., Chua, K.J., Mujumdar, A.S., Chou, S.K. (2001). Effect of osmotic pre-treatment and infrared radiation of drying rate and color changes during drying of potato and pineapple. *Drying Technol*, 19(9): 2193-2207.
- Vadivambal, R., Jayas, D.S. (2007). Changes in quality of microwave-treated agricultural products-a review. *Biosyst Eng*, 98: 1-16.
- Wilcke, B. (2004). Energy costs for corn drying and cooling. *University of Minnesota, Biosystems & Agricultural Engineering, Lecturer Notes*. P102-2004-09. Internet adresi: <https://pdfs.semanticscholar.org/95c8/b161ea0b9c75decec398b5ad4df387ea5e3b.pdf> Erişim Tarihi: 17.10.2017



ULTRASON UYGULAMASININ SÜT ÜRÜNLERİNDE HOMOJENİZASYON, JEL YAPISI, VİSKOZİTE VE SU TUTMA KAPASİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Vildan Akdeniz*, A. Sibel Akalın

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Bornova, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 05.07.2017; Kabul / Accepted: 05.11.2017; Online baskı / Published online: 21.11.2017

Akdeniz, V., Akalın, A. S. (2017). Ultrason uygulamasının süt ürünlerinde homojenizasyon, jel yapısı, viskozite ve su tutma kapasitesi üzerine etkisi. *GIDA* (2017) 42 (6): 743-753 doi: 10.15237/gida.GD17062

ÖZ

Süt endüstrisinde son yıllarda geleneksel ısı işlem yerine besin öğelerine daha az zarar veren ve daha uzun raf ömrü sağlayan teknolojilere artan bir ilgi ve tüketici talebi olduğu görülmektedir. Ultrason bu yenilikçi teknolojilerden biridir. Ultrason uygulamaları nispeten ucuz, basit, hızlı, toksik olmayan, çevre dostu ve enerji tasarrufu sağlayan bir proses olduğundan gıda endüstrisinde gelişmekte olan bir teknolojidir. Süt endüstrisinde ultrason uygulamaları yüksek ısı işlem ile karşılaştırıldığında, homojenizasyon veriminin artırılması, jel kuvveti ve sıklığının iyileştirilmesi, viskozite ve su tutma kapasitesinin artırılması gibi önemli avantajlara sahiptir. Bu çalışmada, ultrasonun temel prensipleri ile süt ürünlerinde homojenizasyon, jel yapısı, viskozite ve su tutma kapasitesi üzerine ultrasonun etkilerini ele alan ve araştırma bulgularını da içeren çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ultrason, süt ürünleri, homojenizasyon, viskozite, su tutma kapasitesi, jel yapısı

EFFECTS OF ULTRASOUND APPLICATION ON HOMOGENIZATION, GEL STRUCTURE, VISCOSITY AND WATER HOLDING CAPACITY IN DAIRY PRODUCTS

ABSTRACT

In dairy technology, there is an increased significance and consumer demand for technologies which give least damage to the nutritional ingredients and provide longer shelf life instead of traditional heat treatment in recent years. Ultrasound is one of these innovative technologies. Ultrasound applications have becoming an emerging technology in food industry as they are relatively cheap, simple, fast, non-toxic, environment friendly and energy saving processes. In dairy industry, ultrasound applications have important advantages compared to high temperature heat treatment such as increasing homogenization efficiency, viscosity and water holding capacity and improving gel strength and firmness. In this study, the basic principles of ultrasound and the studies including research findings on the effects of ultrasound on homogenization, gel structure, viscosity and water holding capacity of dairy products were reviewed.

Keywords: Ultrasound, dairy products, homogenization, viscosity, water holding capacity, gel structure

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ vildan.akdeniz@ege.edu.tr, ☎ (+90) 232 311 2733/ 4471 📠 (+90) 232 342 5713

GİRİŞ

Süt sanayinde istenmeyen mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktive edilmesi, ürünün raf ömrünün uzatılması amacıyla en fazla kullanılan muhafaza yöntemi ısıtma işlemidir. Fakat ısıtma işleminin süt ve süt ürünleri üzerinde bazı olumsuz etkileri de bulunmaktadır. Örneğin; ısıtma işleminin süresine ve şiddetine bağlı olarak sütte renk değişikliği ve istenmeyen aroma oluşumu ile süütün duyu kalitesinde bozulma ve besin değerinde azalma gibi dezavantajları olduğu gözlemlenmiştir (Chouliara vd., 2010; Engin ve Karagul Yuçer, 2012; Marchesini vd., 2012; Shanmugam vd., 2012). Bu sebeple son yıllarda ısıtma işleme alternatif teknolojilere yönelen bir eğilim söz konusudur ve ultrason bu yenilikçi teknolojilerden biridir (Chouliara vd., 2010; Shanmugam vd., 2012). Süt endüstrisinde, ultrason uygulamaları yüksek ısıtma işlemi ile karşılaştırıldığında, homojenizasyon veriminin artırılması ve yapının iyileştirilmesi gibi önemli avantajlara sahiptir (Huang vd., 2017; Paniwnyk, 2017).

Son yıllarda gıda sanayinde nispeten ucuz, basit, hızlı ve enerji tasarrufu sağlayan uygulamalara önemli bir talep bulunmaktadır. Ultrason uygulamaları bu alanda gelişen yeni teknolojilerden birisidir (Awad vd., 2012; Zwieter vd., 2017). Ultrason, saniyede 20.000 veya daha fazla ses dalgasının titreşimi ile oluşan enerji türü olarak tanımlanmakta, ultrason teknolojisi ise, insan duyma eşiğinin (>20 kHz) üzerindeki frekanslı ses dalgalarından oluşmaktadır (Soria ve Villamiel, 2010; Awad vd., 2012; Shershenkov ve Suchkova, 2015). Güvenli ve çevre dostu olan ses dalgaları toksik etki göstermediğinden ultrason uygulaması diğer teknolojilere göre önemli bir avantaj da sağlamaktadır (Arzeni vd., 2012).

Gıda proseslerinde kullanılan ultrason uygulamaları frekans aralığına göre düşük enerjili ve yüksek enerjili olmak üzere iki tipe sınıflandırılır (Jambrak vd., 2014; Nöbel vd., 2016; Zhang vd., 2017). Düşük enerjili ultrason uygulamaları 100 kHz ile 1 MHz arasındaki yüksek frekanslı ve 1 W/cm²'den düşük yoğunluklu uygulamalar olup genellikle gıda ürünlerini ve proseslerini gözlemlenme amacıyla gıda sistemlerinin değerlendirilmesinde ve gıda

kalite kontrolünde kullanılmaktadır (Loveday vd., 2013; Chandrapala ve Leong, 2015; Mohammadi vd., 2017). Yüksek enerjili ultrason uygulamaları ise 20 kHz ile 100 kHz arasındaki düşük frekanslı ve 10 ile 1000 W/cm² arasındaki yüksek yoğunluklu uygulamalar olup gıdanın yapısında fiziksel, kimyasal ve mekanik değişikliklere yol açarlar (Mohammadi vd., 2014; Ashokkumar, 2015; Ojha vd., 2017).

Ultrasonun Etki Mekanizması

Ultrasonik uygulamaların neden olduğu etkilerden sorumlu temel olgu kavitasyondur. Akustik kavitasyon; akustik akış, şok dalgaları, mikro jetler, türbülans ve kayma kuvveti gibi aşırı fiziksel kuvvetler üreterek süt gibi sıvı ürünlerde değişikliklere sebep olan bir dizi fiziksel ve kimyasal etkiler oluşturmaktadır (Soria ve Villamiel, 2010; Ashokkumar, 2011; Chandrapala vd., 2012a). Ses enerjisi sürekli dalga tipi bir hareket oluşturarak ortama girdiğinde, bu hareketin bir sonucu olarak boylamsal dalgalar oluşmaktadır (Knorr vd., 2004). Ultrasonik dalgalar sıvı içinde yayılırken bölgesel basınç zamanla değişmekte ve basınç farkı nedeniyle gaz baloncukları genişleyip daralmaktadır (Riener vd., 2009; Chandrapala vd., 2011; Zhang vd., 2015). Bu baloncuklar daha fazla enerji absorblayamayacak hacme ulaştıklarında patlamakta ve şok dalgasına neden olan çarpışmalar meydana gelmektedir. Bu şok dalgaları yüksek sıcaklık (yaklaşık 5000 K) ve yüksek basınç (100MPa fazla) bölgeleri oluşturmaktadır (Pingret vd., 2013; Gao vd., 2014; Cheng vd., 2015). Döngüsel üretim ve baloncukların patlaması sıvı ortamlarda kimyasal ve fiziksel değişimlere sebep olabilmektedir ki bu değişimler baloncukların çevresinde oluşan yüksek basınç ve sıcaklık kaynaklıdır (Arzeni vd., 2012).

Süt teknolojisinde 20 kHz ile 40 kHz frekans arasında ve 10 W/cm²'den yüksek yoğunluklu ultrason uygulamaları yaygın olarak kullanılmaktadır (Ashokkumar, 2015). Bu alanda ultrason işlemi, süt yağ globül boyutunu azaltarak homojenizasyonu ve emülsifikasyonu artırmak, peynir altı suyu proteinlerinin koagülasyon özelliklerini geliştirerek jel kuvveti ve sıklığını

arttırmak, sineresisi azaltarak viskozite ve su tutma kapasitesini iyileştirmek amaçlarıyla kullanılabilir (Chandrapala vd., 2012b; Mohammadi vd., 2014; O'Sullivan vd., 2015)

ULTRASONUN HOMOJENİZASYON ÜZERİNE ETKİSİ

Tipik bir su-yağ emülsiyonu olan sütte yağ globüller halinde bulunmakta, yağ globül membranı ise emülgatör olarak işlev görmektedir. Membranda bulunan aglutininlerin reaksiyonları ve ara yüzey gerilimi nedeniyle süt yağ globülleri birbiriyle çarpışma ve büyüme eğilimindedir (Sfakianakis ve Tzia, 2014). Süt yağı globülleri, sütte 1-10 µm çapında ve ağırlıklı olarak fosfolipid ve enzimlerden oluşan süt yağı globül membranı ile çevrili olarak bulunurlar. Birçok süt ürününün fizikokimyasal, duysal ve reolojik özellikleri içerdiği yağ globüllerinin boyut dağılımı ve membranın bileşimine bağlıdır. Ultrason uygulandığında akustik kaviteasyonun sebep olduğu türbülans, karıştırma ve kayma kuvveti gibi kuvvetler yağ globüllerini parçalayarak ortalama globül çaplarını önemli ölçüde küçültmektedirler (Chandrapala vd., 2016; Paniwnyk, 2017). Daha büyük çaplı yağ globülleri kaviteasyonun sebep olduğu fiziksel kuvvetlerden daha çok etkilenmektedir (Shestakov vd., 2013). Çizelge 1'de de görüldüğü üzere bu konuda pek çok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmaların sonuçları, ultrason uygulanan sütlerde yağ globül boyutlarının klasik homojenizasyona göre belirgin şekilde daha küçük olduğunu ve böylece ultrason uygulamasının süt homojenizasyonunda önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bazı araştırmacılar farklı güçlerde ve sürelerde ultrason uygulamalarını karşılaştırmışlar ve en iyi homojenizasyon etkinliği kombinasyonunun yüksek güç ve uzun sürede gerçekleştiğini saptamışlardır (Wu vd., 2001; Ertugay vd., 2004; Sengul vd., 2009; Vijayakumar vd., 2015). Diğer yandan farklı süt ürünlerinde de bu alanda çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Ultrasonun ısı işlem ile kombine edilerek kullanıldığı uygulama (termosonikasyon) ile üretilen krem peynirinde yağ içeriği, verim, yayılabilirlik, viskoelastik özellikler ve termal stabilitenin önemli ölçüde değiştiği saptanmıştır (Almanza-Rubio vd., 2016).

Ultrason uygulamasının geleneksel homojenizatörlere kıyasla daha düşük yatırım maliyeti ve temizleme kolaylığı gibi avantajları olduğu da bildirilmektedir (Shershenkov ve Suchkova, 2015).

Ayrıca bazı araştırmacılar ultrason uygulamasının süttten yağı ayırmak için gelecek vaat eden bir teknoloji olduğunu belirlemişlerdir. Ultrason uygulaması ile süttten yağ ayrımı hızlı bir şekilde gerçekleşirken yağ globül membranı da çok az hasar görmektedir (Leong vd., 2015; Leong vd., 2016).

ULTRASONUN JEL YAPISI ÜZERİNE ETKİSİ

Yoğurt ve peynir bir tür protein jeli olduklarından süt proteinleri bu ürünlerin oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir. Süt proteinleri gerek fizikokimyasal açıdan gerekse beslenme yönünden yoğurt ve peynirin en önemli bileşenidir. İyi bir jel yapısının oluşmasında peynir altı suyu proteinlerinin denatürasyon özellikleri kritik önem taşımaktadır. Ultrason uygulaması süt ürünlerinde emülsiyonların jelleşme süresini kısaltırken jelleşme özelliklerini, jel kuvvetini ve elastik yapıyı geliştirmektedir (Higuera-Barraza vd., 2016; Gursoy vd., 2016; Paniwnyk, 2017). Bu durumun, ultrason uygulamasının kazein misellerini alt birimlere ayırmasından ve alt birimlerin birbiriyle ve kısmen denatüre olmuş peynir altı suyu proteinleri ile güçlü bir şekilde yeniden bir araya gelerek kuvvetli ağlar oluşturmasından ve ayrıca ultrason sonucu oluşan çok sayıda daha küçük yağ globüllerinin ortama yerleşmesiyle pıhtılaşmış protein kümelerinin güçlendirilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Riener vd., 2009). Çizelge 2'den de anlaşılacağı üzere bu konuda yapılan çalışmalar umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır. Çalışmalar göstermektedir ki ultrason uygulaması peynir altı suyu proteinlerinin jelleşme özelliklerini geliştirmekte, jel sıklığı ve jel kuvvetini artırarak sineresisi azaltmakta ayrıca jelleşme süresini kısaltmaktadır. Bu sonuçlar ışığında ultrasonun süt proteinlerinin jelleşme özelliklerini geliştirmek için alternatif olarak kullanılma potansiyelinin yüksek olduğu söylenebilir.

Çizelge 1. Ultrasonun sütte yağ globül boyutuna ve homojenizasyon verimine etkisi

Amaç	Ultrason Uygulaması	Ultrason Etkileri	Referans
Ultrasonun klasik homojenizasyona kıyasla homojenizasyon verimi üzerine etkisini belirlemek	1, 6 ve 10 dak. süreyle 20 kHz, 90W, 225W ve 450W	Ultrason uygulamasının klasik homojenizasyona kıyasla çok iyi bir homojenizasyon etkisine sahip olduğu saptanmıştır. 450W gücündeki homojenizasyon etkisi diğer güç seviyelerinden daha iyi sonuç vermiştir.	Wu vd., 2001
Klasik homojenizasyona kıyasla ultrasonun süt örneklerinin homojenizasyon verimi üzerine etkisini belirlemek	55°C'de 5 ve 10 dak. süreyle 20 kHz, 90W, 180W, 360W ve 450W	Klasik homojenizatör ve ultrason kullanılarak homojenize edilen süt yağ globül çapları sırasıyla 2,0-3,0 ve 0,5-5,0 µm arasında saptanmıştır. Ultrason ile homojenize edilen süt (daha yüksek güç seviyelerinde) daha küçük yağ globüllerine sahip olmuştur. En iyi homojenizasyon ve en küçük yağ globül çapı 450W gücünde 10 dakika süreyle elde edilmiştir.	Ertugay vd., 2004
Ultrasonun klasik homojenizasyona kıyasla homojenizasyon verimi üzerine etkisini belirlemek	3 ve 6 dak. süreyle 20 kHz, 90W, 225W ve 315W	En düşük güç seviyesi-süre kombinasyonunda (90W - 3 dak.) bile, ultrasonun homojenizasyon etkinliği klasik yöntemden daha iyi bulunmuştur. En iyi homojenizasyon etkinliği, 315W'da 6 dak. süreyle elde edilmiştir.	Sengul vd., 2009
Geleneksel ısı işlem uygulanan yoğurtlara kıyasla termosonikasyon uygulanan yoğurtlarda termosonikasyonun yağ globül boyutuna etkisini belirlemek	72°C'de 10 dak. süreyle 24 kHz, 400W	Termosonikasyon uygulanan yoğurtlardaki ortalama yağ globülleri boyutu geleneksel ısı işlem uygulanan (90°C'de 10 dak.) yoğurtlara kıyasla daha küçük (<1µm) bulunmuştur.	Riener vd., 2009
Ultrason uygulamasının koyun sütünün homojenizasyon derecesine etkisini belirlemek	2-15 dak. süreyle 30 kHz, 100W'a kadar	Süre ve güç arttıkça homojenizasyon derecesinde önemli derecede artış saptanmıştır.	Bosiljkov vd., 2012
Ultrason uygulamasının pastörize ve homojenize edilmiş yağsız sütün yağ globül boyutuna etkisini belirlemek	60 dak.'ya kadar 20 kHz, 20W	20W güç seviyesinde yağ globüllerinde önemli ölçüde küçülme olmuştur. Homojenize edilen fakat ultrason uygulanmayan örneklerde yağ globül boyutları 170 nm iken homojenize edildikten sonra 60 dak. süreyle ultrason uygulandığında 20W güçte yağ globül boyutları 157 nm olarak bulunmuştur.	Shanmugam vd., 2012
İki kademeli homojenizasyona kıyasla ultrason uygulamasının yağ globül boyutuna etkisini belirlemek	10 dak. süreyle 20 kHz, 150-750W	Ultrasonun ve iki kademeli homojenizasyonun (10–30 MPa/5 MPa) yağ globül boyutlarını eşit ölçüde küçülttüğü saptanmıştır.	Sfakianakis vd., 2015

Çizelge 1 devam

Termosonikasyon uygulamasının krema ve yağsız sütte yağ globül boyutuna etkisini belirlemek	72°C'de 1 ve 3 dak. süreyle 20 kHz, 104W ve 115W	Termosoniksasyon uygulaması yağsız sütte ve kremada yağ globül boyutlarını küçültmüştür ve sürenin uzaması ile homojenizasyon etkinliği artmıştır.	Vijayakumar vd., 2015
Krem peynir üretiminde ultrason uygulamasının sütün yağ globül boyutuna etkisini belirlemek	4-63°C arasında, 30 dak.'ya kadar 20 kHz ve 0-100W arasında farklı kombinasyonlar	Termosonikasyon uygulamasının yağ globül boyutlarını 7µm'den 2µm'nin altına düşürdüğü ve krem peynirin yağ içeriğini arttırdığı saptanmıştır. 35-50°C arasında 50W güçte 30 dak.'ya kadar olan uygulamalarda krem peynirlerin en iyi yapısal ve reolojik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir.	Almanza-Rubio vd., 2016
Düşük sıcaklıkta ultrasonun yüksek sıcaklıkta klasik homojenizasyona kıyasla homojenize edilmiş çığ süt, ultrafiltrasyon retentatı ve krema örneklerinde yağ globül boyutuna etkisini belirlemek	10°C'de 20 kHz, 31W ve 50W	Ultrason, çığ süt ve ultrafiltrasyon retentatında yağ globül boyutunu küçültmüştür. Klasik krema homojenizasyonunda 50°C'de oluşan yağ globül boyutları, ultrason uygulamasında 10°C'den düşük sıcaklıklarda elde edilmiştir. Böylece daha düşük sıcaklıklarda daha az enerji ihtiyacı ile krema homojenizasyonu gerçekleştirilebilecektir.	Chandrapala vd., 2016

ULTRASONUN VİSKOZİTE VE SU TUTMA KAPASİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ultrason uygulaması süt ürünlerinde viskoziteyi ve su tutma kapasitesini de arttırmaktadır. Bu alanda daha çok fermente süt ürünlerinde yapılan çalışmalarda olumlu bulgulara ulaşılmıştır (Wu vd., 2001; Sfakianakis vd., 2015). Fermente süt ürünlerinin tüketici tarafından tercih edilebilirliğinin belirlenmesinde, tekstürel ve duyuşal özellikler büyük önem taşımaktadır. Toplam kurumadde, protein içeriği, denatüre serum proteinleri içeriği, denatüre serum proteinleri ile k-kazein arasındaki interaksiyon; yoğurt pıhtısının reolojik özellikleri olarak bilinen konsistens, viskozite ve serum ayrılması üzerine etkilidir. Yoğurt üretiminde, son üründe arzu edilen fiziksel ve duyuşal niteliklerin elde edilmesi ve yüksek düzeyde tüketici beğenisinin sağlanması için %12.0-12.5 arasında yağsız kurumaddeye sahip süt kullanılmaktadır. Sütün yağsız kurumadde ve toplam kurumadde içeriğindeki artış yoğurt pıhtısının viskozitesini arttırmakta ve yoğurttan serum ayrılmasını azaltmaktadır. Özellikle yoğurtlarda viskozite ve su tutma kapasitesi önemli kalite kriterleri olup sıkı olmayan yapı, topaklanma ve serum ayrılması en önemli tekstürel kusurlardır (Ozer, 2006; Riener

vd., 2010; Gursoy vd., 2016). Fermente süt ürünleri teknolojisinde ultrasonun kavitasyon etkisi, yağ globüllerinin boyutlarının azalmasını ve dolayısıyla toplam yağ membranı yüzey alanının artmasını sağlamaktadır. Yeni bağlanmış kazein misellerini içeren artan yüzey alanı, su tutma kapasitesini artırır ve hidrofilik özelliklerin artmasıyla da sinerjis azalır. Ultrasonun viskozite üzerine etkisi; peynir altı suyu protein denatürasyonunun artmasından ve peynir altı suyu proteinleri ile kazein fraksiyonları arasında agregat oluşumundan ileri gelmektedir (Wu vd., 2001; Sfakianakis vd., 2015; Higuera-Barraza vd., 2016). Bu konuda yapılan çalışmalar Çizelge 3'te görülmektedir. Yapılan çalışmalar, ultrason uygulamasının yoğurt ve ayran gibi fermente süt ürünlerinde viskoziteyi ve su tutma kapasitesini arttırdığını ve depolama sırasında serum ayrılmasını azalttığını göstermektedir. Sonuç olarak ultrason uygulaması gerek tek başına gerek ısı işlemi ile kombine edilerek fermente süt ürünleri için önemli kalite kriterleri olan viskoziteyi ve su tutma kapasitesini geliştirerek ve serum ayrılmasını geciktirerek bu ürünlerin üretiminde başarılı bir şekilde kullanılabilir.

Çizelge 2. Ultrasonun süt ürünlerinin jel yapısı üzerine etkisi

Amaç	Ultrason Uygulaması	Ultrason Etkileri	Referans
Geleneksel ısı işlem uygulanan yoğurtlara kıyasla termosonikasyon uygulanan yoğurtlarda termosonikasyon uygulamasının jel sıklığına etkisini belirlemek	72°C'de 10 dak. süreyle 24 kHz, 400W	Termosonikasyon uygulanmış süttten üretilen set tipi yoğurtlarda jel sıklığının arttığı gözlenmiştir.	Riener vd., 2009
Ultrason uygulamasının rekonstitüe peynir altı suyu proteinlerinin jelleşme özelliklerine etkisini belirlemek	60 dak.'ya kadar 20 kHz	Ultrason uygulamasının peynir altı suyu proteinlerinin jelleşme özelliklerini geliştirdiği, jel kuvvetini arttırdığı ve sineresisi azalttığı saptanmıştır.	Zisu vd., 2011
Ultrasonun peynir altı suyu protein konsantrlerinin jelleşme özelliklerine etkisini belirlemek	20 dak. süreyle 20 kHz, 750W	Ultrason uygulamasının peynir altı suyu protein konsantrlerinin elastik jelleşme özelliklerini arttırdığı belirlenmiştir.	Arzeni vd., 2012
Ultrason uygulamasının süttün rennetle pıhtılaşma özelliğine etkisini belirlemek	30°C'de, pH 8'de 20kHz	Ultrason uygulamasının süttün rennetle pıhtılaşma özelliğini, jelleşme süresini ve pıhtı sıklığını geliştirdiği saptanmıştır.	Liu vd., 2014
Ultrason uygulamasının %7 keten tohumu yağı/süt emülsiyonunun fonksiyonel özelliklerine etkisini belirlemek	1-8 dak. süreyle 20 kHz, 176W	Ultrason uygulanarak elde edilen %7 keten tohumu yağı/süt emülsiyonunun jelleşme süresinin azaldığı, elastik yapısının arttığı, sineresisin azaldığı ve jel kuvvetinin arttığı görülmüştür.	Shanmugam ve Ashokkumar, 2014
Ultrason uygulamasının rekonstitüe süt protein konsantrisinin jelleşme özelliklerine etkisini belirlemek	5 dak.'ya kadar 20 kHz	Ultrason uygulamasının rekonstitüe süt protein konsantrisinin jelleşme özelliklerini geliştirdiği tespit edilmiştir.	Yanjun vd., 2014
Ultrason uygulamasının keçi süttünün pıhtılaşma özelliklerine etkisini belirlemek	20 dak.'ya kadar 20 kHz, 800W	Ultrason uygulamasının keçi süttünün pıhtılaşma özelliklerini etkilediği ve ultrason uygulamasından sonra denature olmamış peynir altı suyu proteinleri oranının %9,57 azaldığı, jel sıklığı, pıhtı kuvveti ve jellerin çapraz bağlanmasının belirgin olarak arttığı belirlenmiştir.	Zhao vd., 2014
Ultrason uygulamasının jel sıklığı üzerine etkisini belirlemek	22,5 kHz, 50W	Ultrason uygulanmış süttün asitlendirilmesi ile üretilen jel ile ultrason uygulanmamış süttten üretilen jel kıyaslanmış ve ultrason uygulamasının jel sıklığında artış ve jelleşme süresinde azalma sağladığı belirlenmiştir.	Nguyen ve Anema, 2017

Çizelge 3. Ultrasonun süt ürünlerinin viskozitesi ve su tutma kapasitesi üzerine etkisi

Amaç	Ultrason Uygulaması	Ultrason Etkileri	Referans
Ultrason uygulamasının yoğurdun viskozitesi ve su tutma kapasitesi üzerine etkisini belirlemek	1, 6, 8 ve 10 dak. süreyle 20 kHz, 90W, 225W ve 450W	Geleneksel olarak üretilen yoğurt ile ultrason uygulaması ile üretilen yoğurt kıyaslanarak ultrasonun yoğurdun viskozitesini ve su tutma kapasitesini önemli ölçüde arttırdığı ve 180W ile 450W arasındaki yüksek güçteki uygulamaların 6 ya da 8 dakika uygulandığında daha iyi sonuç elde edildiği saptanmıştır.	Wu vd., 2001
Ultrason uygulamasının yoğurdun su tutma kapasitesi üzerine etkisini belirlemek	3 ve 6 dak. süreyle 20 kHz, 90W, 225W ve 315W	Ultrason uygulaması ile üretilen yoğurtların su tutma kapasitesinin klasik homojenizasyon işlemi ile üretilenlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır.	Şengül vd., 2009
Geleneksel yöntemle kıyasla termosonikasyon uygulamasının yoğurtların viskozite ve su tutma kapasitesine etkisini belirlemek	45°C'de 10 dak. süreyle 24 kHz, 400W	Termosonikasyon uygulanmış süttten elde edilen yoğurtların 90°C'de 10 dakika geleneksel ısıl işlem uygulanarak üretilmiş yoğurtlardan daha yüksek viskozite ve su tutma kapasitesine sahip olduğu ve ayrıca sineresinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.	Riener vd., 2010
Ultrason uygulamasının koyun sütünün viskozitesi üzerine etkisini belirlemek	2-15 dak. süreyle 30 kHz, 100W'a kadar	15 dak.'ya ve 100W'a kadar uygulanan değişik süre-güç kombinasyonlarının hepsinde koyun sütünün viskozitesinin arttığı gözlemlenmiştir.	Bosiljkov vd., 2012
Ultrason uygulamasının keçi sütünün rennet jellerinin su tutma kapasitesi üzerine etkisini belirlemek	10 dak.'ya kadar 20 kHz, 800W	Ultrason uygulamasının keçi sütünün rennet jellerinin su tutma kapasitesini %40 civarında arttırdığı belirlenmiştir.	Zhao vd., 2014
Ultrason uygulamasının ayranın viskozitesi ve ayrandan serum ayrılması üzerine etkisini belirlemek	60, 70 ve 80°C, 1, 3 ve 5 dak. süreyle 35 kHz	Farklı sıcaklık ve sürelerde termosonikasyon uygulanarak üretilen ayranların 90°C'de 1 dakika ısıl işlem uygulanarak geleneksel olarak üretilen ayranlara göre depolama süresince daha yüksek viskozite değerine sahip olduğu ve bu ayranlarda depolama sırasında daha az serum ayrılması olduğu saptanmıştır.	Erkaya vd., 2015
Ultrason uygulamasının yoğurt pıhtısının viskozitesi üzerine etkisini belirlemek	10 dak. süreyle 150W, 262W, 375W, 562W ve 750W	Ultrason ile homojenize edilen süttten fermentasyon sonunda (pH=4,6) elde edilen yoğurt pıhtısının iki kademeli homojenizatörle homojenize edilen süttten elde edilene göre önemli ölçüde daha yüksek viskoziteye sahip olduğu belirlenmiştir.	Sfakianakis vd., 2015
Termosonikasyon uygulamasının yoğurt içeceklerinin viskozitesi ve depolama esnasında serum ayrılması üzerine etkisini belirlemek	70°C'de 5 dak. süreyle ısıl işlem ile 15 dak. süreyle 24 kHz, 100W, 125W ve 150W ultrason uygulaması kombinasyonu	10 dakika süreyle 90°C geleneksel ısıl işlem uygulanarak üretilen yoğurt içecekleri ile termosonikasyon uygulanarak üretilen yoğurt içecekleri karşılaştırıldığında termosonikasyon uygulamasının yoğurt içeceklerinde viskoziteyi arttırdığı ve serum ayrılmasını azalttığı, ayrıca 150W güçte termosonikasyon uygulanan örneklerde depolama süresince hiç serum ayrılması olmadığı belirlenmiştir.	Gursoy vd., 2016

SONUÇ

Süt teknolojisindeki ultrason uygulamasının yararları açıkça görüldüğünden, ayrıca ürüne zarar vermeyen, kolay uygulanabilen, hızlı ve enerji tasarrufu sağlayan uygulamalar olduğundan süt endüstrisinde ultrason işleminin kullanılma potansiyeli oldukça yüksektir. Ultrason uygulaması ile homojenizasyon etkinliğinde klasik homojenizasyona kıyasla artış sağlanarak hem geleneksel ısıl işlemde daha düşük sıcaklıklarda hem de daha iyi kalitede ürün eldesi gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca bu uygulama homojenizatörlere kıyasla daha düşük yatırım ve bakım maliyetine ve temizleme kolaylığına sahiptir. Geleneksel ısıl işlem ve homojenizasyon ile elde edilen süt ürünleriyle karşılaştırıldığında ultrason uygulanmış süttten elde edilen ürünlerin su tutma kapasitesi, viskozitesi, jel kuvveti ve sıklığı belirgin olarak artış göstermektedir. Ultrason uygulaması işlevsel özellikleri, düşük enerji gereksinimi ve proses sürelerini kısaltması sayesinde geniş bir yelpazede süt işleme proseslerinde kullanılma potansiyeline sahiptir. Çevre dostu olduğundan yeşil teknoloji olarak da kabul edilmektedir. Laboratuvar çalışmalarında yaygın olarak kullanılmasına rağmen endüstri aşamasına henüz tam manasıyla dâhil edilememiştir. Bu konuda ultrason uygulamalarının endüstriyel olarak kullanımına yönelik çalışmaların önemli olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Almanza-Rubio, J.L., Gutiérrez-Méndez, N., Leal-Ramos, M.Y., Sepulveda, D., Salmeron, I. (2016). "Modification of the textural and rheological properties of cream cheese using thermosonicated milk", *J. Food Eng.*, 168: 223–230, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.08.002.
- Arzeni, C., Martinez, K., Zema, P., Arias, A., Perez, O.E., Pilosof, A.M.R. (2012). "Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality", *J. Food Eng.*, 108: 463–472, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.08.018.
- Ashokkumar, M. (2011). "The characterization of acoustic cavitation bubbles – An overview",

Ultrason. Sonochem., 18: 864–872, doi: 10.1016/j.ultsonch.2010.11.016.

Ashokkumar, M. (2015). "Applications of ultrasound in food and bioprocessing", *Ultrason. Sonochem.*, 25: 17–23, doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.08.012.

Awad, T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O.E., Asker, D., Youssef, M.M. (2012). "Applications of Ultrasound in Analysis, Processing and Quality Control of Food: A Review", *Food Res. Int.*, 48: 410–427, doi: 10.1016/j.foodres.2012.05.004.

Bosiljkov, T., Tripalo, B., Ježek, D., Brnčić, M., Karlović, S., Dujmić, F. (2012). "Influence of High Intensity Ultrasound Treatments on Physical Properties of Sheep Milk", *Croat. J. Food Tech. Biotech. Nutr.*, 7: 44–48.

Chandrapala, J., Leong, T. (2015). "Ultrasonic Processing for Dairy Applications: Recent Advances", *Food Eng. Rev.*, 7: 143–158, doi: 10.1007/s12393-014-9105-8.

Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2012b). "Ultrasonics in food processing" *Ultrason. Sonochem.*, 19: 975–983, doi:10.1016/j.ultsonch.2012.01.010.

Chandrapala, J., Martin, G.J.O., Zisu, B., Kentish, S.E., Ashokkumar, M. (2012a). "The effect of ultrasound on casein micelle integrity", *J. Dairy Sci.*, 95: 6882–6890, doi:10.3168/jds.2012-5318.

Chandrapala, J., Ong, L., Zisu, B., Gras, S.L., Ashokkumar, M., Kentish, S.E. (2016). "The effect of sonication and high pressure homogenisation on the properties of pure cream", *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 33: 298–307, doi: 10.1016/j.ifset.2015.11.023.

Chandrapala, J., Zisu, B., Palmer, M., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2011). "Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate", *Ultrason. Sonochem.*, 18: 951–957, doi:10.1016/j.ultsonch.2010.12.016.

Cheng, X., Zhang, M., Xu, B., Adhikari, B., Sun, J. (2015). "The principles of ultrasound and its application in freezing related processes of food materials: A review", *Ultrason. Sonochem.*, 27: 576–585, doi: 10.1016/j.ultsonch.2015.04.015.

- Chouliara, E., Georgogianni, K.G., Kanellopoulou, N., Kontominas, M.G. (2010). "Effect of ultrasonication on microbiological, chemical and sensory properties of raw, thermized and pasteurized milk", *Int. Dairy J.*, 20: 307–313, doi: 10.1016/j.idairyj.2009.12.006.
- Engin, B., Karagul Yuceer, Y. (2012). "Effects of ultraviolet light and ultrasound on microbial quality and aroma-active components of milk", *J. Sci. Food Agric.*, 92(6): 1245-1252, doi: 10.1002/jsfa.4689.
- Erkaya, T., Baslar, M., Sengül, M., Ertugay, M.F. (2015). "Effect of thermosonication on physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of ayran during storage", *Ultrason. Sonochem.*, 23: 406–412, doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.08.009.
- Ertugay, M.F., Şengül, M., Şengül, M. (2004.) "Effect of Ultrasound Treatment on Milk Homogenisation and Particle Size Distribution of Fat", *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28: 303-308.
- Gao, S., Hemar, Y., Lewis, G.D., Ashokkumar, M. (2014). "Inactivation of Enterobacter aerogenes in reconstituted skim milk by high- and low-frequency ultrasound", *Ultrason. Sonochem.*, 21: 2099–2106, doi: 10.1016/j.ultsonch.2013.12.008.
- Gursoy, O., Yılmaz, Y., Gokce, O., Ertan, K. (2016). "Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk", *Emir. J. Food Agr.*, 28(4): 235-241, doi: 10.9755/ejfa.2015-09-719.
- Higuera-Barraza, O.A., Del Toro-Sanchez, C.L., Ruiz-Cruz, S., Márquez-Ríos, E. (2016). "Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins", *Ultrason. Sonochem.*, 31: 558–562, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.02.007.
- Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Xiong, F., He, R., Ma, H. (2017). "Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity", *Ultrason. Sonochem.*, 37: 144–149, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.12.018.
- Jambrak, A.R., Mason, T.J., Lelas, V., Paniwnyk, L., Herceg, Z. (2013). "Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins", *J. Food Eng.*, 121: 15 –23, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.08.012.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D.U. (2004). "Applications and potential of ultrasonics in food processing" *Trends Food Sci. Tech.*, 15: 261–266, doi: 10.1016/j.tifs.2003.12.001.
- Leong, T., Johansson, L., Mawson, R., McArthur, S., Manasseh, R., Juliano, P. (2016). "Ultrasonically enhanced fractionation of milk fat in a litre-scale prototype vessel", *Ultrason. Sonochem.*, 28: 118–129, doi: 10.1016/j.ultsonch.2015.06.023.
- Leong, T., Juliano, P., Johansson, L., Mawson, R., McArthur, S., Manasseh, R. (2015). "Continuous Flow Ultrasonic Skimming of Whole Milk in a Liter-Scale Vessel", *Ind. Eng. Chem. Res.*, 54: 12671–12681, doi: 10.1021/acs.iecr.5b03142.
- Liu, Z., Juliano, P., Williams, R.P.W., Niere, J., Augustin, M.A. (2014). "Ultrasound improves the renneting properties of milk" *Ultrason. Sonochem.*, 21: 2131–2137, doi:10.1016/j.ultsonch.2014.03.034.
- Loveday, S.M., Sarkar, A., Singh, H. (2013). "Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture", *Trends Food Sci. Tech.*, 33: 5-20, doi:10.1016/j.tifs.2013.06.007.
- Marchesini, G., Balzan, S., Montemurro, F., Fasolato, L., Andrighetto, I., Segato, S., Enrico Novelli, E. (2012). "Effect of ultrasound alone or ultrasound coupled with CO₂ on the chemical composition, cheese-making properties and sensory traits of raw milk", *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 16: 391–397, doi: 10.1016/j.ifset.2012.09.003.
- Mohammadi, V., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Ebrahimi, R., Abbasvali, M. (2014). "Ultrasonic techniques for the milk production industry", *Measurement*, 58: 93–102, doi:10.1016/j.measurement.2014.08.022.
- Mohammadi, V., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Gonzalez, L.A. (2017). "Analytical measurements of ultrasound propagation in dairy products: A review", *Trends Food Sci. Tech.*, 61: 38-48, doi: 10.1016/j.tifs.2016.12.004.

- Nguyen, N.H.A., Anema, S.G., (2017). "Ultrasonication of reconstituted whole milk and its effect on acid gelation", *Food Chem.*, 217: 593–601, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.117.
- Nöbel, S., Ross, N.L., Protte, K., Körzendörfer, A., Hitzmann, B., Hinrichs, J. (2016). "Microgel particle formation in yogurt as influenced by sonication during fermentation", *J. Food Eng.*, 180: 29-38, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.01.033.
- O'Sullivan, J., Murray, B., Flynn, C., Norton, I. (2015). "Comparison of batch and continuous ultrasonic emulsification processes" *J. Food Eng.*, 167: 114–121, doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.05.001.
- Ojha, K.S., Mason, T.J., O'Donnell, C.P., Kerry, J.P., Tiwari, B.K. (2017). "Ultrasound technology for food fermentation applications", *Ultrason. Sonochem.*, 34: 410–417, doi:10.1016/j.ultsonch.2016.06.001.
- Ozer, B. (2006). *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*. Toprak Ofset Matbaacılık, İzmir, Türkiye, 40 s. ISBN: 975-9944-5660-0-4.
- Paniwnyk, L. (2017). "Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review", *Ultrason. Sonochem.*, in press, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.12.025.
- Pingret, D., A.S. Fabiano-Tixie, F. Chemat. (2013). "Degradation during application of ultrasound in food processing: A review", *Food Control*, 31: 593-606, doi:10.1016/j.foodcont.2012.11.039.
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., Lyng, J. G. (2009). "The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation", *Food Chem.*, 114: 905–911, doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.037.
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., Lyng, J. G. (2010). "A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks", *Food Chem.*, 119: 1108–1113, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.08.025.
- Sfakianakis, P., Topakas, E., Tzia, C. (2015). "Comparative Study on High-Intensity Ultrasound and Pressure Milk Homogenization: Effect on the Kinetics of Yogurt Fermentation Process" *Food Bioprocess Tech.*, 8: 548–557, doi: 10.1007/s11947-014-1412-9.
- Sfakianakis, P., Tzia, C. (2014). "Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture; development of texture and flavor: A review", *Foods*, 3(1): 176–193, doi:10.3390/foods3010176.
- Shanmugam, A., Ashokkumar, M. (2014). "Functional properties of ultrasonically generated flaxseed oil-dairy emulsions", *Ultrason. Sonochem.*, 21: 1649–1657, doi:10.1016/j.ultsonch.2014.03.020.
- Shanmugam, A., Chandrapala, J., Ashokkumar, M. (2012). "The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk", *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 16: 251–258, doi: 10.1016/j.ifset.2012.06.005.
- Shershenkov, B., Suchkova, E. (2015). "Upgrading the technology of functional dairy products by means of fermentation process ultrasonic intensification" *Agron. Res.*, 13(4): 1074–1085.
- Shestakov, S., Krasulya, O., Rink, R., Ashokkumar, M. (2013). "Sonication of dairy systems improves their properties", <http://www.ejta.org/en/shestakov5eng> (Erişim tarihi: 04.09.2013)
- Soria, A.C., Villamiel, M. 2010. "Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review", *Trends Food Sci. Technol.*, 21: 323-331, doi:10.1016/j.tifs.2010.04.003.
- Şengül, M., Başlar, M., Erkaya, T., Ertugay, M.F. (2009). "Ultrasonik homojenizasyon işleminin yoğurdun su tutma kapasitesi üzerine etkisi", *GIDA*, 34(4): 219-222.
- Vijayakumar, S., Grewell, D., Annandarajah, C., Benner, L., Clark, S. (2015). "Quality characteristics and plasmin activity of thermosonicated skim milk and cream", *J. Dairy Sci.*, 98: 6678–6691, doi: 10.3168/jds.2015-9429.

- Wu, H., Hulbert, G.J., Mount, J.R. (2001). "Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter", *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 1: 211-218.
- Yanjun, S., Jianhang, C., Shuwen, Z., Hongjuan, L., Jing, L., Lu, L., Uluko, H., Yanling, S., Wenming, C., Wupeng, G., Jiaping, L. (2014). "Effect of power ultrasound pre-treatment on the physical and functional properties of reconstituted milk protein concentrate", *J. Food Eng.*, 124:11–18, .doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.09.013.
- Zhang, Z., Regenstein, J.M., Zhou, P., Yang, Y. (2017). "Effects of high intensity ultrasound modification on physicochemical property and water in myofibrillar protein gel", *Ultrason. Sonochem.*, 34: 960–967, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.08.008.
- Zhang, Z., Sun, D.W., Zhu, Z., Cheng, L. (2015). "Enhancement of Crystallization Processes by Power Ultrasound: Current State-of-the-Art and Research Advances", *Comp. Rev. Food Sci. F.*, 14: 303-316, doi: 10.1111/1541-4337.12132.
- Zhao, L., Zhang, S., Uluko, H., Liu, L., Lu, J., Xue, H., Kong, F., Lv, J. (2014). "Effect of ultrasound pretreatment on rennet-induced coagulation properties of goat's milk", *Food Chem.*, 165: 167–174, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.081.
- Zisu, B., Lee, J., Chandrapala, J., Bhaskaracharya, R., Palmer, M., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2011). "Effect of ultrasound on the physical and functional properties of reconstituted whey protein powders", *J. Dairy Res.*, 78: 226–232, doi: 10.1017/S0022029911000070.
- Zwieten, R., Verhaagen, B., Schroën, K., Rivas, D.F. (2017). "Emulsification in novel ultrasonic cavitation intensifying bag reactors", *Ultrason. Sonochem.*, 36: 446–453, doi:10.1016/j.ultsonch.2016.12.004.



EFFECTS OF HYDROCOLLOIDS AND CAROB BEAN FLOUR ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF BATTER AND CAKE QUALITY

Eda Berk, Servet Gülüm Şumnu*, Serpil Şahin

Middle East Technical University, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey

Received / Geliş: 17.08.2017; Accepted / Kabul: 06.10.2017; Published online / Online baskı: 21.11.2017

Berk, E, Şumnu, S.G, Şahin, S. (2017). Effects of hydrocolloids and carob bean flour on rheological properties of batter and cake quality. *GIDA* (2017) 42 (6): 754-762 doi: 10.15237/gida.GD17079

ABSTRACT

Carob bean flour which contains significant amount of dietary fiber, amino acid and minerals can be an alternative flour to enrich nutritional value of gluten free cakes. The objective of this study was to determine the effects of partial replacement of rice flour by carob bean flour at different concentrations (10%, 20%, 30%) and addition of different types of gums (xanthan gum, and guar gum), on specific gravity and rheological properties of gluten free cake batters. In addition, quality of cakes (weight loss, porosity, specific volume, hardness) were investigated. All cake batters showed shear thinning behavior. Gum containing batters exhibited higher apparent viscosities. Xanthan gum added batters had lower hardness but higher specific volumes. Guar gum addition had a negative effect on all cake quality parameters except moisture loss. Cakes containing 20% carob bean flour achieved generally the best quality parameters. Therefore, cakes with 20% carob bean flour and xanthan gum can be recommended to be used in gluten free cakes for celiac patients.

Keywords: Carob bean flour, hydrocolloids, gluten free cake, rheology, cake quality

HİDROKOLLOİDLERİN VE KEÇİBOYNUZU UNUNUN HAMURUN REOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE KEKİN KALİTESİNE OLAN ETKİSİ

ÖZ

Keçiboynuzu unu önemli miktarda diyet lif, amino asit ve mineral içerdiği için besin değeri artırılmış glutensiz kekler için alternatif bir un olarak kullanılabilir. Bu çalışmanın amacı, pirinç ununun kısmı olarak değişik oranlarda (%10, %20 ve %30) keçiboynuzu unu ile yer değiştirilerek hazırlanan ve farklı zamb türleri (ksantan ve guar zambkları) kullanılan glutensiz kek hamurlarının özgül ağırlığının ve reolojik özelliklerinin araştırılmasıdır. Bunun yanında kek kalitesi de (nem kaybı, gözeneklilik, özgül hacim ve sertlik) araştırılmıştır. Bütün kek hamurları kaymayla incelen davranış göstermiştir. Zamb içeren tüm hamurlar ayrıca daha yüksek görünür vizkoziteye sahip olmuşlardır. Ksantan zambı eklenen kekler daha düşük sertlik ama yüksek özgül hacime sahip olmuşlardır. Guar zambı nem kaybı dışında hiç bir kek kalitesini olumlu olarak etkilememiştir. Keçiboynuzu unu konsantrasyonu %20 olan kekler genellikle en iyi kalite parametrelerine sahip olmuşlardır. Bu nedenle ksantan zambı ve %20 konsantrasyonda keçiboynuzu unu kullanılarak hazırlanan glutensiz kekler çölyak hastaları için önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Keçiboynuzu unu, hidrokolloid, glutensiz kek, reoloji, kek kalitesi

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ gulum@metu.edu.tr

☎ (+90) 312 210 5628

☎ (+90) 312 210 2767

INTRODUCTION

An auto immune system disorder and permanent intolerance to ingestion of gluten or other prolamines throughout the life is called celiac disease (Giménez-Bastida et al., 2015). Prolamines present in barley, rye and wheat which are hordein, secalin and gliadin, respectively are responsible from stimulating and initiating immunological reactions (Pietzak, 2012). Celiac disease causes damage to absorptive surface area of small intestine. This leads to imbalanced absorption of nutrients briefly folic acid, B12 vitamin, iron and fat soluble vitamins, and reduction in digestive enzymes. Consequently, all these result in bloating, abdominal pain and weight loss (Rubio-Tapia et al., 2013). People suffering from celiac disease have to exclude any food containing gluten from their diet.

A large quantity of proteins present in seed have role in either structural or metabolic function. Some of these proteins are responsible from storage of high amount of amino acids and rest is in charge of seedling growth. Furthermore, these storage proteins have role in not only total protein content but also quality of end product (Shewry et al. 1995). Since gliadins and glutenin have high levels of glutamine and proline amino acids, they are called as storage proteins (Veraverbeke and Delcour, 2010). Cysteine residues has an importance for both gliadin and glutenin since they make disulfide bonds between either different polypeptides (inter chain disulfide bond) or the same polypeptides (intra-chain disulfide bond) (Veraverbeke and Delcour, 2010). These disulfide bonds formed by sulfhydryl groups have important effect on stabilizing ability and functional property of dough (Shewry & Tatham, 1997). Glutenin gives elasticity to dough due to mostly hydrogen bonds, non-covalent interaction (van der Walls', hydrophobic and electrostatic) and disulfide bonds within and between glutenin proteins. Moreover, gliadin behaves as a plasticizer that moderate bond strength which glutenin forms. Therefore, proportion between polymeric glutenin and monomeric gliadin molecules regulate balance between dough elasticity and viscosity (Veraverbeke & Delcour, 2010; Shewry & Tatham, 1997). Therefore,

storage proteins clearly affect the rheological properties of dough.

Carob (*Ceratonia siliqua L.*) is mainly cultivated coastal zone in southwest Asia and Mediterranean basin. It is composed of two main parts, 90% by weight is pulp and the rest is seed. Carob pulp contains high amount of sugar (48-56%) predominantly maltose, fructose, glucose and sucrose. Cellulose and semi-cellulose amount in pulp was also recorded as 18%. In addition, ripe pulp comprises high amount of condensed tannins. Furthermore, embryo, endosperm, and seed coat are the main components of carob seed. Endosperm of carob bean seeds is composed of galactomannan which is a polysaccharide formed by combination of galactose and mannose units. Carob bean seeds are used in food industry as gum which is known as locust bean gum (E410), a thickening or stabilizing agent (Karababa and Coşkuner, 2013).

Carob bean seeds contain a protein called caroubin that shows similar rheological properties with wheat gluten but their chemical compositions are different (Tsatsaragkou et al., 2012). This makes carob flour a favorite replacer of gluten for celiac patients. Carob germ flour includes gallotannins, polyphenols, and proanthocyanidins which prevent formation of reactive oxygen species and free radicals. These promotes development of diseases such as cancer and Alzheimer (Custodio et al., 2011).

Disruption in cell wall formation, low porosity, volume, and hard texture are the main difficulties faced with gluten free product due to absence of gluten. Hydrophilic biopolymers with high molecular weight are commonly named as hydrocolloids. They improve cohesive forces between starch granules, stabilizers, and pregelatinized starches and are widely used in food industry to mimic gluten behavior. Thus, hydrocolloids are used in gluten free products for thickening gelling, and texture improvement purposes (Naji-Tabasi and Mohebbi, 2014). Xanthan gum has strong ability to increase batter stability, and gas entrapment. Moreover, it can increase water holding capacity. This may be

explained by hydroxyl groups which increases the number of hydrogen bonds leading to more interaction with water. In addition to that, xanthan has pseudoplastic characteristics and shows synergistic effect with some polysaccharides like glucomannans and galactomannans. They can improve more gelation and viscoelastic ability (Mohammadi et al, 2014, Burešová et al, 2016).

Guar gum is one of the naturally occurring, water soluble, non-ionic and nontoxic polysaccharide having very high molecular weight. It is the seed of cluster bean (*Cyamopsis tetragonolobus L.*) which consists of many layers from inside to outside endosperm (34-40%), the germ (43-46%), and outer shell (16-18%). Although the germ part is composed of mainly protein, endosperm portion is predominantly galactomannan that is constituted by galactose and mannose units. Mannose to galactose ratio in guar gum is generally 2:1 (Sandhu et al, 2015). The effect of guar gum on viscosity mainly depends on molecular weight of galactomannan. Guar gum has good dissolving or swelling ability in polar solvents due to strong hydrogen bonds (Moser et al, 2013).

The effect of combination of rice and carob bean flour on porosity, and firmness of bread has been analyzed and optimum ratios (carob bean flour/water amount) were recorded as 10/110, 15/130, 15/140. It was stated that porosity value was affected by both water and carob flour amount. It was stated that although increasing water content increased porosity, increasing carob flour amount decreased that value. Both increasing water and carob flour amount decreased firmness (Tsatsaragkou et al., 2012).

In literature, there is no research that analyze the effects of xanthan gum and guar gum on quality of gluten free cake containing carob bean flour. The objective of the study was to investigate effect of carob bean flour concentration and hydrocolloid type on gluten free cake batter and final cake quality in terms of moisture loss, porosity, hardness and specific volume.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Rice flour and carob bean flour were obtained from Basak Flour (Ankara, Turkey), and Havancızade (Istanbul, Turkey), respectively. Salt (Billur Tuz, İzmir, Turkey), shortening (Sana, Unilever, Istanbul, Turkey), sugar (Bal Küpü, Aksaray, Turkey), and baking powder (Dr. Oetker, Izmir, Turkey) were purchased from local markets in Ankara. Egg white powder and emulsifier (Monoglyceride and polyglycerol esters of fatty acid) were obtained from ETI Food Industry Co. Inc. (Eskişehir, Turkey). Xanthan gum and guar gum were bought from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany and St. Louis, MO, USA).

Experimental

Preparation and analysis of cake batter

Cake batter formulation contained 5% baking powder, 3% salt, 100% sugar, 9% egg white powder, 25% shortening, 3% emulsifier, and 90% water in terms of flour basis. Carob bean flour at different concentrations (10, 20, and 30%) was added to the formulation by replacing rice flour. In order to see the effect of gum, 1% xanthan gum or guar gum was used interchangeably. Carob bean flour containing cakes without the addition of gum was used as control for each concentration.

The first step of preparation of cake batter was mixing. Dry ingredients were mixed for 2 min at 85 rpm with a mixer (Kitchen Aid5K45SS, USA). Gum was dispersed in water by high speed homogenizer at 7200 rpm for 5 min (IKA T18Ultra-Turrax, Staufen, Germany). Melted shortening and gum suspension were added to the mixture and mixed further at 85 rpm for 5 min. Rheological analysis and specific gravity measurement were carried out in cake batter. Rheological behavior of cake batter was examined using a parallel plate rheometer (Kinexus dynamic rheometer, Malvern, Worcestershire, UK). The gap between the plates was fixed to 1 mm. To understand the flow behavior of batter, shear rate between 1-10 s⁻¹ was applied and the corresponding shear stress data was obtained.

For specific gravity measurement, certain volume of cake batter was weighed and divided by the weight of water with the same volume (Turabi et al., 2008)

Baking and analysis of cakes

For baking of cakes, an electrical oven (9411FT, Arçelik Inc. Co., Istanbul, Turkey) was used. Oven temperature was preheated to 175°C and four glass cups each containing 100 g batter were placed into the hot oven. Baking operation took 28 min. Then, weight loss, porosity, specific volume, and texture of cakes were measured.

Weight loss was determined by using the equation (1);

Weight loss = $[(W_{\text{initial}} - W_{\text{final}}) / W_{\text{initial}}] \times 100$ (1)
where W_{initial} refers to weight of batter before baking, W_{final} represents the weight of cake after baking.

Porosity of cakes was measured by compression method (Turabi et al., 2008). After baking process, cake was cut into a cylindrical shape using mould with 3 cm \times 3 cm (D \times H), then initial volume of cake was calculated using these dimensions (V_{initial} , cm³). After applying 25N load on to cake sample for 2 min, final volume was calculated (V_{final} , cm³). Then, porosity of sample was estimated by using equation (2)

Porosity = $(V_{\text{initial}} - V_{\text{final}}) / V_{\text{initial}}$ (2)
To measure the specific volume, rape seed displacement method was used (AACC, 1990).

For texture analysis, cakes were cut into cubic shape having dimensions of 3cm x 3cm x 3cm

after being cooled down for 1 hour. To measure the hardness value of cakes, texture analyzer with a cylindrical probe having diameter of 1 cm and load cell of 50 N (TA Plus Lloyd Ins., UK) was used. Force required to compress 25% of initial height of the sample with a compression speed of 55mm/min was measured.

Statistical analysis

To decide whether there is a significant difference between percent replacement of rice flour by carob bean flour and the type of hydrocolloids used, analysis of variance (ANOVA) was carried out using MINITAB (Version 16). If significant difference was determined, Tukey multiple comparison test was used for comparison ($P \leq 0.05$). Baking was replicated twice for each cake formulation. The correlation coefficient between specific gravity, specific volume and hardness of cakes was expressed by Pearson correlation with 95% confidence level ($\alpha=0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Rheological analysis of cake batter

All formulations of cake batters with or without hydrocolloids was fitted to Power Law Model

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

where 'K' indicates consistency index (Pa.sⁿ) and 'n' refers to flow behavior index. Consistency index of batters changed from 40.69 1.06 to 186.33±8.46 Pa.sⁿ (Table 1) and flow behavior index values were in between 0.28±0.01 and 0.44±0.04.

Table 1. Power Law constants and specific gravity results of carob bean flour added cake batter formulations at 25°C.

Carob bean flour concentration	Gum type	n	K(Pa.s ⁿ)	R ²	Specific gravity
10	Control	0.44±0.04 ^a	40.69±1.06 ^f	0.98	0.94±0.03 ^{cd}
10	Xanthan gum	0.32±0.06 ^{bc}	173.52±0.83 ^{ab}	0.99	0.93±0.06 ^d
10	Guar gum	0.34±0.03 ^{bc}	131.67±0.34 ^d	0.99	1.01±0.09 ^b
20	Control	0.39±0.03 ^{ab}	46.08±3.90 ^f	0.99	0.96±0.01 ^{cd}
20	Xanthan gum	0.28±0.01 ^c	186.33±5.98 ^a	0.99	0.93±0.04 ^d
20	Guar gum	0.33±0.01 ^{bc}	144.35±3.79 ^{cd}	0.98	1.03±0.00 ^b
30	Control	0.38±0.07 ^{ab}	74.50±0.73 ^e	0.99	1.03±0.05 ^b
30	Xanthan gum	0.33±0.01 ^{bc}	159.17±0.20 ^{bc}	0.99	0.97±0.01 ^c
30	Guar gum	0.32±0.05 ^{bc}	155.6±4.47 ^c	0.99	1.07±0.05 ^a

Since all flow behavior index values were lower than 1, it could be interpreted as all batter had shear thinning -pseudo plastic- behavior which resulted in macromolecular network deformation due to applied shear stress. Flow behavior index is an indication of degree of pseudo plasticity. While 'n' value decreases, shear thinning behavior becomes more dominant. As can be seen from Table 1, xanthan and guar gum added batters with 10% carob bean flour had significantly lower flow behavior index than control, which meant that hydrocolloid addition enhanced pseudo plasticity. On the other hand, consistency index could be used to decide thickening of batter. Addition of gum always increased consistency index value. While consistency index increases, apparent viscosity of batter increases at the same time. Although gum added samples had significantly higher viscosities, due to more dominant pseudo plasticity characteristics (lower n value), macromolecular structure of cake batter including hydrocolloid could more easily be affected and broken under the shear (Zhang et al, 2005).

Apparent viscosity of cake batters containing 20% carob bean flour concentration was shown in Figure 1. Similar behavior was observed for both 10% and 30% carob bean flour added cakes.

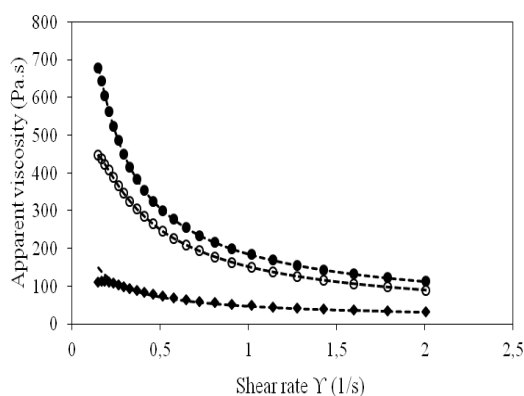


Figure 1. Apparent viscosity of 20% carob bean flour containing batters with different gums; xanthan gum (●), guar gum (○), control (◆), model (---)

As seen, xanthan gum added formulations had the highest consistency index values which were significantly different than guar gum containing batters and control samples formulations

containing for 10% and 20% carob bean flour. This might be due to unique and rod-like structure of xanthan. This characteristic structure is more easily affected applied shear than other conformations i.e. randomcoil which guar gum has (Torres et al., 2014). Therefore, more responsive characteristics of xanthan gum led to higher consistency index (Ashwini et al, 2009).

Increasing carob bean flour concentration from 10% to 30% in formulation resulted significant difference between consistency index values. This might be due to high amount of crude fiber in carob which varies between 9% -13% (Salinas et al, 2015).

Specific gravity of cake batter

Specific gravity is an indication of how much air is incorporated into batter during mixing. Table 1 represents specific gravity values of carob bean flour added cake batters prepared with gums. According to two-way ANOVA results, xanthan added formulations had the lowest specific gravity. This meant that xanthan addition helped aeration of batter and improved specific gravity. This result was also supported by other studies. For example, a research carried out in 2014 stated that xanthan gum could enhance gas entrapment and stability. This might lead to higher air incorporation (Mohammadi et al., 2014). Contrary to xanthan, guar gum had negative influence on specific gravity. This different outcomes of different hydrocolloids might be explained by two ways. The first one is that guar gum added formulations had higher consistency index than xanthan gum added ones. Increasing consistency index may help air incorporation up to some extent but excess increase may undermine the aeration process. The second one is that some physicochemical characteristics of cake batter such as surface tension depended on the formulation (Manisha et al, 2012). Therefore, guar gum might have an adverse effect on these characteristics.

Weight loss of cake

Baking is a process that involves both heat and mass transfer. While heat is transferred through the cake, it leads to vaporization of moisture from the surface, which results in weight loss of

samples. Since moisture loss increases the hardness of cakes, flour with high fiber, starch content and hydrocolloids can be added to cake formulations to decrease moisture loss. For example, cakes prepared with different hydrocolloids including sodium alginate, pectin, locust bean gum, xanthan gum and guar gum had less moisture loss than control during baking

process (Gómez et al, 2007). Weight loss of cakes containing different concentrations of carob bean flour was shown in Table 2. According to ANOVA results, moisture loss affected both presence and type of the hydrocolloids since due to hydroxyl (-OH) group in the structures, which could bind water molecules.

Table 2. Weight loss, porosity, specific volume and hardness of cakes prepared with carob bean flour at different ratios and containing different gums

Carob bean flour concentration	Gum type	Moisture loss (%)	Porosity	Specific volume (ml/g)	Hardness (N)
10	Control	4.2±0.05 ^{ab}	0.32±0.02 ^b	1.62±0.02 ^{bcd}	3.83±0.15 ^{bc}
10	Xanthan gum	4.11±0.11 ^{abc}	0.41±0.02 ^a	1.75±0.01 ^{ab}	1.95±0.08 ^f
10	Guar gum	3.47±0.05 ^d	0.31±0.01 ^b	1.49±0.02 ^{cd}	4.65±0.08 ^a
20	Control	4.38±0.08 ^a	0.31±0.03 ^b	1.65±0.01 ^{abc}	2.17±0.03 ^{ef}
20	Xanthan gum	3.79±0.03 ^{bcd}	0.38±0.03 ^{ab}	1.72±0.07 ^{ab}	3.49±0.10 ^c
20	Guar gum	3.52±0.2 ^d	0.22±0.02 ^c	1.52±0.01 ^{cd}	4.14±0.01 ^b
30	Control	4.32±0.02 ^a	0.37±0.03 ^{ab}	1.81±0.03 ^a	2.7±0.02 ^d
30	Xanthan gum	3.63±0.03 ^{cd}	0.34±0.04 ^{ab}	1.74±0.01 ^{ab}	2.54±0.10 ^{de}
30	Guar gum	3.43±0.03 ^d	0.22±0.06 ^c	1.47±0.03 ^d	5.08±0.00 ^a

Although xanthan gum addition decreased the moisture loss, the lowest value was obtained in guar gum added formulations. This might be due to different water retention capacities of hydrocolloids which was strongly related to chemical structure (Gómez et al, 2007). It was also stated that moisture retention of hydrocolloids depends on their interaction with other ingredients in the cake formulation.

Porosity

Air incorporation during mixing and entrapment of carbon dioxide bubbles during baking are mainly responsible from the cake porosity. Specific gravity and apparent viscosity of cake batter are the two important parameters that affect incorporation and entrapment of gas bubbles. While specific gravity becomes important physical property to decide how much air is incorporated in cake batter, the latter one gains importance to prevent escaping, carbon dioxide produced by baking powder (Turabi et al, 2010). The correlation coefficient between specific gravity and porosity was determined as -0.717 ($P=0.001$).

The most crucial role of gums in gluten free systems is that they can mimic the gluten behavior, increase viscosity, give viscoelastic property to batter, and prevent rising of gas bubbles through the surface during baking (Turabi et al, 2010). This leads to higher porosities of cakes, as can be seen in Table 2. In general xanthan addition to formulation ended up with relatively higher porosity results which might be the effect of both lowest specific gravity of xanthan added formulations and highest consistency index values. Similar supportive results for this hypothesis have been revealed (Turabi et al, 2010). It was concluded that cakes prepared with xanthan and xanthan-guar blend had higher porosity than cakes containing other gums which was related to higher apparent viscosities of these cake batters (Turabi et al, 2010). Furthermore, it was revealed that addition of hydrocolloids in the formulation increased apparent viscosity and gas retention capacity (Kondakci et al, 2015) This might enhance stability of gas bubbles by preventing coalescence. Therefore, more stable matrix led to increasing of porosity. Although guar gum was used for the

same purpose with xanthan gum, it did not have the same impact on porosity as xanthan gum did. Guar gum added formulations had lower porosity than control cakes. This might be explained by specific gravity. Specific gravities of guar gum containing batters were higher than xanthan gum containing ones since aeration of air in cake batter during mixing process was not successful. Moreover, increasing carob bean flour concentration did not have any effect on porosity.

Specific volume

One of the most critical quality parameter for consumer is volume of cakes which is shown in Table 2. Porosity can also be used as critical quality parameter since the correlation coefficient between specific volume and porosity was determined as 0.795 ($p=0.000$). Therefore, as expected from the porosity results, xanthan gum added formulations resulted in relatively higher specific volumes but this increase did not make a significant difference in control cakes. During baking process, viscoelastic cake batter can be converted to the porous solid structure due to simultaneous reactions of gelatinization of starch and coagulation of protein. These two physico-chemical changes strongly depend on type and origin of both protein and starch. Sugar, protein and other ingredients including gums are the factors affecting starch gelatinization. For example, xanthan may increase gelatinization temperature and delay gelatinization of starch, since gums decrease water activity or available water for gelatinization. While the bound water amount increases, gelatinization temperature also increases (Spies and Hosene, 1982). If the required temperature for gelatinization is achieved later, the transition of batter from viscoelastic to solid structure occurs later. This allows more time for forming of CO_2 and obtaining more porous structure and higher volume (Majzoubi et al, 2014). This might be reason of relatively higher volume of xanthan added cakes. On the other hand, guar gum containing cakes had always the lowest volumes. According to a study conducted in 2007, changing in pasting temperature might be related to interaction between hydroxyl groups of gums and starches (Gómez et al., 2007). Due to these

different interactions, guar and xanthan gum added formulations had distinct volumes. Furthermore, according to ANOVA results replacing rice flour with carob bean flour did not make any difference in terms of volume.

Hardness

Textural analysis of cakes was evaluated in terms of hardness. As can be seen from Table 2, the concentration of flour and gum types had significant influences on this quality parameter. Hardness results were found to be correlated with specific volume results. Correlation coefficient between hardness and specific volume was -0.832 ($P=0.000$). Specific gravity of guar gum added cake batters were the lowest. The cakes obtained from this batter had the lowest volume and highest hardness. On the other hand, xanthan gum addition to the formulation enhanced texture profile and decreased hardness of cakes. The reason of different textural profiles between hydrocolloid added cakes might be the lower batter density, and higher foaming characteristics of xanthan added cakes (Shao et al, 2015). Furthermore, the similar results have been found and it was stated that guar gum added formulation achieved always the highest hardness value (Sumnu et al, 2010).

Furthermore; while 10% and 30% concentration led to increasing hardness, 20% carob bean flour containing cakes had the softest texture. A similar pattern; decreasing and increasing tendency with respect to increasing chestnut flour concentration; was also attained in a study (Demirkesen et al, 2010). This result was associated with the fiber content. It was stated that fiber and water content had a critical importance on quality parameters of baked products. While optimum fiber amount enhanced volume and textural properties, excess amount of fiber led to less volume and unacceptable textural properties. Therefore, fiber content in 10% carob flour content might be less to improve quality, but 30% carob flour might be too high to get optimum hardness.

Conclusion

All formulations obeyed power law model and shear thinning behavior. Moreover, addition of

any hydrocolloid to the formulation increased consistency index of cake batters. Air incorporation to the cake batter was more successful in xanthan gum containing samples which was reflected in specific gravity results. Batter containing carob bean flour at a concentration of 30% had the highest specific gravity which might be due to increasing fiber content. Higher fiber amount might obstruct aeration of air. While gum addition to the formulation significantly decreased weight loss of cakes, higher carob bean flour in cake did not affect moisture retention. On the other hand, increasing carob bean flour concentration from 10% to 30 % had a negative influence on porosity. Xanthan gum added formulations had higher porosity values. Therefore, lowest specific volume was observed in guar gum containing cakes which might led to higher hardness values. As a result, xanthan gum can be recommended to be used in gluten free cakes.

REFERENCES

- AACC, 1988. Approved Methods of the AACC. Methods 74-09. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN
- Ashwini, A., Jyotsna, R., Indrani, D. (2009). Effect of hydrocolloids and emulsifiers on the rheological, microstructural and quality characteristics of eggless cake. *Food Hydrocoll* 23(3): 700–707. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.06.002
- Burešová, I., Masaříková, L., Hřivna, L., Kulhanová, S., Bureš, D. (2016). The comparison of the effect of sodium caseinate, calcium caseinate, carboxymethyl cellulose and xanthan gum on rice-buckwheat dough rheological characteristics and textural and sensory quality of bread. *Food Sci Technol* 68: 659–666. doi:10.1016/j.lwt.2016.01.010
- Custodio, L., Escapa, A.L., Fernandes, E., Fajardo, A., Aligue, R., Albericio, F., Neng, N., Nogueira, J.M.F., Romano, A. (2011). Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic activities of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) germ flour extracts. *Plant Foods Hum Nutr* 66(1): 78–84. doi:10.1007/s11130-011-0214-8
- Demirkesen, I., Mert, B., Sumnu, G., Sahin, S. (2010). Utilization of chestnut flour in gluten-free bread formulations. *J Food Eng* 101(3): 329–336. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.07.017
- Giménez-Bastida, J.A., Piskula, M., Zieliński, H. (2015). Recent advances in development of gluten-free buckwheat products. *Trends Food Sci Technol* 44(1): 58–65. doi:10.1016/j.tifs.2015.02.013
- Gómez, M., Ronda, F., Caballero, P.A., Blanco, C.A., Rosell, C.M. (2007). Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocoll* 21(2): 167–173. doi:10.1016/j.foodhyd.2006.03.012
- Karababa, E., Coşkuner, Y. (2013). Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): An industrial gum yielding crop. *Ind Crops Prod* 42: 440–446. doi:10.1016/j.indcrop.2012.05.006
- Kondakci, T., Mei, A., Ang, Y., Zhou, W. (2015). Impact of sodium alginate and xanthan gum on the quality of steamed bread made from frozen dough. *Cereal Chem.* 92(3): 236–245. doi:10.1094/CCHEM-03-14-0036-R
- Majzoobi, M., Ghiasi, F., Habibi, M., Hedayati, S., Farahnaky, A. (2014). Influence of soy protein isolate on the quality of batter and sponge cake. *J Food Process Preserv* 38(3): 1164–1170. doi:10.1111/jfpp.12076
- Manisha, G., Soumya, C., Indrani, D. (2012). Studies on interaction between stevioside, liquid sorbitol, hydrocolloids and emulsifiers for replacement of sugar in cakes. *Food Hydrocoll* 29(2): 363–373. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.04.011
- Mohammadi, M., Sadeghnia, N., Azizi, M.H., Neyestani, T.R., Mortazavian, A.M. (2014). Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: xanthan and CMC. *J Ind Eng Chem* 20(4): 1812–1818. doi:10.1016/j.jiec.2013.08.035
- Moser, P., Cornelio, M.L., Nicoletti Telis, V.R. (2013). Influence of the concentration of polyols on the rheological and spectral characteristics of guar gum. *Food Sci Technol* 53(1): 29–36. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.018

- Naji-Tabasi, S., Mohebbi, M. (2014). Evaluation of cress seed gum and xanthan gum effect on macrostructure properties of gluten-free bread by image processing. *J Food Meas Charact* 9(1): 110–119. doi:10.1007/s11694-014-9216-1
- Napier, J., Tatham, A., Shewry, P. (1995). Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *Am Soc Plant Physiol* 7, 945–956.
- Pietzak, M. (2012). Celiac disease, wheat allergy, and gluten sensitivity: when gluten free is not a fad. *J Parent Enter Nutr* 36(1): 68–75.
- Rubio-Tapia, A., Hill, I.D., Kelly, P., Calderwood, A.H., Murray, J.A. (2013). ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.* 108: 656–676. doi:10.1038/ajg.2013.79
- Salinas, M. V., Carbas, B., Brites, C., Puppo, M.C. (2015). Influence of different carob fruit flours (*Cerantonia siliqua* L.) on wheat dough performance and bread quality. *Food Bioprocess Technol.* 8(7): 1561–1570. doi:10.1007/s11947-015-1527-7
- Sandhu, G.K., Simsek, S., Manthey, F.A. (2015). Effect of guar gum on processing and cooking quality of nontraditional pasta. *J. Food Process Eng.* 38(5): 426–436. doi:10.1111/jfpe.12173
- Shao, Y.-Y., Lin, K.-H., Chen, Y.-H. (2015). Batter and product quality of eggless cakes made of different types of flours and gums. *J. Food Process. Preserv.* 39(6): 2959–2968. doi: 10.1111/jfpp.12547
- Shewry, P.R., Tatham, A.S. (1997). Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.* 25(3): 207–227.
- Spies, R., Hosney, R. (1982). Effect of sugars on starch gelatinization. *Cereal Chem.* 59(2), 128–131.
- Sumnu, G., Koksel, F., Sahin, S., Basman, A., Meda, V. (2010). The effects of xanthan and guar gums on staling of gluten-free rice cakes baked in different ovens. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45(1): 87–93. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02107.x
- Torres, M.D., Hallmark, B., Wilson, D.I. (2014). Effect of concentration on shear and extensional rheology of guar gum solutions. *Food Hydrocoll.* 40: 85–95. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.02.011
- Tsatsaragkou, K., Yiannopoulos, S., Kontogiorgi, A., Poulli, E., Krokida, M., Mandala, I. (2012). Mathematical approach of structural and textural properties of gluten free bread enriched with carob flour. *J. Cereal Sci.* 56(3): 603–609. doi:10.1016/j.jcs.2012.07.007
- Turabi, E., Sumnu, G., Sahin, S. (2010). Quantitative analysis of macro and micro-structure of gluten-free rice cakes containing different types of gums baked in different ovens. *Food Hydrocoll.* 24(8): 755–762. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.04.001
- Turabi, E., Sumnu, G., Sahin, S. (2008). Rheological properties and quality of rice cakes formulated with different gums and an emulsifier blend. *Food Hydrocoll.* 22(2): 305–312. doi:10.1016/j.foodhyd.2006.11.016
- Veraverbeke, W., Delcour, J. (2010). Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42(3): 179–208. doi:10.1080/10408690290825510
- Zhang, L.M., Zhou, J.F., Hui, P.S. (2005). Thickening, shear thinning and thixotropic behavior of a new polysaccharide-based polyampholyte in aqueous solutions. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 259(1-3): 189–195. doi:10.1016/j.colsurfa.2005.02.020

SOMATİK HÜCRELER VE ENDOJEN ENZİMLERİNİN SÜT TEKNOLOJİSİNDEKİ ÖNEMİ

Elif Özer*, Gülfem Ünal, Harun Kesenkaş, A. Sibel Akalın
Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 04.08.2017; Kabul / Accepted: 23.10.2017; Online baskı / Published online: 21.11.2017

Özer, E., Ünal, G., Kesenkaş, H., Akalın, A.S. (2017*). Somatik hücreler ve endojen enzimlerinin süt teknolojisindeki önemi. *GIDA* (2017) 42 (6): 763-772 doi: 10.15237/gida.GD17072

ÖZ

Çiğ sütte baskın hücre tipi olarak yer alan somatik hücreler makrofajlar, polimorfonükleer nötrofil hücreleri, lenfositler ve epitel hücreler olmak üzere dört temel hücre çeşidinden oluşurlar. Sütte bulunan somatik hücre sayısı meme sağlığı ve süt kalitesinin belirlenmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır. Yüksek somatik hücre sayısının peynir, yoğurt gibi süt ürünlerinde etkisi olumsuz olarak tanımlanmakta ve ürünlerin kalitesini düşürdüğü belirtilmektedir. Ancak son yıllarda somatik hücrelerin süt ürünlerinin özellikle peynirin teknolojik özelliklerine olumlu etkileri de olabileceği gösterilmiş, son ürün kalitesini endojen enzimleri aracılığıyla iyileştirdikleri belirlenmiştir. Katepsin B, D, G ve elastaz kazeine karşı aktivite gösteren somatik hücre kaynaklı önemli proteazlardır. Bu enzimlerin aktiviteleri somatik hücre sayısının artışına bağlı olarak artmaktadır. Bu hücrelerin ve endojen enzimlerinin süt ürünleri üzerindeki etkisini mastitis etmenlerinden bağımsız olarak araştırmak amacıyla somatik hücrelerin süttten izolasyonunu ve konsantrasyonunu sağlayan çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Sağlıklı hayvandan elde edilen süte katılan somatik hücrelerin peynirde teknolojik parametreleri olumsuz etkilemediği ve endojen enzimleri vastasıyla proteolizi artırdığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Somatik hücre, endojen enzimler, peynir, proteoliz

THE IMPORTANCE OF SOMATIC CELLS AND THEIR ENDOGENOUS ENZYMES IN DAIRY TECHNOLOGY

ABSTRACT

Somatic cells, which are predominant cell type in raw milk, consist of four main types as macrophages, polymorphonuclear neutrophils cells, leucocytes, and epithelial cells. Somatic cell count in milk is used as an indicator for mammary health and milk quality. High somatic cell count in milk is considered as a negative factor for some dairy products like yoghurt and cheese, so can reduce the quality of the end-product. But in recent years, it has been shown that they have positive effects on the technological properties of dairy products especially cheese and improve the final product quality by their endogenous enzymes. Cathepsin B, D, and G, and elastase are important somatic cell derived proteases that exhibit activity against casein. The activities of these enzymes increase due to the increase in the number of somatic cells. Some isolation and concentration methods have been developed in order to investigate the effects of somatic cells and their endogenous enzymes on dairy products independent from mastitis factors. It has been determined that somatic cells added to the milk obtained from healthy animals did not affect technological parameters negatively in cheese and increase proteolysis via their endogenous enzymes.

Keywords: Somatic cell, endogenous enzymes, cheese, proteolysis.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ elif.ozer@ege.edu.tr

☎ (+90) 232 311 4469

☎ (+90) 232 342 5713

GİRİŞ

Sütte doğal olarak bulunan somatik hücreler meme sağlığı ve süt kalitesinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Liu vd., 2012; Olechnowicz ve Jaskowski, 2012; Hunt vd., 2013). Çoğu ülkede sütün hijyenik kalitesinin belirlenmesinde ve çiğ süt fiyatının oluşumunda somatik hücre sayısı esas alınmaktadır (More vd., 2013). Somatik hücreler doğal savunma mekanizmasının bir parçası olup lenfositleri, makrofajları, polimorfonükleer (PMN) ve epitel hücreleri kapsamaktadır (Jimenez-Granado vd., 2014). Somatik hücrelerin süt ürünlerinin üretiminde ve son üründeki rolleri genellikle kötü tanımlanmış; bu da yüksek somatik hücre sayısının sütün fizikokimyasal değişimi, bakteri sayısı ve mastitis ile birlikte anılmasından kaynaklanmıştır. Mastitis süt endüstrisinde kalite ve verimi düşürerek en fazla ekonomik kayba yol açan meme iltihabı hastalığı olarak görülmektedir (Boland vd., 2013; Deb vd., 2013; Pilla vd., 2013; Nyman vd., 2014). Çoğunlukla patojen bakterilerin neden olduğu mastitiste, fiziksel travma ve tahriş nedeniyle memede süt salgılanmasında görev alan dokular zarar görmektedir (Tiwari vd., 2013; Reshi vd., 2015; Sserunkuma vd., 2017).

Somatik hücreler doğumdan itibaren bağışıklık sisteminin bir parçasını oluşturmakta ve meme bezlerinin enfeksiyonlara karşı korunmasında görev almaktadır. Somatik hücre sayısı; hayvanın türü, yaşı, laktasyon aşaması, sürü büyüklüğü, süt üretim düzeyi, beslenme, memenin enfeksiyon durumu ve çevresel faktörlere göre değişmektedir (Sundekilde vd., 2012). Örneğin inek sütünde somatik hücre sayısı $>2 \times 10^5$ hücre/mL düzeyinde olduğu zaman memenin enfekte olduğundan şüphe edilir. Somatik hücre sayısı $>4 \times 10^5$ hücre/mL olduğunda ise söz konusu inek sütleri Avrupa'da içme sütü üretiminde kullanılmamaktadır. Diğer yandan keçi sütlerinin içerdiği somatik hücre sayısının inek sütüne oranla genellikle daha fazla olduğu, geç laktasyon döneminde sağlıklı süt keçilerinde bile fizyolojilerinden dolayı fazla miktarda somatik hücreye rastlandığı bildirilmektedir (Jimenez-Granado vd., 2014; Albenzio vd., 2015; Leitner vd., 2016).

Günümüze kadar sütte somatik hücre varlığı olumsuz olarak kabul edilmiştir. Yüksek somatik hücre sayısı, yüksek enzim aktivitesi demektir ki bu da süt bileşenlerinin zarar görmesi ve üründe çeşitli kusurların meydana gelmesi anlamına gelmektedir (Murphy vd., 2016). Peynirde pıhtılaşma özellikleri ve somatik hücre sayısı arasında bir ilişki olmadığı (Bonfatti vd., 2014), ya da peynir veriminin somatik hücre sayısından etkilenmediği (Pretto vd., 2013) yönünde çeşitli görüşler olsa da, genel görüş yüksek somatik hücre sayısının sütün raf ömrünü kısaltarak çeşitli ürünlere özellikle peynire işlenmesinde olumsuz etkileri olduğu, bu sütlerden üretilen peynirlerde verimin düşük olduğu yönündedir (Albenzio vd., 2012; Rovai vd., 2015a-b; Troendle vd., 2016). Son yıllarda ise somatik hücrelerin ve endojen enzimlerinin süt ürünlerinin bileşimini ve teknolojik özelliklerini olumlu yönde etkileyebileceği, böylece son ürünün kalitesini arttırabileceği düşünülmektedir. Ancak mastitisle birlikte sütte bakteri popülasyonu, plazmin gibi kandan gelen enzimler ile makrofaj, PMN ve lenfosit gibi lökosit hücrelerinin artışı yanında laktoz sentezinde görev alan epitel hücrelerin zarar görmesine bağlı olarak laktoz miktarının düşüşü, ayrıca kalsiyum ve kazein miktarının azalması gibi çeşitli farklılıklar oluşmakta ve böylece sütün bileşiminde meydana gelen değişiklikler somatik hücrelerin süt ürünlerindeki rollerinin tam olarak tanımlanamamasına yol açmaktadır (Hachana vd., 2012; Oikonomou vd., 2014; Rovai vd., 2015b; Li vd., 2017). Mastitisli hayvandan elde edilen sütlerden üretilen ürünlere kaliteyi etkileyen asıl önemli nokta somatik hücre sayısının artışı değil buna zemin hazırlayan etmenlerdir (Leitner vd., 2016). Dolayısıyla mastitisli süttten izole edilip mastitise bağlı farklılıkları içermeyen süte eklenen somatik hücrelerin ürün kalitesine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı, hatta çeşitli ürünlerde özellikle peynirde olgunlaşma prosesine olumlu etkileri olabileceği belirlenmiştir.

MEMENİN KORUNMASINDA SOMATİK HÜCRELERİN ETKİLERİ

Somatik hücreleri oluşturan hücre tipleri, morfolojik-biyolojik özellikleri ve farklı hayvan türlerindeki oranları Çizelge 1'de görülmektedir.

Somatik hücrelerin memede bulunmasının iki amacı vardır: Enfeksiyona sebep olan mikroorganizmaları fagositoz ile ortadan kaldırmak ve hasara uğramış süt salgı dokularını onarmaya yardım etmek. Makrofajlar bakteri enfeksiyonuna karşı fagositoz yoluyla mücadele ederler. Ayrıca, bu hücreler işgalci patojenleri tanıyarak bağışıklık sisteminin tepki vermesini sağlarlar (Damm vd., 2017). Enfeksiyon sırasında kemoatraktan olarak da adlandırılan kimyasal uyarıcılar salgırlar. Bu kimyasal uyarıcıları algılayan PMN hücreler enfeksiyonlu bölgeye

ulaştığında oksidatif ve oksidatif olmayan mekanizmaları bir arada kullanarak mikroorganizmaları öldürürler. Lenfositler de bağışıklık sisteminde özel belirleyici bir role sahiptirler. Bunlar spesifik membran reseptörleri ile işgalci patojenlere yönelik antijenleri tanıyabilme özelliğine sahip hücrelerdir. Epitel hücreleri ise meme bezlerinin ilk savunma hattını oluştururlar ve farklı türlerde yavrunun bağışıklık sistemlerinde görev alırlar (Li vd., 2014).

Çizelge 1. Sağlıklı sütteki somatik hücre çeşitleri ve özellikleri (Li vd., 2014; Alhussien vd., 2015; Damm vd., 2017)

	Makrofajlar	PMN hücreler	Lenfositler	Epitel hücreler
Morfolojik özellikler	Büyük çekirdek	Değişken çekirdek	Yoğun ve yuvarlak çekirdek	Yuvarlak çekirdek
Biyolojik özellikler	-Fagositoz -Antijen salgılanma -Kemoatraktan salgılanma	-Fagositoz -Antibakteriyel özellikte salgı -Kemoatraktan algılama	-Belirli bağışıklık sistemi sitokinlerinin üretimi -Değiştirilmiş ya da hasar görmüş konakçı hücrelerin lizizi	-Kemoatraktan salgılanma
Farklı hayvan türlerine ait sütlerde somatik hücre tipi yüzdeleri				
	35-79 ^a	3-26	16-28	2-15
İnek	26	16	23	36 ^a
	40	10	50 ^a	-
	60 ^a	12	28	-
	13	28	29	45 ^a
	79	13	19	-
	66.92	18.5	14.58	-
Koyun	46-86 ^a	2-28	11-20	1-2
	57 ^a	31	8	2
Keçi	15-41	45-74 ^a	9-20	6
	11	79	10	-

^a Baskın hücre tipi

Süt içerisindeki somatik hücre tipleri ve toplam somatik hücre sayısındaki yüzdeleri birçok faktöre bağlı olarak değişebilir (Li vd., 2014). Örneğin her hücre tipinin spesifik bir fonksiyonu olduğundan lökositlerin normal ve mastitisli sütte dağılımları farklılık göstermektedir. Mastitisli bir inekten elde edilen sütte PMN hücre miktarı %90-95'e ulaşabilmektedir (Pilla vd., 2013; Damm vd., 2017). Enfekte olmamış inek sütünde ise somatik hücre sayısı düşük olup, büyük ölçüde lenfosit ve makrofajlardan oluşmaktadır (Pilla vd., 2012).

Somatik hücre sayısı ve somatik hücre tipleri tam olarak birbiriyle bağlantılı olmayıp, değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin koyunlarda laktasyonun farklı dönemlerinde makrofaj ve PMN hücre yüzdeleri ters yönde değişmektedir. Erken laktasyon döneminde gözlemlenen en yüksek değer makrofajlara ait iken, geç laktasyon döneminde PMN hücreler baskın duruma geçmektedir (Albenzio vd., 2009). Makrofajlar sağlıklı inek ve koyun sütünde baskın hücre tipini oluştururken, PMN hücreler hem sağlıklı hem de

enfekte hayvandan sağılan keçi sütünde baskın olan hücre tipidir (Souza vd., 2012). Sadece inek sütlerinde yüksek PMN hücre sayısına bakılarak yüksek somatik hücre sayısı gözlemlenebilmektedir (Li vd., 2014).

SOMATİK HÜCRELERİN ENDOJEN ENZİMLERİ

Sütte bulunan en önemli enzimlerden biri olan plazmin sütün yapısında doğal olarak bulunan bir proteazdır. Aktif olarak α -kazeinleri ve β -kazeini hidrolize edebilen plazminin κ -kazein üzerinde etkisi tam olarak bilinmemektedir (Murphy vd., 2016). Sütte somatik hücrelerin lize olması ile birçok enzim süte salınır (Kelly ve Fox, 2006). Bu enzimler lipazlar (lipoprotein lipaz), oksidazlar (katalaz ve laktoperoksidaz), glikosidazlar (lizozim) ve proteazlardır (katepsin, elastaz, kollojenaz) (Lippolis ve Reinhardt, 2005). Plazmin sütte kazein degradasyonunda görev alan temel enzim olmasına rağmen, somatik hücre kaynaklı proteazlar da burada etkin rol oynamaktadır. Özellikle katepsin B, D, G ve elastaz kazeine karşı aktivite gösteren önemli proteazlardır (Le Marechal vd., 2011). Bu enzimlerin aktiviteleri somatik hücre sayısının artışına bağlı olarak artmaktadır. Somatik hücre endojen enzimlerinden katepsin B, katepsin G ve elastaz gibi proteazların α_{s1} ve β kazeinin hidrolizinden sorumlu oldukları düşünülmektedir (Olumee-Shabon vd., 2013). Katepsin D ise tüm kazein fraksiyonlarını (α_{s1} , α_{s2} , β , κ) hidrolize edebilmekte, özellikle α_{s1} üzerinde etki göstermektedir. Katepsin D peynir üretiminde kullanılan kimozine benzer bir aktivite göstermektedir. Ayrıca katepsin B ve katepsin D peynir olgunlaşmasında rol almaktadır. Proteolizin yanısıra lipolizde de somatik hücre endojen enzimleri etkili olmakta, muhtemelen lipoprotein lipaz aktivitesinden dolayı artan serbest yağ asitleri konsantrasyonu süt ve süt ürünlerini etkilemekte, ayrıca çeşitli tat ve koku kusurlarına da neden olabilmektedir (Murphy vd., 2016). Lipoprotein lipaz enzimi pastörizasyon sonrasında bile aktif kalarak depolama sırasında serbest yağ asidi üretimine katılmaktadır (Summer vd., 2015).

Somatik hücrelerin ilgili enzimleri arasında; süt ve farklı peynir tipleri açısından üzerinde en çok çalışılan endojen enzim katepsin D'dir. Lizozomal

bir asidik proteaz olan katepsin D miktarı; yağsız inek sütünde 0.4 $\mu\text{g/ml}$, peynir altı suyunda 0.3 $\mu\text{g/ml}$ düzeyinde tespit edilmiştir. Küçükbaş hayvanların sütlerinde ise yüksek miktarda (1.8-2.6 $\mu\text{g/ml}$) bulunmuştur (Albenzio vd., 2009). Katepsin D'nin inek sütündeki temel formu inaktif prokatepsin D'dir; ancak bu enzim süt ürünlerinin üretimi sırasında ve özellikle asidik koşullarda aktivite kazanmakta ve aktif preprokatepsin D formuna dönüşmektedir. Ayrıca katepsin D; peynir üretimi esnasında uygulanan ısı işlemlere karşı aktivitesini koruyabilmekte ve pH 3.5-7 aralığında etkili olabilmektedir. Diğer taraftan bu enzimin düşük pH değerlerinde sıcaklığa karşı daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Larsen vd., 2000).

Somatik hücrelerin ve endojen enzimlerinin tip, spesifiklik ve aktivite açısından farklı profillere sahip olmalarının sütün işlenmesine ve son ürünlerin kalitesine önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Bu endojen enzimlerin buldukları hücreler farklıdır. Örneğin katepsin B ve katepsin G makrofaj, PMN hücreler ve epitel hücrelerden salgılanabilmekte, katepsin D ise yalnızca makrofaj ve PMN hücreler kaynaklı olabilmektedir. Alveollerdeki makrofaj kaynaklı katepsin D'nin aktivitesi PMN hücrelerdekine göre 60 kat daha fazladır. Diğer bir somatik hücre endojen enzimi olan lipoprotein lipaz ise alveoler makrofaj ve PMN hücrelerde konumlanmıştır (Li vd., 2014).

Laktasyon süresince farklı somatik hücre sayıları ve tipleri nedeniyle aynı grup ineklerde katepsin D, katepsin B ve tanımlanmamış diğer süt proteinaz aktivitelerinde farklılıklar görülmektedir. Ayrıca sütteki somatik hücre kaynaklı endojen enzimlerin varlığı, diğer enzimlerin aktivitelerini değiştirebilmektedir. Örneğin somatik hücreler ile ilişkili olan plazminojen aktivatörleri, plazmin aktivitesini etkileyebilmektedir (Albenzio vd., 2004). Ürokinaz somatik hücrelerde bulunan plazminojen aktivatörlerinden biridir (Ubaldo vd., 2015; Murphy vd., 2016). Le Roux vd. (2003) sütte somatik hücre sayısı 1×10^5 hücre/mL'nin altında olduğunda plazmin aktivitesinde bir artış olduğunu, hücre sayısı 6×10^5 hücre/mL'nin

üzerine çıktığında ise ancak %42 oranında plazmin aktivitesi görülebildiğini belirtmişlerdir. Ancak hangi tip hücrenin plazmin aktivitesini hangi oranda etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Albenzio vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada makrofaj ve PMN hücrelerce zengin olan sütlerde daha yoğun plazmin aktivitesi görüldüğünü belirtmişlerdir.

SOMATİK HÜCRE SAYISI VE ÜRÜN KALİTESİ

Somatik hücre sayısının süt ürünlerinin özellikle de peynirin kalitesine etkisinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Artan somatik hücre sayısı nedeniyle peynir sütünde kazein miktarı ve kalsiyum iyonları azalmakta, kullanılan teknolojiler farklı bile olsa pıhtılaşma süresi uzamakta, kurumadde azalmakta ve buna bağlı olarak peynir verimi ve kalitesi düşmektedir (Ubaldo vd., 2015). Geary vd. (2013) ve Geary vd. (2014) çalışmalarında sütte somatik hücre sayısı artışının peynir verimine ve kalite özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Peynir sütünde somatik hücre sayısı artışının peynirde verim üzerinde etkili protein ve yağ kazanımını önemli oranda düşürdüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca somatik hücre sayısı 2×10^5 hücre/mL'nin altında olan sütlerden üretilen peynirlerin duyusal özelliklerinin daha iyi olduğunu ve tüketiciler tarafından daha çok beğenildiğini ifade etmişlerdir. Sütte somatik hücre sayısı 1×10^5 hücre/mL'den 4×10^5 hücre/mL'ye çıktığında ise peynir veriminde %2.05'lik bir düşme olduğunu, yıllık gelirden de %3.2'lik bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Bobbo vd. (2015) çok düşük (9×10^3 hücre/mL) ve çok yüksek (2.72×10^6 hücre/mL) somatik hücre sayısının süt verimi, bileşimi ve teknolojik özelliklerine, ayrıca peynir verimi ve süt bileşenlerinin pıhtıda kalma oranına etkisini incelemişlerdir. Araştırma bulgularında yüksek somatik hücre sayısının sütte kazein ve laktoz oranını olumsuz yönde etkilediğini, ayrıca süttün teknolojik özellikleri üzerine negatif etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek somatik hücre sayısına bağlı olarak pıhtılaşma süresinin uzadığı, pıhtının daha gevşek olduğu dolayısıyla peyniraltı suyundaki bileşenlerin kaybının fazla olduğu ve peynir veriminin düştüğü de belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada düşük somatik hücre sayısına sahip ($< 2 \times 10^5$ hücre/mL) inek sütü ile yapılan Prato peynirinde bozulmaya neden olan maya ve küf sayısı daha az bulunmuştur. Somatik hücre sayısı söz konusu peynirde toplam protein ve tuz:nem oranını etkilememiştir. Yüksek somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilen peynirlerin pH ve su bağlama kapasitesi değerleri, düşük somatik hücre sayılı sütlerden üretilen peynirlere göre daha yüksek, pıhtılaşma süresi ise daha uzun olarak belirlenmiştir. Ayrıca depolama süresince yüksek somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilen peynirlerdeki laktik asit bakteri sayısı, düşük somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilenlere göre daha hızlı azalmıştır. Duyusal olarak düşük somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilen peynirler daha çok beğenilmiştir (Vianna vd., 2008).

Somatik hücre sayısının yoğurt üzerinde etkilerinin incelendiği çalışmalar az olmakla beraber bu çalışmalarda daha çok yoğurdun duyusal özellikleri incelenmiştir. Ayrıca yüksek somatik hücre sayısının süzme yoğurt yapımında peynir üretiminde olduğu gibi protein kaybindan dolayı verimi düşürebileceği belirtilmektedir. Yoğurt üretiminde raf ömrü boyunca ürünün kalite özelliklerini koruması amacıyla çiğ sütte somatik hücre sayısı için üst limit 4×10^5 olarak belirtilmiştir (Oliveira vd., 2002).

Sert vd. (2016) farklı somatik hücre sayılı sütlerden üretilen süt tozlarının kalite farklılıklarını araştırdıkları çalışmalarında somatik hücre sayısının süt tozlarının kalitesini olumsuz yönde etkilediğini belirlemişlerdir. Çalışmada süt tozlarının protein ve kül içeriğinin somatik hücre sayısındaki artışa paralel olarak düştüğü, hidroksimetilfurfurol miktarının ise arttığı belirlenmiştir. Süttozunun çözünürlük indeksinin de somatik hücre sayısının artışından olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu süt tozlarından üretilen yoğurtlarda tekstür ve somatik hücre sayısı arasında negatif bir korelasyon olduğu da belirtilmiştir.

SOMATİK HÜCRELERİN SÜT ÜRÜNLERİNE ETKİSİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR

Son yıllarda konu ile ilgili yapılan araştırmalarda somatik hücrelerin ve salgıladıkları enzimlerin bazı koşullarda peynir kalitesini olumlu yönde etkileyebildikleri görülmüştür. Bu noktada somatik hücrelerin süttten izolasyonu ve ardından sağlıklı hayvandan elde edilen süte ilave edilmesi yeni bir yaklaşım olarak görülmektedir. Böyle bir uygulamada seçilecek somatik hücre tipinin ve endojen enzimlerinin orijinlerine göre seçilmesi önem taşımaktadır. Santrifüjleme gibi basit ya da akış sitometri ve manyetik ayırma gibi ileri yöntemler uygulanarak süttten somatik hücre izolasyonu yapılabilmektedir (Li vd., 2015). Santrifüjleme tekniğinde somatik hücreler toplu olarak elde edilmekte, süspansiyon olarak hazırlanmaktadır. Bu hücrelerden ancak çok az bir kısmı yoğunlaştırılıp ayrılmakta, bu nedenle sağlıklı hayvanlardan yeterli miktarlarda somatik hücre elde etmek için fazla miktarda süte gereksinim duyulabilmektedir (Li vd., 2017). Daha ileri bir teknik olan manyetik ayırma tekniğinde ise somatik hücreler hücre bazında elde edilmekte, ancak az miktarda somatik hücre eldesi kısıtlayıcı olabilmektedir. Bundan dolayı, yapılan bazı çalışmalarda somatik hücrelerin süt ürünleri üzerindeki etkileri yerine sadece süt proteinleri üzerindeki etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır (Li vd., 2014). Caroprese vd. (2007) manyetik ayırma tekniğini kullanarak koyun sütünden makrofajları izole etmiş ve bunların çeşitli kazein fraksiyonlarına etkilerini araştırmıştır. Bu çalışma sonucuna göre makrofajların α_s kazeinlere %20 oranında, β kazeine %10, γ kazeine ise %1 oranında etki ettiği belirlenmiştir. Albenzio vd. (2009) da aynı ayırma tekniğini kullanarak koyun sütünden makrofajları ve PMN hücreleri izole etmiştir. PMN hücrelerden lizozomal enzimlerin salındığı ve bunların özellikle geç laktasyon döneminde kazein hidrolizini arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca bu endojen enzimlerle (ör. katepsin D) pıhtılaşma süresi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Somatik hücre endojen enzimlerinden katepsin D'nin proteoliz sürecine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada aktif haldeki prokatepsin D'nin, rennet kullanılmadan ve ultrafiltrasyon yolu ile üretilen Feta peynirinde

proteolizi desteklediği bildirilmiştir. Peynirde süt proteinlerinin degradasyonunun bu proenzim sayesinde meydana geldiği ifade edilmiştir. Söz konusu enzimin pastörizasyon sonrasında bile aktivitesini büyük ölçüde devam ettirdiği bildirilmiştir (Larsen vd., 2000).

Son zamanlarda membran filtrasyon teknikleri ile somatik hücrelerin süttten ayrılması pratik bir şekilde sağlanabilmektedir. Membran filtrasyon tekniklerinin avantajı, diğer somatik hücre hazırlama teknolojilerine göre büyük miktarda ve iyi kalitede somatik hücrenin endüstriyel ölçekte elde edilebilmesidir. Böylece sağlıklı süttten yeterli miktarda somatik hücre eldesi kısıtlayıcı bir aşama olmaktan çıkmakta, düşük sayıda somatik hücre içeren süte ya da somatik hücre içermeyen süte ilave edilip üretilen ürünlerin özelliklerini incelemek mümkün hale gelmektedir. Ayrıca membran filtrasyon tekniği ile somatik hücrelerin membran bütünlüğü korunabilmekte, enzimlerin hücre içine hapsolmaları sağlanmakta ve bu sayede spesifik etkileri üzerinde de çalışılabilmektedir (Li vd., 2017). Süt bileşimi itibariyle membran filtrasyon için çok uygun bir madde olup bu teknik süt endüstrisinde uzun süredir kullanılmaktadır (Kumar vd., 2013). Membran filtrasyon sayesinde süttün ana özellikleri kaybedilmeden somatik hücre içermeyen sütler de elde edilebilmektedir. Peynir yapımı için bu sütler kontrol grubu olarak kullanılmakta ve diğer gruplara farklı miktarlarda somatik hücre ilavesi yapılmaktadır. Somatik hücreler, somatik hücre içermeyen süte farklı miktarlarda ilave edilebilir, hatta bu ilave oranı yüksek seviyelere bile çıkabilmektedir. Mastitise bağlı olarak sütte gelişen diğer faktörler de bu yeni yaklaşım sayesinde süt ürünlerinin kalitesini olumsuz yönde etkileyememektedirler. Ancak bu yaklaşım birçok açıdan dikkate alınmalıdır (Li vd., 2014).

Li vd. (2017), somatik hücrelerin peynir kalitesinde rollerini belirlemek amacıyla mikrofiltrasyon tekniğini kullanarak yüksek oranda somatik hücre elde etmişler ve farklı oranlarda somatik hücre sayısına sahip sütlerden (0 kontrol, 4×10^5 ve 9×10^5 hücre/mL) İsviçre tipi peynir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak

peynirlerin teknolojik parametrelerinin somatik hücre sayılarından önemli oranda etkilenmediğini belirlemiştir. Olgunlaşmış İsviçre tipi peynirlerin temel bileşimleri de değişmemiştir. Kontrol peyniriyle karşılaştırıldığında somatik hücre ilave edilen peynirlerde lipoliz önemli oranda artmıştır. Somatik hücre içeren peynirlerin proteoliz indekslerinde ise artış gözlenmiştir. İsviçre tipi peynir prosesinde 50°C civarında olan haşlama sıcaklığı kimozeni inaktive etmekte, fakat katepsin B ve katepsin D aktivitelerini devam ettirebilmektedir. Sonuç olarak çalışmada somatik hücrelerin peynir yapımında negatif bir role sahip olmadığı, peynirlerin olgunlaşma aşamasında lipoliz ve proteoliz üzerinde ise zayıf da olsa olumlu etki gösterdikleri ifade edilmiştir.

Marino vd. (2005), somatik hücrelerin ve proteolitik enzimlerinin Cheddar tipi peynire katkılarını düşük sayıda somatik hücre içeren ($<15 \times 10^5$ hücre/mL) peynir sütüne farklı oranlarda konsantre edilmiş somatik hücreler ekleyerek incelemiştir. Gerekli miktarda somatik hücre elde etmek için $>10^6$ hücre/mL oranında somatik hücre içeren sütler toplanmıştır. Alınan sonuçlar ışığında somatik hücrelerin süt ve Cheddar tipi peynirlerde proteolize katkıda bulunduğu, ayrıca peynirin içerdiği nem oranını da direkt olarak etkilediği belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada ise peynirin duysal kalitesini geliştirmek amacıyla sağlıklı keçi sütünden elde edilen konsantre edilmiş somatik hücreler kullanılarak az yağlı peynir üzerinde çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada santrifüjleme metoduyla sınırlı miktarda somatik hücre elde edilebildiği için küçük örnekler halinde taze keçi sütü peynirleri üretilmiştir. Olgunlaşma dönemi yalnızca 7 gün sürmesine rağmen eklenen somatik hücreler ile birlikte kazein fraksiyonlarında genel bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu verilere göre β -kazein %43'ten %26'ya, κ -kazein %37'den %23'e, α_{s2} -kazein %30'dan %20'ye ve α_{s1} -kazein %25'ten %14'e düşmüştür. Ayrıca, somatik hücre eklenerek üretilen peynirlerde yumuşama meydana gelmiş ve dolayısıyla tekstürün etkilendiği belirlenmiştir (Sanchez-Macias vd., 2013).

SONUÇ

Somatik hücreler sütte doğal olarak bulunan, meme sağlığının ve süt kalitesinin göstergesi olarak kullanılan önemli bileşenlerdir. Somatik hücrelerin süt işleme proseslerinde ve süt ürünlerindeki rolleri tam olarak belirlenmemektedir. Bunun nedeni bu hücrelerin sayılarındaki artışın aynı zamanda sütteki fizikokimyasal değişimlerin, bakteri sayısındaki artışın ve meme enfeksiyonunun bir göstergesi olmasıdır. Somatik hücrelerin rollerinin tam olarak tanımlanabilmesi yalnızca bu hücrelere ve endojen enzimlerine odaklanmak yoluyla mümkün olabilir. Son yıllarda geliştirilen yöntemler ile somatik hücrelerin süttten izolasyonu ve konsantrasyonu sağlanmıştır. Böylelikle somatik hücreler sağlıklı hayvandan elde edilen süte eklenebilmekte, mastitisin olumsuz etkileri devre dışı bırakılarak somatik hücrelerin süt ve süt ürünlerindeki etkileri araştırılabilmektedir. Bu yöntemlerden özellikle membran filtrasyon tekniği büyük miktarlarda somatik hücrenin eldesine imkân vermektedir. Somatik hücrelerin özellikle süt proteinleri üzerinde proteolitik etki gösterdikleri, peynirin olgunlaşma sürecinde de duysal kalitenin iyileştirilmesi ve proteolizin hızlandırılmasında istenilen etkiye sahip olabilecekleri belirlenmiştir. Ancak gerek peynirde gerek diğer süt ürünlerinde somatik hücrelerin sayısı ve bileşiminin süt ürünlerindeki etkin rolünü ortaya koymak için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır. Özellikle süt işleme sırasında somatik hücre tipleri ile endojen enzimleri arasındaki ilişkinin farklı koşullar altında belirlenerek ortaya konması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Albenzio, M., Caroprese, M., Santillo, A., Marino, R., Taibi, L., Sevi, A. (2004). Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese making properties of ewe milk. *J Dairy Sci*, 87(3): 533-542, doi: 103168/jds.S0022-0302(04)73194-X
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., D'Angelo F., Marino, R., Sevi, A. (2009). Role of endogenous enzymes in proteolysis of sheep milk. *J Dairy Sci*, 92(1): 79-86, doi: 10.3168/jds.2008-1439.

- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Ruggieri, D., Ciliberti, M., Sevi, A. (2012). Immune competence of the mammary gland as affected by somatic cell and pathogenic bacteria in ewes with subclinical mastitis. *J Dairy Sci*, 95(7): 3877-3887. doi: 10.3168/jds.2012-5357.
- Albenzio, M., Santillo, A., Kelly, A.L., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A. (2015). Activities of indigenous proteolytic enzymes in caprine milk of different somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 98: 7587-7594, doi: 10.3168/jds.2015-9762.
- Alhussien, M., Kaur, M., Manjari, P, Kimothi, S.P., Mohanty, A.K., Dang, A.K. (2015). A comparative study on the blood and milk cell counts of healthy, subclinical and clinical mastitis Karan fries cows. *Vet World*, 8(5): 685-689, doi: 10.14202/vetworld.2015.685-689.
- Bobbo, T., Cipolat-Gotet, C., Bitante, G., Ceccihinato, A. (2015). The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield and curd nutrient recovery. *J Dairy Sci*, 99(7): 5104-5119, doi: 10.3168/jds.2015-10512.
- Boland, F., O'Grady, L., More, S.J. (2013). Investigating a dilution effect between somatic cell count and milk yield and estimating milk production losses in Irish Dairy Cattle. *J Dairy Sci*, 96(3): 1477-1484. doi: 10.3168/jds.2012-6025.
- Bonfatti, V., Tuzzato, M., Chiarot, G., Carnier, P. (2014). Variation in milk coagulation properties does not effect cheese yield and composition of model cheese. *Int Dairy J*, 39(1): 139-145. doi: 10.1016/j.idairyj.2014.06.004.
- Caroprese, M., Marzano, A., Schena, L., Marino, R., Santillo, A., Albenzio, M. (2007). Contribution of macrophages to proteolysis and plasmin activity in ewe bulk milk. *J Dairy Sci*, 90(6): 2767-2772. doi: 10.3168/jds.2006-691.
- Damm, M., Holm, C., Blaabjerg, M., Bro, N.M., Schwarz, D. (2017). Differential somatic cell count- A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd improvement testing programs. *J Dairy Sci*, 100(6): 4926-4940. doi: 10.3168/jds.2016-12409.
- Deb, R., Kumar, A., Chakraborty, S., Verma, A.K., Tiwari, R., Dhama, K. (2013). Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: A review, *Pak J Biol Sci*, 16(23): 1653-1661.
- Geary, U.N., Lopez-Villalobos, B., O'Brien, D., Garrick, J., Shalloo, L. (2013). Meta-analyses to investigate relationships between somatic cell count and raw milk composition, cheddar cheese processing characteristics and cheese composition. *Ir J Agric Food Res*, 52(2): 119-133. stable URL: <http://www.jstor.org/stable/23631025>
- Geary, U.N., Lopez-Villalobos, B., O'Brien, D., Garrick, J., Shalloo, L. (2014). Estimating the impact of somatic cell count on the value of milk utilising parameters obtained from the publishing literature. *J Dairy Res*, 81(2): 223-232. doi: 10.1017/S0022029914000053.
- Hachana, Y., Paape, M.J. (2012). Physical and chemical characteristics of yoghurt produced from whole milk with different level of somatic cell count. *Int J Food Sci Nutr*, 63(3): 303-309. doi: 10.3109/09637486.2011.627839.
- Hunt, K.M., Williams, J.E., Shafii, B., Hunt, M.K., Mehre, R., Ting, R., McGuire, M.K., McGuire, M.A. (2013). Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeed Med*, 8(1): 105-110. doi: 10.1089/bfm.2011.0141.
- Jimenez-Granado, R., Sanchez-Rodriguez, M., Arce, C., Rodriguez-Estevéz, V. (2014). Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. *Span J Agric Res*, 12(1): 133-150. doi: 10.5424/sjar/2014121-3803.
- Kelly, A.L., Fox, P.F. (2006). Indigenous enzymes in milk: a synopsis of future research requirements. *Int Dairy J*, 16(6): 707-715. doi: 10.1016/j.idairyj.2005.10.018.
- Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., Bhat, Z.F., Jeong, D.K. (2013). Perspective of membrane technology in dairy industry: a review. *Asian-Austral J Anim Sci*, 26(9): 1347-1358. doi: 10.5713/ajas.2013.13082.
- Larsen, L.B., Wium, H., Benfeldt, C., Heegaard, C.W., Ardo, Y., Qvist, K.B., Petersen, T.E.

- (2000). Bovine milk procathepsin D: presence and activity in heated milk and in extracts of rennet-free UF-Feta cheese. *Int Dairy J*, 10(1-2): 67–73. doi: 10.1016/S0958-6946(00)00020-0.
- Leitner, G., Lavon, Y., Matzrafi, Z., Benun, O., Bezman, D., Merin, U. (2016). Somatic cell counts, chemical composition and coagulation properties of goat and sheep bulk tank milk. *Int Dairy J*, 58: 9-13. doi: 10.1016/j.idairyj.2015.11.004
- Le Marechal, C., Thierry, R., Vautor, E., Le Loir, Y. (2011). Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products. A review. *Dairy Sci Technol*, 91(3): 247-282. doi: 10.1007/s13594-011-0009-6.
- Le Roux, Y., Francois, L., Fatima, M. (2003). Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Vet Res*, 34(5): 629–645. doi: 10.1051/vetres:2003021
- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., Gagnaire, V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Sci & Technol*, 94(6): 517-538. doi: 10.1007/s13594-014-0176-3.
- Li, N., Richoux, R., Perruchot, M.H., Boutinoud, M., Mayol, J.F., Gagnaire, V. (2015). Flow cytometry approach to quantify the viability of milk somatic cell counts after various physico-chemical treatments. *PLoS One* 10(12): e0146071. doi: 10.1371/journal.pone.0146071.
- Li, N., Richoux, R., Leconte, N., Bevilacqua, C., Maillard, M.B., Parayre, S., Frogearis, L.A., Warloulzel, J., Leclair, E.M., Denis, C., Martin, P., Gagnaire, V. (2017). Somatic cell recovery by microfiltration technologies: A novel strategy to study the actual impact of somatic cells on cheese matrix. *Int Dairy Sci*, 65: 5-13. doi: 10.1016/j.idairyj.2016.09.003.
- Lippolis, J.D., Reinhardt, T.A. (2005). Proteomic survey of bovine neutrophils. *Vet Immunol Immunopathol*, 103(1-2): 53-65. doi: 10.1016/j.vetimm.2004.08.019.
- Liu, H., Wei, F., Wei, Y., Dong, J., Cao, C. (2012). Effects of somatic cell count on low-fat Mozzarella cheese structure. *Adv Mater Res*, 393-395: 692-695. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.393-395.692.
- Marino, R., Considine, T., Sevi, A., McSweeney, P.L.H., Kelly, A.L. (2005). Contribution of proteolytic activity associated with somatic cells in milk to cheese ripening. *Int Dairy J*, 15(10): 1026–1033. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.10.006.
- Murphy, S.C., Martin, N.H., Barbano, D.M., Wiedmann, M. (2016). Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield? *J Dairy Sci*, 99(12): 10128-10149. doi: 10.3168/jds.2016-11172.
- Nyman, A.K., Persson Waller, K., Bennedsgaard, T.W., Larsen, T., Emanuelson, U. (2014). Associations of udder-health indicators with cow factors and with intramammary infection in dairy cows. *J Dairy Sci*, 97(9): 5459-5473. doi: 10.3168/jds.2013-7885.
- More, S.J., Clegg, T.A., Lynch, P.J., O’Grady, L. (2013). The effect of somatic cell count data adjustment and interpretation, as outlined in European Union legislation, on herd eligibility to supply raw milk for processing of dairy products. *J Dairy Sci*, 96(6): 3671-3681. doi: 10.3168/jds.2012-6182.
- Oikonomou, G., Bicalho, M.L., Meria, E., Rossi, R.E., Foditsch, C., Machado, V.S. (2014). Microbiota of cow’s milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *PLoS One* 9(1): e85904. doi: 10.1371/journal.pone.0085904.
- Olechnowicz, J., Jaskowski, J.M. (2012). Somatic cell count in cow’s bulk tank milk. *J Vet Med Sci*, 74(6): 681-686. doi: 10.1292/jvms.11-0506.
- Oliveira, C.A.F., Fernandes, A.M., Neto, O.C.C., Fonseca, L.F.L., Silva, E.O.T., Balian, S.C. (2002). Composition and sensory evaluation of whole yogurt produced from milk of different somatic cell counts. *Aust J Dairy Technol*, 57(3): 192-196.
- Olumee-Shabon, Z., Swain, T., Smith, E.A., Tall, E., Boehmer, H. (2013). Proteomic analyses of differentially expressed proteins in caprine milk during experimentally induced endotoxin mastitis. *J Dairy Sci*, 96: 2903-2912. doi: 10.3168/jds.2012-5956.

- Pilla, R., Malvisi, M., Snel, G., Schwarz, G., König, S., Czerny, C.P., Piccinini, R. (2013). Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. *J Dairy Sci*, 96(3): 1653-1660. doi:10.3168/jds.2012-6298.
- Pilla, R., Schwarz, D., König, S., Piccinini, R. (2012). Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. *J Dairy Sci*, 95(8): 4410-4420. doi: 10.3168/jds.2012-5331.
- Pretto, D., De Marchi, M., Penasa, M., Cassandro, M. (2013). Effect of milk composition and coagulation traits on Grana Padano cheese yield under field conditions. *J Dairy Res*, 80(1): 1-5. doi: 10.1017/S0022029912000453.
- Reshi, A.A., Husain, I., Bhat, S.A., Rehman, M.U., Razak, R., Bilal, S., Mir, M.R. (2015). Bovine mastitis as an evolving disease and its impact on the dairy industry. *Int J Curr Res Rev*, 7(5): 48-55.
- Rovai, M., Caja, G., Quevedo, J.M., Manuelien, C.L., Saldo, J., Salama, A.A.K. (2015a). Effect of subclinical intramammary infection in dairy sheep: II. Maturated pressed cheese (Manchego) produced from milk of uninfected and infected glands and from their blends. *Small Ruminant Res*, 126: 59-67. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.03.002
- Rovai, M., Rusek, N., Caja, G., Saldo, J., Leitner, G. (2015b). Effect of subclinical intramammary infection on milk quality in dairy sheep: I. Fresh-soft cheese produced from milk of uninfected and infected glands and from their blends. *Small Ruminant Res*. 125: 127-136. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.02.019.
- Sanchez-Macias, D., Morales-dela Nuez, A., Torres, A., Hernandez-Castellano, L.E., Jiménez-Flores, R., Castro, N., Arguello, A. (2013). Effects of addition of somatic cells to caprine milk on cheese quality. *Int Dairy J*, 29(2): 61-67. doi: 10.1016/j.idairyj.2012.10.010.
- Sert, D., Mercan, E., Aydemir, S., Civelek, M. (2016). Effects of milk somatic cell counts on some physicochemical and functional characteristics of skim and whole milk powders. *J Dairy Sci*, 99(7): 5254-5264. doi: 10.3168/jds.2016-10860.
- Souza, F.N., Blagitz, M.G., Penna, C.F.A.M., la Libera, A.M.M.P., Heinemann, M.B., Cerqueira, M.M.O.P. (2012). Somatic cell count in small ruminants: friend or foe? *Small Ruminant Res*, 107: 65-75. doi: 10.1016/j.smallrumres.2012.04.005.
- Sserunkuma, P., McGaw, L.J., Nsahlavi, I.V., Van Staden, J. (2017). Selected southern African medicinal plants with low cytotoxicity and good activity against bovine mastitis pathogens. *S Afr J Bot*, 111: 242-247. doi: 10.1016/j.sajb.2017.03.032.
- Sundekilde, U.K., Poulsen, N.A., Larsen, L.B., Bertram, H.C. (2012). Nuclear magnetic resonance metabonomics reveals strong association between milk metabolites and somatic cell count in bovine milk. *J Dairy Sci*, 96: 290-299. doi: 10.3168/jds.2012-5819.
- Summer, A., Franceschi, P., Formaggioni, P., Malacarne, M. (2015). Influence of milk somatic cell content on Parmigiano-Reggiano cheese yield. *J Dairy Res*, 82(2): 222-227. doi: 10.1017/S0022029915000102.
- Troendle, J.A., Tauer, L.W., Gröhn, Y.T. (2016). Optimally achieving milk bulk tank somatic cell count thresholds. *J Dairy Sci*, 100: 731-738. doi:10.3168/jds.2016-11578.
- Tiwari, J.G., Babra, C., Tiwari, H.K., Williams, V., De Wet, S., Gibson, J., Paxman, A., Morgan, E., Costantino, P., Sunagar, R., Isloor, S., Mukkur, T. (2013). Trends in therapeutic and prevention strategies for management of bovine mastitis : an overview. *J Vaccines Vaccin*, 4: 1000176.1.1-1000176.11.
- Ubaldo, J.C.S.R., Carvalho, A.H., Fonseca, L.M., Gloria, M.B.A. (2015). Bioactive amines in Mozzarella cheese from milk with varying somatic cell count. *Food Chem*, 178: 229-235. doi:2015.01.084.0308-8146.
- Vianna, P.C.B., Mazal, G., Santos, M.V., Bolini, H.M.A., Gigante, M.L. (2008). Microbial and sensory changes throughout the ripening period of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. *J Dairy Sci*, 91(5): 1743-1750. doi: 10.3168/jds.2007-0639



THE EFFECTS OF DIFFERENT MODIFIED STARCHES ON SOME PHYSICAL AND TEXTURE PROPERTIES OF MEAT EMULSION

Hüseyin Gençcelep*, Münir Anil, Furkan Türker Sarıcaoğlu, Berrin Ağar

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

Received / Geliş: 11.04.2017; Accepted / Kabul: 05.11.2017; Published online / Online baskı: 23.11.2017

Gençcelep, H., Anil, M., Türker Sarıcaoğlu, F., Ağar, B. (2017). The effects of different modified starches on some physical and texture properties of meat emulsion. *GIDA* (2017) 42 (6): 773-786 doi: 10.15237/gida.GD17038

ABSTRACT

The effect of modified starch addition on the functional properties of meat emulsions was studied by using a model system. In this research, the effects of modified potato starches (native, acid, dextrinized and pre-gelatinized) and starch level (1%, 2 and 4 w/w) on the emulsion capacity, stability, pH and texture properties were investigated in oil/water model emulsion systems. The highest emulsion capacity (181.42 ml oil/g protein) was determined for acid modified starch. As a result of texture analysis, hardness, gumminess and chewiness values of raw and cooked meat emulsions were significantly ($P < 0.01$) affected by the type of starch and starch level. It was concluded in this study that 1% pre-gelatinized modified starch is good for ensuring emulsion stability and can be used as stabilizer for meat emulsions in order to improve the some texture properties of meat emulsions due to higher emulsion stability and capacity than the other starch levels.

Keywords: Meat emulsion, modified starch, emulsion stability, texture profile analysis (TPA)

ET EMÜLSİYONLARININ BAZI FİZİKSEL VE TEKSTÜREL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE FARKLI MODİFİYE NİŞASTALARIN ETKİLERİ

ÖZ

Modifiye nişastanın et emülsiyonlarının fonksiyonel özelliklerine etkisi bir model sistem kullanılarak incelenmiştir. Araştırmada, model emülsiyon sisteminde yağ/su emülsiyon sistemlerinin, emülsiyon kapasitesi, stabilitesi, pH ve dokusal özellikleri üzerine modifiye edilmiş patates nişastalarının (doğal, asit, dekstrinize ve pre-jelatinize) ve nişasta seviyesinin (% 1, 2 ve 4 w/w) etkileri araştırılmıştır. En yüksek emülsiyon kapasitesi (181.42 ml yağ/g protein) asit modifiye nişasta için belirlenmiştir. En uygun emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi %1 nişasta seviyesinde belirlenmiştir. Tekstür analizi sonucunda, nişasta ve nişasta seviyesinin çiğ ve pişmiş et emülsiyonlarının sertliği, yapışkanlığı ve çiğneme değerleri üzerinde çok önemli ($P < 0.01$) etkileri belirlenmiştir. Bu çalışmada, %1 pre-jelatinize modifiye nişastanın diğer nişasta seviyelerine göre daha yüksek emülsiyon stabilitesi ve kapasitesi değerlerinden dolayı et emülsiyonlarının bazı doku özelliklerini iyileştirmek için kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Et emülsiyonları, modifiye nişasta, emülsiyon stabilitesi, tekstür profil analizi (TPA).

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ hgenccelep@omu.edu.tr,

☎ (+90) 362 312 1919

☎ (+90) 362 457 6094

INTRODUCTION

In emulsified meat products, the increasing demand for better quality and healthy products has stimulated the use of new non-meat components. These non-meat components of natural or synthetic origin, known as hydrocolloids or structuring additions, are introduced during the processing and preservation of meat products (Baranowska et al., 2004). Starches are popular not only for their functional properties but also for their low cost relative to alternatives. Starch, the food reserve polysaccharide of plants, is commonly used in emulsion-based products as a thickening agent due to the large increase in viscosity that occurs when native starch granules swell during heating. Few studies have considered the effects that varying amounts of starch have on characteristics of reduced-fat meat emulsions (Yang et al., 1995; Colmenero et al., 1996; Sikora et al., 2008; Resconi et al., 2016). They have many functional applications, including adhesion, texture, viscosity, binding, emulsion stabilization, gelling, product homogeneity and moisture retention (Pietrasik, 1999; Kaur et al., 2012; Zhang et al., 2013).

Unmodified starches have limited use in the food industries. They are uneconomical or have poor qualities. Modification can be used to improve functional properties of food products (Bemiller and Whistler, 2009). Modification allows starch to maintain its desirable appearance and texture despite stresses during food processing and distribution, and to expand its range of utility in foods (Bemiller and Whistler, 2009; Seo et al., 2015). By gel formation, oil-in-water emulsion may be converted from liquid-like to solid-like form (Dickinson and Casanova, 1999). It contributes to the desired texture and oil-water emulsion stabilization in emulsified meat products (Clark et al., 2001; Farouk et al., 2002). During the gel formation, oil and water are retained inside the protein matrix in the products (Smith, 1988). Texture is an important characteristic that is significantly influenced by the gel strength (Nowsad et al., 2000).

Model emulsion system studies are frequently preferred because they are convenient, economical compared with practical applications, reproducible and require minimum time (Karakaya and Gökalp, 1991; Gökalp et al., 1999). In this respect, in recent years, several studies have been conducted to investigate some flow properties of the model emulsion systems, such as emulsion viscosity (Sarıçoban et al., 2008, 2010, Karaman et al., 2015), apparent yield stress and density (Zorba et al., 2005; Tunçtürk and Zorba, 2006; Zorba and Kurt, 2006, Gençcelep et al., 2015; Ağar et al., 2016). However, no study has been conducted so far to investigate the texture properties of the model system meat emulsions using Texture Analyzer. Studying the texture properties of a real food system is important with respect to the engineering design of continuous processes, development of new products and quality control during the processing of emulsion type foods (Yılmaz, 2012).

Very limited research has been conducted to determine texture properties of meat emulsion dependence of starch to characterize the protein network formations of meat emulsions. Therefore, the aims of this study were (a) to determine the texture properties of native potato starch and modified potato starches (acid modified starch; dextrinized modified starch; pre-gelatinized modified starch) in emulsion; (b) to determine the effect of starch modification and starch concentration (1%, 2 and 4w/w) on emulsion capacity and stability properties of meat emulsions.

MATERIALS AND METHODS

Materials and starch modification

Meat source used in this study was beef from a 3 to 4-year old animal. Meat, refined corn oil and native potato starch were obtained from local markets, and minced meat, ground through a 3-mm plate, was stored at -18 ± 1 °C until it was used. Corn oil was stored at room temperature in a dark environment. Native potato starch was stored at 4 ± 1 °C until it was used. Analytical grade chemicals were used.

Acid modified starch (AMS): 375 ml of 0.1 M HCl solution was added to a mixture of 750 g starch and 375 ml deionized water and mixed for 30 min. Then, pH (2.26) was adjusted to 7.0 with 1 M NaOH. Neutralized starch was dried at 40 °C and then sieved at 212 μ . Starches were stored at 4 \pm 1 °C until they were used (Çağlarırnak and Çakmaklı, 1993; Aktaş and Genççelep, 2006).

Dextrinized modified starch (DMS): 750 g of starch was mixed thoroughly with 600 ml of 0.1 M HCl. Then the mixture was dried at 50 °C for 32 hr. until the moisture content dropped to 5%. The dried starch was dissolved in 750 mL deionized water and then pH was adjusted to 7.0 by adding 1 M NaOH. Dextrinized starch was dried at 40 °C to moisture of 14-15% and then sieved at 212 μ . Starches were stored at 4 \pm 1 °C until they were used (Çağlarırnak and Çakmaklı, 1993; Aktaş and Genççelep, 2006).

Pre-gelatinized modified starch (PGMS): The Micro Visco Brabender Amylograph (model 8101, Brabender, Duisburg, Germany) was used to prepare modified starch samples with some modifications according to the method of (Aktaş and Genççelep, 2006; Yglesias and Jackson, 2005). Slurries of native potato starches (15 g of potato starch and 100 mL of water) were poured into the amylograph bowl and loaded into amylograph. The starch suspensions were uniformly heated from 30 to 95 °C, held at 95 °C for 3 min, and then uniformly cooled to 40 °C. Pre-gelatinized starch was dried at 40 °C and then sieved at 212 μ . Starches were stored at 4 \pm 1 °C until they were used (Çağlarırnak and Çakmaklı, 1993; Aktaş and Genççelep, 2006).

Homogenate and Emulsion Preparation

About 0.4 M NaCl solution was prepared and standardized to pH 6.60. 100 mL of NaCl solution (2–4 °C) and 25 g ground meat mixture and starch (on total weight) in were placed in a blender (Waring-80011 S, USA) jar and blended for 2 min at 3550 rpm. Emulsion was prepared using a model system, as described by (Ockerman, 1985). 37.5 mL of NaCl solution and 12.5 g homogenate were placed into the blender (Homend table blender S3 series 4901, İstanbul, Turkey) jar and

homogenized at 2250 rpm for 10 s. and 100 mL corn oil was added. During emulsification 92 mL of corn oil was added at a rate of 0.9–1.0 mL/min. After all the oil was added, the emulsion was mixed for extra 5 sec.

Methods

Emulsion capacity (EC)

EC was expressed as the maximum amount (mL) of emulsified oil held per unit of protein. It was determined as described by Ockerman, (1985) and the end point was determined as described Zorba et al. (1993). About 12.5 g homogenate and 37.5 mL NaCl solution were placed in the blender (Homend table blender S3 series 4901, İstanbul, Turkey) jar and homogenized at 3500 rpm for 5 s and then 50 mL corn oil was placed into this homogenate. During emulsification at 3500 rpm, oil was added at the rate of 0.9–1.0 mL/min until the emulsion broke. The burette was cooled with circulating water to maintain the oil at a constant temperature (11 °C). The electrical conductivity of the emulsion was monitored by Ohm-meter. At the breaking point, the conductivity rapidly dropped and oil addition was stopped. The amount of oil added, including the first 50 mL, was recorded as EC.

Emulsion stability (ES)

ES was determined using model systems, as described by Ockerman, (1985) and Zorba et al. (1993). 10 g of emulsion was weighed into a centrifuge tube and capped and immediately heated at 80 °C in a water bath for 30 min. The tubes were centrifuged at 900 g for 15 min and the amounts of water and oil separated were measured, and ES was calculated using the following equations:

$$ES\% = 100 - (SW)$$

$$SW = \text{g of water separated} \times 10$$

Physicochemical analyses

pH, protein and fat

The pH of the raw batters was measured using a pH meter (Schott Lab Star pH Meter, Germany) on a homogenate of 10 g sample in 90 mL of distilled water. Protein concentrations of homogenates were measured using the Kjeldahl method. Fat content was measured petroleum

ether extractable lipid according to standard (Ockerman, 1985) procedures.

Texture profile analysis (TPA)

Texture profile analysis (TPA) of the raw and cooked emulsions was performed using a Texture Analyzer (TA.XT. plus, Texture Technologies Corp., UK) with a 30 kg load cell with a two-cycle compression. A two-cycle compression force was used versus time to compress the samples till 90% of the original cooked thickness, returned to the original position and compressed again. A 6-mm diameter ebonite probe was used to compress, with pre-test speed of 1.0 mm/s, test speed and post-test speed of 0.5 mm/s. The emulsions were heated at 80 °C in a water bath for 30 min in glass jar (50 mL volume). After cooled to room temperature texture analysis was performed. Parameters recorded from the test curves were hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess, chewiness and

resilience. All texture analyses were replicated six times per sample, and results were presented as mean values.

Statistical analysis

All levels (1, 2, 4%) of starch varieties were studied and analyzed. All data were subjected to variance analyses, and differences between means were evaluated by Duncan's multiple range test (significance $P < 0.05$ and $P < 0.01$) with the help of SPSS statistic program (SPSS, version 20.0.0 software, 2010). The results of statistical analysis were shown as mean values \pm Standard Deviation in tables.

RESULTS AND DISCUSSION

The proximate composition of meat, native potato starch and modified starch are summarized in Table 1. The suspension of pH values of meat, starch and modified starches were summarized in Table 2.

Table 1. Properties of meat, starch and modified starch.

	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	pH
Meat	73.65	20.63	5.32	5.89
Native potato starch	17.06	-	-	6.38
Acid modified potato starch	14.32	-	-	7.28
Dextrinized modified potato starch	12.62	-	-	6.01
Pre-gelatinized modified potato starch	10.83	-	-	5.74

Table 2. pH values of suspensions.

	pH	Starch level		
		1 %	2 %	4 %
Meat	6.60	-	-	-
Native potato starch	-	6.79	6.84	7.09
Acid modified potato starch	-	6.93	6.92	7.01
Dextrinized modified potato starch	-	6.87	6.93	6.95
Pre-gelatinized modified potato starch	-	6.85	6.88	6.92

The pH value of the starches changed with modification technique. Low pH value (5.74) was observed, mainly in the treatments containing pre-gelatinized potato starch. The highest pH value was found (7.28) for acid modified starch. pH values of suspensions were found with increasing adding starches. The highest pH values were determined in 4% starch level. Honikel (1987) reported that pH had a profound effect on

physical properties such as the water-holding capacity, tenderness and color of meat. Usually, a high pH (~ 6.80) is closely related to high shear force or gel strength in meat products. Therefore, pH was found to have effect on the texture properties in any replacing beef with potato starch, which increased the hardness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess and chewiness of raw and cooked meat emulsions in the present study.

Emulsion capacity (EC)

The overall effect of the starch type and starch level on the emulsion capacity, emulsion stability and pH values of meat emulsions were presented in Table 3. Starch types and level had very significant effects on the emulsion capacity ($P < 0.01$) of raw meat emulsions (Table 3). Among the starch types, acid and pre-gelatinized modified starches had the most pronounced ($P < 0.05$) effect on the emulsion capacity values. The

highest emulsion capacity value was determined in acid modified groups and this was statistically different from that of the native potato starch and dextrinized modified groups ($P < 0.05$). Also, the emulsion capacity of acid modified groups was found higher than the other meat emulsions (Table 3). The emulsion capacity of the native starch and dextrinized modified starches was approximately 170 mL oil/g protein.

Table 3. Overall effect of starch type and starch level on the emulsion capacity, emulsion stability and pH values of meat emulsions (mean \pm SD)

	Emulsion capacity (ml oil/g protein)	Emulsion stability (%)	pH
Starch type (S)			
Native potato starch	170.25 \pm 4.45 ^b	78.75 \pm 1.36 ^b	7.02 \pm 0.20 ^a
Acid modified potato starch	181.42 \pm 5.16 ^a	83.75 \pm 0.52 ^a	6.91 \pm 0.07 ^{ab}
Dextrinized modified potato starch	169.58 \pm 4.42 ^b	84.35 \pm 1.87 ^a	6.83 \pm 0.15 ^b
Gelatinize modified potato starch	177.62 \pm 6.53 ^a	84.02 \pm 2.35 ^a	6.87 \pm 0.08 ^b
Significance	**	**	NS
Starch level (%) (L)			
1	178.79 \pm 8.16 ^a	83.92 \pm 2.85 ^a	6.93 \pm 0.13 ^a
2	172.92 \pm 5.80 ^b	81.45 \pm 2.71 ^b	6.91 \pm 0.21 ^a
4	172.44 \pm 5.81 ^b	82.79 \pm 2.65 ^a	6.87 \pm 0.07 ^a
Significance	**	**	**
S x L	NS	NS	NS

^{a-b}: Any two means in the same column having the same letters in the same section are not significantly different at $P > 0.05$.

** $P < 0.01$. NS: not significant; SD: standard deviation.

The increase in starch concentration from 1.0 to 4.0% caused to changes in the emulsion capacity, ranging from 178.79 to 172.44 mL oil/g protein in oil/water (O/W) model emulsion systems. The EC values of samples with 1% starch level were higher ($P < 0.01$) than that of the 2 and 4% starch level samples. When the starch level increased, emulsion capacity decreased. This decrease, dependent on starch concentration, could be attributed the relationship between pH and EC. Cheftel et al., (1985) reported that pH was one of the most important parameters affecting emulsion characteristics. pH influences the emulsification properties of the proteins, in other words, EC values of the meat species. At the isoelectric point (pI) of proteins, hydrophobic interactions between lipids and proteins are enhanced. Myofibrillar proteins have better

emulsifying properties at pH values further away from the pI (Cheftel et al. 1985). In this study, the increase in starch concentration was decreased pH values (Table 3) and consequently, EC values; therefore, decreasing pH values caused proteins to approach the isoelectric point where they had the least EC (Cheftel et al. 1985), in spite of the effect of starch addition to decrease EC until 4% of the concentration. Starch addition did not increase the EC values of model emulsions (O/W) which was in accordance with the information given by Nilsson and Bergenstahl (2007) who reported that such modification enhances the water holding capacity of the starch matrix and the development of more organized structures, leading to a higher resistance to deformation and thus a higher peak viscosity can be achieved. The driving force for adsorption at

the oil droplets is, in the case of hydrophobically modified polysaccharides, mainly hydrophobic interaction. These functional properties of starch are consequences of a hydrocarbon chain entering the hydrophobic cavity of amylose, which may constitute up to 20% of the tissue. In addition, given the fact that the emulsion capacity of the starch increases due to the absorption of the water and swelling of the granules and hydrophobic interaction of oil droplets, it is suggested that the emulsion capacity of the starch can be increased when the acid modified starch is used.

Emulsion stability (ES)

Stability is the most important factor to be considered in emulsion technology. Emulsion stability is an indicator of unseparated fat and moisture retained by meat proteins. When oil content is reduced, and droplet concentration decreases, creaming velocity increases. Thus, polysaccharides are added to food emulsions to stabilize emulsion droplets against creaming and to modify their texture properties (Parker, 1995; McClement, 2000; Tahmasebi et al., 2016).

While the emulsion stability of native potato starch was found 78.75%, the values of the acid, pre-gelatinized and dextrinized modified starches were found 83.75%, 84.35% and 84.02% respectively. Starch types and starch level had very significant effects on the emulsion stability ($P < 0.01$) of raw meat emulsions (Table 3). The highest average emulsion stability values were determined in modified groups, and these were statistically different from that of native potato starch groups ($P < 0.01$). Modified starches decreased the amount of oil separated out (Table 3). The native potato starch gave the highest water separation. The result reached in this model system study, demonstrated that starch addition decreased ($P < 0.01$) the emulsion stability (ES) values of the samples. Also, the increase in starch concentration influenced the ES values (Table 3). The results for ES in the samples with starch were similar to those for EC, in other words, samples with 1% of starch showed higher ($P < 0.01$) ES values than did samples with 2 and 4%. The reason for this could be explained by the fact that water and oil holding capacity was affected by starch and processing method. The possible

reason could be attributed to the same phenomena seen in EC values in which the linear pH decrease (Table 3) might cause a decrease in ES values at the starch concentrations. The relationship between pH and the water retaining capacity of protein has been well established by Sarıçoban et al., (2008) and Warriss et al., (1999).

The stabilizing effect of modified starches in emulsions is related to their high electrical charge and having more hydrophilic–lipophilic groups within their structure, which increase the lipid and water interactions (Alamanou et al., 1996). These groups form a charged layer around oil droplets, causing mutual repulsion, reducing interfacial tension and preventing coalescence. Incorporation of modified starches into a meat batter improved the emulsion stability and reduced the jelly and oil separation, probably due to the formation of a more stable complex. Starch type and starch level interactions was statistically insignificant ($P > 0.05$) on the emulsion capacity and stability. Determining emulsion stability of various meat and meat products and their emulsification properties with different oil and polysaccharide sources is important for successful production using current production technologies (Gökalp et al., 1999). Lots of modified starches have been used as fat replacers or substitutes in the food industry. Starch-based fat substitutes have been used to achieve fat mimetic properties by retaining substantial quantities of water into weak gel structures (Luo and Xu, 2011).

pH

The pH value is one of the most important factors during the manufacture of food products, which significantly affects the stability of meat emulsions (Song et al., 2015). The results of variance analysis for the parameters were shown in Table 3. As it can be seen, starch types had very significant effects on the emulsion pH values ($P < 0.01$) of raw meat emulsions (Table 3). Starch level and starch type x starch level interactions were statistically insignificant ($P > 0.05$) on the pH values of emulsions. The pH values of emulsions with native potato starches were higher than those of emulsions with modified starches, which could be due to the lower pH value of dextrinized

modified potato starches (Table 3). Furthermore, an increase in the concentration of starches decreased the pH values of the emulsions (Table 3). The lowest pH value was obtained for samples with 4% starch (Table 3) which could be due to the presence of some modification properties in the starch.

Texture profile analysis (TPA)

TPA results of raw and cooked meat emulsions produced with different modified starches at various starch levels were shown in Table 4 and 5, respectively. Comparing the TPA results of this

study directly with those in the literature was difficult because no study appeared to investigate the effect of the starch level on the TPA parameters and very limited number of studies has been conducted to determine the TPA profile of the model system emulsions. The starch type and starch level had very significant ($P < 0.01$) effects on hardness, cohesiveness, gumminess, chewiness and resilience in raw meat emulsions (Table 4). In cooked meat emulsions, all texture parameters were affected very significantly ($P < 0.01$) by the starch type and starch level (Table 5).

Table 4. Overall effect of starch and starch level on the texture properties of raw meat emulsions (mean±SD)

	Hardness (N)	Springiness (cm)	Adhesiveness (N.sec)	Cohesiveness	Gumminess (N)	Chewiness (N.cm)	Resilience
Starch type (S)							
Native starch	0.429±0.018 ^c	0.934±0.007 ^a	-0.282±0.064 ^a	0.680±0.021 ^a	0.288±0.002 ^c	0.269±0.002 ^a	0.153±0.013 ^a
AMS	0.529±0.085 ^a	0.917±0.110 ^a	-0.372±0.102 ^a	0.614±0.027 ^b	0.323±0.040 ^{ab}	0.296±0.040 ^b	0.106±0.017 ^c
DMS	0.509±0.103 ^{ab}	0.914±0.039 ^a	-0.341±0.113 ^a	0.670±0.088 ^a	0.333±0.030 ^a	0.300±0.030 ^b	0.123±0.031 ^{bc}
PGMS	0.470±0.028 ^b	0.905±0.034 ^a	-0.286±0.051 ^a	0.661±0.032 ^a	0.309±0.018 ^b	0.287±0.018 ^{ab}	0.131±0.018 ^b
Significance	**	NS	NS	**	**	**	**
Starch level (%)							
1	0.523±0.075 ^a	0.913±0.037 ^a	0.373±0.075 ^b	0.637±0.041 ^b	0.330±0.032 ^a	0.300±0.024 ^b	0.113±0.027 ^a
2	0.460±0.077 ^b	0.927±0.015 ^a	-0.262±0.077 ^a	0.687±0.066 ^a	0.310±0.024 ^b	0.287±0.029 ^b	0.145±0.024 ^b
4	0.470±0.066 ^b	0.912±0.025 ^a	0.325±0.066 ^{ab}	0.644±0.039 ^b	0.301±0.030 ^b	0.275±0.021 ^a	0.124±0.017 ^a
Significance	**	NS	**	**	**	**	**
SxL	**	NS	NS	**	**	**	NS

^{a-c}: Any two means in the same column having the same letters in the same section are not significantly different at $P > 0.05$.

** $P < 0.01$. NS: not significant; SD: standard deviation; L: Starch level

Table 5. Overall effect of starch and starch level on the texture properties of cooked meat emulsions (mean±SD)

	Hardness (N)	Springiness (cm)	Adhesiveness (N.sec)	Cohesiveness	Gumminess (N)	Chewiness (N.cm)	Resilience
Starch type (S)							
Native starch	1.403±0.258 ^b	0.948±0.022 ^a	-0.592±0.133 ^b	0.480±0.016 ^b	0.948±0.022 ^a	0.653±0.076 ^b	0.061±0.012 ^b
AMS	1.561±0.312 ^a	0.942±0.016 ^a	-0.573±0.140 ^b	0.475±0.017 ^b	0.942±0.016 ^a	0.723±0.104 ^a	0.052±0.007 ^c
DMS	1.200±0.120 ^c	0.903±0.047 ^b	-0.518±0.191 ^b	0.520±0.036 ^a	0.903±0.047 ^b	0.582±0.051 ^c	0.068±0.010 ^a
PGMS	1.411±0.321 ^b	0.955±0.006 ^a	-0.348±0.198 ^a	0.504±0.010 ^a	0.955±0.006 ^a	0.668±0.145 ^b	0.059±0.004 ^b
Significance	**	**	**	**	**	**	**
Starch level (%)							
1	1.556±0.318 ^a	0.950±0.017 ^a	-0.610±0.073 ^b	0.487±0.011 ^b	0.950±0.017 ^a	0.732±0.125 ^a	0.061±0.010 ^a
2	1.180±0.084 ^b	0.937±0.037 ^{ab}	-0.332±0.146 ^a	0.505±0.023 ^a	0.937±0.037 ^{ab}	0.583±0.037 ^c	0.061±0.010 ^a
4	1.445±0.253 ^a	0.925±0.038 ^c	-0.582±0.178 ^b	0.493±0.041 ^{ab}	0.925±0.038 ^c	0.654±0.088 ^b	0.057±0.011 ^a
Significance	**	**	**	**	**	**	**
SxL	**	**	**	**	**	**	**

^{a-c}: Any two means in the same column having the same letters in the same section are not significantly different at $P > 0.05$.

** $P < 0.01$. NS: not significant; SD: standard deviation; L: Starch level

Hardness was defined as the peak force during the first compression cycle. Hardness is a main parameter that influences the overall acceptability of emulsion products. Hardness obtained from the TPA was significantly different among different samples (Table 4 and 5). Hardness of raw meat emulsions was increased markedly by the addition of native and acid, dextrinized and pre-gelatinized modified starches ($P < 0.05$), from 0.429 N to 0.529, 0.509 and 0.470 N, respectively. Modified starches were found harder than the native potato starch in raw meat emulsions (Table 4). Hardness of cooked meat emulsions was increased markedly by the native starch and acid modified starches ($P < 0.05$), from 1.403 N and 1.561 N, respectively. Nevertheless, dextrinized starches could not increase the hardness of cooked meat emulsions ($P > 0.05$) (Table 5). Higher hardness was observed in the acid modified potato starch in both raw and cooked meat emulsions (Table 4 and 5). Acid modification also increased solubility and gel strength and decreased viscosity of starches (Wang et al., 2003). Therefore, hardness values of emulsions obtained with acid modified starch were found the greatest in this study. Hosoney (1994) indicated that short chains of acid modified starch formed by hydrolysis swells less and the viscosity is lower. Also, short chains during the gelation due to the interaction of acid modified starches form a gel harder than the normal starch. Acid modified starch also decreases viscosity, increases the solubility of the granules and minimizes syneresis (Sandhu et al., 2007; Sarıçoban et al., 2010). This effect could be partly due to the effect of the starch to increase EC values, an indicator of the amount of emulsified oil (Table 3). As the oil was emulsified, the protein matrix extended in the emulsion, which resulted in an increase in the viscosity (Nowsad et al., 2000). Increase in emulsion viscosity (EV) is desired in the high fat emulsion type products, because higher EV gives an increased elasticity to emulsion type meat products (Yapar et al., 2006). Modified starches increased hardness of the emulsion according to the non-modified starch which was in accordance with the information by Tharanathan (2005) who reported that the resulting modified starch shows

greater paste viscosity, paste clarity, and reduced syneresis. As it can be seen, increasing starch level tended to decrease the hardness, chewiness and gumminess values. Yılmaz et al., (2012) found that increasing the oil level tended to increase the hardness, chewiness and gumminess values in model system meat emulsion. When starch level was increased, hardness decreased in both raw and cooked meat emulsions (Table 4 and 5). Cooking led to an increase in the hardness values of emulsions. Sikora et al., (2008) reported that the starch increases viscosity in emulsion-based products as a thickening agent that occurs when starch granules swell during heating.

The addition of native starch resulted in a decrease in the hardness values of raw meat emulsions compared to the modified starch meat emulsions (Table 5). Starch type x starch level interactions was statistically significant ($P < 0.05$) on the hardness in raw and cooked meat emulsions. Particularly, after cooking, the hardness of the cooked meat emulsion with the addition of 1% starch decreased significantly ($P < 0.05$). Pietrasik (1999) suggested that starch addition favorably increased the hardness of sausages. Modified food starches have been used as binders to maintain juiciness and tenderness in meat products. Results of the study by Claus and Hunt (1991) indicated that modified food starches improve texture and reduce purge accumulation in low-fat bologna. It has also been reported that potato starch was very beneficial in improving the texture of low-fat frankfurters (Yang et al., 1995). Friction and/or binding among meat particles may be increased by adding starch. Liu et al., (2014) found that modified corn starch had higher values of hardness than normal corn starch in surimi-starch gel. As a result, acid modified starch was the most effective starch to increase hardness of both raw and cooked meat emulsions.

Springiness values were related to the elastic properties of the emulsion samples, so a decrease in the springiness value indicates that elasticity of the sample is lost (Yılmaz et al., 2012). Starches did not have a significant influence on the springiness and adhesiveness of raw meat emulsions ($P > 0.05$) (Table 4). Similar results were also determined by Liu et al., (2014) and Fan et al.,

(2017) for surimi-starch gel. However, in cooked meat emulsions, springiness and adhesiveness was statistically significant ($P < 0.05$). Improved springiness suggested that low-fat frankfurters were less brittle or more elastic. Starch type x starch level interactions was statistically significant ($P > 0.01$) on the springiness of cooked meat emulsions, but, had no effect on raw meat emulsions (Table 4 and 5).

Adhesiveness is defined as the negative force area under the curve obtained between cycles. Starch type was statistically insignificant ($P > 0.05$) on the adhesiveness of raw meat emulsions. Starch level caused a decrease in the adhesiveness of cooked meat emulsions. Also, cooking led to a decrease in the adhesiveness of cooked meat emulsions (Table 4 and 5). The addition of starch resulted in small changes in the adhesiveness values in contrast with the meat emulsion (Table 5). Yılmaz et al., (2012) found that oil level had a decreasing effect on the adhesiveness of the meat emulsion samples.

Cohesiveness is defined as the ratio of the positive force area during the second compression to that during the first compression. Cohesiveness includes both the adhesive and cohesive forces as well as viscosity and elasticity. In practice, it shows how good the sample retains its structure after compression. Addition of the modified starch type also led to a decrease in cohesiveness and resilience, an increase in gumminess and chewiness for raw meat emulsions ($P > 0.05$) (Table 4). Cooking had a small effect on the springiness values of meat emulsions (Table 5). Yılmaz et al., (2012) found that oil tended to increase the resilience of the emulsion samples. In the same study, cohesiveness, which is how good the sample retains its structure after compression, was also increased with the increase in the oil level in the model emulsion system.

Gumminess and chewiness are calculated using hardness as a factor which suggests resistance to compression force. Gumminess and chewiness values of emulsions produced with modified starches were found much higher than native starch in raw meat emulsions. Similar results were obtained in surimi-starch gel with native and

modified corn starch (Liu et al., 2014; Seo et al., 2015). In the same study, chewiness of gels produced with modified starches was found different from native starch. Gumminess and chewiness values were not changed by the starch level except for dextrinized groups. The results of the interaction between starch type and starch level on gumminess and chewiness values were significantly decreased at 2% of starch level and increased in 4% starch level of dextrinized groups (Fig. 1 and 2). Gumminess and chewiness of raw meat emulsions were also decreased by the increase in the starch level, which followed a similar trend to that of hardness (Table 4). Starch type x starch level interactions was statistically significant ($P < 0.01$) on the gumminess and chewiness of the emulsion (Fig. 1 and 2). When starch level was increased, gumminess and chewiness decreased in raw meat emulsions. Cooking had a high effect on gumminess and chewiness of meat emulsions (Table 5).

Resilience is a measurement of how the sample recovers from deformation both in terms of speed and force derived. All of the resilience values were close to 0.150 in raw emulsions and 0.06 in cooked emulsions (Table 4 and 5). Similar results were also determined by Liu et al., (2014). In the same study, resilience values were not found to have great differences between the modified corn starch and normal corn starch in surimi-starch gel. In meat products, starch is added primarily to bind water. Increased levels of starch decrease the firmness of sausages and bologna, probably because of increased water retention. The gelatinization temperature of starch is also important in determining the final product properties of comminuted sausages containing wheat, corn, tapioca or modified potato starches (Pietrasik, 1999). The starch modification presents a higher influence on the physicochemical and functional properties of meat emulsion. As starch granules absorb water from the surroundings during heating, the expanded starch granules exert pressure to the gel matrix, resulting in increased gel strength. The internal structure of the granule probably influenced the texture of meat emulsion (Hirsch and Kokini, 2002; Yılmaz et al., 2012; Sun et al., 2014).

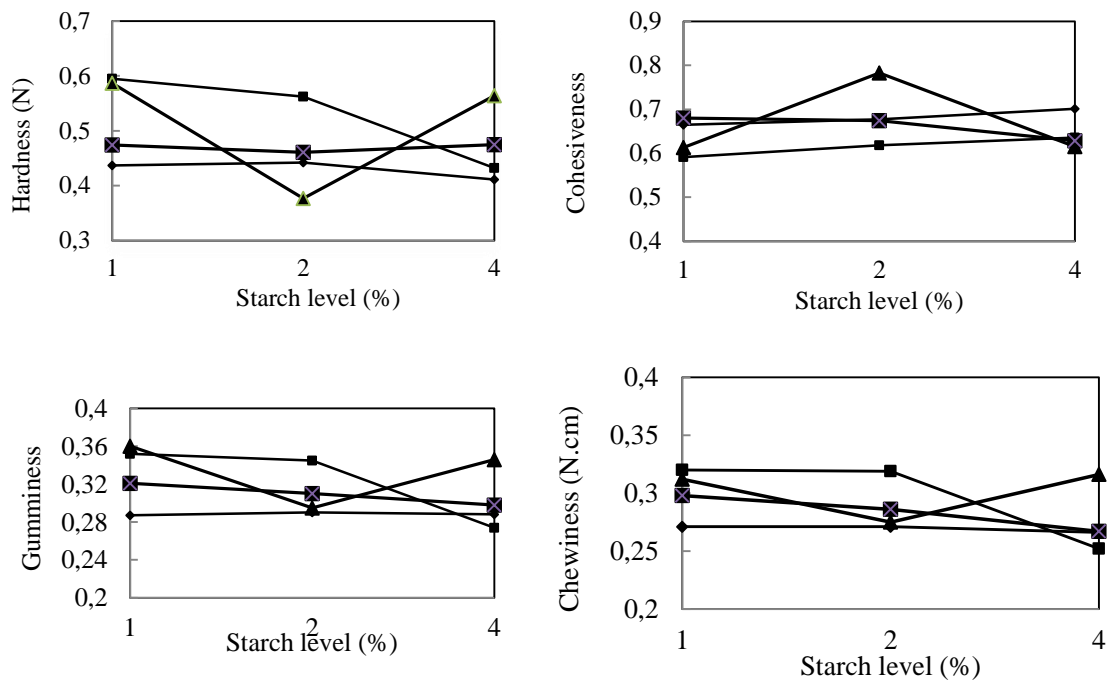


Figure 1. The effect of interaction of starch type \times starch level on texture properties in raw meat emulsion. NPS(—◆—); AMS(—■—); DMS(—▲—); PGS(—⊠—).

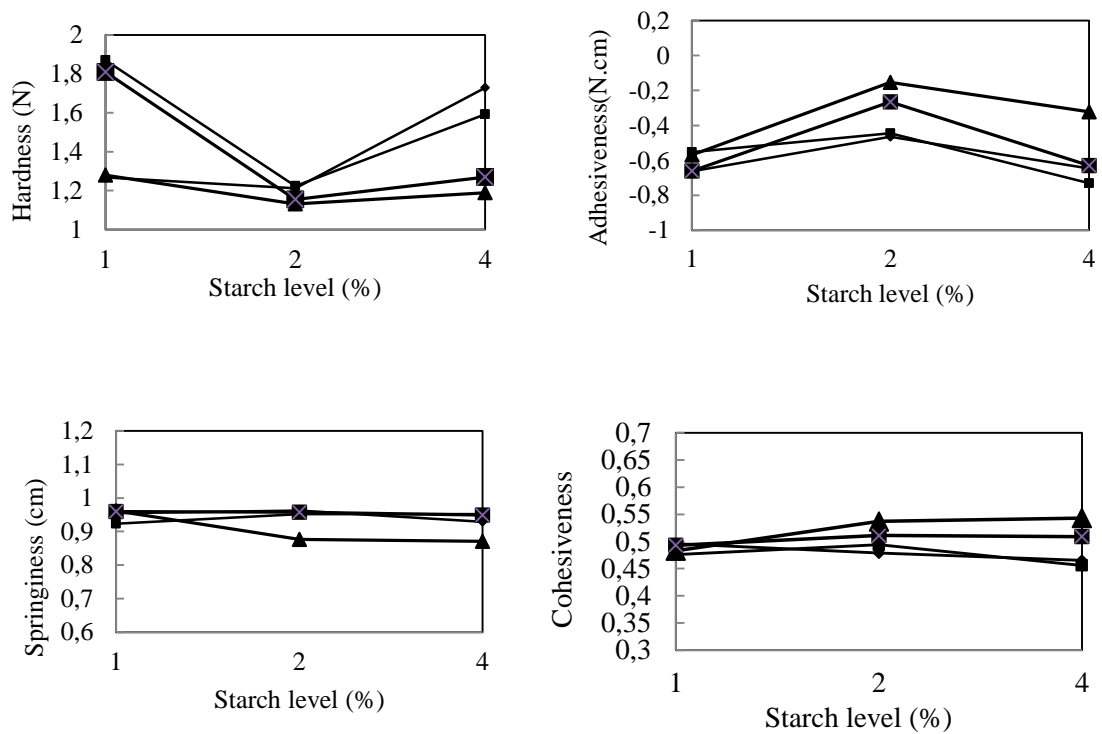


Figure 2. The effect of interaction of starch type \times starch level on texture properties in cooked meat emulsion. NPS(—◆—); AMS(—■—); DMS(—▲—); PGS(—⊠—).

Aleson-Carbonell et al. (2005) suggested that the textural properties of a meat product are determined by the ability of its protein matrix to retain water and bind fat. From the results obtained in the present study and previous studies it can be said that the addition of modified potato starch can increase the hardness, adhesiveness, gumminess and chewiness and decrease springiness, cohesiveness and resilience of the raw emulsion. The results suggest that modified potato starch can improve texture properties in sausages.

CONCLUSIONS

It was noted that the level of modified starch and starch type used in the study were very significant on the value of the emulsion capacity and emulsion stability. From the results of emulsion stability, we concluded that modified potato starch was better than native potato starch for meat emulsion. Especially, emulsion stability increases the shelf life, and considerably, determining the shelf life values is a very important aspect in production. As a result, modified starch is a potentially good source to control binding properties for frankfurter-type meat products and to enhance these emulsion properties. The TPA results indicated that the type and additive amount of modified starch had a strong impact on the textural properties of meat emulsion. In cooked emulsions, the type of starch, starch level, starch level x starch type interaction on values of springiness and adhesiveness was determined as highly significant. Therefore, for meat processors who aim to control the stability and texture properties of their products, these results could be important especially in the formulation of frankfurter-type products, because, the meat industries could determine the possible structural changes in different batter formulations during the heat treatment. Furthermore, based on these results, meat processors will be able to envisage in advance how the product structure and/or texture would be before a large scale of production is made. This will enable them to save time and cost when manufacturing a product with acceptable texture characteristics. As a result, the use of pre-gelatinized modified starch (1%) in

frankfurter type meat products can be evaluated to enhance the shelf life, functional and technological properties of the product.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Research Management Office of Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey for financial support to this research work (Project number: 1901.11.002)

REFERENCES

- Ağar, B., Gençcelep, H., Sarıcaoğlu, F.T., Turhan, S. (2016). Effect of sugar beet fiber concentrations on rheological properties of meat emulsions and their correlation with texture profile analysis. *Food Bioprod Process*, 100, 118–131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.015>.
- Aktaş, N., Gençcelep, H. (2006). Effect of starch type and its modifications on physicochemical properties of bologna-type sausage produced with sheep tail fat. *Meat Sci*, 74, 404-408. doi:10.1016/j.meatsci.2006.04.012
- Alamanou, S., Bloukas, J.G., Paneras, E.D., Doxastakis, G. (1996). Influence of protein isolate from lupin seeds (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*) on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Sci*, 42, 79–93.
- Aleson-Carbonell, L., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J. A., Kuri, V. (2005) Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innov Food Sci Emerg*, 6, 247-255.
- Baranowska, H.M., Rezler, R., Poliszko, S., Dolata, W., Piotrowska, E., Piatek, M. (2004). Starch as a functional addition in meat batters. Starch. From starch containing sources to isolation of starches and their applications. Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, 115–123 p.
- Bemiller, J., Whistler, R. (2009). Starch: Chemistry and Technology. Third Edition, Academic Press, New York, USA. 900 p.
- Çağlarınmak, N., Çakmaklı, Ü. (1993). Chemical principles of in the production of different modified starch. *Journal of Food*, 18, 131-137.

- Cheftel, J.C., Cuq, J.L., Lorient, D. (1985). Amino acids, peptides, and proteins. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (2nd ed.) Marcel Dekker Inc. New York, NY, USA, 369 p.
- Clark, A.H., Kavanagh, G.M., Ross-Murphy, S.B. (2001). Globular protein gelation theory and experiment. *Food Hydrocoll*, 15, 383–400.
- Claus, J.R., Hunt, M.C. (1991). Low-fat, high added bologna formulated with texture modifying ingredients. *J Food Sci*, 56, 643-647, 652.
- Colmenero, F.J., Barreto, G., Fernandez, P., Carballo, J. (1996). Frozen storage of bologna sausages as a function of fat content and of levels of added starch and egg white. *Meat Sci*, 42, 325-332.
- Dickinson, E., Casanova, H. (1999). A thermoreversible emulsion gel based on sodium caseinate. *Food Hydrocoll*, 13, 285–289.
- Fan, M., Hu, T., Zhao, S., Xiong, S., Xie, J., Huang, Q. (2017). Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites. *Food Chem*, 218, 221-230.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.068>
- Farouk, M.M., Wieliczko, K., Lim, R., Turnwald, S., Macdonald, G.A. (2002). Cooked sausage batter cohesiveness as affected by sarcoplasmic proteins. *Meat Sci*, 61, 85–90.
- Gençcelep, H., Sarıcaoğlu, F.T., Anıl, M., Ağar, B., Turhan, S. (2015). The effect of starch modification and concentration on steady-state and dynamic rheology of meat emulsions. *Food Hydrocoll*, 48, 135-148. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.002>
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Zorba, Ö. (1999). Et Ürünleri işleme mühendisliği, Atatürk University, Agriculture Faculty Publications, No: 786, Erzurum, Turkey. 352 p.
- Hirsch, J.B., Kokini, J.L. (2002). Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP, and EPI) through swelling behavior and pasting properties of cross-linked waxy maize starches. *Cereal Chem*, 79, 102–107.
<http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.2002.79.1.102>
- Honikel, K. O. (1987). The water binding of meat. *Fleischwirtschaft*, 67, 1098-1102.
- Hoseney, R.C. (1994). Principles of cereal science and technology, AACC Inc., ISBN 0-913250-79-1, St. Paul, Minnesota, USA.
- Karakaya, M., Gökalp, H.Y. (1991). Farklı tür etlerin bitkisel ve değişik hayvansal yağlar ile oluşturdukları emülsiyonların çeşitli özelliklerinin model sistemde araştırılması. 2nd Ed., International Food Symposium, 20-24 Ekim, Bursa, Türkiye. 397 s.
- Karaman, K., Yılmaz, M.T., Kayacier, A., Doğan, M., Yetim, H. (2015). Steady shear rheological characteristics of model system meat emulsions: Power law and exponential type models to describe effect of corn oil concentration. *J Food Sci Technol*, 52 (6):3851–3858. DOI 10.1007/s13197-014-1434-3
- Kaur, B., Ariffin, F., Bhat, R., Karim, A. (2012). Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocoll*, 26, 398-404. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.016
- Liu, H., Nie, Y., Chen, H. (2014). Effect of different starches on colors and textural properties of surimi-starch gels. *Int J Food Prop*, 17, 1439–1448. DOI: 10.1080/10942912.2012.680224.
- Luo, Z. and Xu, Z. (2011). Characteristics and application of enzyme-modified carboxymethyl starch in sausages. *LWT-Food Sci Technol*, 44, 1993-1998. doi:10.1016/j.lwt.2011.07.016.
- McClement, D.J. (2000). Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. *Food Hydrocoll*, 14, 173–177.
- Nilsson, L., Bergenstahl, B. (2007). Emulsification and adsorption properties of hydrophobically modified potato and barley starch. *J Agr Food Chem*, 55, 1469-1474. DOI: 10.1021/jf062087z
- Nowsad, A.A.K.M., Kanoh, S., Niwa, E. (2000). Thermal gelation characteristics of breast and thigh muscles of spent hen and broiler and their surimi. *Meat Sci*, 54, 169–175.

- Ockerman, H.W. (1985). Emulsifying capacity and stability (2nd ed.). Quality control of post mortem muscle tissue (Vol. 2). The Ohio State University, Columbus, OH, USA
- Parker, A., Gunning, P.A., Robins, M.M. (1995). How does xanthan stabilize salad dressing? *Food Hydrocoll*, 9, 333–342.
- Pietrasik, Z. (1999). Effect of content of protein, fat and modified starch on binding textural characteristics, and colour of comminuted scalded sausages. *Meat Sci*, 51, 17–25.
- Resconi, V. C., Keenan, D. F., García, E., Allen, P., Kerry, J. P., Hamill, R. M. (2016). The effects of potato and rice starch as substitutes for phosphate in and degree of comminution on the technological, instrumental and sensory characteristics of restructured ham. *Meat Sci*, 121, 127–134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.05.017>
- Sandhu, K.S., Singh, N., Lim, S.T.A. (2007). Comparison of native and thinned acid normal and waxy corn starches: physicochemical, thermal morphological and pasting properties. *LWT-Food Sci Technol*, 40, 1527–1536. doi:10.1016/j.lwt.2006.12.012
- Sarıçoban, C., Özalp, B., Yılmaz, M.T., Özen, G., Karakaya, M., Akbulut, M. (2008). Characteristics of meat emulsion systems as influenced by different levels of lemon albedo. *Meat Sci*, 80, 599–606. DOI:10.1016/j.meatsci.2008.02.008
- Sarıçoban, C., Yılmaz, M.T., Karakaya, M., Tiske, S.S. (2010). The effect of different levels of sunflower head pith addition on the properties of model system emulsions prepared from fresh and frozen beef. *Meat Sci*, 84, 186–195. doi:10.1016/j.meatsci.2009.08.046
- Seo, H-W., Kang, G-H., Cho, S-H. Ba, H.V., Seong, P-N. (2015). Quality properties of sausages made with replacement of pork with corn starch, chicken breast and surimi during refrigerated storage. *Korean J Food Sci An*, 35:5, 638-645. DOI <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.5.638>
- Sikora, M., Badrie, N., Deisingh, A.K., Kowalski, S. (2008). Sauces and dressings: A review of properties and applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48, 50–77. DOI:10.1080/10408390601079934
- Smith, D.M. (1988). Meat proteins: functional properties in comminuted meat products. *Food Technol-Chicago*, 42, 116–121.
- Song, X., Pei, Y., Qiao, M., Ma, F., Ren, H., Zhao, Q. (2015). Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles. *Food Hydrocoll*, 45, 256–263. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.007>
- Sun, F., Huang, Q., Hu, T., Xiong, S., Zhao, S. (2014). Effects and mechanism of modified starches on the gel properties of myofibrillar protein from grass carp. *Int J Biol Macromol*, 64 17–24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.11.019>
- Tharanathan, R.N. (2005). Starch-value addition by modification. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 45, 371–384. DOI: 10.1080/10408390590967702.
- Tahmasebi, M., Labbafi, M., Emam-Djomeh, Z., Yarmand, M.S. (2016). Manufacturing the novel sausages with reduced quantity of meat and fat: The product development, formulation optimization, emulsion stability and textural characterization. *LWT-Food Sci Technol*, 68, 76–84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.011>
- Tunçtürk, Y., Zorba, Ö. (2006). The effects of enzymatic hydrolysis of casein on apparent yield stress and some emulsion properties. *Food Hydrocoll*, 20, 475–482. doi:10.1016/j.foodhyd.2005.04.003
- Wang, Y.J., Truong, V.D., Wang, L. (2003). Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydr Polym*, 52, 327–333.
- Warriss, P.D., Wilkins, L.J., Knowles, T.G. (1999). The influence of ante-mortem handling on poultry meat quality. In R. I. Richardson & G. C. Mead (Eds.). Poultry meat science: poultry meat symposium series, CABI Publishing, Wallingford, UK, 230 p.

- Yang, A., Trout, G.R., Shay, B.J. (1995). Evaluation of carragenan, isolated soy protein and a modified starch in low-fat frankfurters. 41st Annual International Congress of Meat Science and Technology, Proceedings, 2, 20-25 October, San Antonio, Texas, USA, 435-436 p.
- Yapar, A., Atay, S., Kayacier, A., Yetim, H. (2006). Effects of different levels of salt and phosphate on some emulsion attributes of the common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Food Hydrocoll*, 20, 825–830. doi:10.1016/j.foodhyd.2005.08.005
- Yglesias, R., Jackson, D.S. (2005). Evaluation of liquid nitrogen freeze drying and ethanol dehydration as methods to preserve partially cooked starch and masa systems. *Cereal Chem*, 82, 702–705. <http://dx.doi.org/10.1094/CC-82-0702>
- Yılmaz, M.T. (2012). Comparison of effectiveness of adaptive neuro-fuzzy inference system and artificial neural networks for estimation of linear creep and recovery properties of model meat emulsions. *J Texture Stud*, 43, 384–399.
- Yılmaz, M.T., Karaman, S., Doğan, M., Yetim, H., Kayacier, A. (2012). Characterization of O/W model system meat emulsions using shear creep and creep recovery tests based on mechanical simulation models and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters. *J Food Eng*, 108, 327–336. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.08.005
- Zhang, F., Fang, L., Wang, C., Shi, L., Chang, T., Yang, H., Cui, M. (2013). Effects of starches on the textural, rheological, and color properties of surimi–beef gels with microbial transglutaminase. *Meat Sci*, 93, 533–537. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.013>.
- Zorba, Ö., Gökalp, H.Y., Yetim, H., Ockerman, H.W. (1993). Model system evaluations of the effects of different levels of K₂HPO₄, NaCl and oil temperature on emulsion stability and viscosity of fresh and frozen turkish style meat emulsions. *Meat Sci*, 34, 145–161.
- Zorba, Ö., Kurt, Ş. (2006). Optimization of emulsion characteristics of beef, chicken and turkey meat mixtures in model system using mixture design. *Meat Sci*, 73, 611–618. doi:10.1016/j.meatsci.2006.02.017
- Zorba, Ö., Kurt, Ş., Gençcelep, H. (2005). The effects of different levels of skim milk powder and whey powder on apparent yield stress and density of different meat emulsions. *Food Hydrocolloid*, 19, 149–155. doi:10.1016/j.foodhyd.2004.05.001



**THE EFFECT OF DRIED MUSHROOM (*AGARICUS BISPORUS*)
ADDITION ON MICROBIOLOGICAL QUALITY AND
BIOGENIC AMINE CONTENTS IN SUCUK PRODUCTION**

Hüseyin Gençcelep^{1*}, Ömer Zorba²

¹Ondokuz Mayıs University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Samsun, Turkey

²Abant İzzet Baysal Univ., Faculty of Engineering and Architecture, Dept. of Food Engineering, Bolu, Turkey

Received / Geliş: 11.04.2017; Accepted / Kabul: 11.11.2017; Published online / Online baskı: 23.11.2017

Gençcelep, H, Zorba Ö. (2017). The effect of dried mushroom (*Agaricus bisporus*) addition on microbiological quality and biogenic amine contents in sucuk production. *GIDA* (2017) 42 (6): 787-798 doi: 10.15237/gida.GD17039

ABSTRACT

The aim of this study, the effect of addition to mushroom into sucuk at different concentrations (0, 0.5, 1 and 2%) on microbiological quality and biogenic amine formation were investigated at different ripening periods (0, 3, 6, 9 and 12 days). Tryptamine and phenylethylamine were found 11.42 and 42.96 mg/kg beginning of ripening time, respectively. Both mushroom concentration and ripening period had significant ($P < 0.01$) effect on lactic acid bacteria (LAB), *Micrococcus* and *Staphylococcus* counts and pH. The *Enterobacteriaceae*, yeast and mould counts were found to be under the detectable level ($< \log 2.0$ cfu/g) after the 3rd day of ripening period. The pH value was determined as 5.82 at the beginning of ripening time and decreased to 4.82 at the end of ripening (12 days). These results suggest that mushroom can be used as a natural functional ingredient to improve taste and flavor as well as shelf-life stability of sucuk.

Keywords: Mushroom (*Agaricus bisporus*), biogenic amines, microbiological properties, sucuk

**SUCUK ÜRETİMİNDE KURUTULMUŞ MANTAR
(*AGARICUS BISPORUS*) İLAVESİNİN MİKROBİYOLOJİK
KALİTE VE BİYOJENİK AMİN İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, sucuk üretimine farklı oranlardaki (%0, 0.5, 1 ve 2) mantar (*Agaricus bisporus*) ilavesinin, sucuğun olgunlaşma dönemlerinde (0., 3., 6., 9. ve 12. gün) mikrobiyolojik kalitesi ve biyojenik amin oluşumu üzerine etkisini belirlemektir. Triptamin ve feniletilamin olgunlaşma başlangıcında sırasıyla 11.42 ve 42.96 mg/kg bulunmuştur. Hem mantar konsantrasyonu hem de olgunlaşma süresi, laktik asit bakterileri, *Micrococcus* ve *Staphylococcus* sayıları ve pH üzerinde önemli ($P < 0.01$) etkiye sahiptir. Olgunlaşma döneminin 3. gününden sonra *Enterobacteriaceae*, maya ve küf sayıları tespit edilebilir seviyenin altında ($< \log 2.0$ cfu / g) bulunmuştur. Olgunlaşma başlangıcında pH değeri 5.82 olup, olgunlaşmanın sonunda 4.82'ye düşmüştür (12. gün). Bu sonuçlar, mantarın tat ve lezzeti iyileştirmek için doğal bir bileşen olarak kullanılabileceğini ve ayrıca sucuğun raf ömrü stabilitesini artırabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Mantar (*Agaricus bisporus*), biyojenik amin, mikrobiyolojik özellikler, sucuk

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ hgenccelep@omu.edu.tr,

☎ (+90) 362 312 1919

☎ (+90) 362 457 6094

INTRODUCTION

Sucuk is the most popular dry-fermented meat product produced in Turkey. It is produced from beef and water buffalo meat, beef fat, and sheep tail fat incorporated with some ingredients; salt, sugar, nitrite, nitrate and/or nitrite/nitrate and various spices (Kaya, 1993; Gökalp et al., 1988, 1999; Kaya et al., 1998).

Mushrooms have long been valued as delicious and nutritional foods in many countries. They are appreciated, not only for their texture and flavour but also for their chemical and nutritional characteristics (Manzi et al., 1999). Mushrooms have been reported to contain many valuable benefits such as rich in dietary fiber, protein, vitamin and mineral while having low in fat and calorific value. On a dry weight basis, they are considered to be good sources of digestible proteins (10–40%), carbohydrates (3–21%) and dietary fibre (3–35%) (Breene, 1990; Chang, 1991). Besides this facts, bioactive functional component of cell wall known as β -glucan is also found in edible mushroom. The unique functionality of β -glucan is its contribution towards healthy characteristics in edible mushroom (Manzi and Pizzoferrato 2000).

Both fruiting body and the mycelium contain compounds having remarkable antioxidant and antimicrobial activity (Bobek et al., 1995; Uppuluri et al., 2006). Flavonoids have been proven to display a wide range of pharmacological and biochemical actions, such as antimicrobial, antithrombotic, antimutagenic and anticarcinogenic activities (Cook and Samman, 1996; Sahu and Green, 1997). Some researchers have reported the antimicrobial activity of several mushrooms (Lee et al., 1999; Kim and Funk, 2004; Gao et al., 2005). Several compounds extracted from these mushrooms were revealed to have antifungal and antibacterial activity (Barros et al., 2007) against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* (Barros et al., 2007). The chloroform and ethyl acetate extracts of the dried mushroom were reported to have antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and *Prevotella intermedia* (Hirasawa et al., 1999).

Biogenic amines are important for the human health because of the fact that the consumption of food with high amounts of biogenic amine content, especially histamine and tyramine, can be hazardous due to its toxic effects. Besides, their toxicological effects, biogenic amines are of concern in relation to food hygiene. Biogenic amines are also important for their role as indicators of quality and/or acceptability in some foods (Ayhan et al., 1999; Ruiz-Capillas and Jimenes-Colmenero, 2004) High amounts of amines can be found in fermented foods derived from raw material with high protein content, such as dry and semi-dry fermented sausages (Suzzi and Gardini, 2003). The amount and type of biogenic amines depend on the nature of food and microorganisms. The production of biogenic amines in meat products has been attributed to the action of several microorganisms such as *Pseudeuomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococci* and *Lactobacillus* (Santos, 1996; Shalaby, 1996; Suzzi and Gardini, 2003; Kaya and Gökalp, 2004).

No study has determined on the effect of addition of mushroom on the microbiological composition and biogenic amine formation in sucuk product. Therefore, in this study, the effect of different levels of mushroom on microbiological characteristics and biogenic amines of sucuk were investigated in different ripening storage periods.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of mushroom

Mushroom as fruiting bodies (pileus + stipe) were dried at room temperature (until reaching approximately 10 % water content), ground and then sifted through 14 in. sieve until usage.

Starter cultures and chemical substances

Starter culture (*Lactobacillus sakei*+*Staphylococcus carnosus* spp. carnosus, BFL-FO6 BactoFlavor, Chr. Hansen, Holdorf/Germany) was added into sucuk mix 10^7 cfu/g according to the manufacturer's recommendations. Six aqueous standard solutions containing putrescine dihydrochloride, cadaverine dihydrochloride, histamine dihydrochloride, tyramine hydrochloride, tryptamine hydrochloride,

phenylethylamine hydrochloride, 1.7-diaminoheptane (as internal standard) from Sigma (St. Louis, MO, USA) were derivatized as described for sucuk samples. Acetone, ammonia (25%) and acetonitrile (HPLC grade) from Merck (Darmstadt, Germany) and perchloric acid from Reidel DeHaen (Germany) were used in the HPLC analysis. Nitrite was used in the form of sodium nitrite (Merck, Darmstadt, Germany).

Sucuk formulation and processing

Sucuk samples were produced according to the formula described by AOAC, 1997, with the following modifications. The formulation was composed of 90% beef, 10% tail fat, 2.5% salt, 1.5% garlic, 0.5% sucrose, 0.7% red pepper, 0.5% black pepper, 0.9% cumin, 0.25% pimento. After beef and tail fats were cut into small pieces, they were mixed with the respective spice mixture in a mixer. The obtained sausage mixture was ground through a grinder machine and separated into four experimental batches each of which contained different levels of dried mushrooms (DM): (1) control group added with 0% DM, (2) sausage group added with 0.5% DM, (3) sausage group added with 1% DM and sausage group added with 2% DM. Nitrite (NaNO_2 , 150 mg/kg) was added into each batch, at this stage, which was mixed again thoroughly to achieve homogeneity. All experimental batches were kept in a refrigerator at $4\pm 1^\circ\text{C}$ for 12 h. The starter culture combination was added and then all batches were further kept in the refrigerator for 4h. Each batch was immediately stuffed into collagen casings (38 mm, Naturin Darm, Germany) using a grinder machine (6.5kg capacity, Cem Brand, Istanbul, Turkey) to obtain sucuk baton samples after the collagen casings were immersed in 5% potassium sorbate solution a 30 min. Each sucuk baton weighed approximately 200g. Each baton was rinsed with water, and sprayed with 10% potassium sorbate solution. At the first 6h. of the ripening period, the relative humidity (RH) was adjusted to 60%, and then increased to $90\pm 3\%$. Following the first day, the RH was decreased 1 unit every day until the end of ripening period. The ripening temperature was $22\pm 2^\circ\text{C}$ at the first day and decreased to $18\pm 2^\circ\text{C}$ at the end of the ripening

period (12 days). Sampling was performed by randomly selecting two sample of each sucuk preparation 0., 3., 6., 9. and 12. days for microbiological, chemical and biogenic amines analysis during ripening period.

Proximate composition

Proximate analyses of the meat and dried mushroom were based on the procedures set by the (AOAC, 1997). The muscle composition was determined as follows: crude protein, using the Kjeldahl method with a 6.25 nitrogen-to-protein conversion factor; crude fat, by petroleum ether extraction using the Soxhlet method and a SOXTEC System; moisture by drying to constant weight at $105\pm 1^\circ\text{C}$; and total ash by incineration to constant weight at $500\pm 2^\circ\text{C}$ in a muffle furnace.

Microbiological analysis

LAB were enumerated in pour plates of De Man Rogosa Sharpe Agar (Merck, Germany), Micrococcus/Staphylococcus (Mannitol Salt Phenol Red Agar (Merck, Germany), Enterobacteriaceae (Violet Red Bile Dextrose Agar, Merck, Germany), Moulds-yeasts (Potato Dextrose Agar, Merck, Germany), Enterococci (Selenit-Barzley Agar, Merck, Germany). All microbial counts were converted to the base-10 logarithm of the number of colony forming units per g of sucuk samples (\log_{10} cfu/g).

Physicochemical analysis

pH value was measured using a pH meter (Lab Star pH; Schott LTD 6880, Germany). Water activity (a_w) measurements were performed with an Aqualab apparatus (Decagon AquaLab LITE, Water Activity Meter, WA,USA). Residual nitrite amounts were determined by the methods of (Taucmann, 1987). In this method, *N*-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride reagent, sulphanilamide reagent and nitrite standard solutions were used. The absorbance was determined at 540 nm. All measurements were duplicated.

Biogenic amine analysis

Biogenic amine contents of the samples were determined according to the method of Eerola et

al., 1993. Samples for biogenic amines determination were stored at -20 °C until analysis. Biogenic amines were extracted from 2.0 g samples with 0.4 M perchloric acid and detected as their dansyl derivatives by HPLC. The gradient-elution system was 0.1 M ammonium acetate as solvent A and acetonitrile as solvent B. The flow rate was 1.0 mL min⁻¹ and column temperature 40 °C. A 20 µL sample was injected into the column. Peaks were detected at 254 nm using the HPLC system equipped with a column Spherisorb ODS2 150A, 150x4.60 mm (Waters, Milford, MA, USA) and Agilent HPLC (1100 series, G1315A Diode Array Detector, MI, USA). The quantitative determinations were carried out by internal standard (1.7-diaminoheptane) from

(Sigma, St. Louis, MO, USA) method, using peak heights. Biogenic amine contents were expressed as mg/kg.

Statistical analysis

All data were subjected to variance analyses and differences between means were evaluated by Duncan's multiple range test significance ($P < 0.05$) using the SPSS statistic programme (SPSS, 1996). The results of statistical analysis are shown as mean values ± standard deviation in tables.

RESULTS AND DISCUSSION

The composition, microbiological properties and biogenic amine concentration of meat, dried mushroom and mixed spices are presented in Table 1.

Table 1. The results of chemical, microbiological analysis (log cfu/g) and biogenic amines analysis (mg/kg) of fresh meat and dried mushroom

	pH	Moisture (%)	Fat (%)	Protein (%)	Ash (%)	
Meat	5.74	69.32	10.20	18.78	1.02	
Dried Mushroom	6.46	10.72	6.56	30.80	14.34	
	LAB	M/S	Enterococci	Enterobacteriaceae	Mould/Yeast	
Meat	4.50	4.34	2.25	2.60	2.67	
Dried Mushroom	4.20	4.18	2.10	2.84	3.07	
Mixed Spices	3.17	6.31	2.30	3.30	4.06	
	Putrescine	Cadaverine	Histamine	Tyramine	Tryptamine	Phenylethylamine
Meat	10.44	17.40	ND	ND	7.82	48.25
Dried Mushroom	ND	ND	ND	ND	21.05	86.08
Mixed Spices	ND	ND	ND	ND	46.41	78.33

LAB: Lactic Acid Bacteria, M/S: *Micrococcus/Staphylococcus*, ND: Not Detected

Microbiological and physicochemical analysis

The statistical analysis results indicating the effect of mushroom addition on the biogenic amine formation and microbiological counts in the sucuk samples are shown in Tables 2, 3, 4 and 5. The concentration of mushroom had no significant effect on LAB, yeast-mould, *Enterococci* counts, moisture, aw, tryptamine and phenylethylamine contents ($P > 0.05$). But, it had a significant ($P < 0.01$) effect on *Micrococcus/Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* counts and pH. Putrescine, cadaverine, histamine and tyramine

were not detected in the sucuk samples, while phenylethylamine and tryptamine were detected in all the sucuk samples. Ripening period had significant ($P < 0.01$) effect on LAB, *Micrococcus/Staphylococcus* and *Enterococci* counts, pH, moisture and aw.

The results of Duncan test showed that the number of LAB was higher in control group (8.06 log₁₀ cfu/g) than in the groups added with mushroom (Table 2). But, the addition of mushrooms did not cause a change in the counts of LAB. The highest LAB count was determined

in the 3rd day of the ripening period (Table 3). The interaction of the mushroom concentration x ripening period resulted in a significant ($P < 0.01$) effect on LAB count. LAB count increased the 3rd day of the ripening period. This could result from the addition of starter cultures and their adaptation to the meat fermentation environment (Bover-Cid et al., 2001; Kaban and Kaya, 2006). This is an important result, because sucuk quality is closely related to the LAB counts (Genççelep et al., 2007). In the beginning of the ripening time, the inoculated meat mixtures contained levels of LAB ($>10^7$ cfu/g), confirming the effectiveness of the added starter culture (Table 3). In this respect, fermentation period was rapid and effective, bringing the pH to the levels lower than 4.6 after 3 days of ripening period. After the 3rd day, the LAB count did not change in control samples but it decreased in the samples added with mushroom (Fig. 1). However, the sucuks added with mushroom had approximately 1 log lower count of LAB than the control sucuk at the end of ripening period. LAB were also present after 3 days of ripening period, indicating the values $>10^8$ cfu/g. LAB counts increased during the initial days and decreased slightly during the last days of the ripening period. Similar results were found by Aksu and Kaya (2004) and Genççelep et al. (2007) who confirmed again that short acidification times were mainly due to the use of starter cultures, and therefore it was a necessary step to produce safer and higher quality

products (Coloretti et al., 2008). As presented in the Table 2, the LAB count of the control group sample was higher than that of the samples added with different concentrations of mushroom, indicating the effectiveness of the mushroom addition on the LAB counts of the sausage samples.

Micrococcus/Staphylococcus counts decreased until the 12th day of the ripening period (Table. 3). It was reported that these microorganisms were sensitive to pH changes and anaerobic media were tolerant to aw (Gökalp et al., 1999; Kaban and Kaya, 2006). The concentration of mushroom had no effect on the *Micrococcus/Staphylococcus* count except for the concentration of 2.0% where the highest counts were found (Table 2). The interaction of mushroom concentration x ripening period affected ($P < 0.01$) the *Micrococcus/Staphylococcus* counts (Fig. 2). The interaction decreased the *Micrococcus/Staphylococcus* count in sucuk, which might be explained by the fact that the microorganisms uses up all of the oxygen source mixed in the sausage matrix by chopping process at the first day of fermentation. This could have allowed the redox potential to reduce and made the nitrite more effective, thus restricting the growth of aerobic spoilage bacteria (Erkkila, 2001). Accordingly, Aksu and Kaya (2004) and Genççelep et al. (2007) was found similar results.

Table 2. The influence of addition of mushroom on microbiological status of sucuk (log cfu/g mean counts \pm SD) (n=10)

The levels of mushroom	Lactic acid bacteria	Micrococcus/Staphylococcus	Yeast-mould	Enterobacteriaceae	Enterococci
Control	8.06 \pm 1.01a	4.87 \pm 0.28b	3.19 \pm 0.27a	2.78 \pm 0.21d	2.78 \pm 0.37a
0.5%	7.77 \pm 0.82b	4.86 \pm 0.29b	3.73 \pm 1.45b	3.44 \pm 0.19c	2.61 \pm 0.43a
1.0%	7.76 \pm 0.67b	4.92 \pm 0.49b	3.97 \pm 0.27b	4.35 \pm 0.20b	2.74 \pm 0.63a
2.0%	7.82 \pm 0.50b	5.44 \pm 0.51a	3.73 \pm 0.63b	4.83 \pm 0.70a	2.81 \pm 0.62a

\pm Standard deviation. (a–d) Any two means in the same column having the same letters are not significantly different at ($P < 0.05$).

The addition of different levels of mushroom in sucuk batters had increased ($P < 0.01$) the *Enterobacteriaceae* count, and the lowest *Enterobacteriaceae* was found in the control sucuks

(Table 2). The initial counts of *Enterobacteriaceae* were 3.85 log cfu/g but fell below detectable levels (<2.00 log cfu/g) in all samples of sucuk on the 3rd day of ripening. This different behaviour

could be ascribed to the presence of the LAB presence in the starter culture; in fact, several species of lactobacilli have been shown to have capability of inhibiting the growth of many organisms involved in food spoilage by decreasing the pH values of the fermented products (Suzzi and Gardini, 2003). Accordingly, a rapid and sharp reduction in pH in the sausage samples is known to reduce the growth of the amine-positive microorganisms, particularly *Enterobacteriaceae* (Maijala et al., 1993; Bover-Cid et al., 2001). The

Enterobacteriaceae presence is an important factor in control of the histamine, cadaverine and putrescine formation in the fermented sausages (Maijala et al., 1993; Suzzi and Gardini, 2003; Kaban and Kaya, 2006). Aksu and Kaya (2004) and Gençcelep et al. (2007) reported that *Enterobacteriaceae* counts were found to be lower than <2.00 log cfu/g in sucuk on the 3rd day. In this study, we found similar results with these authors.

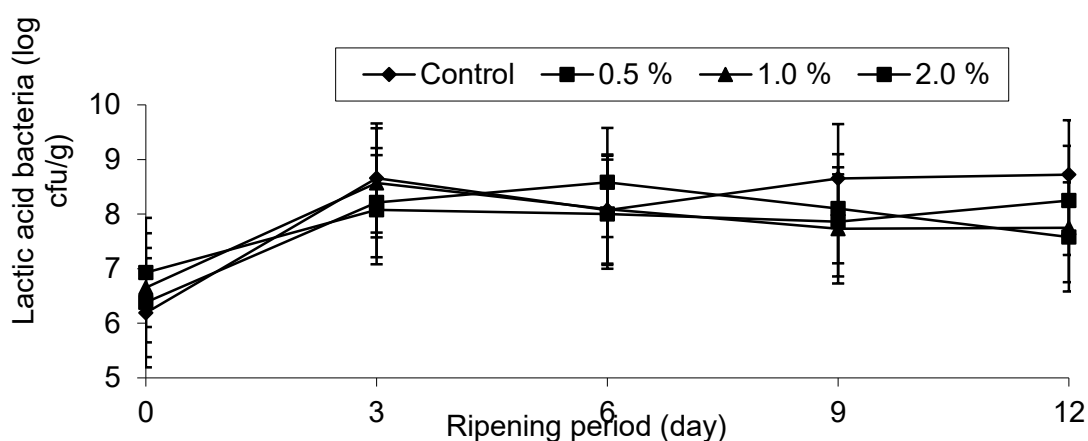


Figure 1. The effect of the interaction between mushroom x ripening period on lactic acid bacteria count.

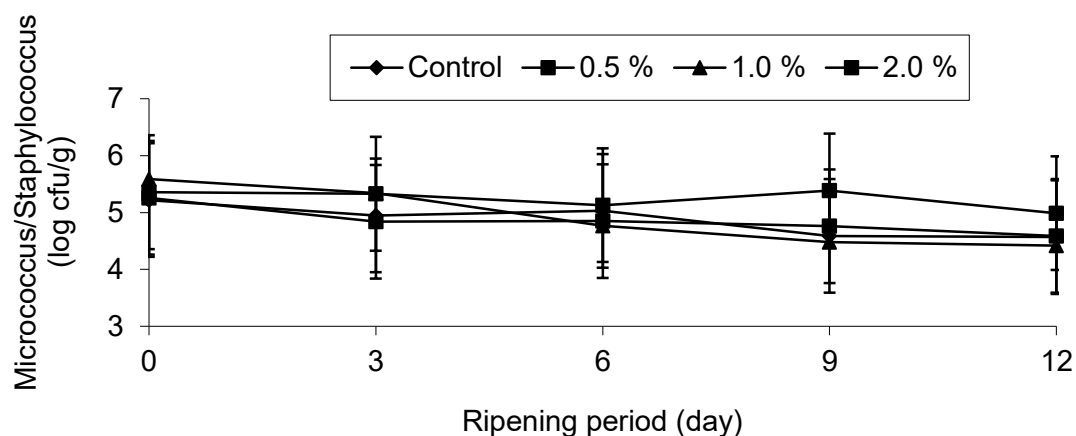


Figure 2. The effect of the interaction between mushroom x ripening period on Micrococcus /Staphylococcus count.

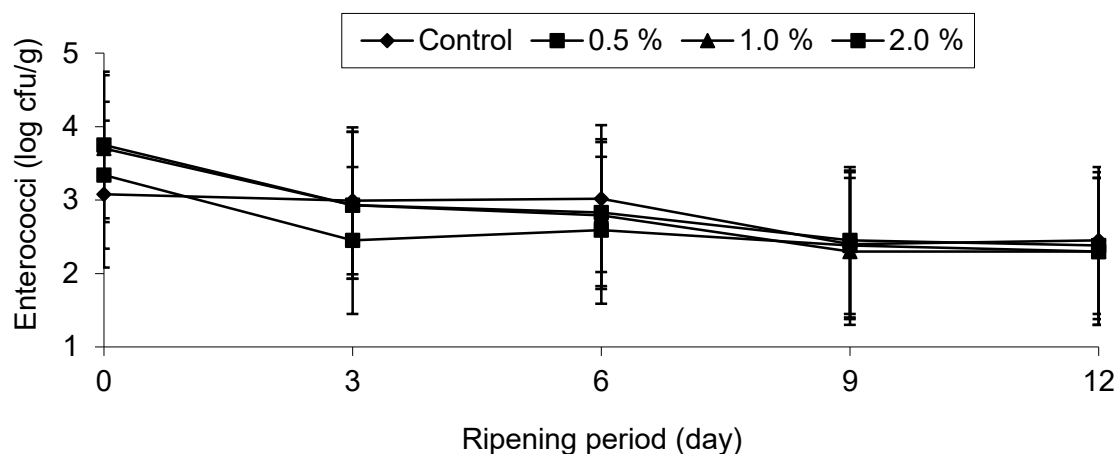


Figure 3. The effect of the interaction between mushroom x ripening period on Enterococci count.

It was determined that the *Enterococci* count was not changed by the addition of mushroom into the sucuk samples, (Table 2). It was also observed that the *Enterococci* count was decreased during ripening period (Table 3). Fig. 3 shows the effect of interaction of mushroom concentration x ripening period, indicating that the *Enterococci* count in the all samples started to decrease in the initial day of ripening time. However, no significant change water activity observed between the treatment groups in respect of the

Enterococci count in the end of ripening period. It can be concluded that mushroom did not show between effect on *Enterococci* species. In the initial time of storage period, these microorganisms were present at amounts of $>10^3$ cfu/g; however, they decreased to values of $<10^2$ cfu/g in batches in the prolonged ripening period (Table 3). The prevalence of lactobacilli in the sausage flora appeared to allow a partial control of the proliferation of enterococci (Coloretti et al., 2008).

Table 3. The influence of ripening period on microbiological status of sucuk (log cfu/g mean count \pm SD) (n=8)

Ripening period(day)	Lactic acid bacteria	Micrococcus/Staphylococcus	Yeast-mould	Enterobacteriaceae	Enterococci
0	6.54 \pm 0.31c	5.60 \pm 0.49a	3.16 \pm 1.32a	3.85 \pm 0.85a	3.46 \pm 0.31a
3	8.38 \pm 0.26a	5.11 \pm 0.26b	<2.00	<2.00	2.82 \pm 0.25b
6	8.18 \pm 0.25b	4.94 \pm 0.18c	<2.00	<2.00	2.81 \pm 0.18b
9	8.08 \pm 0.42b	4.80 \pm 0.42cd	<2.00	<2.00	2.23 \pm 0.29c
12	8.07 \pm 0.50b	4.64 \pm 0.23d	<2.00	<2.00	2.35 \pm 0.32c

\pm Standard deviation. (a–d) Any two means in the same column having the same letters are not significantly different at ($P < 0.05$)

The yeast and mould counts were found to be under the detectable level ($<\log 2.0$ cfu/g) after the 3rd day of ripening period (Table 3). This could have resulted from the aforementioned immersion of the sausage samples in the 5% potassium sorbate solution for 30 min, which

might indicate an antimicrobial effect on these microorganisms.

It was found that additives affected ($P < 0.01$) pH values of sucuks. Mushroom levels had very significant effects on the pH ($P < 0.01$) of sucuk

(Table 4). The lowest average pH value was determined in control groups and this was statistically different from that of mushroom groups ($P < 0.05$). It was determined that an increase in the mushroom concentration increased ($P < 0.05$) the pH values (Table 4). Because, pH values of mushrooms had determined much higher than meat (Table 1). Ripening period also had a significant effect ($P < 0.01$) on the pH (Table 5). The initial pH of all the sucuk samples was approximately 5.82 (Table 5). The pH values were found below 5.0 beginning from the 3rd day of ripening period. The pH levels started to decrease in all groups after 0 days of ripening (Fig. 4). The interaction of mushroom concentration x ripening period

decreased ($P < 0.01$) pH values (Fig. 4). As also can be seen in the Table 5, pH values decreased ($P < 0.01$) during the ripening period by ranging from 5.82 to 4.48. During this period, a rapid and sharp reduction in pH in sausages was reported to be due to the increase in growth rate of the LAB and other acid-producing bacteria (Gökalp and Ockerman, 1985; Lücke, 1994). pH is one of the important technological quality traits for the fermented meat products, in order to be considered “shelf-stable” the ultimate pH of finished products must be around 5.3 or lower (Ba et al., 2017). Therefore, these obtained pH results could consider enough to ensure the stability of the products.

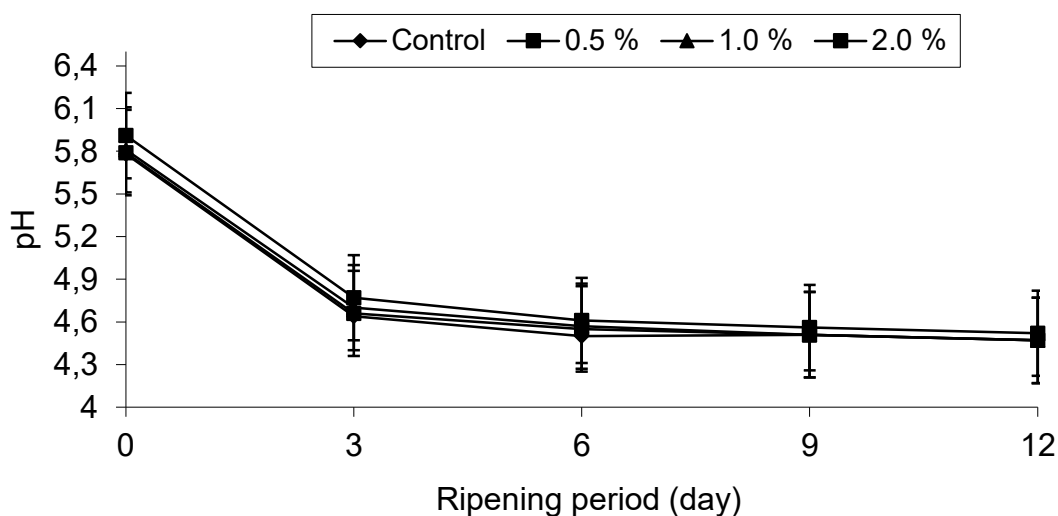


Figure 4. The effect of the interaction between mushroom x ripening period on pH level.

Water activity is considered as an important technological quality trait; food products with lower a_w -values usually have higher self-life stability and vice versa (Ba et al., 2017). mushroom addition did not affect the a_w and moisture values (Table 4); however they were decreased ($P < 0.01$) throughout the ripening period (Table 5). The a_w values decreased in all samples during the ripening period; at the beginning of the ripening, with a mean value of 0.974 ± 0.003 , and 0.888 ± 0.009 at the end of ripening (Table 5). The moisture values decreased in all samples during the ripening period; at the

beginning of the ripening, with a mean value of 60.51 ± 0.71 , and 39.63 ± 1.38 at the end of ripening (Table 5).

Nitrite are added into sucuk dough to attain the colour and aroma, to prevent the lipid oxidation, and to inactivate the unwanted microorganisms. Residual nitrite was not affected by neither the mushroom concentration, nor the ripening period (Tables 4, 5). The interactions of dried mushroom level and ripening period had also no significant effect on the residual nitrite levels.

Table 4. The influence of addition of mushroom on chemical properties and biogenic amines of sucuk (mean values±SD) (n=10)

The levels of mushroom	pH	Moisture (%)	aw	Nitrite (mg/kg)	TRY (mg/kg)	PHE (mg/kg)
Control	4.78±0.12c	49.83±8.3a	0.940±0.03a	4.01±0.50a	11.51±3.71a	54.07±19.04a
0.5%	4.80±0.13b	49.51±8.0a	0.940±0.03a	3.90±0.83a	12.95±4.10a	46.45±21.39a
1.0%	4.81±0.12b	49.95±7.4a	0.933±0.03a	4.10±0.54a	15.99±2.89a	50.80±15.42a
2.0%	4.87±0.15a	49.78±6.6a	0.941±0.03a	4.22±0.61a	14.33±3.89a	51.78±20.00a

±Standard deviation. TRY; Tryptamine. PHE; Phenylethylamine. (a–d) Any two means in the same column having the same letters are not significantly different at ($P < 0.05$)

Table 5. The influence of addition of mushroom on chemical properties and biogenic amines of sucuk (mean values±SD) (n=8)

Ripening period (day)	pH	Moisture (%)	aw	Nitrite (mg/kg)	TRY (mg/kg)	PHE (mg/kg)
0	5.82±0.05a	60.51±0.71a	0.974±0.003a	--	11.42±5.74a	42.96±22.77a
3	4.69±0.05b	54.10±1.05b	0.970±0.004a	4.52±0.37a	12.19±2.34a	45.35±17.69a
6	4.56±0.05c	49.81±0.46c	0.942±0.007b	4.45±0.19a	16.39±3.03a	51.93±19.93a
9	4.52±0.04d	44.39±1.06d	0.925±0.006c	4.27±0.35a	14.07±3.86a	53.20±19.27a
12	4.48±0.03e	39.63±1.38e	0.888±0.009d	4.19±0.69a	14.42±2.19a	58.62±13.47a

±Standard deviation. TRY; Tryptamine. PHE; Phenylethylamine. (a–e) Any two means in the same column having the same letters are not significantly different at ($P < 0.05$)

Biogenic amines

Tryptamine and phenylethylamine were found to be small amounts in this study samples. However, putrescine, cadaverine, histamine and tyramine were not detected in the sausage samples (data not present). Tryptamine and phenylethylamine levels in the sucuk samples were not affected by the mushroom concentration and ripening period (Tables 4, 5). The hygienic quality of raw materials is a crucial factor that could affect the biogenic amine content of final products. High levels of biogenic amines in final products are usually related with the high occurrence of microflora possessing amino acid decarboxylase activity (Brink et al., 1990; Halasz et al., 1994; Larotte-Moratalla, 2008). In this study, the using raw material were good hygiene quality (Table 1).

Especially, adding nitrite is important for the prevention of formation of putrescine. Genççelep et al. (2007) reported that the addition of sodium nitrite (75 mg/kg) with starter cultures was enough to reduce tyramine and cadaverine formation in sucuk. In this study, no tyramine and cadaverine content was detected in the sucuk

samples, which was thought to be due to the nitrite (150 mg/kg) and starter culture addition. In addition, *Enterobacteriaceae* was reported to influence histamine concentration in sucuks (Halasz et al., 1994; Durlu-Özkaya et al., 2001; Suzzi and Gardini, 2003), and these microorganisms were not found at detectable levels (<2.00 log cfu/g) in any samples of sucuk by the 3rd day of ripening period. For this reason, histamine might not have formed during the ripening period.

Several authors have shown that tyramine and putrescine are usually decreased by using a starter culture and nitrite in the production of sausages (Hernandez-Jover et al., 1997; Martuscelli et al., 2000; Bover-Cid et al., 2001). Genççelep et al. (2007) and Kurt and Zorba (2009) reported that the effect of nitrite was found to be significant on tyramine and putrescine, as tyramine values decreased with increasing nitrite levels. These could be attributed to the antimicrobial effect of nitrite on proteolytic organisms, which causes tyramine formation.

CONCLUSION

LAB counts increased and *Micrococcus-Staphylococcus* and *Enterococci* counts decreased during the ripening period. Increasing mushroom levels increased counts of *Enterobacteriaceae*. Both the mushroom and ripening period had significant effect on pH. The results from this study showed that mushroom had not effects on the formation of biogenic amines in sucuk. In addition, there could not be determined very important antimicrobial effects of the use of mushroom in sucuk production. The effects of the other features of mushroom sausage-related studies are recommended.

REFERENCES

- Aksu, M.İ., Kaya, M. (2004). Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Food Control*, 15, 591-595. doi:10.1016/j.foodcont.2003.09.006
- Ansorena, D., Montel, M.C., Rokka, M., Talon, R., Eerola, S., Rizzo, A. (2002). Analysis of biogenic amines in northern and southern European sausages and role of flora in amine production. *Meat Sci*, 61, 141-147.
- AOAC. (1997). *Official Methods of Analysis*, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Ayhan, K., Kolsarıcı, N., Alsancak-Özkan, G. (1999). The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish Soudjoucks. *Meat Sci*, 53, 183-188.
- Ba, H.V., Seo, H-W., Cho, S-H., Kim, Y-S., Kim, J-H., Ham, J-S., Park, B-Y., Seong, P-N. (2017). Effects of extraction methods of shiitake by-products on their antioxidant and antimicrobial activities in fermented sausages during storage. *Food Control*, 79, 109-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.034>
- Barros, L., Calhella, R.C., Vaz, J.A., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Estevinho, L.M. (2007). Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur Food Res Technol*, 225,151-156. doi:10.1007/s00217-006-0394-x
- Bobek, P., Ozdyn, L., Kuniak, L. (1995). The effect of oyster (*Pleurotus ostreatus*) its ethanolic extracts and extraction residues on cholesterol levels in serum lipoproteins and liver of rat. Hypocholesterolemic and anti-atherogenic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rabbit. *Nahrung*, 39, 98-99.
- Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C. (2001). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *Int J Food Microbiol*, 66, 185-189.
- Breene, W. (1990). Nutritional and medicinal value of speciality mushrooms. *J Food Protect*, 53, 883-894.
- Brink, B., Damink, C., Joosten, H.M.J.L., Huis in't Veld, J.H.J. (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol*, 11, 73-84.
- Chang, S.T. (1991). *Cultivated mushrooms*. Handbook of applied mycology (Vol. 3). Marcel Dekker. New York, USA, 240 p.
- Coloretti, F., Chiavari, C., Armaforte, E., Carri, S., Castagnetti, G.B. (2008). Combined use of starter cultures and preservatives to control production of biogenic amines and improve sensorial profile in low-acid salami. *J Agr Food Chem*, 56, 11238-11244. doi: 10.1021 /jf802002z
- Cook, N.C., Samman, S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *J Nutr Biochem*, 7, 66-76.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K., Vural, N. (2001). Biogenic amines produced by *Enterobacteriaceae* isolated from meat products. *Meat Sci*, 58, 163-166.
- Eerola, S., Hinkkanene, R., Lindfors, E., Hirvi, T. (1993). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *J Aoac Int*, 76, 575-578.
- Erkkilä, S. (2001). Bioprotective and probiotic meat starter cultures for the fermentation of dry sausages. PhD. Dissertation. Department of Food Technology. University of Helsinki. Finland. 210 p.

- Gao, Y.H., Tang, W.B., Gao, H., Chan, E., Lan, J., Li, X.T. (2005) Antimicrobial activity of the medicinal mushroom *Ganoderma*. *Food Rev Int*, 21, 211-229. <http://dx.doi.org/10.1081/FRI-200051893>
- Gençcelep, H., Kaban, G., Kaya, M. (2007). Effects of starter cultures and nitrite levels on formation of biogenic amines in Sucuk. *Meat Sci*, 77, 424-430. doi:10.1016/j.meatsci.2007.04.018
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Zorba, Ö. (1999). *Engineering of Meat Products Processing* (3rd Press) (Turkish). Atatürk Univ. Publ. No: 786. Faculty of Agric. No: 320. Erzurum. 439 p.
- Gökalp, H.Y., Ockerman, H.W. (1985). Turkish-type fermented sausage (soudjouk) manufactured by adding different starter culture and using different ripening temperatures. *Fleischwirtschaft*, 65, 1235-1240.
- Gökalp, H.Y., Yetim, H., Kaya, M., Ockerman, H.W. (1988). Saprophytic and pathogenic bacteria levels in turkish soudjoucks manufactured in Erzurum, Turkey. *J Food Protect*, 51, 121-125.
- Halasz, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci Tech*, 5, 42-49.
- Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogues, M.T., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (1997). Biogenic amine and polyamine contents in meat meat products. *J of Agri Food Chem*, 45, 2098-2102.
- Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima, K., Takada, K. (1999). Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). *Int J Antimicrob Ag*, 11, 151-157.
- Kaban, G., Kaya, M. (2006). Effect on starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. *Food Control*, 17, 797-801. doi:10.1016/j.foodcont.2005.05.003
- Kandaswami, C., Middleton, E. (1997). *Flavonoids as antioxidants*. In F. Shahidi (Ed.). Natural antioxidants. Chemistry, health effects and practical applications. 174-194. Champaign, IL: AOCS Press.
- Kaya, M. (1993). Effects of the use of different nitrite levels and starter cultures on the growth of *Listeria monocytogenes* during the manufacture technology of sucuk and other some qualitative characteristics of sucuk. PhD Thesis, (Turkish). Atatürk Univ. Graduate Institute of Science. Erzurum, Turkey.114s.
- Kaya, M., Gareis, M., Kofoth, C. (1998). Verhalten von *Escherichia coli* O157:H7 in türkischer Rohwurst. *Mittbl. Bundesanst. Fleischforsch. Kulmbach*. 142, 506-519.
- Kaya, M., Gökalp, H.Y. (2004). The behavior of *L. monocytogenes* in the sucuks produced with different lactic starter cultures. *Turk J Vet Anim Sci*, 28, 1113-1120.
- Kim, S., Fung, D.Y.C. (2004). Antibacterial effect of water-soluble arrowroot (*Puerariae radix*) tea extracts on foodborne pathogens in ground beef and mushroom soup. *J Food Protect*, 67, 1953-1956. doi: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-67.9.1953>
- Kurt, Ş., Zorba, Ö. (2009). The effects of ripening period, nitrite level and heat treatment on biogenic amine formation of “sucuk”—A Turkish dry fermented sausage. *Meat Sci*, 82, 179-184. doi:10.1016/j.meatsci.2009.01.008
- Latorre-Moratalla, M.L., Veciana-Nogue´s, T., Bover-Cid, S., Garriga, M., Aymerich, T., Zanardi, E., Ianieri, A., Fraqueza, M.J., Patarata, L., Drosinos, E.H., Laukova, A., Talon, R., Vidal-Carou, M.C. (2008). Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chem*, 107, 912-921. doi:10.1016/j.foodchem.2007.08.046
- Lee, S.J., Yeo, W.H., Yun, B.S., Yoo, I.D. (1999). Isolation and sequence analysis of new peptaibol, boletusin, from *Boletus spp.* *J Pept Sci*, 5, 374-378.
- Lücke, F.K. (1994). Fermented meat products. *Food Res Int*, 27, 299-307.
- Maijala, R., Eerola, H.S., Aho, A.M., Hirn, A.J. (1993). The effects of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *J Food Protect*, 56, 125-129.
- Manzi, P., Pizzoferrato, L. 2000. Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chem*, 68, 315-318.

- Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V., Pizzoferrato, L. (1999). Nutrients in edible mushrooms: an interspecies comparative study. *Food Chem*, 65, 477-482.
- Martuscelli, M., Crudele, MA., Gardini, F., Suzzi, G. (2000). Biogenic amine formation and oxidation by *Staphylococcus xylosus* strains from artisanal fermented sausages. *Lett Appl Microbiol*, 31, 228-232.
- Ruiz-Capillas, C., Jimenez-Colmenero, F. (2004). Biogenic amines in meat and meat products. *Crit Rev Food Sci*, 44, 489-599. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690490489341>
- Sahu, S.C., Green, S. (1997). *Food antioxidants: their dual role in carcinogenesis*. In S. Baskin & H. Salem (Eds.), *Oxidants, antioxidants and free radicals*. Taylor & Francis. Washington, USA, 330 p.
- Santos, M.H.S. (1996). Biogenic amines: Their importance in foods. *Int J Food Microbiol*, 29, 213-231.
- Shalaby, A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res Int*, 29, 675-690.
- SPSS, (1996). *SPSS for Windows Release 10.01*. SPSS Inc.
- Suzzi, G., Gardini, F. (2003). Biogenic amines in dry-fermented sausages: A review. *Int J Food Microbiol*, 88, 41-54. doi:10.1016/S0168-1605(03)00080-1
- Taucmann, F. (1987). *Methoden der chemischen analytik von fleisch und fleischwaren bundensanstalt für fleischforschung*. 80s, Klumbach.
- Uppuluri, V.M., Akella, V.S.S., Satyanarayana, K.V.S., Anita, M., Wenkui, L., Richard, B.V.B. (2006). Chemical and analytical screening of some edible mushrooms. *Food Chem*, 95, 58-64. doi:10.1016/j.foodchem.2004.12.018



**INFLUENCE OF OLIVE RIPENESS DEGREE AND HARVEST
YEAR ON CHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES
OF KİLİS YAĞLIK AND MEMECİK OLIVE OIL**

Elif Burçin Büyükgök^{1*}, Aytaç Saygın Gümüşkesen²

¹Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Olive Research Institute, Food Technology Department, Bornova, İzmir, Turkey

²Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Bornova, İzmir, Turkey

Received / Geliş: 17.08.2017; Accepted / Kabul: 31.10.2017; Published online / Online baskı: 23.11.2017

Büyükgök E.B., Saygın Gümüşkesen, A. (2017). Influence of olive ripeness degree and harvest year on chemical and sensory properties of Kilis Yağlık and Memecik olive oil. *GIDA* (2017) 42 (6): 799-806 doi: 10.15237/gida.GD17077

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of olive cultivar, olive ripeness degree and harvest year on the oil yield, oil quality, oxidative stability and sensory profiles of olive oils extracted obtained from Kilis Yağlık and Memecik cultivars. The effect of olive cultivar on the oil content was statistically significant and the oil content of Kilis Yağlık olive cultivar was determined to be higher than Memecik cultivar. Free fatty acidity, peroxide value, K₂₇₀ value, total phenol content, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acids and MUFA/PUFA ratio and sensory properties of olive oil samples were statistically significantly affected by cultivar of olive, ripening index and harvest year. While the spice aroma was recorded in the sensory analysis of Kilis Yağlık olive oil, flower and bitter almond aromas were perceived for Memecik olive oil. The ideal harvest time for the production of extra virgin olive oil was determined as at "medium maturity level" in december for both cultivars. Ripening index was measured as 3.96-3.96 and 4.09-3.87 in december for Kilis Yağlık and Memecik cultivars for two harvest years, respectively.

Keywords: olive ripeness degree, olive oil, sensory analysis, Kilis Yağlık, Memecik

**KİLİS YAĞLIK VE MEMECİK ZEYTİNYAĞLARININ
KİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNE ZEYTİNİN
OLGUNLUK DERESESİ VE HASAT YILININ ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, Kilis Yağlık ve Memecik çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının yağ verimi, yağ kalitesi, oksidatif stabilitesi ve duyuşal profilleri üzerine zeytin çeşidinin, zeytin olgunluk derecesinin ve hasat yılının etkisini araştırmaktır. Yağ içeriği üzerinde çeşidin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve Kilis Yağlık zeytin çeşidinin yağ içeriğinin Memecik çeşidinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Zeytin çeşidi, olgunlaşma indeksi ve hasat yılından; zeytinyağı örneklerinin serbest yağ asitliği, peroksit değeri, K₂₇₀ değeri, toplam fenol içeriği, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik, linolenik asit ile tekli doymamış yağ asitleri/çoklu doymamış yağ asitleri oranı ve duyuşal özellikleri istatistiksel olarak önemli derecede etkilenmiştir. Kilis Yağlık zeytinyağının duyuşal analizinde baharat aroması kaydedilirken, Memecik zeytinyağı için çiçek ve acı badem aromaları algılandı. Natürel sızma zeytinyağı üretiminde ideal hasat zamanı, her iki çeşit için de aralık ayında "orta olgunluk seviyesi" olarak belirlendi. Kilis Yağlık ve Memecik çeşitlerinde olgunlaşma indeksi aralık ayında iki hasat yılı için sırasıyla 3.96-3.96 ve 4.09-3.87 olarak ölçülmüştür.

Anahtar kelimeler: zeytin olgunluk derecesi, zeytinyağı, duyuşal analiz, Kilis Yağlık, Memecik

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ elifbuyukgok@hotmail.com

☎ (+90) 232 462 7073-136

☎ (+90) 232 435 7042

INTRODUCTION

Virgin olive oil is extracted from the drupes of olive trees (*Olea europaea* L.) by mechanical procedures and requires no refining before consumption. It contains volatile substances and other minor compounds responsible for the delicate and fragrant taste that is highly appealing to consumers. In the past few years, there has been a more widespread consumption of virgin olive oil, even in countries where it is not produced, such as Canada and Japan. The importance of virgin olive oil is linked to its unique flavor, nutritional features, positive impact on human health and also its high content of oleic acid a balanced contribution quantity of polyunsaturated fatty acids (Capino et al., 2001; Bendini et al., 2007).

The effects of harvest time and olive ripeness on the oil yields, oil quality, oxidative stability and sensory characteristics are of particular interest to the grower. During the ripening process, the weight, pulp-to-stone ratio, color, oil content, chemical composition of the oil and enzyme activities change dramatically in the fruits (Dag et al., 2011).

Fatty acid composition, levels of polyphenols, tocopherols, sterols and pigments are strongly affected by several agronomical factors such as variety, pedoclimatic production conditions, agronomic techniques, olive ripening stage, harvest year, and growing area (Beltrán et al., 2004a; Morello et al., 2004; Mousa et al., 2004, Youssef et al. 2009).

In general, as the olive fruit matures, the oil becomes less stable due to an increase in polyunsaturated fatty acids and a decrease in total polyphenol content. Polyphenols are key to olive oil quality since they contribute significantly to stability against oxidation (Mateos et al., 2003; Nieto et al., 2010). In addition, total phenols of olive oil are the main contributor to olive oil bitterness, astringency, and pungency (Gutierrez et al., 1999; Andrewes et al., 2003; Nieto et al., 2010; Sevim et al., 2013).

Olive growers use traditional harvesting dates, changes in fruit color and natural fruit drop as guidelines to begin the harvest period; however these parameters are not really valid because the

development and ripening process of olive fruit changes with the cultivar and environmental conditions and thus is different for each growing area and yield (Beltrán et al., 2004b). An appropriate index of fruit ripening must be established specifically for each individual olive cultivar (Rotondi et al., 2004).

The objectives of this study were to evaluate the effects of olive cultivar, olive ripeness and harvest year on the chemical and sensory properties of olive oil and to determine the optimal harvesting time and ripening index for Kilis Yağlık and Memecik cultivars. Kilis Yağlık cultivar is mainly located in the Southeastern Anatolia Region of Turkey that has high in oil content. Memecik is the most economically important cultivar in the Aegean Region of Turkey and constitutes more than 50% of olive production in that region.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Olive fruits were collected from olive trees of “Kilis Yağlık” and “Memecik” cultivars situated on the gen bank of Olive Research Institute of Ministry of Food, Agriculture and Livestock in Izmir, Turkey. Olive samples were harvested by hand at three different maturity levels (beginning in November, medium in December, and end in January) during the 2012/13 and 2013/14 successive harvest years. Each sampling was carried out in duplicate of two different olive trees in the same orchard (n=2).

Oil extraction

Olive oil extraction was performed using an Abencor system (MC2 Ingenieria y Sistemas, Sevilla, Spain) that simulates the industrial process of virgin olive oil at a laboratory scale. This system consists of three basic parts; a hammer mill, a thermo beater and a paste centrifuge. Deleafed and washed olive fruits were milled using a stainless steel hammer mill. The resulting olive paste was kneaded in a thermo beater at 28°C for 30 min at 50 rpm. Kneaded olive paste was centrifuged at 3500 rpm for 1 min to separate liquid phases (oil and vegetable water) from solid phase. The oil samples were filtered and stored at 4°C in darkness using amber glass bottles without headspace until analysis.

Ripening index

Ripening index (RI) of the olives was determined according to the method developed by Uceda and Frías (1975), based on the evaluation of olive skin and pulp colors. The procedure consists of distributing eight groups according to the color of 100 random fruits: intense green (group $N=0$), yellowish green (group $N=1$), green with reddish spots (group $N=2$), reddish-brown (group $N=3$), black with white flesh (group $N=4$), black with 50% purple flesh (group $N=5$), black with 50% purple flesh (group $N=6$), and black with 100% purple flesh (group $N=7$). The index is expressed as $\sum (N_i/n_i)/100$ where N is the group number, and n is the fruit number in that group. RI values range from 0 to 7 (Ramón-Morelló et al., 2004).

Oil content

The oil content of olives was determined by Soxhlet extraction and expressed as % on a dry weight basis according to International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 1979).

Free fatty acidity, peroxide value, UV spectrophotometric indices

Free fatty acidity (FFA, oleic acid %), peroxide value (PV, meqO₂/kg) and UV spectrophotometric indices (K_{232} and K_{270}) were determined according to the analytical methods described in the official journal of the European Communities, EEC regulation no. 2568/1991 and later modifications (EEC/2568/1991).

Fatty acid composition

The fatty acid composition of oil samples was determined by gas chromatography (HP 6890, Agilent Technologies, DE, USA) equipped with flame ionization detector (FID) using the fatty acid methyl ester (FAME) method described by International Olive Council (COI/T.20.Doc.no:17/1996) and International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 1987). The capillary column (DB-23, 30m*0.25 mm*0.25 μ m, Agilent J&W GC columns, USA) was used for analyses. Injector and detector temperatures were set to 250°C. The oven temperature was programmed from 170°C to 210°C with an increment of 2°C/min. The analyses were ended by maintaining the

temperature to 210°C for 10 min. The injection volume was 1 μ l.

Total phenols

Total phenols (TP) were determined spectrophotometrically by using Folin-Ciocalteu reagent (Gutfinger, 1981). 2.5 g of olive oil was dissolved in 5 ml n-hexane and phenol compounds extracted with 5 ml of a methanol:water mixture (60:40. v/v). Afterwards the solution was shaken vigorously by a vortex for 2 min and centrifuged at 3500 rpm for 10 min. 0.2 ml methanolic phase was put into flask and completed with distilled water to 5 ml then 0.5 ml Folin-Ciocalteu was added to mixture. After 3 min, 1 ml of sodium carbonate solution (35 %, w/v) was added, mixed and diluted with distilled water to 10 ml. The mixture allowed standing for 2 hours. The absorbance of the solution was measured after 2 hours against a blank sample by spectrophotometer (UV-1700, Shimadzu, Japan) at 725 nm. The results were expressed in mg caffeic acid/kg oil.

Oxidative stability

Oxidative stability was determined according to the Rancimat Method (Barmak et al., 2011) which evaluates the time (h) of resistance to oxidation of 3 g of oil samples exposed to a dry air stream (20 L h⁻¹ air) at 120°C from measurements taken using a Rancimat 743 apparatus (Metrohm, Herisau, Switzerland). The inflection point of the curve was assigned as the Induction Period (IP).

Sensory analysis

Sensory analysis of the olive oil samples was carried out according to the method of described by International Olive Council (COI/T.20/Doc. No 15/2007). Analysis was performed by 10-12 selected and trained panelists from the panel of Olive Research Institute of Turkey that accredited by Turkish Accreditation Institution (TURKAK) and recognized by the IOC.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using JMP 7.0 software package program. The assays were carried out in duplicate. The discussion of the results is based on the analysis of variance applied

to each parameter using the test of Student's *t* to compare means and thereby the effect of the cultivar, ripening index and harvest year.

RESULTS AND DISCUSSION

Oil content

The change in oil content of Kilis Yağlık and Memecik olive cultivars during ripening period for two harvest years was given in Table 1. It was found that the change in oil content of olive fruits with ripening index was statistically insignificant ($P > 0.05$), and that of the cultivars and harvest year were significant ($P < 0.05$). The oil content of

Kilis Yağlık cultivar was higher than Memecik cultivar. The oil content of native olive cultivars of the Southeastern Anatolian Region was generally higher than the other olive cultivars (Yavuz, 2008). The oil content of olives harvested in the second year was significantly higher than the first harvest year. That may be attributed to the more rainy days in the second harvest year. The oil content of olive fruits may vary depending on some parameters such as cultivar, harvest year, climate conditions, and harvest time (Lavee and Wonder 1991).

Table 1. Cultivar, ripening stage, harvest year, sample code, ripening index and oil content of olive fruits

Cultivar	Ripening Stage	Harvest Year	Sample Code	RI	Oil Content (%)	
Kilis Yağlık (K)	Beginning(B)	2012/13(1)	KB1	2.04	59.37	
	Medium(M)		KM1	3.96	64.89	
	End(E)		KE1	4.80	73.55	
	Beginning(B)	2013/14(2)	KB2	2.08	68.99	
			Medium(M)	KM2	3.96	70.02
			End(E)	KE2	4.88	70.64
Memecik (M)	Beginning(B)	2012/13(1)	MB1	1.96	38.98	
	Medium(M)		MM1	4.09	52.87	
	End(E)		ME1	4.75	50.28	
	Beginning(B)	2013/14(2)	MB2	1.92	56.40	
			Medium(M)	MM2	3.87	51.05
			End(E)	ME2	4.79	59.46

Quality characteristics

Free fatty acidity, peroxide value, and UV spectrophotometric indices (K_{232} , K_{270}) of olive oil samples were presented in Table 2. The changes in free fatty acidity, peroxide value ($P < 0.01$) and K_{270} ($P < 0.05$) with cultivars, ripening index and harvest year were statistically significant, while these parameters did not display a clear trend during ripening. All oil samples remained within the limits of free fatty acidity ($< 0.8\%$), peroxide value ($< 20 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$) and UV spectrophotometric indices ($K_{270} < 0.22$, $K_{232} < 2.5$) determined by International Olive Council for extra virgin olive oil (COI/T.15/NC No: 3/2015). It is obvious that olive fruits were hand-picked and then processed immediately,

olives were not exposed to hydrolytic and oxidative damage.

Fatty acid composition

The changes in mean values of palmitic (16:0), palmitoleic (16:1), stearic (18:0), oleic (18:1), linoleic (18:2), linolenic (18:3) acids and MUFA/PUFA ratio of olive oil samples were shown in Table 3.

The changes in palmitoleic, stearic, oleic, linoleic ($P < 0.01$), linolenic ($P < 0.05$) acids and MUFA/PUFA ratio ($P < 0.01$) of olive oil samples were significantly affected by cultivar, ripening index and harvest year (Table 3). Oleic acid was the most abundant fatty acid never less than 66.80% and it was generally increased with the exception of the second harvest year for Kilis

Yağlık olive oil. Kilis Yağlık olive oil also consists of higher oleic acid and lower linoleic acid and linolenic acid when compared to the Memecik oil. Oleic acid of Kilis Yağlık olive oil was found to be similar with the results of the study of Dıraman and Yüksel (2010).

All oil samples remained within the limits of fatty acid levels determined by International Olive Council for extra virgin olive oil (COI/T.15/NC No:3/2015).

Table 2. Quality characteristics of olive oil samples

Sample Code	FFA (oleic a. %)	PV (meq O ₂ /kg)	K ₂₃₂	K ₂₇₀	TP (mg caffeic a./kg)	IP (120°C, h)
KB1	0.60 ^a	13.55 ^a	1.60	0.15 ^{abc}	256 ^{de}	10.40
KM1	0.26 ^f	6.38 ^{bc}	1.45	0.10 ^e	321 ^{cd}	13.34
KE1	0.39 ^d	5.85 ^{cde}	1.56	0.12 ^{de}	239 ^{ef}	10.99
KB2	0.33 ^e	5.12 ^{ef}	1.82	0.16 ^a	593 ^a	13.98
KM2	0.52 ^{bc}	6.62 ^{bc}	1.78	0.15 ^{ab}	525 ^b	11.73
KE2	0.51 ^c	6.23 ^{bcd}	1.63	0.13 ^{cd}	332 ^c	8.60
MB1	0.22 ^g	6.81 ^b	1.56	0.13 ^{cd}	131 ^{gh}	6.95
MM1	0.40 ^d	3.28 ^g	1.49	0.13 ^{bcd}	300 ^{cde}	8.59
ME1	0.28 ^f	6.09 ^{bcd}	1.52	0.12 ^d	184 ^{fg}	8.23
MB2	0.54 ^b	4.63 ^f	1.39	0.13 ^{cd}	116 ^h	5.71
MM2	0.35 ^e	6.92 ^b	1.54	0.12 ^{de}	109 ^h	4.39
ME2	0.39 ^d	5.38 ^{def}	1.43	0.12 ^{de}	159 ^{gh}	5.80
	**	**	NS	*	**	NS

Values are mean of two measurements. Different letters in the same column indicate significant differences. NS, not significant, ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Table 3. Fatty acid composition and MUFA/PUFA ratio of olive oil samples

Sample Code	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	MUFA/PUFA
KB1	13.19	0.89 ^f	4.33 ^c	71.68 ^b	6.17 ^h	0.60 ^f	11.03 ^a
KM1	12.70	0.84 ^{fg}	4.52 ^b	71.73 ^{ab}	6.60 ^g	0.54 ^g	10.45 ^b
KE1	12.13	0.72 ^h	5.03 ^a	72.16 ^{ab}	6.49 ^{gh}	0.59 ^f	10.54 ^b
KB2	14.95	0.87 ^f	3.85 ^e	70.34 ^d	7.86 ^f	0.61 ^f	8.47 ^c
KM2	14.85	0.89 ^f	3.86 ^e	69.04 ^e	9.17 ^{cd}	0.54 ^g	7.28 ^d
KE2	14.08	0.80 ^g	4.13 ^d	67.88 ^f	11.12 ^b	0.54 ^g	5.94 ^f
MB1	14.57	1.33 ^a	1.77 ^g	68.54 ^{ef}	8.89 ^d	0.98 ^b	7.43 ^d
MM1	13.50	1.06 ^e	1.89 ^f	66.80 ^g	12.68 ^a	0.85 ^e	5.21 ^g
ME1	12.94	1.12 ^{cd}	1.86 ^f	71.48 ^{bc}	8.32 ^e	0.95 ^{bc}	8.14 ^c
MB2	14.65	1.19 ^b	1.77 ^g	70.74 ^{cd}	9.48 ^c	1.03 ^a	6.90 ^e
MM2	14.26	1.16 ^{bc}	1.85 ^f	71.78 ^{ab}	8.94 ^d	0.92 ^{cd}	7.45 ^d
ME2	13.48	1.08 ^{de}	1.87 ^f	72.52 ^a	9.06 ^d	0.88 ^{de}	7.45 ^d
	NS	**	**	**	**	*	**

Values are mean of two measurements. Different letters in the same column indicate significant differences. NS, not significant, ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

The ratio of MUFA/PUFA has a great importance because of the effects on nutritional properties and oxidative stability of olive oils. MUFA/PUFA ratio of Kilis Yağlık oil was found to be higher than that of Memecik oil, while this ratio was slightly decreased during the ripening period.

Total phenols

The amount of phenolic compounds in virgin olive oil is an important factor when evaluating its quality given that the natural phenols improve its resistance to oxidation, and to certain extent are responsible for its sharp bitter taste (Bendini et al., 2007). It is found that the total phenols in olive oil samples were significantly affected by cultivar, ripening index and harvest years ($P < 0.01$) (Table 2). The total phenols in Kilis Yağlık oil were higher than that of Memecik oil. In general, the amount of total phenols was found to be high in december (medium maturity level). The amount of total phenols gradually increased to the half-pigmentation stage and reached to the maximum level then rapidly decreased as the ripening proceeded (Salvador et al., 2000; Rotondi et al., 2004; Beltrán et al., 2005; Benito et al., 2012; Köseoğlu et al., 2016). The increase in the total phenols at the last harvest period observed in

some cases which is responsible for the corresponding increase in oxidative stability could be due to the reduction in water content observed with ripening; this can affect the extraction of partially soluble compounds (Salvador et al., 2000). The total phenols of the olive oils belonging the second harvest year were significantly higher than of the olive oils in the first harvest year ($P < 0.01$). Beltrán et al., (2005) and Benito et al., (2012) have also reported that there was a difference between years in terms of total phenols.

Oxidative stability

Oxidative stability was an important property of olive oil which was improved by synergist effects between phenolic and non-phenolic antioxidants and lipid composition. Induction time of oil samples was given in Table 2. It is found that the effect of cultivar and harvest year on the induction period was statistically significant ($P < 0.01$), and that of ripening index was insignificant ($P > 0.05$). Induction period of Kilis Yağlık olive oil was found to be higher than that of the Memecik olive oil. Moreover, the relationship of induction period and total phenols was statistically significant ($P < 0.01$, $R^2 = 0.82$) (Table 4).

Table 4. Pearson correlation coefficients

	Ripening Index	Induction Period	Total Phenols	MUFA/PUFA	Bitterness	Pungency
Ripening Index	1.00**	-0.07	-0.04	-0.15	-0.14	-0.16
Induction Period	-0.07	1.00**	0.82**	0.49	0.69**	0.79**
Total Phenols	-0.04	0.82**	1.00**	0.05	0.94**	0.91**
MUFA/PUFA	-0.15	0.49	0.05	1.00**	-0.04	0.10
Bitterness	-0.14	0.69**	0.94**	-0.04	1.00**	0.94**
Pungency	-0.16	0.79**	0.91**	0.10	0.94**	1.00**

** Correlation is significant at the 0.01 level ($P < 0.01$).

Sensory profile

The sensory profile of Kilis Yağlık and Memecik olive oils was shown in Figure 1 and Figure 2, respectively.

The olive oil samples were in the category of extra virgin olive oil according to European Union (EU/61/2011). No sensory defects were

perceived in any of the samples studied and the fruitiness intensity of olive oil samples were perceived as greater than "0" by the panelists. Fruitiness medians of samples ranged from 3.73 to 5.75. It is found that the cultivar and ripening index on the fruitiness intensity of olive oils were statistically insignificant ($P > 0.05$), that of harvest year was statistically significant ($P < 0.05$).

Fruitiness medians of the olive oils in the second harvest year were higher than the olive oil samples in the first harvest year. The fruitiness medians of the samples generally showed a slight decrease as maturation progressed. Gutiérrez et al., (1999)

have also reported that fruitiness intensity remained constant during maturation but a slight decrease has been observed on fruitiness of olive cultivar in the last phase of maturation.

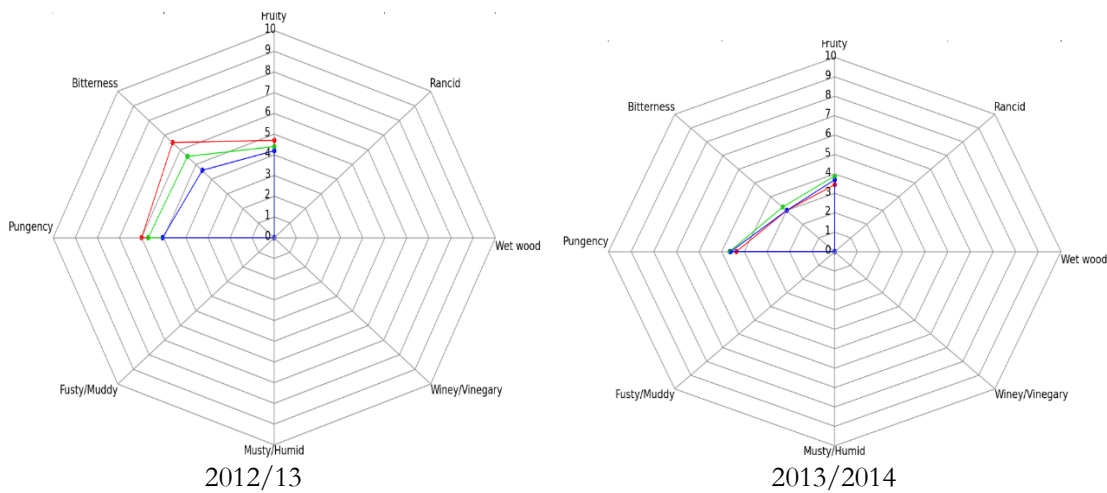


Figure 1. The changes in sensory profiles of Kilis Yağlık olive oil with ripening index and harvest year (—beginning in November, —medium in December, —end in January)

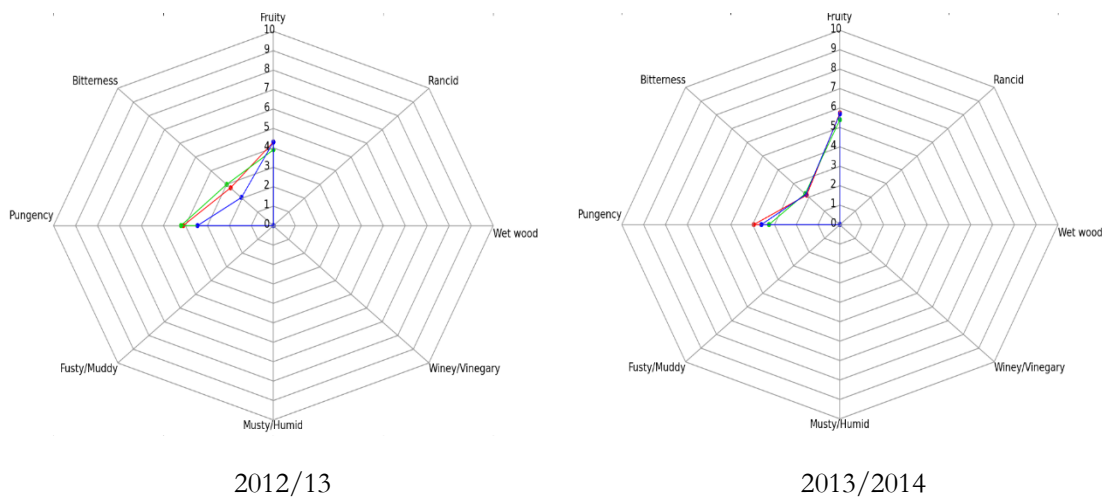


Figure 2. The changes in sensory profiles of Memecik olive oil with ripening index and harvest year (—beginning in November, —medium in December, —end in January)

The olive oil bitterness medians varied between 2.03 and 6.48. It is found that the effect of cultivar, ripening index, and harvest year on the bitterness intensity of olive oils was statistically significant ($P < 0.05$). The bitterness median of the

oil samples was the highest in at “the medium maturity level” in december. The bitterness median of the Kilis Yağlık olive oil was found to be higher than that of the Memecik olive oil.

The pungency medians of samples varied between 3.25 and 6.0. It is found that the effect of ripening index and harvest year on the pungency of olive oils was statistically insignificant ($P > 0.05$), that of cultivar was statistically significant ($P < 0.05$). Pungency median of the Kilis Yağlık oil was found to be higher than that of the Memecik oil. The pungency medians of the samples generally showed a slight decrease in both years as maturation progressed. Previous study on two important Spanish olive cultivars showed that pungency intensity of olive oil samples remained constant as the maturation progressed (Gutierrez et al., 1999).

Moreover, other positive attributes were perceived in olive oils by panelists such as floral, bitter almond and spicy. The floral and bitter almond attributes were more intense in the Memecik oil while the spicy attribute had higher intensity in the Kilis Yağlık oil.

In the present study, it was also observed a positive correlation between total phenols and the bitter ($P < 0.01$, $R^2 = 0.94$) and pungent ($P < 0.01$, $R^2 = 0.91$) sensory attributes (Table 4). Having knowledge about the chemical properties of olive oil allows us to have an idea about its sensory properties and vice versa (Mailer and Beckingham, 2006). The contribution of total phenol contents to the bitterness and pungency of positive sensory properties of olive oil has been shown in many studies (Rotondi et al., 2004; Nieto et al., 2010; Benito et al., 2012; Rivas et al., 2013). Benito et al., (2012) have reported that fruitiness, bitterness and pungency scores increased up to a maximum coinciding with the maximum total phenol content and then decreased. It is known that phenolic compounds are responsible for the bitterness and pungency of oils (Andrewes et al., 2003; Benito et al., 2012).

CONCLUSIONS

These results provide information on how different olive cultivars behave at different harvest time and harvest year during ripening. The results showed that, all of the olive oil samples were of extra virgin olive oil quality in terms of their chemical end sensory properties. The

changes in palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acids, MUFA/PUFA ratio and total phenols content of olive oil samples were significantly affected by cultivar, ripening index and harvest year. It was found that the effect of cultivar on sensory properties of olive oils such as bitterness and pungency was statistically significant. Bitterness medians of the oil samples were the highest at the medium harvest period. It was observed a positive correlation between total phenols and the bitter and pungent sensory attributes. The optimum harvest time for the production of extra virgin olive oil was determined as at “medium maturity level” in december for Kilis Yağlık and Memecik cultivars.

Acknowledgment: This work was supported by Republic of Turkey Ministry of Food Agriculture and Livestock, General Directorate of Agricultural Research and Policies. The authors are gratefully thanks to tasting panel members of İzmir Olive Research Institute for olive oils sensory analysis and to Mr. Mehmet Hakan his assistance on statistical analysis.

REFERENCES

- Andrewes P., Busch J.L.H.C., Joode T., Groenewegen A., Alexandre H. (2003). Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxylogstroside aglycon as a key contributor to pungency. *J. Agric. Food Chem.*, 51:1415–1420.
- Barmak A., Hajeb P., Rezaei Y., Akbarzadeh S., Mohebbi G.H. (2011). Oxidative stability of edible oils imported to Iran. *Am.-Euro. J. Agric. Environ. Sci.*, 1(1): 34-37.
- Beltrán G., Rio C.D., Sanchez S., Martinez L. (2004 a). Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from Cv. Picual. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3434–3440.
- Beltrán G., Rio C.D., Sanchez S., Martinez L. (2004b). Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process. *J. Sci. Food Agric.*, 84:1783–1790.

- Beltrán G., Aguilera M.P., Rio C.D., Sanchez S., Martínez L. (2005). Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chem.*, 89: 207-215.
- Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A.M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., Lercker G. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods, an overview of the last decade. *Molecules*, 12: 1679-1719.
- Benito M., Lasa J.M., Gracia P., Oria R., Abenoza M., Varonac L., Sánchez-Gimeno A.C. (2012). Olive oil quality and ripening in super-high-density Arbequina orchard. *J. Sci. Food Agric.*, 93:2207-2220.
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6028>.
- Caponio F., Gomes T., Pasqualone A. (2001). Phenolic compounds in virgin olive oils: influence of the degree of olive ripeness on organoleptic characteristics and shelf-life. *Eur. Food Res. Technol.*, 212: 329-333.
- Dag A., Kerem Z., Yogev N., Zipori I., Lavee S., Ben-David E. (2011). Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Sci. Hortic.*, 127: 358-366.
- Dıraman H., Yüksel F. (2010). Doğu Akdeniz ve Ege Bölgeleri Natürel Zeytinyağlarında Oksidatif Stabilité ve Yağ Asidi Bileşenleri. *Zeytin Bilimi*. 1 (1) 2010, 7-13.
- European Communities, Commission Regulation (EEC) No. 2568/1991. N.L. 248 of September 5th. Bruxelles: Publications Office of European Union.
- European Union (EU), Commission Regulation No. 61/2011. Amending Regulation No: 2568/91/EEC. Official Journal of the European Communities L23. 1-14.
- Gutfinger T. (1981). Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58: 966-968.
- Gutiérrez F., Jiménez B., Ruíz A., Albi A. (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: 121-127.
- International Olive Council (IOC). (1996). Determination of trans unsaturated fatty acids by capillary column gas chromatography. COI/T.20.Doc.no:17, Madrid.
- International Olive Council (IOC). (COI/T.20/15/2007). Sensory Analysis of Olive Oil Method for the Organoleptic Assessment of Virgin Olive Oil. COI/T.20/Doc. No 15/Rev.4 Madrid.
- International Olive Council (IOC). (COI/T.15/NC No: 3/2015). Trade Standart Applying to Olive Oils and Olive Pomace Oils. COI/T.15/NC No: 3/Rev: 8.
- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (1979). Commission on Oils, Fats and Derivatives. Standard methods for the analysis of the oils, fats and derivatives (6th ed.). Oxford, UK: Pergamon Press.
- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (1987). Standard methods for analysis of oils, fats and derivatives (7th ed.). Blackwell Scientific Publications IUPAC Method 2.301.
- Köseoğlu O., Sevim D., Kadiroğlu P. (2016). Quality characteristics and antioxidant properties of Turkish monovarietal olive oils regarding stages of olive ripening. *Food Chem.* 212:628-634.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.027>
- Lavee S., Wodner M. (1991). Factors affecting the nature of oil accumulation in fruit of olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *J. Hortic. Sci.*, 66(5): 583 -591.
- Mailer R., Beckingham C. (2006). Testing olive oil quality: chemical and sensory methods. *Primefact*. 231: 1-5.
- Mateos R., Dominguez M.M., Espartero J.L., Cert A. (2003). Antioxidant effect of phenolic compounds, α -tocopherol, and other minor components in virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 51:7170-7175.

- Morelló J.R., Romero M.P., Motilva M.H. (2004). Effect of the maturation process of the olive fruit on the phenolic fraction of drupes and oils from arbequina, farga, and morrut cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 6002–6009.
- Mousa Y.M., Gerasopoulos D., Metzidakis I., Kiritsakis A. (2004). Effect of altitude on fruit and oil quality characteristics of mastoides olives. *J. Sci. Food Agric.*, 71: 345-349.
- Nieto L.M., Hodaifa G., Pena L.L. (2010). Changes in phenolic compounds and rancimat stability of olive oils from varieties of olives at different stages of ripeness. *J. Sci. Food Agric.*, 90: 2393–2398.
- Rivas A., Sanchez-Ortiz A., Jimenez B., García-Moyano J., Lorenzo M.L. (2013). Phenolic acid content and sensory properties of two Spanish monovarietal virgin olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 1-10.
- Ramón-Morelló J., Paz-Romero M., José-Motilva M., 2004. Effect of the Maturation Process of the Olive Fruit on the Phenolic Fraction of Drupes and Oils from Arbequina, Farga and Morrut Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 2004.52: 6002–6009.
- Rotondi A., Bendini A., Cerretani L., Mari M., Lercker G., Toschi T.G. (2004). Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv. Nostrana di Brisighella extra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3649–3654.
- Salvador M.D., Aranda F., Gómez-Alonso S., Fregapane G. (2000). Quality characteristics of Cornicabra virgin olive oil. *Res. Adv. Oil Chem.*, 1: 31-39.
- Sevim D., Tuncay O., Koseoglu O. (2013). The effect of olive leaf addition on antioxidant content and antioxidant activity of “Memecik” olive oils at two maturity stages. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90:1359-1369. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-013-2282-4>.
- Uceda M., Frias L. (1975). Harvest date. evolution of the fruit oil content. oil composition and oil quality. *Proc Segundo Seminario Oleícola Internacional. Cordoba* 125–130.
- Yavuz H. (2008). Türk zeytinyağlarının bazı kalite ve saflık kriterleri'nin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi. AÜ Fen Bil Ens* 87.
- Youssef N.B., Zarrouk W., Carrasco-Pancorbo A., Ouni Y., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., Daoud D., Zarrouk M. (2009). Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chétoui virgin olive oil. *J. Sci. Food Agric.*, 10:90. 199-204. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3784>.

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN AFLATOKSİN B₁ BAĞLAYICI VE ANTİKANSEROJEN ÖZELLİKLERİ*

Şebnem Kurhan^{1**}, İbrahim Çakır²

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yenilikçi Gıda Teknolojileri Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bolu, Türkiye

²Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / Received: 11.10.2017; Kabul / Accepted: 06.11.2017; Online baskı / Published online: 23.11.2017

Kurhan, Ş., Çakır, İ. (2017). Laktik asit bakterilerinin aflatoksin B₁ bağlayıcı ve antikanserojen özellikleri. *GIDA* (2017) 42 (6): 809-820 doi: 10.15237/gida.GD17092

ÖZ

Laktik asit bakterileri starter kültür olarak gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan, insan mikrobiyotasının doğal üyeleridir. Son yıllarda laktik asit bakterileri üzerine yapılan araştırmalar mikotoksinleri, özellikle de aflatoksin B₁'i (AFB₁) biyolojik etkisizleştirme özellikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Elde edilen sonuçlar AFB₁'in ve metaboliti olan AFM₁'in bağlama özelliklerinin türler hatta suşlar arası farklılık gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmalar genellikle üstün potansiyeli olan suşları tespit etmeyi amaçlamaktadır. Laktik asit bakterileri AFB₁ ve AFM₁ gibi genotoksinleri ortamdaki uzaklaştırarak DNA-biyokoruyucu özellik göstermekte, dolayısı ile konakçı sağlığının devamlılığına katkı sağlamaktadır. Ayrıca yapılan *in-vitro* çalışmalarda laktik asit bakterilerinin kanser hücrelerine karşı anti-proliferatif etki göstererek, çoğalmalarını önlediği de ifade edilmektedir. Bu derlemede laktik asit bakterilerinin gıda matrisi ve besiyerinde AFB₁ ve AFM₁'i uzaklaştırma özelliklerinin mekanizması ayrıntılı olarak ele alınmış, ayrıca anti-kanserojen etkileri üzerine yapılan son çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterisi, mikotoksin, aflatoksin B₁, probiyotikler

AFLATOXIN B₁ BINDING AND ANTI-CARCINOGENIC PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA

ABSTRACT

Lactic acid bacteria that are used as starter cultures in food industry are natural members of human microbiota. In recent years, researches are focused on lactic acid bacteria's mycotoxin especially aflatoxin B₁ (AFB₁) biological detoxification features. The results obtained showed that AFB₁ and its metabolite AFM₁ binding property may change between even the strains are revealed. So studies are aimed to find the superior strain. Lactic acid bacteria show anti-genotoxic properties due to removal genotoxins such as AFB₁ and AFM₁ thus help to maintain host health. Also *in vitro* studies are reported that lactic acid bacteria showed anti-proliferative effect and avoid the growth of cancer cells. In this review, it is aimed to combine the removal mechanism of AFB₁ and AFM₁ from food matrix and medium by lactic acid bacteria extensively and give the current information about the anti-carcinogenic effect studies.

Keywords: Lactic acid bacteria, mycotoxin, aflatoxin B₁, probiotics

* Bu makale Şebnem Kurhan'ın "Endüstriyel Önemi Olan Bazı Laktik Asit Bakterilerinin DNA-Biyokoruyucu Özelliklerinin Belirlenmesi" isimli doktora tezinden hazırlanmıştır.

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author:

✉ sebnemkurhan@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000 / 4914

☎ (+90) 374 253 4945

GİRİŞ

İnsan mikrobiyotası “vücut boşluğunda yaşayan, sağlık ve hastalık bakımından belirteç olarak kabul edilmeyen kommensal, simbiyotik ve patojen mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk” şeklinde tanımlanmaktadır (Hemarajata ve Versalovic 2013). Bir başka tanımda ise insan mikrobiyotası, insan vücudunda bulunan canlı mikroorganizmaların (bakteri, maya, küf, protozoa ve virüs) genetik materyalleri olarak belirtilmektedir (Hair ve Sharpe, 2014).

İnsan vücudu, sahip olduğu hücre sayısından en az 10 kat daha fazla bakteriye ev sahipliği yapmaktadır. Bu bakterilerin büyük çoğunluğu gastrointestinal sistemde, çoğunlukla da kalın bağırsakta yer almaktadır (Hair ve Sharpe, 2014). Probiyotikler, yeterli miktarda tüketildiğinde konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanırlar. Probiyotik bakterilerin önemli özelliklerinden biri, sindirim sistemi boyunca farklı ortam koşullarına dayanım sağlayarak canlılıklarını koruyabilmeleridir. (Cebeci ve Gürakan 2003). Probiyotik türler içinde yer alan laktobasil ve bifidobakteriler, gıda ile ilişkili ve güvenli olarak kabul edilen türlerdir. Memeli mikrobiyotasında da bu bakteriler kommensal olarak bulunmaktadır (Adams ve Marteau, 1995). Bifidobakteriler, bağırsak mikrobiyotasında en fazla bulunan mikroorganizma gruplarından biri olup, feçeste bulunan hücre sayıları, laktobasillere oranla 3-4 log daha yüksektir. Fakat toksinleri bağlama çalışmalarında hem laktobasiller hem de bifidobakteriler oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.

Mikotoksinler çoğu aromatik halka yapısında, daha az kısmı da alifatik bileşiklerden oluşan, küflerin ürettiği sekonder metabolitler olup (Tunail, 2000), tahılların üretimi ve depolanması sırasında oluşan kimyasal ve termal olarak kararlı bileşiklerdir (Arıgül ve Zorba, 2014). Ağırlıklı olarak *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (Vinderola ve Ritieni, 2015) ve *Alternaria* (Tunail, 2000) türleri tarafından üretilmektedir. Mikotoksinler, doğrudan veya metabolitleri ile dolaylı olarak DNA'ya bağlanarak DNA'nın yapısını bozmaktadırlar (Kaya, 2014). Aflatoksin B₁

(AFB₁), birçok *Aspergillus* türü tarafından üretilen mikotoksin olup (Jebali vd., 2015), Kategori I olarak sınıflandırılan insan kanserojenidir (IARC, 2017).

Bu derleme ile yakın geçmişten günümüze yapılan çalışmalar ile en yaygın bulunan mikotoksin olan AFB₁'in, laktik asit bakterileri ve probiyotik bakteriler kullanılarak biyolojik yolla etkisizleştirme yöntemleri ile laktik asit bakterilerinin kanser hücrelerinin çoğalmasına karşı etkileri ve sonuçlarının bir araya getirilmesi amaçlanmıştır.

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

Laktik asit bakterileri çoğunluğu uzun, kısa çubuk veya kok formunda, tamamı Gram-pozitif, çoğunluğu mikroaerofilik fakat mutlak anaerobları da bulunduran, katalaz negatif ve sitokrom içermeyen mikroorganizma topluluğudur (Çakmakçı vd., 2011). *Sporolactobacillus inulinus* hariç hiçbiri spor oluşturmaz. *Carnobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Lactobacillus* türleri laktik asit bakterileri olarak tanımlanmaktadır (Tunail 2009). *Bifidobacterium* türleri ise her ne kadar filogenetik olarak bu türlerden bağımsız olsalar da biyokimyasal, fizyolojik ve ekolojik olarak benzerliklerinden dolayı laktik asit bakterileri olarak kabul edilmektedir (Adams ve Marteau, 1995). Laktik asit bakterileri glikoz katabolizmaları sonucu baskın ürün olarak laktik asit üretmeleri ile bilinen mikroorganizmalardır (König vd., 2009).

Gıda endüstrisinde oldukça fazla kullanım alanı bulan laktik asit bakterileri aynı zamanda sağlıklı bir insan bağırsak florasının da doğal üyeleridirler (Coconnier vd., 1997). *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. acidophilus* ve *L. salivarius* ağızdan rektuma kadar tüm mukozada yaygın olarak bulunan türlerdir. Gıdalarda *L. paracasei* ve *L. rhamnosus* daha çok süt ürünleri ile ilişkiliyken; *L. plantarum* daha çok bitki orijinli fermente gıda ürünlerinde bulunmaktadır (Molin, 2001).

Süt dışındaki bitki kökenli salamura zeytin, sauerkraut ve turşu gibi geleneksel birçok fermente ürün fazla sayıda laktik asit bakterisi

taşımaya rağmen, bu ürünler nadiren probiyotik bakteri içerirler (Cebeci ve Gürakan, 2003). Avrupa Birliği tarafından desteklenen proje kapsamında, 5 ülke ortaklığında yürütülen probiyotik zeytin projesi (Probiolives) kapsamında, 597 laktik asit bakterisi suşu taranmış ve probiyotik özelliğe sahip *L. pentosus* ve *L. plantarum* suşları ile deneme ölçeğinden, büyük ölçekli üretime geçilerek probiyotik zeytin üretiminde başarı sağlanmıştır (Tassou, 2014). Son zamanlarda probiyotik mikroorganizmalar arasına, *Enterococcus* ve algler de katılmıştır (Riaz Rajoka vd., 2017).

Probiyotik bakteriler, bağırsak epitellerine tutunarak, ürettikleri antimikrobiyal maddeler (bakteriyosin vb.) ve metabolik bileşenler ile diğer mikroorganizmaların gelişimini baskılamakta ve bağırsak mukozasındaki reseptör ve bağlanma bölgeleri için diğer mikroorganizmalarla rekabet oluşturmaktadır (Hemarajata ve Versalovic 2013). Probiyotikler, bağırsak mukozasında bağışıklık sistemini kontrol eden protein grubu olan sitokinler ve immunoglobulin A salgılanmasını teşvik ederek, hücre ortamını pro-inflamatuar konumundan, anti-inflamatuar duruma dönüştürerek gastrointestinal bağışıklığı düzenlemeye yardımcı olurlar (Contreras-Govea vd., 2013; Ducrotté vd., 2012). Probiyotikler ayrıca sindirilemeyen karbonhidratları, kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürerek kolonositler için besin oluşturmada ve bağırsak hareketini düzenlemektedir (Ducrotté vd., 2012). Kısa zincirli yağ asitlerden olan sodyum bütiratın; kolon kanser hücrelerinin gelişimini kısıtlayıp, fenotip farklılaşmasını ve apoptozu tetikleyerek kansere yol açan risk faktörlerini azalttığı bildirilmiştir (Longoria-García vd., 2016).

AFLATOKSİN B₁ VE DETOKSİFİKASYONU

Aflatoksin B₁, birçok *Aspergillus* türü tarafından üretilen mikotoksindir (Jebali vd., 2015). Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC) tarafından AFM₁ 1993 yılından beri 2B sınıfı, aflatoksinler ise 2012 yılından beri birinci sınıf kanserojenler grubunda yer almaktadır (IARC, 2017). AFB₁, aflatoksin türlerinin en kanserojeni olup, memeliler tarafından tüketildiğinde

gastrointestinal sistemde emilerek kanda, süte ve dolayısıyla süt ürünlerinde AFB₁'in hidrosillenmiş metaboliti olan AFM₁'e dönüşmektedir (Jebali vd., 2015). AFB₁'in sitokrom c (CYP450) 3A4 enzimi tarafından AFQ₁ ve epoksi formuna; CYP450 1A2 tarafından da AFM₁ ve epoksi formuna dönüştürülebildiği rapor edilmiştir (Huang vd., 2017). Maruz kalınan AFB₁'in %1,2'si ile %2,2'si AFM₁'e dönüştürüldükten sonra idrar ile atılmaktadır (Redzwan vd., 2016). AFM₁, AFB₁'in aksine metabolik aktivasyona ihtiyaç duymadan, insan hücrelerine sitotoksik etki göstermektedir (Serrano-Niño vd., 2013). IARC tarafından, AFM₁'in kanserojen etkisinin AFB₁'e göre 10 kat daha düşük olduğu belirtilmektedir (IARC, 2002).

Mikotoksin bulunan gıdaların tüketilmesi akut ya da kronik (mutajenik, teratojenik, östrojenik ve bağışıklığı baskılayıcı) etkilerin görülmesine neden olabilmektedir (Taheur vd., 2017). Bağırsaklar, gıdalardaki bulaşanların karşılaştığı ilk bariyer olduğundan diğer organlara göre daha yüksek konsantrasyonda bulaşana maruz kalmaktadır. Plazmadaki mikotoksin konsantrasyonunun düşürülmesi ise ancak bağırsaktan emilimlerinin azaltılması ile mümkündür (Gao vd., 2016). Beslenme yolu ile alınan AFB₁, on iki parmak bağırsağından difüzyon ile emilmekte ve bu emilim tüm bağırsak sistemi boyunca devam etmektedir. Emilimin ardından AFB₁ kana karışmakta ve diğer organlara ulaşmaktadır. Aflatoksin B₁ toksik etkisini göstermek için metabolik aktivasyona ihtiyaç duymaktadır (Girgin vd., 2001). Karaciğerde CYP450 enzimleri ile metabolize edilen AFB₁, AFB₁ ekzo-8,9-epoksite dönüştürülmekte, buradan sonra ya vücuttan atılmakta ya da DNA ve biyolojik moleküller gibi diğer biyolojik moleküllerle etkileşime girmektedir (Redzwan vd., 2016). AFB₁-epoksitinin ise yalnızca *ekzo*- izomeri genotoksiktir. *Ekzo*-epoksit yapısındaki AFB₁, su içinde oldukça kararsız olduğundan, DNA ile etkileşime girerek yüksek miktarda DNA-bağlanma ürünleri oluşturur. En sık oluşan AFB₁-DNA bağlanma ürünü, DNA'da guaninin 7 numaralı azotuna bağlanmış 8,9-dihidro-8-(N⁷-guanil)-9-hidroksi-AFB₁ (AFB₁-N⁷-Gua)'dir. (Kaya 2014; Huang vd., 2017). Karaciğerde

metabolize edildikten sonra, DNA'da guanine bağlanan AFB₁, tümör baskılayıcı gen P53'ün 249. kodonunda mutasyona yol açmaktadır (El-Nezami vd., 2006).

Hayvanların kronik olarak aflatoksinlere maruz kalması, bağışıklık sisteminin baskılanmasına yol açmaktadır. Ayrıca oluşturduğu bağlanma ürünleri nedeniyle protein metabolizmasını etkilemekte ve kritik öneme sahip mikrobelerin kullanılmasını engellemektedir (Istiqomah vd., 2017).

Gıda ve yemlerde bulunan aflatoksin seviyelerinin kontrol altına alınması için iki yöntem bulunmaktadır. Birinci yöntem küf kontaminasyonu ve gelişimini önlemek, ikinci yöntem ise kontamine ürünlerin detoksifikasyonudur (Elsanhoty vd., 2014). Küflerin ve mikotoksinlerin kontrolü için geliştirilen fiziksel ve kimyasal yöntemler yetersiz kalmakta ve gıdanın organoleptik yapısında değişikliğe ve toksik madde kalıntılarının oluşmasına yol açtığı için tercih edilmemektedir (Król vd., 2017). Aflatoksin molekülünün detoksifikasyonu, yapısında bulunan difuran halkasının ayrılması ile gerçekleşmektedir. Mikrobiyal yolla aflatoksinlerin yıkımı, bu halkanın ayrılmasını hedeflemektedir (Adebo vd., 2017).

Son yıllarda AFB₁'in biyolojik detoksifikasyonu ilgi ve önem kazanan bir çalışma alanı olmaya başlamıştır. Yapılan çalışmalarda birçok mikroorganizmanın, bakteri, maya, küf, aktinomisetler ile alglerin, gıda ve yemlerdeki aflatoksini parçalama yetenekleri araştırılmıştır. Bazı küfler ile küf sporlarının aflatoksini kısmen yeni floresan özellikteki bileşenlere dönüştürdüğü bazılarının da aflatoksinin küçük bir miktarını uzaklaştırdığı ya da parçaladığı bildirilmiştir (Ciegler vd., 1966).

Aflatoksinlerin detoksifikasyonunda en çok çalışılan bakteri grubu laktik asit bakterileridir. Gıdaların fermantasyonunda starter ve gıdaların işlenmesinde katkı olarak kullanılmalrı, toksinlere yüksek afinite göstermeleri nedeniyle ilgi odağı olmuşlardır (Adebo vd., 2017). Laktik

asit bakterileri ile AFB₁'in indirgenmesi, bu bakterilerin toksini hücre duvarları yüzeyinde tutması/bağlaması yoluyla gerçekleşmektedir. Metabolize etmeleri ya da degrade etmeleri söz konusu olmamakla birlikte bağlanma tersinir olup, bu durum kontamine besiyeri içerisinde bulunan AFB₁'i tamamen ortamdaki uzaklaştırmasını engellemektedir (Guan vd., 2008). Ancak Wu vd. (2009) tarafından, AFB₁'in, yoğurt ve süt ürünleri fermantasyonu süresince AFB_{2a}'ya detoksifiye edildiği bildirilmiştir. Laktik asit bakterileri ve bifidobakterilerin süt ürünlerinde kullanılan suşları tarafından AFB₁'in bağlandığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Elsanhoty vd., 2014). Elsanhoty vd. (2013) yaptıkları çalışmada laktik asit bakterileri ve bifidobakterilerin bazı suşlarının hem canlı hem de ölü hücrelerin, AFB₁'in MRS Broth içindeki başlangıç konsantrasyonunu düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Aflatoksinler kumarin türevlerinden oluşmaktadır. Bazı mikroorganizmalar kumarini karbon kaynağı olarak kullanabilmekte veya metabolize edebilmektedir (Guan vd., 2008; Xia vd., 2017). Laktik asit bakterilerinin yanı sıra *Nocardia corynebacterioides* (eski adıyla *Flavobacterium aurantiacum*) (Ciegler vd., 1966), *Bacillus* türleri (*Bacillus clausii*, *B. subtilis*, *B. lentus*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. firmus*) (Cenci vd., 2008), *Stenotrophomonas maltophilia* (Guan vd., 2008), *Pseudomonas* türleri (Sangare vd., 2014), *Bacillus subtilis* JSW-1 (Xia vd., 2017) türleri ise hücreleri ya da sekonder metabolitleri sayesinde AFB₁'i parçalayabilmektedir. *Flavobacterium aurantiacum* sıvı besin ortamından ve gıda ürünlerinden toksik yan ürün oluşturmadan aflatoksini önemli miktarda uzaklaştıran tek mikroorganizma olarak rapor edilmiştir (Ciegler vd., 1966).

Laktik asit bakterileri ve probiyotiklerin genotoksin bağlama etkinlikleri; suşa, mutajen konsantrasyonuna, mutajenin kimyasal yapısına, bakterinin gelişme fazına, ortam pH'sı ve iyon gücüne, inkübasyon/fermantasyon süresi ve ortam tipine bağlı olarak değişmektedir (Khorshidian vd., 2016).

Serrano-Nino vd. (2013) tarafından, *L. acidophilus* NRRL B4495, *L. reuteri* NRRL-B14171, *L. rhamnosus* NRRL B-442, *L. johnsonii* NRRL B-2178 ve *B. bifidum* NRRL B-41410 suşları kullanılarak, yapay sindirim sistemi içerisinde AFM₁'i uzaklaştırma özellikleri araştırılmıştır. Sindirim işleminden sonra en yüksek bağlama etkinliği *B. bifidum* NRRL B-41410, en düşük bağlama etkinliği de *L. acidophilus* NRRL B-4495 suşunda gözlenmiştir. Zeytinlerin depolanmaları süresince çoğalan küfler tarafından üretilen AFB₁ miktarının *L. plantarum* ile azaltılması çalışmasında; elektron mikroskopundan alınan görüntüler ise, *L. plantarum*'un zeytin yüzeyinde biyofilm oluşturarak, yarattığı oksijen rekabeti nedeniyle maya ve küflerin çoğalmasını engellediği ifade edilmektedir (Kachouri vd., 2014). Bir diğer çalışma ise, *L. plantarum* ve *L. lactis*'in ortamda bulunan serbest AFB₁'i bağlama özelliği araştırmış; *L. plantarum*'un (%46) *L. lactis*'e (%27) göre daha üstün özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu iki laktik asit bakterisi ayrı tüplerde üretilip sonradan birleştirildiğinde, uzaklaştırdıkları AFB₁ miktarı %59'a çıkarken; başlangıçtan itibaren birlikte inkübe edilen bakterilerin ise %81 oranında AFB₁'i bağladığı ayrıca bu ortak kültürde üretilen bakteriyosinlerin de AFB₁'i bağladığı (%90) görülmüştür (Sezer vd. 2013). Kefir danelerinin süt içinde çeşitli mikotoksinlerin biyotransformasyonu üzerine çalışılmış ve dane florasında yer alan mikroorganizmaların en yüksek oranda AFB₁'i (%31) bağladığı ve herhangi bir biyotransformasyon ürünü oluşturmadığını belirtmişlerdir (Taheur vd., 2017).

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİKANSEROJEN ÖZELLİKLERİ

Düzenli olarak gıda ve çevresel kanserojenlere maruz kalmanın kaçınılmaz olduğu durumlarda antimitojenik maddeler, mutajenlerin etkisiz hale getirilmesinde hayati rol oynamaktadır. Beslenme, antimitojenik maddelerin alınmasında en doğal yöntemlerden biridir. Bunun yanı sıra, probiyotik, prebiyotik ve simbiyotikler bakımından zengin gıda takviyesi, gıda kaynaklı mutajenlerin uzaklaştırılmasında en etkili biyolojik yöntem olarak kabul edilmektedir (Raman vd., 2013).

Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ya da cerrahi müdahalelerin başarılı olma oranları;

oluşturdukları yan etkiler ve ölüm yüzdelerinin yüksek olması nedeniyle halen tartışmaya açık bir konudur. Bu nedenle son zamanlarda çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasının kolon kanserlerindeki fonksiyonel özelliklerinin ortaya çıkarılmasında yoğunlaşmaktadır (Raman vd., 2013).

Bağırsak mikrobiyotasının doğal üyesi olan probiyotikler mutajen bağlama, parçalama ve mutajenezi önleme, pro-kanserojenlerin zararlı, toksik ve reaktif kanserojenlere dönüşmesini engelleme, prebiyotiklerin fermantasyonu ile bütirat, propiyonat ve asetat gibi kısa zincirli yağ asitleri oluşturarak bağırsak pH'sını düşürme, anti-enflamatuar moleküllerin salgılanarak konukçu bağışıklık sistemini geliştirme, apoptozu indüklemeye, tümör hücrelerine anti-proliferatif etki gösterme ve kanser hücrelerinin farklılaşmasını sağlama gibi farklı mekanizmalar sayesinde anti-kanserojen etki göstermektedir (Adebola vd., 2013; Raman vd., 2013; Wang vd., 2014; Ambalam vd., 2016). Probiyotikler, pH düşüşüne neden oldukları için *E. coli* ve *Clostridia* grubuna ait bakterilerin gelişimini inhibe ederek, pro-kanserojenlerin kanserojen maddelere dönüşümüne neden olan β -glukoronidaz gibi bakteriyel enzimlerin miktarını azaltmaktadır (Longoria-Garcia vd., 2016). Yapılan araştırmalarda mikotoksinlerin hücre yüzeyine adsorbe edilerek; polisiklik aromatik hidrokarbonlar içerisinde en mutajen olan benzo[*a*]pirenin ise hücre duvarındaki peptidoglukan katmanda tutularak uzaklaştırıldığı belirlenmiştir (Zhao vd., 2013).

Lifli besinlerin fermantasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri pH'yı düşürüp laktik asit bakterilerinin gelişimi için uygun koşulları sağlamakla beraber patojenlerin gelişimini engellemekte ve kolon hücreleri için de karbon kaynağı sağlamaktadır (Vinderola ve Ritieni 2014). Ayrıca düşük pH hücrelerde sentezlenen biyotransformasyon enzimlerinin miktarını düşürerek pro-kanserojenlerin, kanserojen ürünlere dönüşmesi engellemektedir (Raman vd., 2013). Probiyotiklerin en yaygın bilinen faydası; antibiyotik kullanımı nedeniyle bozulan mikrobiyotayı yeniden düzenleme özellikleridir (Gamallat vd., 2016).

Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, bazı probiyotik bakterilerin aflatoksin B₁ ve diğer kanserojenler ile sıkı kompleksler oluşturabildiğini göstermektedir (El-Nezami vd., 2006). Probiyotiklerin bu özellikleri türe ve hatta bazen suşa özel olabilmektedir (So vd. 2017).

Laktik asit bakterileri, farklı yöntemlerle AFB₁'in oluşumunu engellemekte veya kontamine gıda ve yemlerde AFB₁'in miktarının azaltılmasını sağlamaktadırlar. Özellikle gıdalarda kullanılan koruyucu kültürler, küflenmenin önüne geçerek muhtemel AFB₁ üretiminin de önüne geçebilmektedir. Fermantasyon ile birlikte ortamda çoğalan laktik asit bakterilerinin bazı suşlarının canlı ve ölü hücreleri, pH'dan bağımsız olarak (Topcu vd., 2010) ortamda bulunan AFB₁ miktarını azaltabilmektedir.

Walia vd. (2014) ise, Kuzeybatı Himalaya bölgesinde üretilen geleneksel fermente gıdalardan izole edilen 11 yerli muhtemel probiyotik bakteri ve 6 mayayı standart genotoksinler olan 4-nitokinolin-1-oksit (4-NOQ) ve furazolidone ile birlikte inkübe ettikten sonra kısa dönemli genotoksisite testlerini (SOS-Chromotest ve Ames Test) uygulamışlardır. 8 laktik asit bakterisinin, standart genotoksinler, 4-NOQ ve furazolidone'u %75 oranında inhibe ettiğini belirlenmiştir. En yüksek antijenotoksik etkiyi ise *Enterococcus faecium* ve *plantarum* göstermiştir. Maya izolatlarının antijenotoksik aktivitesi ise bakterilere göre daha düşük (<%50) olmuştur (Walia vd. 2014). Canlı *L. rhamnosus* Vc ile ko-inkübe edilen MNNG'nin genotoksisitesinin %69 (SOS-testi), mutajenesitesinin ise %61 (Ames testi) düştüğü belirlenmiştir (Pithva vd., 2015).

L. plantarum MON03 (LP) hücreleri ile birlikte 24 saat inkübe edilen AFM₁'in, süre sonunda miktarının %93 azaldığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra genetik olarak aynı (Balb/c) farelerde mikronükleus oluşumu ve kromozomal anomalinin belirlenmesi için öğünlerine ilave edilen AFM₁, LP ve AFM₁ + LP ile beslenen farelerde yalnızca AFM₁ uygulamasının vücut ağırlığını önemli miktarda azalışa yol açtığı; sitotoksik ve genotoksik etkisi nedeniyle, farelerin

kemik iliği hücrelerinde polikromatik eritrosit, mikronükleus oluşumu ve kromozomal anomalilerin görülme sıklığının arttığı belirlenmiştir. Eş zamanlı çalışmada ise, *L. plantarum*'un AFM₁ ile uygulandığı farelerde, AFM₁'in etkilerini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. AFM₁+LP ortak inkübasyonunun kullanıldığı farelerde, kontrol grubu fareler ile araştırılan parametreler bakımından önemli fark gözlenmemiştir (Ben Salah-Abbès vd., 2014). Ismail vd. (2017) tarafından yürütülen çalışmada ise yapay olarak AFM₁ ile kontamine edilmiş süt örneklerinde, 10¹⁰ KOB/mL konsantrasyonunda ilave edilen *L. helveticus*'un AFM₁'in tamamını bağladığı belirlenmiştir. Bu yolla süt ve süt ürünlerinde AFM₁'in güvenli seviyeye indirilebileceği ifade edilmektedir (Ismail vd., 2017). Huang vd. (2017) tarafından yürütülen çalışmada, geleneksel Çin yiyeceği Tofu'da izole edilmiş 10 farklı suşun AFB₁ bağlama özellikleri araştırılmış ve ölü hücreleri de yüksek miktarda AFB₁ bağlayabilen *L. plantarum* C88 üstün suş olarak seçilmiştir. AFB₁ biyotransformasyonunun, *L. plantarum* C88 tarafından engellenip engellenmediğinin doğrulaması, farelerde CYP 1A2 ve CYP 3A4 ekspresyon seviyelerine bakılarak kontrol edilmiş ve canlı *L. plantarum* C88 ile beslenen farelerde CYP 1A2 ve CYP 3A4 ekspresyonunun, AFB₁ kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca *L. plantarum* C88, feçes yoluyla AFB₁'in atılmasını arttırmış, idrarda bulunan sitokrom enzimi ürünleri AFB+N⁷-guanine miktarı da önemli miktarda azaltmış ve yağların peroksidasyonunu önlemiştir.

Laktik asit bakterileri tarafından indirgendiği farklı çalışmalar ile gösterilen aflatoksinlerin yanı sıra; laktik asit bakterilerinin farklı kanser hücrelerine etkileri de araştırılmıştır.

İnsan bağırsak mikrobiyotası kolorektal kanserlerinin gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Bu risk faktörleri probiyotiklerin tüketilmesi ile azalmakta ve bu kanser tipinin görülme sıklığının düşmesini sağlamaktadır (dos Reis vd., 2017). Bağırsak mikrobiyotasında belirli bakteri türlerinin varlığı, kolorektal kanserler ile ilişkilendirilmektedir. “Batı tipi beslenme” olarak

da adlandırılan yağ ve protein bakımından zengin beslenme, bağırsak mikrobiyotasını değiştirmek ve *Firmicutes* grubu üyelerinin sayısının hızla artarken, *Bacteroidetes* grubu üyelerinin sayısında önemli azalışa neden olmaktadır (Hemaraajata ve Versalovic 2013). Buna karşın lif bakımından zengin besinlerin tüketilmesi ile tam tersi durum gözlenmekte; *Firmicutes* sayısı azalmakta, *Bacteroidetes* sayısı ise artmaktadır (Kumar vd., 2016). Kolon kanseri hastalarında çok yüksek sayıda bulunan *Fusobacterium nucleatum*'un adenomların kansere dönüşümünde rol aldığı; enterotoksijenik *Bacteroides fragilis*'in ise bir diğer kanser etmeni olduğu bildirilmiştir. Laktik asit bakterileri antimikrobiyel özellikleri sayesinde bu patojenlerin gelişimini baskılamaktadırlar (Ambalam vd., 2016). *Propionibacterium freudenreichii* ile fermente edilmiş sütün gastrik kanser hücrelerinde apoptoza yol açtığı tespit edilmiştir (Cousin vd., 2012). Bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakterilerden bazılarının ileri safha kanserde metastazın önüne geçebilme etkisinin araştırıldığı çalışmada ise metastatik kolon kanser hücresine (HCT-116) *L. casei*, *L. rhamnosus* GG ve bağırsak kommensal bakterilerinden biri olan *Bacteroides thetaiotaomicron*'un hücre dışı süpernatantları uygulanmıştır. Her iki laktobasil türünün hücre dışı süpernatantlarının kanser hücrelerinin invazyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Escamilla vd., 2012). *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. adolescentis* ve *B. breve* kolonda tümör görülme sıklığını düşürdüğü bildirilmektedir (Sadeghi-Aliabadi vd., 2014).

Wang vd. (2014) yaptığı çalışmada da, geleneksel fermente ürünlerden izole edilmiş 138 laktobasil suşunun HT-29 hücrelerine anti-proliferatif etkisi araştırılmış ve 4 farklı suştan elde edilen hücre duvarı ve sitoplazma ekstraktlarının HT-29 hücrelerinin çoğalmasını engellediği bulunmuştur. Ayrıca bu ekstraktların, hücrede dâhili yolak aracılığıyla, mitokondri membranının geçirgenliğini artırarak apoptoza yol açtığı tespit edilmiştir. Er vd. (2015) tarafından elde edilen veriler *P. pentosaceus*, *L. plantarum* ve *Weissella confusa*'nın hücre dışı süpernatantları ve hücre dışı liyofilize filtratları, insan kolon adenokarsinom hücre hattı olan Caco-2 hücrelerine anti-

proliferatif etki göstererek bu hücrelerin gelişimini inhibe ettiği şeklindedir. Tsai vd. (2015), *L. casei* ATCC 334 tarafından üretilen iki farklı antimikrobiyel peptidin (m2163 ve m2386) insan kolorektal kanser hücre hattı olan SW480'de apoptozu başlattığını tespit etmişlerdir. Sıcaklık uygulaması ile inaktive edilmiş ya da canlı *L. plantarum*, HT-29 hücreleri ile birlikte inkübe edildiklerinde; inaktif *L. plantarum* L67'nin HT-29 hücrelerine sitotoksik etki yaptığı; ancak canlı hücrelerin sitotoksik etki yaratmadığı tespit edilmiştir. Bu duruma, sıcaklık uygulaması ile üç boyutlu yapısı bozulan proteinin, hücre membranı üzerinde yer alan reseptör ile interaksiyona girmesinin yol açtığı, böylece protein-reseptör interaksiyonu sonucu apoptoz yolunun aktifleştiği belirtilmektedir (Song vd., 2015).

Farklı sınıflandırılmış kolon kanseri hücreleri olan Caco-2, HT-29 ve SW480 hücre hatlarına K vitamini ve canlı *L. rhamnosus* GG ayrı ayrı ve kombinasyon şeklinde uygulandığında, 72 saat sonunda test edilen tüm hücre hatlarına ayrı ayrı uygulanan K vitamini ve *L. rhamnosus* GG'nin çoğalmayı durdurduğu, apoptozun tetiklendiği ve hücre döngüsünün tutuklandığı artan dozlarda ortama ilave edilen K vitamininin, probiyotige bağlı anti-proliferatif etkiyi güçlendirdiği tespit edilmiştir (Orlando vd., 2016). 13 gün boyunca 10⁹ KOB/mL *L. casei* ile beslenen farelerde ise kolon karsinom hücrelerinin gelişimi yüksek miktarda önlenerek, tümör hacminin %80 azalmasına yol açmıştır (Tiptiri-Kourpeti vd., 2016). Chen vd. (2017) tarafından da *Lactobacillus*'ların kolorektal kanser hücrelerinin gelişimini engelleyici etkisi; tümör oluşumunu teşvik eden enzimlerinin aktivitelerini düşürmeleri, mutajenleri bağlama, kısa zincirli yağ asitlerinin sentezi ile ortam pH'sını düşürmeleri yoluyla olduğu belirtilmektedir.

SONUÇ

Yapılan çalışmalar yalnızca probiyotiklerin değil diğer laktik asit bakterilerinin de beslenme ile maruz kalınan mutajen ve kanserojenleri bağlayabildiğini göstermektedir. Bu nedenle farklı orijinli laktik asit bakterileri starter olarak uygulanarak mikotoksinlerin uzaklaştırılmasında etkin olarak kullanılabilir. Pek çok doğal

fermente ürünü içeren beslenme alışkanlıkları günlük hayatta farkında olmadan maruz kalınan genotoksinlerin gideriminde ve bunların yol açabileceği hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Yoğun olarak çeşitli türlerde laktik asit bakterilerini içeren bu besinler sayesinde yine beslenme yolu ile metabolizmaya alınan aflatoksinlerin, insan mikrobiyotasında bulunan laktik asit bakterileri tarafından tutularak, olumsuz etkilerinin azaltılabileceği düşünülmektedir. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre laktik asit bakterileri yalnızca bu toksinleri uzaklaştırarak kanserojen etkilerini azaltmamakta; aynı zamanda kanserli hücrelerin çoğalmasını engelleyerek tümör gelişimini durdurmakta ve bu hücreleri apoptoza yönlendirerek kanser tedavilerine de katkı sunabileceği gösterilmektedir. Bu konuda elde edilen bulguların *in vivo* çalışmalarla desteklenmesi, özellikle gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin farklı tür ve suşlarının da araştırma kapsamına dâhil edilmesi gerekmektedir. Böylece yeni fonksiyonel ürün geliştirilmesinde kullanılacak potansiyel suşların seçiminde sağlık açısından daha isabetli seçimler yapılabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2015.09.04.843 numaralı proje ile destekleyen Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Adams, M.R., Marteau, P. (1995). On the safety of lactic acid bacteria from food. *Int J Food Microbiol*, 27: 263-264.

Adebo, O.A., Njobeh, P.B., Gbashi, S., Nwinyi, O.C., Mavumengwana, V. (2017). Review on microbial degradation of aflatoxins. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57 (15), 3208-3217. doi:10.1080/10408398.2015.1106440

Adebola, O., Corcoran, O., Morgan, W.A. (2013). Protective effects of prebiotics inulin and lactulose from cytotoxicity and genotoxicity in human colon adenocarcinoma cells. *Food Res Int*,

52 (1): 269-74. doi:10.1016/j.foodres.2013.03.024.

Ambalam, P., Raman, M., Purama, R.K., Doble, M. (2016). Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention. *Best Pract Res. Clin Gastroenterol*, 30 (1): 119-31. http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.009

Arıgül, M., Zorba, M. (2014). Mikotoksin detoksifikasyon yöntemleri 1. Ulusal Mikoloji Günleri, 1-4 Eylül 2014, Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye.

Ben Salah-Abbès, J., Abbès, S., Jebali, R., Haous, Z., Oueslati, R. (2014). Potential preventive role of lactic acid bacteria against aflatoxin M₁ immunotoxicity and genotoxicity in mice. *J Immunotoxicol* 6901: 1-8. doi:10.3109/1547691X.2014.904025

Cebeci, A., Gürakan, C. (2003). Properties of Potential Probiotic *Lactobacillus plantarum* Strains. *Food Microbiol* 20 (5): 511-18. doi:10.1016/S0740-0020(02)00174-0

Cenci, G., Caldini, G., Trotta, F., Bosi, P. (2008). In vitro inhibitory activity of probiotic spore-forming *Bacilli* against genotoxins. *Lett Appl Microbiol* 46 (3): 331-37. doi:10.1111/j.1472-765X.2007.02314.x

Chen, Z-Y., Hsieh, Y-M., Huang, C-C., Tsai, C-C. (2017). Inhibitory effects of probiotic *Lactobacillus* on the growth of human colonic carcinoma cell line HT-29. *Molecules* 22 (107): 1-12. doi:10.3390/molecules22010107.

Ciegler, A., Lillehoj, E.B., Peterson, R.E., Hall, H.H. (1966). Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl Microbiol* 14 (6): 934-39.

Coconnier, M-H., Lievin, V., Bernet-Camard, M-F., Hudault, S., Servin, A.L. (1997). Antibacterial effect of the adhering human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. *Antimicrob Agents and Chemother.* 41 (5): 1046-52.

Contreras-Govea, F.E., Muck, R.E., Broderick, G.A., Weimer, P.J. (2013). *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and in vitro microbial yield. *Anim Feed Sci Technol* 179(1-4): 61-68. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.11.008

- Cousin, F.J., Jouan-Lanhouet, S., Dimanche-Boitrel, M-T., Corcos, L., Jan, G. (2012). Milk fermented by *Probiobacterium freudenreichii* induces apoptosis of HGT-1 human gastric cells. *PLoS One* 7 (3):1-12.
- Çakmakçı, M.L., Karahan, A.G., Çakır, İ. (2011). Mikrobiyoloji, s 197, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 36, Ankara.
- dos Reis, S.A., da Conceição, L.L., Siqueira, N.P., Rosa, D.D., da Silva, L.L., Peluzio, M. do C.G. (2017). Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutr Res* 37: 1-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2016.11.009>
- Ducrotté, P., Sawant, P., Jayanthi, V. (2012). Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) Improves symptoms of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 18 (30): 4012-18. doi:10.3748/wjg.v18.i30.4012.
- El-Nezami, H.S., Polychronaki, N.N., Ma, J., Zhu, H., Ling, W., Salminen, E.K., Juvonen, R.O., Salminen, S.J., Poussa, T., Mykkänen, H.M. (2006). Probiotic supplementation reduces a biomarker for increased risk of liver cancer in young men from Southern China. *Am J Clin Nutr* 83 (5): 1199-1203. doi:83/5/1199 [pii]
- Elsanhoty, R.M., Ramadan, M.F., El-Gohery, S.S., Abol-Ela, M.F., Azeke, M.A. (2013). Ability of selected microorganisms for removing aflatoxins invitro and fate of aflatoxins in contaminated wheat during baladi bread baking. *Food Control*, 33 (1): 287-292. doi:10.1016/j.foodcont.2013.03.002.
- Elsanhoty, R.M., Salam, S.A., Ramadan, M.F., Badr, F.H. (2014). Detoxification of aflatoxin M₁ in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control*, 43: 129-134. doi:10.1016/j.foodcont.2014.03.002.
- Er, S., Koparal, A.T., Kıvanç, M. (2015). Cytotoxic effects of various lactic acid bacteria on caco-2 cells. *Türk J Biol*, 39: 23-30. doi:10.3906/biy-1402-62
- Escamilla, J., Lane, M.A., Maitin, V. (2012). Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutr Cancer* 64 (6): 871-78. doi:10.1080/01635581.2012.700758
- Gamallat, Y., Meyiah, A., Kuugbee, E.D., Hago, A.M., Chiwala, G., Awadasseid, A., Bamba, D., Zhang, X., Shang, X., Luo, F., Xina, Y. (2016). *Lactobacillus rhamnosus* induced epithelial cell apoptosis, ameliorates inflammation and prevents colon cancer development in an animal model. *Biomed Pharmacother* 83: 536-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.07.001>
- Gao, Y.N., Wang, J.Q., Li, S.L., Zhang, Y.D., Zheng, N. (2016). Aflatoxin M₁ cytotoxicity against human intestinal caco-2 cells is enhanced in the presence of other mycotoxins. *Food Chem Toxicol* 96: 79-89. doi: 10.1016/j.fct.2016.07.019
- Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G. (2001). *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Alternaria*. *Türk Hij Den Biyol Derg* 58 (3): 97-118.
- Guan, S., Ji, C., Zhou, T., Li, J., Ma, Q., Niu, T. (2008). Aflatoxin B₁ degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* and other microbes selected using coumarin medium. *Int J Mol Sci* 9 (8): 1489-1503. doi:10.3390/ijms9081489
- Hair, M., Sharpe, J. (2014). The facts about the human microbiome. The Center for Ecogenetics and Environmental Health, University of Washington, 1/2014. https://depts.washington.edu/ceeh/downloads/FF_Microbiome.pdf (Erişim tarihi: 30.09.2017)
- Hemarajata, P., Versalovic, J. (2013). Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Ther Adv Gastroenterol* 6 (1): 39-51. doi:10.1177/1756283X12459294.
- Huang, L., Duan, C., Zhao, Y., Gao, L., Niu, C., Xu, J., Li, S. (2017). Reduction of aflatoxin B₁ toxicity by *Lactobacillus plantarum* C88: A potential probiotic strain isolated from Chinese traditional fermented food tofu. *PLoS One* 12 (1): 1-16. doi:10.1371/journal.pone.0170109.
- IARC. (2017). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php (Accessed 01 October 2017).

- IARC, (2002). IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans. 82: 168-171.
<https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf> (Accessed 01.10.2017).
- Ismail, A., Levin, R.E., Riaz, M., Akhtar, S., Gong, Y.Y., de Oliveira, C.A.F. (2017). Effect of different microbial concentrations on binding of aflatoxin M₁ and stability testing. *Food Control*, 73, 492-496. doi:10.1016/j.foodcont.2016.08.040
- Istiqomah, L., Damayanti, E., Julendra, H., Suryani, A.E., Sakti, A.A., Anggraeni, A.S. (2017). Effect of methionine and lactic acid bacteria as aflatoxin binder on broiler performance. *Proceeding of International Biology Conference*, 1-7. doi:10.1063/1.4985408.
- Jebali, R., Abbes, S., Salah-Abbes, J.B., Younes, B.R., Haous, Z., Oueslati, R. (2015). Ability of *Lactobacillus plantarum* MON03 to mitigate aflatoxins (B₁ and M₁) immunotoxicities in mice. *J Immunotoxicol* 12 (3): 290-99. doi: 10.3109/1547691X.2014.973622
- Kachouri, F., Ksontini, H., Hamdi, M. (2014). Removal of aflatoxin B₁ and inhibition of *Aspergillus flavus* growth by the use of *Lactobacillus plantarum* on olives. *J Food Prot* 77 (10): 1760-7. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-360.
- Kaya, S. (2014). Mikotoksinler. 393-433. Veteriner Toksikoloji. Ed. S. Kaya. 3. Baskı. Medisan Matbaası, Ankara.
- Khorshidian, N., Asli, M.Y., Hossein, H., Shadnoush, M. (2016). Potential anticarcinogenic effects of lactic acid bacteria and probiotics in detoxification of process induced food toxicants. *Iran J Cancer Prev*, 9 (5): 1-13. doi: 10.17795/ijcp-7920.
- König, H., Unden, G., Fröchlich, J. (2009) Biology of Microorganisms on Grapes in Must and in Wine, Hardcover, Germany. ISBN: 978-3-540-85462-3.
- Król, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Railean-Plugaru, V., Walczak, J., Buszewski, B. (2017). Microbiology neutralization of zearalenone using *Lactococcus lactis* and *Bifidobacterium* sp. *Anal Bioanal Chem*. Published in the topical collection celebrating ABCs 16th Anniversary. doi:10.1007/s00216-017-0555-8.
- Kumar, M., Babaei, P., Ji, B., Nielsen, J. (2016). Human gut microbiota and healthy aging: Recent developments and future prospective. *Nutr Health Aging*, 4: 3-16. doi:10.3233/NHA-150002
- Longoria-García, S., Belmares-Cerda, R.E., Flores-Verástegui, M.I.M., Contreras Esquivel, J.C., Montañez-Sáenz, J.C., Cruz-Hernández, M.A. (2016). Prebiotics, probiotics, synbiotics and functional foods in control and treatment of type II diabetes mellitus and colorectal cancer. Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health, Chapter 17. Edited by Venketeshwer Rao and Leticia G. Rao, ISBN 978-953-51-2476-4, Print ISBN 978-953-51-2475-7, 392 pages, Publisher: In Tech, Chapters published July 13, 2016 under CC BY 3.0 license. <http://dx.doi.org/10.5772/63643>
- Molin, G. (2001). Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am J Clin Nutr* 73 (2): 380-85.
- Orlando, A., Linsalata, M., Russo, F. (2016). Antiproliferative effects on colon adenocarcinoma cells induced by co-administration of vitamin K₁ and *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Int J Oncol* 48 (6): 2629-38. doi:10.3892/ijo.2016.3463
- Pithva, S.P., Ambalam, P.S., Ramoliya, J.M., Dave, J.M., Vyas, B.R.M. (2015). Antigenotoxic and antimutagenic activities of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* Vc against N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. *Nutr Cancer*, 67 (7): 1142-1150. doi: 10.1080/01635581.2015.1073751.
- Raman, M., Ambalam, P., Kondepudi, K.K., Pithva, S., Kothari, C., Patel, A.T., Purama, R.K., Dave, J.M., Vyas, B.R. (2013). Potential of probiotics, prebiotics and synbiotics for management of colorectal cancer. *Gut Microbes* 4 (3): 181-92. doi:10.4161/gutm.23919.
- Redzwan, M.S., Abd Mutalib, M.S., Wang, J-S., Ahmad, Z., Kang, M-S., AbdulRahman, N'Aqilah., Nasrabadi, N.E., Jamaluddin, R. (2016). Effect of supplementation of fermented

- milk drink containing probiotic *Lactobacillus casei* Shirota on the concentrations of aflatoxin biomarkers among employees of Universiti Putra Malaysia: A randomised, double blind, cross-over, placebo-controlled study. *Br J Nutr*, 115 (1): 39-54. doi:10.1017/S0007114515004109.
- Riaz Rajoka, M.S., Shi, J., Zhu, J., Shao, D., Huang, Q., Yang, H., Jin, M. (2016). Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention. *Appl Microbiol Biotechnol*, 101: 35-45. doi 10.1007/s00253-016-8005-7.
- Sadeghi-Aliabadi, H., Mohammadi, F., Fazeli, H., Mirlohi, M. (2014). Effects of *Lactobacillus plantarum* A7 with probiotic potential on colon cancer and normal cells proliferation in comparison with a commercial strain. *Iran J Basic Med Sci*, 17: 815-819.
- Sangare, L., Zhao, Y., Minnie, Y., Folly, E., Chang, J., Li, J., Selveraj, J.N., Xing, F., Zhou, L., Wang, Y., Liu, Y. (2014). Aflatoxin B₁ degradation by a *Pseudomonas* strain. *Toxins*, 6: 3028-40. doi:10.3390/toxins6103028.
- Serrano-Niño, J.C., Cavazos-Garduno, A., Hernandez-Mendoza, A., Applegate, B., Ferruzzi, M.G., Martin-Gonzalez, M.F., Garcia, H.S. (2013). Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M₁ in artificially contaminated milk using an *in vitro* digestive model. *Food Control* 31 (1): 202-7. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.09.023.
- Sezer, Ç., Güven, A., Oral, N.B., Vatansever, L. (2013). Detoxification of aflatoxin B₁ by bacteriocins and bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *Türk J Vet Anim Sci*, 37(5), 594–601. doi:10.3906/vet-1301-31
- So, S.S.Y., Wan, M.L.Y., El-Nezami, H. (2017). Probiotics-mediated suppression of cancer. *Curr Opin Oncol* 29 (1): 62-72. doi:10.1097/CCO.0000000000000342.
- Song, S., Oh, S., Lim, K.T. (2015). The proteins (12 and 15 kDa) isolated from heat-killed *Lactobacillus plantarum* L67 induces apoptosis in HT-29 cells. *Cell Biochem Funct*, 33 (2): 89-96. doi: 10.1002/cbf.3094.
- Taheur, F. Ben, Fedhila, K., Chaieb, K., Kouidhi, B., Bakhrouf, A., Abrunhosa, L. (2017). Adsorption of aflatoxin B₁, zearalenone and ochratoxin A by microorganisms isolated from Kefir grains. *Int J Food Microbiol*, 251: 1-7. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.021
- Tassou, C. (2014). PROBIOLIVES (Table olive fermentation with selected strains of probiotic lactic acid bacteria. Towards a new functional food.) PROBOLIVES Report Summary, European Commission Project ID: 243471.
- Tiptiri-Kourpeti, A., Spyridopoulou, K., Santarmaki, V., Aindelis, G., Tompoulidou, E., Lamprianidou, E.E., Saxami, G., Ypsilantis, P., Lampri, E.S., Simopoulos, C., Kotsianidis, I., Galanis, A., Kourkoutas, Y., Dimitrellou, D., Chlichlia, K. (2016) *Lactobacillus casei* exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma cells. *PLoS ONE*, 11(2), 1–20. doi:10.1371/journal.pone.0147960
- Topcu, A., Bulat, T., Wishah, R., Boyacı, I.H. (2010). Detoxification of aflatoxin B₁ and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *Int J Food Microbiol* 139 (3): 202-5. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.006
- Tsai, T-L., Li, A-C., Chen, Y-C., Liao, Y-S., Lind, T-Y. (2015). Antimicrobial peptide m2163 or m2386 identified from *Lactobacillus casei* ATCC 334 can trigger apoptosis in the human colorectal cancer cell line SW480. *Tumor Biol* 36 (5): 3775-89. doi: 10.1007/s13277-014-3018-2
- Tunail, N. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 03. Bölüm, 13. kısım Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Tunail, N. (2009) Mikrobiyoloji. Pelin Ofset Tipo Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 434 s. ISBN: 978605-603-62-0-0.
- Vinderola, G., Ritieni, A. (2014). Role of probiotics against mycotoxins and their deleterious effects. *J Food Res* 4(1): 10. doi:10.5539/jfr.v4n1p10.

Walia, S., Keshani, S.S., Kanwar, S.S. (2014). Exhibition of DNA bioprotective activity by microflora of traditional fermented foods of North-Western Himalayas. *Food Res Int* 55: 176-80.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.001>

Wang, S. M., Zhang, L. W., Fan, R. B., Han, X., Yi, H. X., Zhang, L. L., Xue, C. H., Li, H. B., Zhang, Y. H., Shigwedha, N. (2014). Induction of HT-29 cells Apoptosis by Lactobacilli Isolated from Fermented Products. *Research in Microbiology* 165(3): 202-14.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2014.02.004>.

Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V., and Kuca, K. (2009). Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metabolism Reviews* 41 (1):1-7. Doi: 10.1080/03602530802563850.

Xia, X., Zhang, Y., Li, M., Garba, B., Zhang, Q., Wang, Y., Zhang, H., Li, P. (2017). Isolation and characterization of a *Bacillus subtilis* strain with aflatoxin B₁ biodegradation capability. *Food Control*, 75: 92-98.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.036>.

Zhao, H., Fang, Z., Yeqiong, Q., Piotr, D., Fengling, B., Piotr, W., Bolin, Z. (2013). Screening of *Lactobacillus* strains for their ability to bind benzo(a)pyrene and the mechanism of the process. *Food Chem Toxicol*, 59: 67-71. doi:10.1016/j.fct.2013.05.040.



BİYOBAZLI NANOKOMPOZİTLER VE GIDA AMBALAJLAMADAKİ UYGULAMALARI

Ece Söğüt*, Atıf Can Seydim

Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 19.09.2017; Kabul / Accepted: 15.11.2017; Online baskı / Published online: 27.11.2017

Söğüt, E., Seydim, A. C. (2017). Biyobazlı nanokompozitler ve gıda ambalajlamadaki uygulamaları. *GIDA* (2017) 42 (6): 821-833 doi: 10.15237/gida.GD17084

ÖZ

Petrol bazlı plastiklerin çevreye olumsuz etkileri nedeniyle kullanımını azaltmak için biyobazlı polimerlerin kullanımı artış göstermektedir. Biyopolimerler genellikle, nanokompozit oluşturmak için en az bir boyutu nano olan zenginleştirme ajanları (nanopartiküller, dolgular) eklenerek geliştirilebilen mekanik ve bariyer özelliklere sahiptir. Nanopartiküller, mikro boyutlu hallerine oranla daha yüksek yüzey alanına sahip olup dolgu ile polimer arasındaki etkileşimi ve sonuç materyalin performansını artırır. Nanoyapılar aynı zamanda, antimikrobiyel özellikler, oksijen yakalama, enzim immobilizasyonu, uygun olmayan sıcaklık ya da oksijen seviyesini belirten sensörler gibi aktif özellikler de sağlayabilmektedir. Bu özet çalışması, polilaktik asit, polikaprolakton, polihidroksiakonat, nişasta ve kitosan gibi çok çalışılan biyobazlı nanokompozitler ve bunların gıda ambalajlama uygulamaları üzerinedir.

Anahtar kelimeler: Biyopolimer, nanokompozit, gıda ambalajlama

BIO-BASED NANOCOMPOSITES AND FOOD PACKAGING APPLICATIONS

ABSTRACT

There is growing interest in developing bio-based polymers to reduce the use of conventional nonbiodegradable petroleum-based plastics because of their adverse effect on environment. However, biopolymers usually have poor mechanical and barrier properties, which may be improved by adding reinforcing agents with at least one nanoscale dimension (nanoparticles, fillers), forming nanocomposites. Nanoparticles have proportionally larger surface area than their microscale counterparts, which favor the filler–matrix interactions and the performance of the resulting material. Nanostructures may also provide active properties such as antimicrobial properties, oxygen scavenging ability, enzyme immobilization, or indication of the degree of exposure to some detrimental factors like inadequate temperatures or oxygen levels. This review focuses on the properties of the most studied bio-based nanocomposites such as chitosan, starch, polycaprolactone, polylactic acid and polyhydroxyalconate and their food packaging applications.

Keywords: Biopolymer, nanocomposites, food packaging

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ececadg@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1668

☎ (+90) 246 211 1669

GİRİŞ

Kelime olarak kompozit, iki veya daha fazla farklı parçadan meydana gelen demektir. Bir kompozit, iki veya daha fazla materyalin her ikisinin de en iyi özelliklerini birleştirmek için kombine edilmesiyle elde edilir. Kompozit materyaller, tek parça halindeki konvansiyonel materyallerin kısıtlı kullanım olanaklarını genişletmek için geliştirilmiş yeni bir materyal sınıfıdır. Nanokompozitler ise, en az bir tanesi nm boyutunda (1-100 nm) materyal içeren iki veya daha fazla bileşenin meydana getirdiği materyallerdir. Genel anlamda nanokompozitler nanofaz ve polimer fazı olmak üzere 2 faz içerir ve bu fazlar inorganik-inorganik, inorganik-organik, organik-organik kombinasyonlar şeklinde olabilir. Sonuç olarak, nano boyutta bileşen içeren polimerlerin oluşturduğu materyaller polimer nanokompozitlerdir. Kullanılan polimerlerin biyolojik kaynaklardan elde edilmesi ya da doğada çözünür (biyobozunur) formda olması durumunda oluşan materyal ise biyobazlı nanokompozitler olarak adlandırılabilir (Mittal, 2011). Gıda ambalajlamada kullanılan materyallerin birçoğu doğada kolayca bozunabilir özellikte değildir ve bu yüzden küresel boyutta çevre problemlerine neden olmaktadır. Gıdanın raf ömrünü uzatıp kalitesini arttırmak için geliştirilen yeni biyobazlı materyaller aynı zamanda ambalaj atık miktarını azaltmaktadır. Ancak, biyobozunur polimerlerin kullanımı performans (kırılganlık, zayıf bariyer özellikleri gibi), işleme (düşük ısı dayanım sıcaklıkları gibi) ve maliyet gibi nedenlerden dolayı sınırlıdır. Nanoteknolojinin bu polimerlere uygulanması bu materyallerin hem özelliklerini geliştirmede hem de maliyetlerini azaltmada yeni avantajlar sağlamaktadır (Sorrentino vd. 2007). Nanokompozitler, içerisine mekanik, ısı ve bariyer özelliklerini geliştirmek amacıyla eklenen nanopartiküller ile üretilmektedir. Nanopartiküllerin homojen dispersiyonu oldukça yüksek polimer/dolgu yüzey alanı oranı sağlamak ve bu sayede moleküler hareketliliği, gevşeme davranışı ve sonucunda materyalin mekanik, ısı özellikleri değiştirilmektedir. Nanopartiküllerin zenginleştirme özelliğinin yanı sıra, antimikrobiyel aktivite, enzim immobilizasyonu, biyosensör gibi ambalaja aktif

ya da akıllı özellik sağlama gibi farklı özellikler için kullanılan yapıları da mevcuttur. Bu özet çalışması, yeni bir materyal sınıfı olan biyopolimer bazlı nanokompozitler ve bu materyallerin gıda kalitesi ve raf ömrü üzerine etkileri ile gıda ambalajlama alanındaki uygulamalarını incelemektedir.

BİYONANOKOMPOZİTLER: YÜKSEK KATMA DEĞERLİ MATERYALLER

Biyopolimerler son yıllarda en fazla ilgi gören polimerler haline gelmiştir. Bunun nedeni ise konvansiyonel polimerlerin üretiminde kullanılan petrol kaynaklarının azalmasıdır. Ayrıca, çevreye olan bilincin artması ve çevre dostu materyallerin talep edilmesi sonucunda konvansiyonel polimerlerin yerini değişen yasalarla birlikte “yeşil polimerler” ya da biyopolimerler almıştır. Polipropilen, polistiren, polietilen ve poli (metil-metakrilat) gibi bir çok polimer biyobozunur özellikte değildir ve bu materyallerin geri dönüşümü ve tekrar kullanımı zor olduğu için çevreye atık olarak geri dönmektedirler. Bu polimerlerden üretilen kompozitler de aynı şekilde kullanım sonrasında doğaya zararlı hale gelmektedir. Alternatif olarak, yenilenebilir kaynaklardan üretilen pek çok biyobozunur polimerin, polimer kompozit teknolojisi içerisinde yer alması oldukça çekici olsa da bu polimerlerin kullanımları oldukça zordur. Nanodolgu maddelerinin biyobozunur olmayan ticari polimerlere eklenmesi, bu materyallerin özelliklerini yüksek oranda geliştirmiş olsa da bu teknolojinin yüksek katma değere sahip biyobozunur polimerlerin üretilmesi için tekrar geliştirilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Aynı zamanda, dolgu maddelerinin biyobozunur polimerlere nasıl ekleneceği, performansta istenen gelişmelerin sağlanıp sağlanamayacağı, nanomateryallerin biyobozunurluğu ne şekilde etkileyeceği gibi soruların da çalışılması gerekmektedir.

Biyobazlı nanokompozitlerin sınıflandırılması

Biyobazlı kompozitler bir ya da daha fazla fazı biyolojik kaynaktan elde edilmiş materyallerden oluşan kompozit materyallerdir. Nanokompozitler ise, bir boyutu en az nanometre

aralığında (1-100 nm) olan disperse partiküller kullanılarak polimerin performansını geliştirmek amacıyla bir veya daha fazla ayrı bileşenin kombine edildiği materyallerdir. Prensipte olarak, herhangi bir materyal her hangi bir şekli ile nano boyutlarına parçalanabilir ancak, son zamanlarda killer (özellikle katmanlı silika), nano karbon tüpleri gibi bazı nano materyaller ilgi odağı olmuştur. Bu durumun asıl sebebi, bu materyallerin konvansiyonel dolgu maddeleriyle karşılaştırıldığında çok az miktarlarda kullanımıyla (%10'a kadar) bile polimerin fiziksel, mekanik ve bariyer özelliklerinde eş zamanlı olarak gelişme sağlanmasından kaynaklanmaktadır (Kumar vd. 2009). Biyobazlı nanokompozitler, biyopolimere sağladığı nano boyutlu zenginleştirmeye göre sınıflandırılabilir. Bu durumdaki zenginleştirme işleminde nanodolgu maddeleri, nanopartiküller (silika, gümüş, altın gibi metal nanopartikülleri), nano tüpler (karbon nanotüpleri ve lifleri, selüloz lifleri, moleküler rijit çubuklar) ve nano katmanlar (killer, katmanlı silika, katmanlı çift hidroksitler) olarak boyutlarına göre sınıflandırılırlar. Bir nanodolgu bir polimer ile kullanıldığında, kullanılan komponentlerin doğası (nanodolgunun katmanlı-partikül/çubuk şekillerinden herhangi biri olması, organik katyon ve polimer) ve hazırlama yöntemi, farklı yapı/morfolojide kompozitlerin elde edilmesine neden olur (Alexandre ve Dubois, 2000). Biyobazlı nanokompozitler kullanılan dolgunun boyutuna göre sınıflandırılabilir gibi kullanılan nanodolgu maddesinin kimyasal yapısına göre de sınıflandırılabilir. Nanodolgu maddeleri kimyasal yapılarına göre iki ana kategoride incelenir: organik ve inorganik dolgu maddeleri. Organik nanodolgular karbon atomu içeren ve biyokütleden elde edilen dolgu maddeleri olup bu gruba karbon siyahı, selüloz bazlı nanodolgular örnek verilebilir. İnorganik nanodolgular ise kil mineralleri, katmanlı silika (mika grubu) ve diğer katmanlı mineraller olmak üzere karbon atomu içermeyen ancak doğal kaynaklardan elde edilen dolgulardan oluşur. İnorganik dolgu maddelerinden kil mineralleri, simektit grup (montmorillonit, rektorit, saponit vb.), kaolin grubu (kaolinit, haloysit), sepiolit ve vermikülit şeklinde gruplandırılmaktadır (Unalan vd. 2014). Çok sayıda biyobazlı polimer bulunmakta

olup, özelliklerine, orijinlerine ve sentezlenme metoduna göre de sınıflandırılmaktadır. Averous ve Boquillon (2004), biyopolimerleri sentezlenme şekillerine göre 4 ayrı kategoriye ayırmıştır: Zirai kaynaklardan elde edilen polimerler, mikroorganizmalardan elde edilen polimerler, biyobazlı monomerler kullanılarak kimyasal yolla sentezlenen polimerler, petrol kaynaklı monomerlerle oluşturulan polimerler.

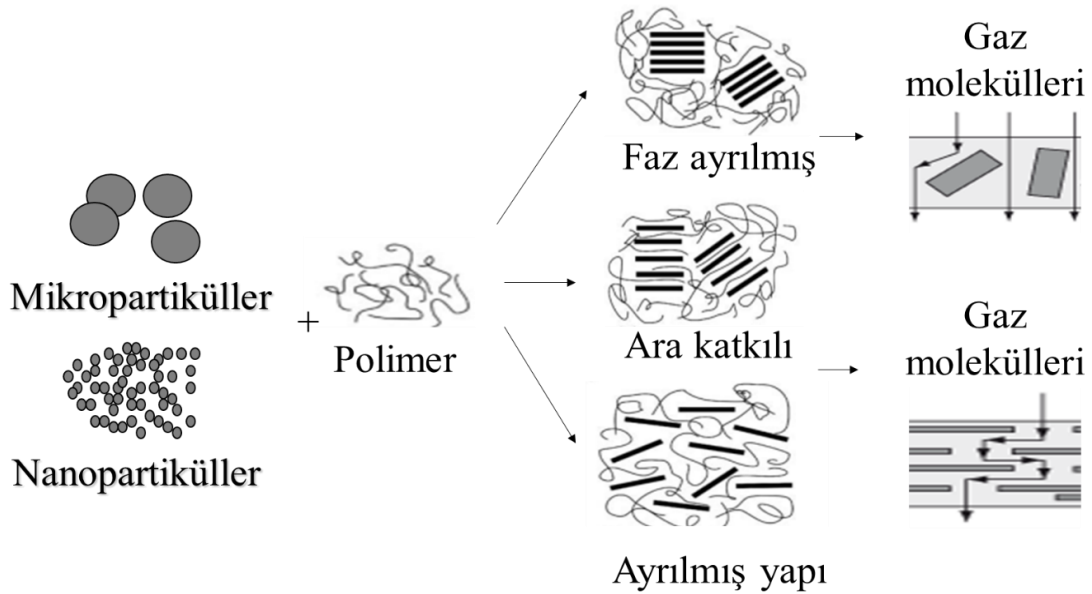
Mekanik ve bariyer özellikleri

Kullanılan bileşenin doğasına (katmanlı silika, organik katyon ya da polimer matriksi) ve kullanılan hazırlama tekniğine bağlı olarak farklı nanokompozit yapılar elde edilmektedir. Şekil 1'de katmanlı kil kullanıldığı zaman elde edilen üç ana yapı örnek olarak gösterilmiştir. Polimer, silika katmanları arasına giremediği zaman faz ayrılmış kompozit yapı oluşur ve bu yapı konvansiyonel mikrokompozit yapılar ile aynı mekanik ve bariyer özellikler gösterir. Ara katkılı yapıda, polimer silika katmanları arasına eklenerek oldukça düzenli ve mekanik dayanımı yüksek çok katmanlı bir yapı sergiler. Silika katmanlarının polimer yapı içerisinde homojen bir şekilde dağılmasıyla da tabakalar halinde ayrılmış bir yapı elde edilir (Alexandre ve Dubois, 2000).

Nanokil kullanılarak üretilen biyopolimerlerin düşük seviyelerde (<%5, ağırlıkça) bile mekanik özelliklerde gelişme sağladığı ve gelişimin dolgu maddesi miktarına bağlı olduğu gösterilmiştir. Biyobazlı nanokompozitlerin mekanik özelliklerindeki gelişim nanopartikülün yüksek hacim-alan oranı ve yüksek rijidite ile ilişkilendirilmektedir. Nanodolgu maddeleri, polimer matriks ve disperse olmuş nanodolgu maddesi arasındaki ara yüz etkileşimini artırarak mekanik dayanımı daha yüksek materyaller oluşturmaktadır. Polimer nanokompozitler oksijen, karbondioksit ve suya karşı iyi bariyer özellikleri gösterir. Nanokompozit materyallerin gaz bariyer özelliklerindeki gelişim ise nanopartiküllerin polimer matriks içerisinde dağılmış bir şekilde oluşturduğu yapının gaz moleküllerinin geçişini engellemesinden kaynaklanmaktadır. Bu şekilde, gaz molekülleri nanopartikülün etrafını dolaşarak difüze olur ve etkin difüzyon yol uzunluğu artar (Şekil 1). Müller

vd. (2014), nişasta/montmorillonit nanokompozitlerini farklı dolgu maddesi oranları (ağırlıkça % 0-25) kullanarak hazırlamış ve filmlerin mekanik özelliklerinin plastifiyan miktarına ve üretim şekline bağlı olarak geliştiğini göstermişlerdir. Qin vd. (2016), kitin nano liflerinin mısır nişastası bazlı kompozitlerin mekanik, bariyer ve optik özelliklerini önemli ölçüde geliştirdiğini gözlemlemişlerdir. Biyopolimerlerin mekanik özelliklerinde sağlanan gelişme diğer çalışmalar tarafından da gösterilmiştir (Tang vd. 2012; Rhim, 2011). Nanokompozitlerin geçirgenlik özelliklerinde azalma, nanopartikülün şekline, alan-hacim oranına ve nanokompozitin yapısına bağlıdır.

Genel olarak, en iyi bariyer özellikleri, iyi disperse olmuş ve yüksek alan-hacim oranına sahip partiküllerle yapılan nanokompozitlerde görülmektedir (Attaran vd. 2015; Hubbe vd. 2017). Rhim vd. (2011), modifiye edilmemiş montmorillonit (Cloisite Na⁺) kullanılarak hazırlanan agar kompozitlerinin su buharı geçirgenlik değerlerinin organik modifiye montmorillonit (Cloisite 30B, 20A) kullanılarak hazırlanan agar kompozitlerden daha düşük olduğunu göstermiştir. Benzer sonuçlar, nişasta (Romero-Bastida vd. 2016), peynir altı suyu protein izolatu (Sothornvit vd. 2010) ve soya proteini izolatu (Kumar vd. 2010) bazlı biyobazlı nanokompozitlerde de elde edilmiştir.



Şekil 1. Polimer/ Kil nanokompozitlerine ait çeşitli morfolojiler

Biyobozunurluk

Biyobozunur polimerler için, biyobozunurluk parçalara ayrılma, mekanik özelliklerin yok olması veya bazen mikroorganizmaların aktivitesi sonucu bozunma anlamına gelmektedir. Biyobozunurluk enzimler ve oksidasyonla katalizlenen hidroliz ile gerçekleşebilir. Nanokompozitlerin biyopolimerler kullanılarak hazırlanmasındaki ana neden biyobozunurluk özelliğini nanokompozitlere de taşıyabilmektir. Ray vd. (2003) PLA/organokil bazlı bir seri nanokompozit ile çalışmış ve 2 hafta içerisinde PLA nanokompozitlerin tamamen yok olduğunu

göstermişlerdir. Nanopartikülün polimer üzerinde çevre ve işleme koşullarına bağlı olarak bozunma ve dayanımı artırma gibi 2 zıt etkiye sahip olduğu bilinmelidir. Hibrid biyobazlı nanokompozitler (polimer içine gömülmüş katmanlı silika gibi) dayanımı geliştirir ve kullanılan çözücü miktarının değiştirilmesi ya da farklı yüzey modifiye dolgu maddelerinin kullanımı ile kontrol edilebilen biyobozunurluk özelliklerine sahiptir (Mittal, 2011). Bu şekildeki yenilikçi nanopartiküller son kullanım şekline bağlı olarak ambalaj sektöründe kullanılabilir.

GIDA AMBALAJLAMA MATERYALİ OLARAK BİYONANOKOMPOZİTLER

Biyopolimer filmlerin gıda ambalajlama alanındaki kullanımı, bu materyallerin zayıf mekanik özellikleri ve neme aşırı duyarlı yapıları nedeniyle sınırlıdır. Bu polimerlerin mekanik ve bariyer özelliklerinin geliştirilmesi, biyopolimer alanında nanoteknolojinin kullanılmasının ana nedenleri arasındadır. Nanoteknolojinin kullanımı ile birlikte nano boyutlu dolgu maddelerinin biyopolimerlere eklenmesiyle biyobazlı nanokompozitler ortaya çıkmıştır. Nanokompozitlerin sağladığı bazı gelişmeler gıda sektöründe potansiyel uygulamaları da beraberinde getirmiştir. Bu çalışmada, üzerinde daha çok araştırma yapılan polilaktik asit, polikaprolakton, polihidroksi alkonat, nişasta ve kitosan bazlı nanokompozitlere yer verilmiştir. Bunun dışında gıda ambalaj materyali olarak üzerinde çalışma yapılan diğer biyobazlı nanokompozitler arasında kil-selüloz asetat nanokompozitleri (Hassan-Nejad vd. 2009), organokil-peynir altı suyu tozu izolatu kompoziti (Sothornvit vd. 2010), furfural-nanoselüloz kompozitleri (Pranger ve Tannenbaum, 2008), montmorillonit-jelatin kompozitleri (Zheng vd. 2002) polibütilen süksinat (Lin vd. 2011), aljinat (Albofetileh vd. 2016), soya proteini (Swain vd. 2012) gibi farklı biyobazlı polimerler de yer almaktadır.

Poli(laktik asit) bazlı nanokompozitler

Poli(laktik asit) (PLA), laktik asit monomerlerinin ya da siklik laktik dimerlerin polimerizasyonu ile sentetik olarak üretilen termoplastik, biyobozunur polimerdir. Laktik asit, mısır, buğday ya da gıda/ziraat endüstrisi atıkları gibi doğal karbonhidratların fermantasyonu sonucu üretilir. Günümüzde ticari ambalaj uygulamalarında kullanılan PLA verimi oldukça yüksektir ve laktit üretimi yoluyla laktik asitlerin polimerizasyonu yöntemi ile üretilmektedir (Auras vd. 2005). PLA suda çözünür olmadığından, bu polimerin kağıt sanayide kaplama materyali olarak kullanımı kısıtlanmaktadır. Ancak, PLA'nın kloroformda çözündürülerek elde edilen kaplaması su absorpsiyon değerlerini büyük oranda düşürmektedir ve yüksek nem içeriğine sahip gıdalar ya da dondurulmuş gıdaların

ambalajlamasında kullanılan malzemelerin yüzey hibrofobitesini arttırmaktadır. Kaplama çözeltilerinin kullanıldığı bir çalışmada, PLA'nın kloroformdaki çözünürlüğü için üst sınırın ağırlıkça %5 olduğu belirtilmiştir (Rhim vd. 2007). Ancak, gıda ile temas eden ambalaj malzemelerinde toksik bir çözücünün kullanılması uygun değildir. Bu yüzden, PLA içeren çalışmalarda ekstrüzyon kaplama daha uygun bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda, PLA polimerinin kırılabilirliğinin yüksek olduğu (Paul vd. 2003) ve nanopartikül eklendiğinde bu durumun daha büyük sorunlara yol açtığı belirtilmektedir (Plackett vd. 2006). Kakroodi vd. (2017), PLA filmlerinin gaz geçirgenliği gibi bazı özellikleri mikrofibrilasyon prosesi kullanarak geliştirildiğini göstermiştir.

Polikaprolakton bazlı nanokompozitler

Polikaprolakton (PCL), yüksek kristalleşme ve hidrofobik karaktere sahip sentetik, lineer alifatik polyester olup ϵ -kaprolaktonun halka açılımı polimerizasyonu ile üretilmektedir. ϵ -kaprolakton sentezi için başlangıç materyal, petrol kaynaklıdır. Sentetik orijinine karşın PCL kısmen biyobozunur özellikte olup düşük gerilme kuvvetine ve oldukça yüksek kopma uzaması değerlerine sahiptir. PCL diğer polimerlerle yüksek uyumluluğa sahiptir ve direk kaplama materyali olarak kullanıldığı gibi kompozit bariyer filmlerde de kullanılmaktadır. Elen vd. (2012) çinko oksit nanopartikülleri içeren PCL filmlerin gaz geçirgenlik ve mekanik özelliklerinin geliştirildiği sonucuna varmışlardır.

Polihidroksi alkonat bazlı nanokompozitler

Polihidroksialkonatlar (PHA) mikroorganizmalar tarafından enerji ve karbon kaynağı olarak üretilen biyopolimerlerdir. Polihidroksibütirat (PHB) ve hidroksibütiratın (HB) kopolimerleri, hidroksivalerat (HV), poli(hidroksibütirat-kovaleerat) (PHB/V) bu gruba örnek olarak verilebilir. PHB, yüksek kristalli filmler oluşturur ve bu yüzden hidroksivaleratın daha uzun alkil zincirlerini içeren kopolimerlerden üretilen filmler mükemmel sertlik ve kuvvette olmasına rağmen oldukça kırılmandır. Yüksek oranda hidrofobik karakterde oldukları için suya dayanıklı film oluşturma ve kaplama özellikleri gösterir. PHA filmleri, LDPE'nin su buharı geçirgenlik

değerlerine yakın değerlere sahip olduğu için gıda ambalaj materyali olarak oldukça uygundur. PHA ların dezavantajı zayıf gaz bariyer özellikleridir ve üretim maliyetlerinin yüksek olmasıdır. Bunun yanı sıra, PHB polimeri ısı düzensizlik göstermekte ve yüksek sıcaklarda hızlı/ani bir şekilde bozulması PHB'nin ticari kullanımını kısıtlamaktadır (Ray ve Bousmina 2005). Dasan vd. (2017) nanokristal selüloz kullanarak hazırladıkları PLA/PHBV polimer filmlerinde oksijen bariyer özelliklerinin geliştirildiğini göstermişlerdir.

Nişasta bazlı nanokompozitler

Nişasta, doğada yaygın olarak bulunan bir polisakkarit olup bir çok bitkinin karbon kaynağıdır. Nişasta, yapısal olarak farklı iki fraksiyon olan amiloz (lineer) ve amilopektini (dallanmış) oluşturmak için birbirine bağlanan glikoz ünitelerinden oluşmaktadır. Önemli bir gıda bileşeni olmasının yanında, nişasta, kağıt endüstrisi tarafından kağıdın mukavemetini geliştirmek amacıyla sıklıkla kullanılan bir biyopolimerdir. Ağırlıkça %20-30 konsantrasyona kadar türevlendirme şekline bağlı olarak sıcak suda çözünmektedir ve kaplama yöntemi ile lif bazlı ambalaj malzemelerinin üzerine uygulanabilmektedir. Nişastanın yapısı ve nanopartiküllerle olan etkileşimi sonucu kompleks nanokompozit sistemler oluşmaktadır. Nişasta makro ölçekten moleküler ölçeğe kadar çok seviyeli yapılara sahiptir: nişasta granülleri (mm), yarı kristal ve amorföz çok molekülü yapılar (100 µm), kristalin bölgeler (10 nm) ve lineer amiloz ile dallanmış amilopektin (nm) zincirleri. Bu sayede, nanopartiküllerin kompleks çok seviyeli bir yapı olan nişasta içerisine eklenmesiyle pek çok farklı uygulama alanı olan nişasta bazlı nanokompozitler elde edilmektedir. Farklı nano-dolgu ve farklı hazırlama teknikleri kullanılarak üretilen pek çok nişasta bazlı nanokompozit çalışması bulunmaktadır (He vd. 2012; Gao vd. 2012; Raquez vd. 2011).

Kitosan bazlı nanokompozitler

Kitosan, kitinden elde edilen bir polisakkarittir. Kitin, selülozdan sonra doğada en yaygın bulunan ikinci doğal polisakkarittir ve deniz ürünleri endüstrisi yan ürünlerinden çok aşamalı prosesler

yardımıyla ekstrakte edilebilmektedir. Kitinin moleküler yapısı, β -1,4-glikozidik bağıyla bağlı 2-asetamid-2 deoksi- β -D-glikoz üniteleridir. Asetoamido gruplarının aminlere deasetilasyonu ile kitin, asidik koşullarda suda çözünebilir kitosana, 2-amino-2-deoksi-D-glikoz, dönüştürülür. Kitosanın zayıf asitlerde çözündürülmesi NH_2 gruplarının NH_3^+ 'ya deprotonizasyonuna neden olur, böylece molekül katyonik hale gelir. Katyonik karakter sayesinde polimer daha fazla türevlendirmesine izin verir ve gıda bileşenlerinde ya da kaplama işlemlerinde istenen etkileşimler sağlanır. Kitosan, oldukça yüksek viskoz, kalın film çözeltileri verir. Bu şekilde selüloz substratları üzerine kaplama, transparan, esnek, düşük oksijen geçirgenliğine sahip ve yarı kristallenebilir, kendi kendine film oluşturabilir özellikte filmler elde edilebilir. Kitosanın sudaki maksimum çözünürlüğü molekül ağırlığına bağlı olarak ağırlıkça %1-10 oranındadır. Artan konsantrasyonla birlikte çözelti konsantrasyonu hızlı bir şekilde artmaktadır ve bu durum kitosanın işlenebilirliğini azaltmaktadır. Özellikle kaplama proseslerinde kalın bir bariyer katmanı konvansiyonel yöntemlerle elde edilememektedir. Kitosan bazlı nanokompozitlerle ilgili yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır (Zamudio-Flores vd. 2010; Chang vd. 2010; Ramirez vd. 2017). Kitosan filmlerin mekanik ve ısı özelliklerini geliştirmek için kil nanopartikülleri (Grigoriadi vd. 2015), gümüş ve altın nanopartikülleri (Youssef vd. 2014), çinko oksit nanopartikülleri (Youssef vd. 2015), çok katmanlı karbon nano tüpler (Hernández-Vargas vd. 2013) ve grafen oksit nano levha (Ahmed vd. 2017b) gibi partiküller kitosan filmlere eklenmiştir.

BİYONANOKOMPOZİTLERE KAZANDIRILAN ÖZELLİKLER

Antimikrobiyel özellik

Bazı nanopartiküllerin ya da nanokompozitlerin, gelişimi engelleyici etki (Ahmed vd. 2017a) göstermeleri, antimikrobiyel madde taşıyıcı olarak kullanılabilirliği (Bi vd. 2011) ya da direkt antimikrobiyel etkiye sahip filmler oluşturmaları gibi (Reesha vd. 2015) özellikleri, bu partiküllere olan ilgiyi arttırmaktadır. Nanokompozit antimikrobiyel sistemlerde nano boyutlu

antimikrobiyel ajanın yüzey reaktivitesi mikroorganizmaların daha etkin bir şekilde inhibe edilmesini sağlamaktadır (Ben-Sasson vd. 2013). Antimikrobiyel etkinin sağlanması için nanokompozitlerde yaygın bir şekilde kullanılan bileşenler; metal iyonları (gümüş, bakır, altın, paladyum), metal oksitler (TiO₂, ZnO, MgO), organik modifiye nanokiller (Ag-zeolit, montmorillonit), doğal biyopolimerler (kitosan), doğal antimikrobiyel ajanlar (nisin, thymol, karvakrol, antibiyotik), enzimler (peroksidaz, lizozim) ve sentetik antimikrobiyel lerdir (EDTA, benzoik, propiyonik asit). Gümüş nanopartikülleri, polimerlere fonksiyonellik kazandırmak amacıyla yaygın olarak kullanılan nanopartiküller arasındadır. Bunun nedeni, optik, elektrik, katalitik özellikler, termal stabilite ve antimikrobiyel özellik gibi üstünlükler sağlamasıdır (Dallas vd. 2011). Bakır iyonları mikroorganizmalara ve virüslere karşı etkili ve enzim bileşeni olarak yaşam için zorunludur. Ben-Sasson vd. (2013), bakır nanopartikülleri içeren antimikrobiyel yüzey özelliklerine sahip nanokompozit membran geliştirmiş ancak, bakırın gıda ile temasta bulunduğu toksik olması ve oksidasyona katalitik etkisi nedeniyle gıdalardaki biyokimyasal bozulmayı hızlandırmasından dolayı gıda ambalaj sanayinde kullanılmamaktadır. TiO₂, ZnO ve MgO gibi metal oksitleri, sahip oldukları yüksek aktivite ve stabilite sayesinde antimikrobiyel filmlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bu metal oksitler, bir ışık kaynağından enerji absorbe ederek katalitik aktivite oluşturması sayesinde fotokatalist olarak kullanılmaktadır. Bir fotokatalist ultraviyole radyasyona maruz bırakıldığında oldukça reaktif oksijen türlerini üretir ki bu durum antimikrobiyel aktivite mekanizmalarından birisi olduğu belirtilmiştir (Dong vd. 2011). Mineral killerin biyosit taşıyıcı olarak kullanımı üzerine yapılan çalışmalar arasında en çok Ag, Cu, Zn, Mg gibi inorganik biyositlerin taşındığı çalışmalar bulunmaktadır. Biyosidal metaller kil yapısı içerisine, iyon değişimi yoluyla iyon yükü kazandırmak için eklenmektedir. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* türlerinin Magnezyum fosforik kullanılarak etkin bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir (Chandrasekaran vd. 2011).

Kullanılan nanokilin mikrobiyal gelişimi inhibe etme mekanizması amino grupları ile bu grupların yük etkileşimi sonucu hücrenin membran bütünlüğünün bozulması ve esansiyel bileşenlerin hücre tarafından kullanılamamasıdır.

Antioksidan özellik

Nanopartiküller ambalaj materyaline reaktif partiküller olarak eklenebilir. Oksijen tutucuların gıda ambalajının içerisine eklenmesi ambalaj ortamında oksijen seviyesini düşük tutmada oldukça kullanışlı bir uygulamadır. Örneğin, nano boyutlu titanyum oksidin başarılı bir oksijen tutucu olduğu ve oksijene duyarlı gıdaların ambalajlanması için uygun olduğu gösterilmiştir (Tulsyan vd. 2017). Ancak titanyum oksidin en önemli dezavantajı ise UVA ışığa ihtiyaç duymasındır. Nanosensörler çevresel değişimlere (depolama odasındaki sıcaklık ve nem değişimi, oksijen seviyesinde artış), bozunma ürünlerine ya da mikrobiyal kontaminasyona cevap verebilen özellikindedir (Gontard vd. 2017). Nanosensörlerle gıda ambalajında oluşabilecek kimyasal bileşenler, patojenler ve toksinler belirlenebilmektedir. Azot veya vakum altında paketlenme gibi oksijensiz ambalajlama sistemlerinde oksijen olup olmadığını belirlemek amacıyla geri dönüşümsüz ve toksik olmayan oksijen sensörlerinin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. Mihindukulasuriya ve Lim (2013) yaptıkları çalışmada UV ile aktive olan ve oksijen varlığını tespit edebilen titanyum oksit nanopartikülleri kullanarak oksijen sensörü geliştirmiştir. Aktif bileşenler olan titanyum oksit, gliserol ve metilen mavisi elektro-eğirme yöntemi ile poli(etilen oksit) liflere enkapsüle edilerek taşıyıcı şeklinde kullanılmıştır. Lopez-Cordoba vd. (2017) biberiye nanopartikülleri eklenmiş nişasta filmlerin mekanik ve antioksidatif özelliklerinde gelişme sağlandığını göstermişlerdir. Gutierrez vd. (2017) nano kil ve antioksidan aktiviteye sahip yaban mersini ekstraktını kombine ederek hem aktif ambalaj üretmiş hem de ambalaj materyalinin termoplastik özelliklerini geliştirmişlerdir.

Nano boyutlu enzim immobilizasyon sistemleri

Enzimler, gıda sanayinde pek çok farklı alanda kullanılmaktadır. Bazı durumlarda, enzimlerin

direkt kullanımı işleme koşullarına ya da inhibisyona neden olabilecek bileşenlere duyarlı olmasından dolayı (bu durumda enzimin inaktivasyonu gerçekleşir ya da enzim daha kısa ömürlü olur) yasal olarak sınırlıdır. Uygun taşıyıcılar kullanılarak immobilize edildiği zaman enzimlerin pH ve sıcaklık değişimlerine, denatürasyona neden olan diğer bileşenlere karşı direnci ve ortam koşullarına adapte olma, tekrar kullanılabilirlik ya da kontrollü salınım gibi özellikleri geliştirilebilmektedir (Mihindukulasuriya ve Lim, 2014). Laktaz ya da kolesterol redüktaz gibi enzimlerin ambalaj materyallerine eklenmesi enzim kaynaklı sağlık problemleri olan tüketicilerin sorunlarına cevap vermektedir (Fernández vd. 2008). Killer gibi inorganik destek maddeleri protein adsorpsiyonu için yüksek etkileşime sahiptir ve etkin bir enzim taşıyıcısı olduğu ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Benucci vd. 2018; Sun vd. 2017). Silika nanopartikülleri glutamat ve laktat dehidrogenazı immobilize etmek için modifiye edilmiş ve immobilize edilen enzimlerin mükemmel aktivite göstererek modifiye silika nanopartiküllerin biyosensör uygulamalarında kullanılmasına olanak sağlamıştır (Qhobosheane vd. 2001). Caseli vd. (2007) ters iyon yüklü materyallerin karşılıklı adsorpsiyon yöntemini kullanarak glukoz oksidazı kitosan filmler içerisine immobilize etmiş ve enzim aktivitesinin solüsyon halindeki aktivite ile aynı olduğunu göstermiştir. Elektro-eğirme yöntemi pek çok materyalden nanolif üretmek için kullanılabilir basit ve hızlı bir tekniktir. Üretilen liflerin poroz yapısı ve yüksek spesifik yüzey alanları bu nanolifleri mükemmel bir enzim desteği yapıp immobilize enzimlerin katalizleme yeteneğini arttırmaktadır (Ren vd. 2006).

BİYO BAZLI NANOKOMPOZİT GIDA AMBALAJLARININ TAŞIDIĞI RİSKLER

Gıda ambalajında kullanılan nano boyutlu dolgular, daha derin araştırmalar sonucu kullanılmalı, gerekli sağlık ve etik sorumluluklar alınmalıdır. Gıdalarda bulunan ve zararsız olduğu düşünülen proteinler, karbonhidratlar gibi bileşenlerden nanometre boyutundaki partiküllere kadar tüm bileşenlerin uygun seviyelerde toksik etki yaratabileceği unutulmamalıdır. Herhangi bir kimyasal bileşenin insan vücuduna ya da çevreye

olan zararları bu maddeye maruz kalınan konsantrasyon kullanılarak ve gıda ambalajında, ya da havada/suda/toprakta vb. gibi maruz kalındığı şekli ile belirlenmelidir. Aynı zamanda, nanopartiküllere maruz kalma olasılığı ve vücuda alma şekli (teneffüs etme ya da sindirme gibi), bu bileşenlerin potansiyel toksisiteleri düşünülerek incelenmelidir (Borm vd. 2006). Bu yüzden, kullanılacak olan herhangi nano boyuttaki materyal kullanılmadan önce uygun düzenlemeler kontrol edilmelidir. Gıdalarla temasta bulunan tüm materyaller ile ilgili genel bir düzenleme bulunmaktadır (Regulation (EC) No. 1935/2004). Nano materyaller açısından bakıldığında aktif (Regulation (EC) 450/2009 European Commission, 2009) ve akıllı ambalajlar ve revize edilmiş haliyle gıdayla temasta bulunan plastikler (Regulation (EU) 2016/1416 European Parliament and Council, 2011) için Avrupa Komisyonu'nun ilgili düzenlemeleri daha spesifik bir açıklama getirmektedir. Nanopartikül düzenlemelerdeki şartlarda açık bir şekilde yer alıyorsa bu durum o nanomateryalin kullanılabilirliği anlamına gelir. Bu düzenlemelerde nanopartikül olarak belirtilen tek materyal katkı maddesi ve polimer katkısı olarak kullanılan titanyum nitrittir. Ek olarak, nanopartikül olarak belirtilmese de boyutları 100 nm ve aşağısında olarak verilen silikon dioksit ve çinko oksit de düzenlemede yer almaktadır. Aktif ambalajlardan gıdaya salınan bileşenler (antimikrobiyel ajan olarak nano gümüş kullanımı gibi) için ise gıda katkı maddeleri ile ilgili düzenlemelere bakılması gerekmektedir (European Commission, 2009).

Kontaminasyon ve migrasyon

Gıda ile ambalaj malzemesinin direkt teması moleküler bileşenlerin ve iyonların ambalajdan gıdaya istenmeyen migrasyonuna neden olabilir ve bu şekilde hem gıdada kalite kaybına hem de tüketen kişide sağlık problemlerine neden olur (Brown ve Williams, 2003). Ambalaj materyalinden migrasyon potansiyeline sahip olan bileşenler küçük monomer kalıntıları ya da oligomerler (laktik asit gibi) (Plackett vd. 2006) olup genellikle esnekliği arttırmak için kullanılan plastifiyanlar ya da diğer formülasyon katkıları gibi polimerizasyon prosesinin sonunda reaksiyona

girmeyen bileşenler olarak bulunurlar. Migrasyonun diğer kaynağı gıda ile direkt temasta bulunmayan ancak ambalajlı gıdaya yakın çevrede olan kapatma materyallerindeki yapışkanlardır (Brown ve Williams, 2003). Çevrede bulunan bileşenler ambalaj materyali tarafından absorbe edilerek sonrasında gıdaya migre olabilirler. Migrasyonun varlığı duyuşsal olarak ya da kimyasal analizler yardımıyla belirlenebilir. Echegoyen ve Nerin (2013), gümüş nanopartiküllerinin 3 farklı gıda konteynirındaki migrasyon değerlerinin 1.66 ve 31.46 ng/cm² aralığında olduğunu göstermişlerdir.

İnsan sağlığı üzerine etkileri

Genel olarak, nanokompozitlerin sağladığı faydalar daha iyi bilinmekte ancak potansiyel ekotoksikolojik etkileri ve insan vücudunda göstereceği tepkiler çok fazla bilinmemekte ve incelenmemektedir. Bazı çalışmalar, nanopartiküllerin biyolojik sistemler üzerinde toksikolojik etkiler yaratabileceğini göstermektedir (Mao vd. 2016). Nanomateryallerin sahip olduğu yüksek alan-hacim oranı onları daha reaktif ve daha toksik yapmaktadır. Daha reaktif oldukları için, atma ve geri kazanım sırasında diğer bileşenlerle kolayca reaksiyona girecektir. Bazı çevreler ise, nanomateryallerin yeni alerjenler olabileceklerini, yeni toksik zararlanmalara neden olabileceklerini ve çevre tarafından daha hızlı absorbe edileceğini belirtmektedir. Gıdalarda bulunabilecek titanyum oksit nanopartiküllerinin canlı hücreleri ile etkileşime geçebileceği gösterilmiştir (Weir vd. 2012). Gümüş nanopartikülleri gibi diğer nanopartiküllerin insan sağlığı üzerine etkilerinin farklı hücreler kullanılarak belirlendiği in vitro çalışmalar artış gösterse bile nanopartiküllerin toksik etkileri henüz tam olarak anlaşılammıştır (Elsaesser ve Howard, 2012). Gıda ambalaj materyalinde bulunan nanomateryallere maruz kalma 3 farklı yolla gelişebilir: deri ile temas, solunum yolu ya da sindirim (Alger vd. 2014). Bunun yanı sıra, nanopartiküller çevreye salınmış ve gıdaya dolaylı yollarla bulaşmış olabilir. Silvestre vd. (2011), bazı serbest nanopartiküllerin hücre duvarından geçerek oksidatif ve inflamatuvar reaksiyonlara neden olduğunu göstermiştir. Ancak, bu partiküllerin vücuda

alındıktan sonra ne olacağı ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır. Nanopartiküllerin kan dolaşım sistemine ulaştıktan sonra vücutta dağılımını sağlayan iki ana organ dalak ve karaciğerdir. Nanopartiküllerin hidrofilik olması onların sirkülasyon hızını şiddetli bir şekilde arttırmakta ve yüzeyleri pozitif yüklenmektedir (Silvestre vd. 2011). Çözünür olmayan nanopartiküllerin ikincil hedef organlarda birikeceği de düşünülmektedir.

SONUÇ

Biyobazlı nanokompozitlerin O₂, CO₂, su buharı ve aroma bileşenlerine karşı geliştirilmiş bariyer özellikleri, pek çok taze ve işlenmiş gıdanın raf ömrünü arttırabilmektedir. Nanodolgu, konvansiyonel dolgu maddeleri ile karşılaştırıldığında (%10-50 aralığında) çok düşük nanopartikül oranlarında (%5'den az) bile elde edilebildiği için işlenmiş gıdaların tüketimi sonrasında oluşan ambalaj atık miktarını azaltmakta ve ürünün raf ömrünü arttırarak paketlenmiş gıdayı korumaktadır. Nanokiller, metal oksitleri ya da kitosan gibi fonksiyonel biyopolimerleri içeren nanokompozitlerin üretimi yoluyla bu materyallere antimikrobiyel ya da antioksidan fonksiyonlar kazandırılarak, nanokompozitlerin kullanım alanları genişletilebilir. Eklenen fonksiyonel özellikleri ile biyobazlı nanokompozitler, aktif-akıllı ambalajlama, yüksek bariyer özellikli filmler, nanosensörler, tazelik indikatörleri, kendi kendini temizleyen ambalajlar, nano kaplamalar gibi inovatif gıda ambalajlarının üretiminde yüksek potansiyele sahiptir. Ancak, günümüzdeki gelişmeler ve yenilikler biyopolimerleri petrol bazlı plastiklerle yarışabilecek düzeye getirememiştir. Pek çok biyopolimer (kitosan, nişasta, polilaktik asit vb.) ve nanodolgu maddeleri piyasada satılmaktadır. Gıda ambalaj materyali olarak kullanılan sentetik nanokompozit materyaller mevcuttur ve yakın bir gelecekte biyobazlı nanokompozit gıda ambalaj malzemelerinin de piyasadaki payının artması beklenmektedir. Ek olarak, nanokompozitlerin gıda ile temas eden ambalaj malzemesi olarak kullanımında bazı riskler vardır. Ancak nanokompozitler için optimum koşulların belirlenmesi ve uygun migrasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, J., Hiremath, N., Jacob, H. (2017a). Antimicrobial efficacies of essential oils/nanoparticles incorporated polylactide films against *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* on contaminated cheese. *Int J Food Prop*, 20(1):53-67.
- Ahmed, J., Mulla, M., Arfat, Y.A., Thai, L.A. (2017b). Mechanical, thermal, structural and barrier properties of crab Shell chitosan/graphene oxide composite films. *Food Hydrocoll*, 71:141-148.
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., Abdollahi, M. (2016). Efficacy of activated alginate-based nanocomposite films to control *Listeria monocytogenes* and spoilage flora in rainbow trout slice. *J Food Sci Technol*, 53(1):521-530.
- Alexandre, M., Dubois, P. (2000). Polymer-Layered Silicate Nanocomposites: Preparation, Properties and Uses of a New Class of Materials. *Materials Science and Engineering Reports*, 28(1-2):1-63.
- Alger, H., Momcilovic, D., Carlander, D., Duncan, T.V. (2014). Methods to evaluate uptake of engineered nanomaterials by the alimentary tract. *Compr Rev Food Sci F*, 13(4):705-29.
- Attaran, S.A., Hassan, A., Wahit, M.U. (2015). Materials for food packaging applications based on bio-based polymer nanocomposites: A review. *J Thermoplast Compo*, 30(2):143-173.
- Auras, R.A., Singh, P.A., Singh, J.J. (2005). Evaluation of oriented poly(lactide) polymers vs. existing PET and oriented PS for fresh food service containers. *Packag Technol Sci*, 18:207-216.
- Averous, L., Boquillon, N. (2004). Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. *Carbohydr Polym*, 56(2):111-122.
- Ben-Sasson, M., Zodrow, K.R., Genggeng, Q., Kang, Y., Giannelis, E.P., Elimelech, M. (2013). Surface Functionalization of Thin-Film Composite Membranes with Copper Nanoparticles for Antimicrobial Surface Properties. *Environ Sci Technol*, 48 (1):384-393.
- Benucci, I., Liburdi, K., Cacciotti, I., Lombardelli, C., Zappino, M., Nanni, F., Estia, M. (2018). Chitosan/clay nanocomposite films as supports for enzyme immobilization: An innovative green approach for winemaking applications. *Food Hydrocoll*, 74:124-131.
- Bi, L., Yang, L., Narsimhan, G., Bhunia, A.K., Yao, Y. (2011). Designing carbohydrate nanoparticles for prolonged efficacy of antimicrobial peptide. *J Control Release*, 150:150-156.
- Borm, P.J.A., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, V., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D., Oberdorster E. (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Part Fibre Toxicol*, 3:11.
- Brown, H., Williams, J. (2003). Packaged product quality and shelf life. In: Food packaging technology, Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M.J. (eds.), Blackwell/CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 65-94.
- Caseli, L., Santos, D.S., Foschini, M., Gonçalves, D., Oliveira, O.N. (2007). Control of catalytic activity of glucose oxidase in layer-by-layer films of chitosan and glucose oxidase. *Mater Sci Eng*, C27:1108-1110.
- Chandrasekaran, G., Han, H.K., Kim, G.J., Shin, H.J. (2011). Antimicrobial activity of delaminated aminopropyl functionalized magnesium phyllosilicates. *Appl Clay Sci*, 53:729-36
- Chang, P.R., Jian, R., Yu, J., Ma, X. (2010). Fabrication and characterisation of chitosan nanoparticles/plasticised-starch composites. *Food Chem*, 120:736-740
- Dallas, P., Sharma, V.K., Zboril, R. (2011). Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Adv Colloid Interfac*, 166:119-135.
- Dasan, Y.K., Bhat, A.H., Ahmad, F. (2017). Polymer blend of PLA/PHBV based bionanocomposites reinforced with nanocrystalline cellulose for potential application as packaging material. *Carbohydr Polym*, 157:1323-1332.

- Dong, C., Song, D., Cairney, J., Maddan, O.L., He, G., Deng, Y. (2011). Antibacterial study of Mg(OH)₂ nanoplatelets. *Mater Res Bull*, 46:576-582.
- Echegoyen Y, Nerín C. 2013. Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food Chem Toxicol*, 62:16-22.
- Elen, K., Murariu, M., Peeters, R., Dubois, P., Mullens, J., Hardy, A., Van Bael, M.K. (2012). Towards high-performance biopackaging: barrier and mechanical properties of dual-action polycaprolactone/zinc oxide nanocomposites. *Polym for Advan Technol*, 23(10):1422-1428.
- Elsaesser, A., Howard, C.V. 2012. Toxicology of nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*, 64(2):129-137.
- European Commission, 2009. Commission Regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. Off. J. Eur. Union L135, 3-11.
- European Commission, 2016. Commission Regulation (EU) No 2016/1416 of 24 August 2016 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. Off. J. Eur. Union L328, 20-29.
- Fernandez, A., Cava, D., Ocio, M.J., Lagaron, J.M. (2008). Perspectives for biocatalysts in food packaging. *Trends Food Sci Tech*, 19(4):198-206.
- Gao, W., Dong, H., Hou, H., Zhang, H. (2012). Effects of clays with various hydrophilicities on properties of starch-clay nanocomposites by film blowing. *Carbohydr Polym*, 88:321-328.
- Gontard, N., Peyron, S., Lagaron, J.M., Echegoyen, Y., Guillaume, C. (2017). Nanotechnologies for Active and Intelligent Food Packaging: Opportunities and Risks. In: Nanotechnology in Agriculture and Food Science, Axelos, M.A.V., de Voorde, M.V. (eds.), Wiley-VCH, India, pp. 177-197.
- Grigoriadi, K., Giannakas, A., Ladavos, A.K., Barkoula, N.M. (2015). Interplay between processing and performance in chitosan-based clay nanocomposite films. *Polym Bull*, 72(5):1145-1161.
- Gutierrez, T.J., Ponce, A.G., Alvarez, V.A. (2017). Nano-clays from natural and modified montmorillonite with and without added blueberry extract for active and intelligent food nanopackaging materials. *Mater Chem Phys*, 194:283-292.
- Hassan-Nejad, M., Ganster, J., Bohn, A., Pinnow, M., Volkert, B. (2009). Bio-based nanocomposites of cellulose acetate and nano-clay with superior mechanical properties. *Macromol Symp*, 280:123-129.
- He, Y., Kong, W., Wang, W., Liu, T., Liu, Y., Gong, Q., Gao, J. (2012). Modified natural halloysite/potato starch composite films. *Carbohydr Polym*, 87:2706-2711.
- Hernandez-Vargas, J., Gonzalez-Campos, J.B., Lara-Romero, J., Prokhorov, E., Luna-Barcenas, G., Avina, J.A., Gonzalez-Hernandez, J. (2013). Chitosan/MWCNTs-decorated with silver nanoparticle composites: Dielectric and antibacterial characterization. *J Appl Polym Sci*, 131(9):40214(1-13).
- Hubbe, M.A., Ferrer, A., Tyagi, P., Yin, Y.Y., Salas, C., Pal, L., Rojas, O.J. (2017). Nanocellulose in Thin Films, Coatings, and Plies for Packaging Applications: A Review. *Bioresources*, 12(1):2143-2233.
- Kakroodi, A.R., Kazemi, Y., Nofar, M., Park, C.B. (2017). Tailoring poly(lactic acid) for packaging applications via the production of fully bio-based in situ microfibrillar composite films. *Chem Eng J*, 308:772-782.
- Kumar, A.P., Depan, D., Tomer, N.S., Singh, R. (2009). P. Nanoscale particles for polymer degradation and stabilization: trends and future perspectives. *Prog Polym Sci*, 34:479-515.
- Kumar, P., Sandeep, K.P., Alavi, S., Truong, V.D., Gorga, R.E. (2010). Effect of type and content of modified montmorillonite on the structure and properties of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite. *J Food Sci*, 75(5):N46-56.
- Lin, N., Yu, J., Chang, P.R., Li, J., Huang, J. (2011). Poly(butylene succinate)-based biocomposites filled with polysaccharide

- nanocrystals: Structure and properties. *Polym Composite*, 32(3):472-482.
- Lopez-Cordoba, A., Medina-Jaramillo, C., Pinos-Hernandez, D., Goyanes, S. (2017). Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. *Food Hydrocoll*, 71:26-34.
- Mao, X., Nguyen, T.H.D., Lin, M., Mustapha A. (2016). Engineered Nanoparticles as Potential Food Contaminants and Their Toxicity to Caco-2 Cells. *J Food Sci*, 81(8):T2107-T2113.
- Mihindukulasuriya, S.D.F., Lim, L.T. (2013). Oxygen detection using UV-activated electrospun poly (ethylene oxide) fibers encapsulated with TiO₂ nanoparticles. *J Mater Sci*, 48:5489-5498.
- Mihindukulasuriya, S.D.F., Lim, L.T. (2014). Nanotechnology development in food packaging: A review. *Trends Food Sci Tech*, 40(2):149-167.
- Mittal, V. (2011). Bio-nanocomposites: future high value materials. In: *Nanocomposites with biodegradable polymers. Synthesis, properties and future perspectives*, Mittal, V. (ed.), Oxford University Press, Oxford/UK, pp. 17-46.
- Müller, P., Kapin, E, Fekete, E. (2014). Effects of preparation methods on the structure and mechanical properties of wet conditioned starch/montmorillonite nanocomposite films. *Carbohydr Polym*, 113:569-576.
- Paul, M.A., Alexandre, M., Degee, P., Henrist, C., Rulmont, A. and Dubois, P. (2003). New nanocomposite materials based on plasticized poly(L-lactide) and organo-modified montmorillonites: thermal and morphological study. *Polymer*, 44:443-50.
- Plackett, D.V., Holm, V.K., Johansen, P., Plackett, D.V., Holm, V.K., Johansen, P., Ndoni, S., Nielsen, V., Sipilainen-Malm, T., Södergård, A., Verstichel, S. (2006). Characterization of L-poly lactide and L-poly lactide-polycaprolactone co-polymer films for use in cheese packaging applications. *Packag Technol Sci*, 19:1-24.
- Pranger, L., Tannenbaum, R. (2008). Biobased nanocomposites prepared by in situ polymerization of furfuryl alcohol with cellulose whiskers and montmorillonite clay. *Macromol*, 41:8682-8687.
- Qhobosheane, M., Santra, S., Zhang, P., & Tan, W. H. (2001). Biochemically functionalized silica nanoparticles. *Analyst*, 126(8):1274-1278.
- Qin, Y., Zhang, S., Yu, J., Yang, J., Xiong, Y., Sun, Q. (2016). Effects of chitin nano-whiskers on the antibacterial and physicochemical properties of maize starch films. *Carbohydr Polym*, 147:372-378.
- Ramirez, O., Bonardd, S., Saldías, C., Radic, D., Leiva, A. (2017). Biobased Chitosan Nanocomposite Films Containing Gold Nanoparticles: Obtainment, Characterization, and Catalytic Activity Assessment. *ACS Appl Mater Inter*, 9(19): 16561-16570.
- Raquez, J.M., Nabar, Y., Narayan, R., Dubois, P. (2011). Preparation and characterization of maleated thermoplastic starch-based nanocomposites. *J Appl Polym Sci*, 122:639-647.
- Ray, S.S., Bousmina, M. (2005). Poly(butylene succinate-co-adipate)/montmorillonite nanocomposites: effect of organic modifier miscibility on structure, properties, and viscoelasticity. *Polymer*, 46(26):12430-12439.
- Reesha, K.V., Panda, S.K., Bindu, J., Varghese, T.O. (2015). Development and characterization of an LDPE/chitosan composite antimicrobial film for chilled fish storage. *Int J Biol Macromol*, 79:934-942.
- Ren, G.L., Xu, X.H., Liu, Q., Cheng, J., Yuan, X.Y., Wu, L.L., Wan, Y. (2006). Electrospun poly(vinyl alcohol)/glucose oxidase biocomposite membranes for biosensor applications. *React Funct Polym*, 66(12):1559-1564.
- Rhim, J.W. (2011). Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydr Polym*, 86:691-9.
- Rhim, J.W., Lee, S.B., Hong, S.I. (2011). Preparation and characterization of agar/clay nanocomposite films: the effect of clay type. *J Food Sci*, 76(3):N40-48.
- Rhim, J.W., Ng, P.K.W. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 47(4):411-433.

- Romero-Bastida, C.A., Tapia-Blácido, D.R., Méndez-Montevalvo, G., Bello-Pérez, L.A., Velazquez, G., Alvarez-Ramirez, J. (2016). Effect of amylose content and nanoclay incorporation order in physicochemical properties of starch/montmorillonite composites. *Carbohydr Polym*, 152:351-360.
- Silvestre, C., Cimmino, S. (2011). Food packaging based on polymer nanomaterials. *Prog Polym Sci*, 36:1766-1782.
- Sinha Ray, S., Yamada, K., Okamoto, M., Ueda, K. (2003). Biodegradable polylactide/montmorillonite nanocomposites. *J Nanosci. Nanotechnol*, 3:503-510.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G., Vittoria, V. (2007). Potential perspectives of bionanocomposites for food packaging applications. *Trends Food Sci Tech*, 18(2):84-95.
- Sothornvit, R., Hong, S.I., An, D.J., Rhim, J.W. (2010). Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. *LWT- Food Sci Technol*, 43:279-284.
- Sun, J., Yendluri, R., Liu, K., Guo, Y., Lvov, Y., Yan, X. (2017). Enzyme-immobilized clay nanotube–chitosan membranes with sustainable biocatalytic activities. *Ply Chem Chem Phys*, 19:562-567.
- Swain, S.K., Priyadarshini, P.P., Patra, S.K. (2012). Soy Protein/Clay Bionanocomposites as Ideal Packaging Materials. *Polym Plast Technol Eng*, 51(12): 1282-1287.
- Tang, X.G., Kumar, P., Alavi, S., Sandeep, K.P. (2012). Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for foodpackaging materials. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52:426-442.
- Tulsyan, G., Richter, C., Diaz, C.A. (2017). Oxygen Scavengers Based on Titanium Oxide Nanotubes for Packaging Applications. *Packag Technol Sci*, 30(6):251-256.
- Unalan, İ.U., Cerri, G., Marcuzzo, E., Cozzolino, C.A., Farris, S. (2014). Nanocomposite films and coatings using inorganic nanobuilding blocks (NBB): current applications and future opportunities in the food packaging sector. *RCS Adv*, 4:29393-29428.
- Weir, A., Westerhoff, P., Fabricius, L., Hristovski, K., von Goetz N. 2012. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol*, 46(4):2242-50.
- Xiao-e, L., Green, A.N.M., Haque, S.A., Mills, A., Durrant, J.R. (2004). Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films. *J Photoch Photobio A*, 162:253-259.
- Youssef, A.M. Abdel-Aziz, M.S., El-Sayed, S.M. (2014). Chitosan nanocomposite films based on Ag-NP and Au-NP biosynthesis by *Bacillus Subtilis* as packaging materials. *Int J Biol Macromol*, 69:185-191.
- Youssef, A.M. Abou-Yousef, H., El-Sayed, S.M., Kamel, S. (2015). Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. *Int J Biol Macromol*, 46:25-32.
- Zamudio-Flores, P.B., Torres A.V., Salgado-Delgado R., Bello-Pérez L.A. (2010). Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modified starch and modified starch/chitosan blend films. *J Appl Polym Sci*, 115:991-998.
- Zheng, J.P., Li, P., Ma, Y.L., Yao, K.D. (2002). Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposites. I. Preparation and Properties. *J Appl Polym Sci*, 86:1189-1194.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Kilic, A. LTHV (Low temperature and high velocity) drying characteristics and mathematical modeling of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) / Hamsi'nin (*Engraulis encrasicolus*) LTHV (düşük sıcaklık ve yüksek hız) kurutma karakteristikleri ve matematiksel modellenmesi.....654-665
- Suna, S. Investigating the physicochemical properties and in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of rooibos herbal tea beverage / Rooibos çayı içeceğinin fizikokimyasal özellikleri ile fenolik madde ve antioksidan kapasite yönünden biyoelenebilirliğinin araştırılması.....682-692
- Tokatlı, M., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., Özçelik, F. Technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles / Geleneksel turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin teknolojik özellikleri 693-707
- Carsanba, E., Akca, I., Timur, M. Examination of firik produced in Hatay region in terms of nutritional aspect / Hatay bölgesinde üretilen firığın besinsel değerlerinin incelenmesi726-730
- Berk, E., Şumnu, S. G., Şahin, S. Effects of hydrocolloids and carob bean flour on rheological properties of batter and cake quality / Hidrokolloidlerin ve keçiyoynuzu ununun hamurun reolojik özellikleri ve kekin kalitesine olan etkisi754-762
- Gençcelep, H., Anil, M., Sarıcaoğlu, F. T., Ağar B. The effects of different modified starches on some physical and texture properties of meat emulsion / Et emülsiyonlarının bazı fiziksel ve tekstürel özellikleri üzerine farklı modifiye nişastaların etkileri773-786
- Gençcelep, H., Zorba, Ö. The effect of dried mushroom (*Agaricus bisporus*) addition on microbiological quality and biogenic amine contents in sucuk production / Sucuk üretiminde kurutulmuş mantar (*Agaricus bisporus*) ilavesinin mikrobiyolojik kalite ve biyojenik amin içeriği üzerine etkileri787-798
- Büyükgök, E. B., Saygin Gümüşkesen, A. Influence of olive ripeness degree and harvest year on chemical and sensory properties of Kilis yağlık and Memecik olive oil / Kilis yağlık ve Memecik zeytinyağlarının kimyasal ve duyuşal özelliklerine zeytinin olgunluk derecesi ve hasat yılının etkisi.....799-808
- Hendek Ertop, M., Öztürk Sarıkaya S. B. The relations between hydroxymethylfurfural content, antioxidant activity and colorimetric properties of various bakery products / Çeşitli fırıncılık ürünlerinin hidroksimetilfurfural içeriği, antioksidan aktivitesi ve kolorimetrik özellikleri arasındaki ilişkiler834-843

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. Üretim parametreleri optimize edilmiş kızartmalık keş örneklerinde depolama boyunca meydana gelen değişimler / The changes revealed during storage of "keş for frying" samples made with optimized production parameters643-653
- Döner, F., Göksungur Y. Lactobacillus sanfranciscensis'in gelişmesinde etkili biyoproses parametrelerinin belirlenmesi ve optimizasyonu / Determination and optimization of the bioprocess parameters effecting growth of Lactobacillus sanfranciscensis666-675
- Palabıyık, İ. Liyofillize bazı mikroalg türlerinin sakız bileşiminde doğal renklendirici olarak kullanımı / Effect of lyophilized microalgae addition on quality parameters of chewing gum.....676-681
- Demir, H., Sezer, S., Süfer, Ö. Soğan dilimlerinin kurutulması esnasında renk değişimine etki eden faktörlerin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi / Determination of factors affecting total color change of onion slices during drying using response surface methodology731-742

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Yılmaz, M., Altan, A. Elektroçirime yöntemine dayalı nanosensörlerin gıda alanındaki uygulamaları / Applications of electrospinning-based nanosensors in food field708-725
- Akdeniz, V., Akalın, A. S. Ultrason uygulamasının süt ürünlerinde homojenizasyon, jel yapısı, viskozite ve su tutma kapasitesi üzerine etkisi / Effects of ultrasound application on homogenization, gel structure, viscosity and water holding capacity in dairy products ..743-753
- Özer, E., Ünal, G., Kesenkaş, H., Akalın, A. S. Somatik hücreler ve endojen enzimlerinin süt teknolojisindeki önemi / The importance of somatic cells and their endogenous enzymes in dairy technology763-772
- Kurhan, Ş., Çakır, İ. Laktik asit bakterilerinin aflatoksin B1 bağlayıcı ve antikanserojen özellikleri / Aflatoxin B1 binding and anti-carcinogenic properties of lactic acid bacteria809-820
- Söğüt, E., Seydim, A. C. Biyobazlı nanokompozitler ve gıda ambalajlamadaki uygulamaları / Bio-based nanocomposites and food packaging applications.....821-833