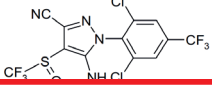


İçerikten / From the content


Mathematical Description for Fipronil Electrochemical Detection Assisted by Cobalt (III) Oxyhydroxide

Kobalt (III) Oksihidroksit Yardımıyla Fipronilin Elektrokimyasal Tespiti İçin Matematiksel Açıklama

Simultaneous Optimization of Protease and Biopesticide Productions: A Case Study with Industrial Perspective

Proteaz ve Biyopestisit Üretimlerinin Eşzamanlı Optimizasyonu: Endüstriyel Bakış Açısında Bir Durum Çalışması

Optimization of Olive Oil Extraction Process by Response Surface Methodology

Zeytinyağı Ekstraksiyon İşleminin Yanıt Yüzey Metodu ile Optimizasyonu

Physicochemical and Microbiological Properties of Sucuk produced with Different Heat Treatment Temperatures

Farklı Isıl İşlem Sıcaklıklarında Üretilen Sucukların Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Phenolic Content of Some Dietetic Tea Products in Turkey

Türkiye'deki Bazı Diyet Çay Örneklerinin Fenolik Bileşik İçeriği

Karbon Fiber Destekli Kabin Kurutucuda Farklı Sıcaklıklarda Elma Dilimlerinin Kurutulmasının İncelenmesi: Kurutma Karakteristikleri ve Performans Değerlendirmesi

Investigation of Drying of Apple Slices in Carbon Fiber Assisted Cabin Dryer at Different Temperatures: Drying Characteristics and Performance Evaluation

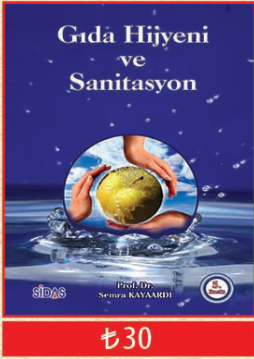
Sütün Homojenizasyonunun Kefirin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi

Effect of Homogenization of Milk on Physicochemical and Microbiological Properties of Kefir

Organik ve Konvansiyonel Fındıkların (*Corylus avellana* L.) Bazı Fiziksel Özellikleri

*Some Physical Properties of Organic and Conventional Hazelnuts (*Corylus avellana* L.)*

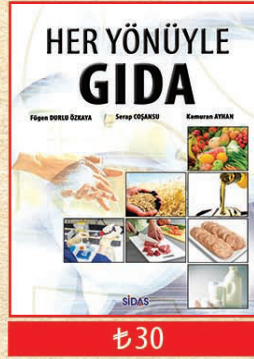
SIDAS MEDYA 2017 KİTAP FİYAT LİSTESİ



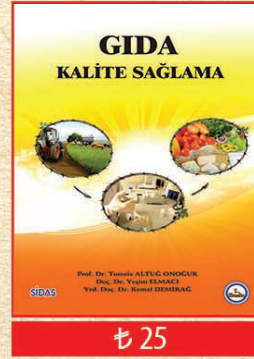
₺30



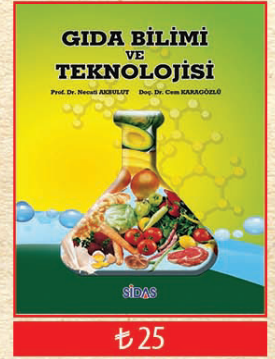
₺30



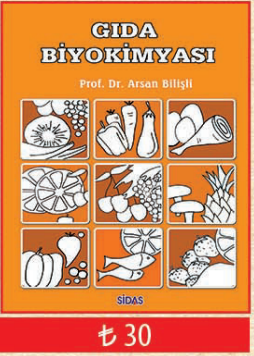
₺30



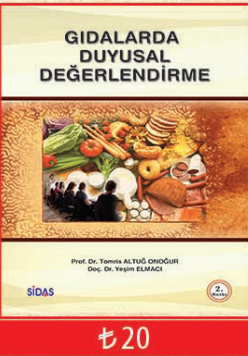
₺25



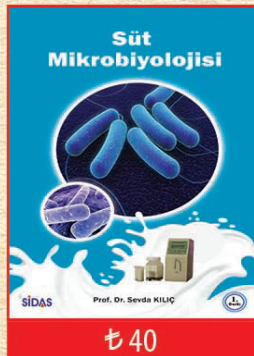
₺25



₺30



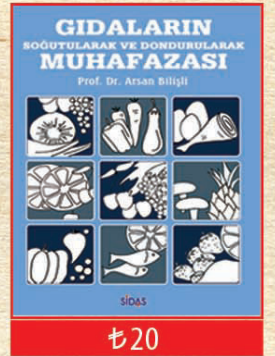
₺20



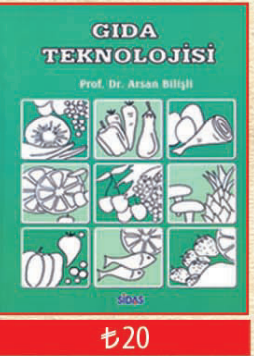
₺40



₺30



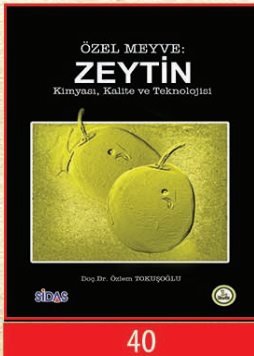
₺20



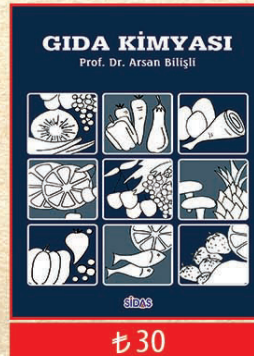
₺20



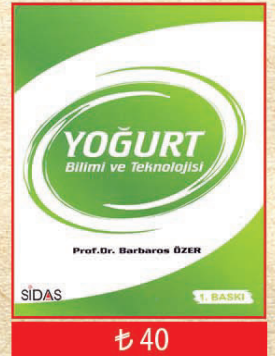
₺30



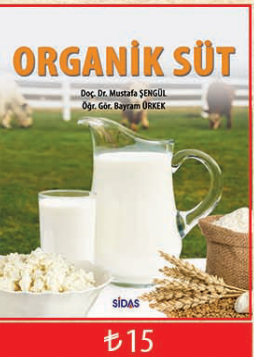
40



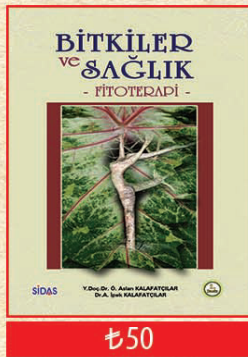
₺30



₺40



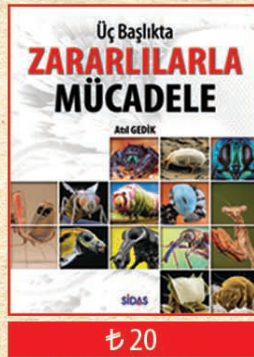
₺15



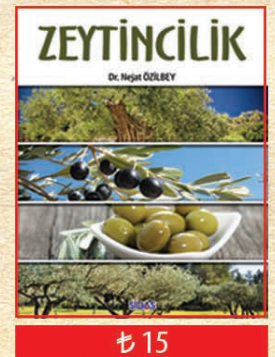
₺50



₺15



₺20



₺15



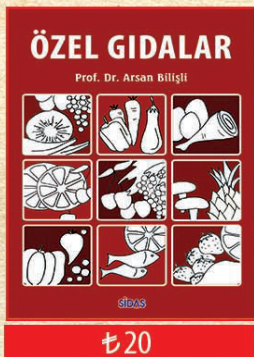
₺20



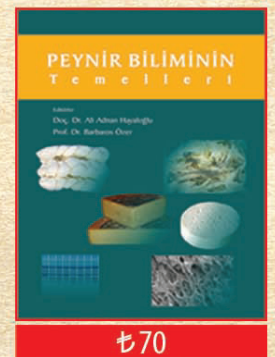
₺20



₺20



₺20



₺70

SİDAS MEDYA

www.academicfoodjournal.com

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL
AKADEMİK GIDA[®]
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

• Cilt/Volume:15 • Sayı/Number:4 • Yıl/Year:2017

www.akademikgida.com

ACADEMIC FOOD JOURNAL
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

AKADEMİK GIDA®
ACADEMIC FOOD JOURNAL

Akademik Gıda® Dergisi Gıda Bilimi ve Teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı hakemli bir dergidir. Araştırma notu ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilmektedir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda® dergisi CAB Abstracts®, EBSCO, Index Copernicus, Food Science and Technology Abstracts (FSTA®) ve TÜBİTAK ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veri Tabanı tarafından indekslenmektedir.

Editör / Editor

Oğuz Gürsoy

(Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Özer Kınık (Ege Üniversitesi)

Ramazan Gökçe (Pamukkale Üniversitesi)

Yusuf Yılmaz (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Teknik Editör / Technical Editor

Kübra Kocatürk (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu

- Mohamed H. Abd El-Salam (National Research Center, Egypt)
Sibel Akalın (Ege University, Turkey)
Abdullah Akdoğan (Pamukkale University, Turkey)
Nihat Akın (Selçuk University, Turkey)
Nesimi Aktaş (Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey)
Tapani Alatossava (University of Helsinki, Finland)
Patricia-Munsch Alatossava (University of Helsinki, Finland)
Muhammet Arıcı (Yıldız Technical University, Turkey)
Iuliana Aprodu (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)
Adriana Pavesi Ariseto (State University of Campinas, Brazil)
Ahmet Ayar (Sakarya University, Turkey)
Zehra Ayhan (Sakarya University, Turkey)
Jurislav Babić (University of Osijek, Croatia)
Chockry Barbana (Canadian Food Inspection Agency, Canada)
Ali Bayrak (Ankara University, Turkey)
Noredine Benkerroum (Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Morocco)
Yavuz Beyatlı (Gazi University, Turkey)
Kamil Bostan (Istanbul Aydın University, Turkey)
Rajka Božanić (University of Zagreb, Croatia)
Cengiz Caner (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Oana Emilia Constantin (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)
Abdullah Çağlar (Afyon Kocatepe University, Turkey)
İbrahim Çakır (Abant İzzet Baysal University, Turkey)
Songül Çakmakçı (Atatürk University, Turkey)
İlyas Çelik (Pamukkale University, Turkey)
Utku Çopur (Uludağ University, Turkey)
Ahmet Hilmi Çon (Ondokuz Mayıs University, Turkey)
Mehmet Demirci (Namık Kemal University, Turkey)
Cynthia Ditchfield (University of Sao Paulo, Brazil)
Maria Elisabetta Guerzoni (University of Bologna, Italy)
Fahrettin Göğüş (Gaziantep University, Turkey)
Şebnem Harsa (İzmir Institute of High Technology, Turkey)
Arif Hepbaşlı (Ege University, Turkey)
Seda Ersus (Ege University, Turkey)
Adnan Hayaloğlu (İnönü University, Turkey)
Yekta Göksungur (Ege University, Turkey)
Mehmet Güven (Çukurova University, Turkey)
Filiz İçier (Ege University, Turkey)
Kadir Halkman (Ankara University, Turkey)
Hasan Fenercioğlu (Çukurova University, Turkey)
Mükerrem Kaya (Atatürk University, Turkey)
Semra Kayaardı (Celal Bayar University, Turkey)
Yonca Karagül-Yüceer (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Harun Kesenkaş (Ege University, Turkey)
Meral Kılıç (İstanbul Technical University, Turkey)
Piotr Koczon (Warsaw University of Life Sciences, Poland)
Celalettin Koçak (Ankara University, Turkey)
Ergun Köse (Celal Bayar University, Turkey)
Ahmet Küçükçetin (Akdeniz University, Turkey)
Mine Anđ Küçükker (İstanbul University, Turkey)
Erdoğan Küçüköner (Süleyman Demirel University, Turkey)
Jung Hoon Lee (Fort Valley State University, USA)
Sebahattin Nas (Pamukkale University, Turkey)
Gülден Ova (Ege University, Turkey)
Zümrüt B. Ögel (Konya Food and Agriculture University, Turkey)
Semih Ötleş (Ege University, Turkey)
Halil Özbaş (Süleyman Demirel University, Turkey)
Beraat Özçelik (İstanbul Technical University, Turkey)
Filiz Özçelik (Ankara University, Turkey)
Sami Gökhan Özkal (Pamukkale University, Turkey)
Mustafa Zafer Özel (University of York, UK)
Barbaros Özer (Ankara University, Turkey)
Edward Pospiech (Poznan University of Life Sciences, Poland)
Konstantinos Petrotos (Technological Educational Institute of Larissa, Greece)
Pican Prabasanar (CSIR-Central Food Technological Research Institute, India)
Jenny Ruales (Escuela Politécnica Nacional, Ecuador)
Osman Sağdıç (Yıldız Technical University, Turkey)
Saulius Satkauskas (Vytautas Magnus University, Lithuania)
Meltem Serdaroğlu (Ege University, Turkey)
Reyad R. Shaker (Jordan University of Science & Technology, Jordan)
Romeo Toledo (University of Georgia, USA)
Mahir Turhan (Mersin University, Turkey)
Yahya Tülek (Pamukkale University, Turkey)
Harun Uysal (Ege University, Turkey)
Mustafa Üçüncü (Ege University, Turkey)
Y. Sedat Velioğlu (Ankara University, Turkey)
Ünal Rıza Yaman (Ege University, Turkey)
Ayдын Yapar (Pamukkale University, Turkey)
Hasan Yetim (Erciyes University, Turkey)
Atıla Yetişemiyen (Ankara University, Turkey)
Metin Yıldırım (Ömer Halisdemir University, Turkey)
Ufuk Yücel (Ege University, Turkey)

AKADEMİK GIDA**ABSTRACTED / INDEXED / LISTED IN**

1. Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases
 2. Academic Index
 3. Academic Keys
 4. AgBiotech News and Information
 5. AgBiotechNet
 6. Agricultural Economics Database
 7. Agricultural Engineering Abstracts
 8. Agroforestry Abstracts
 9. Animal Breeding Abstracts
 10. Animal Production Database
 11. Animal Science Database
 12. Biocontrol News and Information
 13. Biofuels Abstracts
 14. Botanical Pesticides
 15. CAB Abstracts
 16. CAB Direct
 17. Crop Science Database
 18. Dairy Science Abstracts
 19. Directory of Research Journals Indexing (DRJI)
 20. EBSCO
 21. Environmental Impact
 22. Environmental Science Database
 23. Eurasian Scientific Journal Index
 24. Field Crop Abstracts
 25. Food Science and Technology Abstracts (FSTA)
 26. Forest Science Database
 27. Global Health
 28. Google Scholar
 29. Horticultural Science Abstracts
 30. Horticultural Science Database
 31. Index Copernicus
 32. Impact Factor Services for International Journals (IFSIJ)
 33. International Innovative Journal Impact Factor (IIJIF)
 34. İdeal Online
 35. Journal Index Net
 36. Maize Abstracts
 37. Nutrition Abstracts and Reviews Series A: Human and Experimental
 38. Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding
 39. Nutrition and Food Sciences Database
 40. Ornamental Horticulture
 41. Parasitology Database
 42. Plant Breeding Abstracts
 43. Plant Genetic Resources Abstracts
 44. Plant Genetics and Breeding Database
 45. Plant Protection Database
 46. Postharvest Abstracts
 47. Potato Abstracts
 48. Poultry Abstracts
 49. Protozoological Abstracts
 50. Review of Agricultural Entomology
 51. Review of Aromatic and Medicinal Plants (RAMP)
 52. Review of Medical and Veterinary Entomology
 53. Review of Medical and Veterinary Mycology
 54. Review of Plant Pathology
 55. Rice Abstracts
 56. Rural Development Abstracts
 57. Science Library Index
 58. Scientific Indexing Services (SIS)
 59. Seed Abstracts
 60. Soil Science Database
 61. Soils and Fertilizers Abstracts
 62. Soybean Abstracts
 63. Sugar Industry Abstracts
 64. Tropical Diseases Bulletin
 65. The Turkish Academic Network and Information Centre Life Sciences Database (TÜBİTAK-ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veritabanı)
 66. Veterinary Science Database
 67. VetMed Resource
 68. Weed Abstracts
 69. Wheat, Barley and Triticale Abstracts
 70. World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstracts (WAERSA)
-
-

Akademik Gıda 15 (4) (2017)
İÇİNDEKİLER / CONTENTS

■ Editörden / Editorial

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

Mathematical Description for Fipronil Electrochemical Detection Assisted by Cobalt (III) Oxyhydroxide /
Kobalt (III) Oksihidroksit Yardımıyla Fipronilin Elektrokimyasal Tespiti İçin Matematiksel Açıklama / Volodymyr V. Tkach,
Yana G. Ivanushko, Svitlana M. Lukanova, Silvio C. de Oliveira, Genilson R. da Silva, Fauze J. Anaissi, Petro I. Yagodynets

322-326

Simultaneous Optimization of Protease and Biopesticide Productions: A Case Study with Industrial Perspective /
Proteaz ve Biyopestisit Üretimlerinin Eşzamanlı Optimizasyonu: Endüstriyel Bakış Açısında Bir Durum Çalışması /
Ahmet Katı, Ali Özhan Aytekin, Özlem Aytekin, Fikretin Şahin

327-336

Optimization of Olive Oil Extraction Process by Response Surface Methodology / Zeytinyağı Ekstraksiyon İşleminin
Yanıt Yüzey Metodu ile Optimizasyonu / Serife Cevik, Sedef Aydın, Onur S. Sermet, Gulcan Ozkan, Erkan Karacabey

337-343

Physicochemical and Microbiological Properties of Sucuk produced with Different Heat Treatment Temperatures /
Farklı Isıl İşlem Sıcaklıklarında Üretilen Sucukların Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri / Isra Toptanci,
Hüdayi Ercoşkun

344-349

Phenolic Content of Some Dietetic Tea Products in Turkey / Türkiye'deki Bazı Diyet Çay Örneklerinin Fenolik Bileşik
İçeriği / Hale Secilmis Canbay, Mahmut Doganturk

350-354

**Karbon Fiber Destekli Kabin Kurutucuda Farklı Sıcaklıklarda Elma Dilimlerinin Kurutulmasının İncelenmesi:
Kurutma Karakteristikleri ve Performans Değerlendirmesi /** Investigation of Drying of Apple Slices in Carbon Fiber
Assisted Cabin Dryer at Different Temperatures: Drying Characteristics and Performance Evaluation / Serpil Pekdoğan
Göztok, Filiz İçier

355-367

Sütün Homojenizasyonunun Kefirin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi / Effect of
Homogenization of Milk on Physicochemical and Microbiological Properties of Kefir / Firuze Ergin, Gülsüm Öz, Ümit Özmen,
Şener Erdal, Eray Çavana, Ahmet Küçükçetin

368-376

Organik ve Konvansiyonel Fındıkların (Corylus avellana L.) Bazı Fiziksel Özellikleri / Some Physical Properties of
Organic and Conventional Hazelnuts (Corylus avellana L.) / Hasan Karaosmanoğlu, N. Şule Üstün

377-385

■ Derleme Makaleler / Review Papers

Fonksiyonel Dondurma / Functional Ice Cream / Nazlı Türkmen, Ayşe Gürsoy

386-395

Peynir Üretimi İçin Sütü Pıhtılaştırıcı Enzimlere Genel Bir Bakış ve Güncel Gelişmeler / An Overview of Milk
Coagulating Enzymes in Cheese Production and Recent Developments / Songül Çakmakçı, Ayşin Cantürk, Yusuf Çakır

396-408

İnsan Mikrobiyomu: Beslenme ve Sağlık Üzerindeki Etkileri / Human Microbiome: Nutritional and Health Effects /
Sena Çetinbaş, Fulya Kemeriz, Gizem Göker, İlkur Biçer, Y. Sedat Velioğlu

409-415

Gıda Endüstrisinde Aroma Mikroenkapsülasyonu / Aroma Microencapsulation in Food Industry / Zeynep Atak,
Mehmet Koç, Figen Kaymak-Ertekin

416-425

Pestisit Analizlerinde Asetilkolinesteraz İnhibisyonuna Dayalı İletken Polimer Esaslı Biyosensörler /
Acetylcholinesterase Inhibition Based Biosensors Developed by Using Conducting Polymers for Pesticide Analyses /
Songül Şen Gürsoy, Oğuz Gürsoy

426-435

Antepfıstığı (Pistacia vera L.) ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri / Pistachio (Pistacia vera L.) and Its Effects on Human
Health / Abdullah Çağlar, Oktay Tomar, Hülya Vatansever, Elif Ekmekçi

436-447

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

**Sahibi**

SİDAS MEDYA AJANS TANITIM
DANIŞMANLIK LTD. ŞTİ. Adına
İmtiyaz Sahibi ve Yazı İşleri Sorumlusu
Şakir SARIÇAY

Genel Yayın Yönetmeni

Şakir SARIÇAY
info@akademikgida.com
ssaricay@gmail.com

Editör

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY
ogursoy@yahoo.com

Yardımcı Editörler

Prof. Dr. Özer KINIK
Prof. Dr. Ramazan GÖKÇE
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Reklam Müdürü

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

Hukuk Danışmanı

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

Abone Sorumlusu

Halil SOLAK

Grafik Tasarım

İrem ŞİMŞEK ÇETİNKAYA

Yönetim Yeri

Fevzipaşa Bulv. Çelik İş Merkezi
No:162 Kat:3 D:302 Çankaya/İZMİR
Tel: 0 232 441 60 01
Fax: 0 232 441 61 06

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 15

Sayı: 78

Ekim - Aralık 2017

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİME-DYAR** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli

Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 15. yayın yılının son sayısında sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 8 araştırma ve 6 derleme çalışması olmak üzere toplam 14 makale yer almaktadır.

TÜBİTAK-ULAKBİM'in Haziran ayında tarafımıza gönderdiği bir yazıda, yazar adından yapılan yayın/atıf taramalarında isim benzerlikleri, soyadı değişikliği, Türkçe harf içeren isimler, farklı yazımlar, kurum değişiklikleri gibi durumların sorun oluşturabildiği ve bu nedenle araştırmacıların tanımlayıcı kimlik/numara (ID) edinmelerinin önemli olduğu vurgulanmıştır. ULAKBİM TR Dizin sistemlerinde tanımlayıcı ID bilgilerine yer vereceğinden ve standardizasyonun sağlanabilmesi ve YÖK ile birlikte yürütülecek ortak çalışmalarda ORCID® kullanılacağı için, TR Dizin'de yer alan veya yer almak üzere başvuran dergilerin, yazarlardan ORCID® bilgilerini talep etmeleri ve dergide/makalelerde bu bilgiye yer vermeleri tavsiye edilmiştir. ORCID®, Open Researcher ve Contributor ID'nin kısaltmasıdır. ORCID®, Uluslararası Standart Ad Tanımlayıcı (ISNI) olarak da bilinen ISO Standardı (ISO 27729) ile uyumlu 16 haneli numaralı bir URI'dir. ORCID® numarası olmayan araştırmacılar <http://orcid.org> adresinden bireysel ORCID® numarası için ücretsiz kayıt oluşturabilmektedir. Dergimizde makale yazarlarının ORCID® numaralarının verilmesi uygulaması 2017 yılı ikinci sayımızda başlamıştır. Dergimize yeni makale gönderecek olan araştırmacıların makalelerine tüm yazarların ORCID® numaralarını eklemeleri gerekmektedir. Tüm yazarların ORCID® numara bilgisi sağlanmayan makaleler dergimizde yayımlanmayacaktır.

Bu yıl ve önümüzdeki yıllarda daha fazla ulusal ve uluslararası veri tabanı ve indekste dizinlenmek ve derginin uluslararası düzeyde tanınırlığını arttırmak için çalışmalarımızı sürdürüyoruz. Dergimizin kalitesini ve uluslararası alanda saygınlığını arttırabilmemiz için etki faktörünün yükseltilmesi başlıca hedeflerimiz arasındadır. Bu nedenle siz değerli bilim insanlarından gerek dergimize ve gerekse diğer ulusal ve uluslararası dergilere gönderdiğiniz makalelerde Akademik Gıda dergisinde yayımlanan makalelere mümkün olduğunca atıf yapmanızı tekrar rica ediyoruz.

Katkılarınızla dergimizin daha iyi noktalara geleceğine yürekten inanıyoruz. Ayrıca, dergimizde araştırma makalelerinin ve İngilizce olarak yazılan makalelerin değerlendirme ve yayınlanma sürelerinin diğer makalelere kıyasla oldukça kısa olduğunu yazarlarımıza tekrar hatırlatmak istiyoruz.

Bu sayının oluşmasında katkıda bulunan; çalışmalarını yayımlanmak üzere dergimize gönderen yazarlara ve bu çalışmaları titizlikle değerlendiren yayın kurulu üyelerimiz ve hakemlerimize teşekkürlerimizi sunuyoruz.

Saygılarımızla.

Prof. Dr. Oğuz Gürsoy
Editör

Prof. Dr. Özer Kınık
Prof. Dr. Ramazan Gökçe
Prof. Dr. Yusuf Yılmaz
Yardımcı Editörler

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

İç Anadolu Bölgesi 3. Tarım ve Gıda Kongresi

Tarım ve gıda alanındaki gelişmeleri gündeme getirmek ve yeni işbirliklerine olanak sağlamak amacıyla düzenlenen İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresi'nin (TARGID) 3.sü 26-28 Ekim 2017 tarihlerinde uluslararası katılımlı olarak Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünün ev sahipliğinde Sivas'ta gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://www.targid.org/> adresinden ulaşılabilir.

10. Gıda Mühendisliği Kongresi

Gıda Mühendisleri Odası tarafından iki yılda bir düzenlenmekte olan Gıda Mühendisliği Kongrelerinin onuncusu 9-11 Kasım 2017 tarihlerinde Side La Grande Resort Hotel & SPA'da (Side, Antalya) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere www.gidamuhendiliginkongresi.org adresinden ulaşılabilir.

II. Uluslararası Turizm ve Mikrobiyal Gıda Güvenliği Kongresi

Akdeniz Üniversitesi Manavgat MATSO Turizm Fakültesi tarafından düzenlenmekte olan Uluslararası Turizm ve Mikrobiyal Gıda Güvenliği Kongresinin ikincisi 13-14 Aralık 2017 tarihlerinde Trendy Verbena Beach (Side, Antalya) otelde gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://www.turizmvemikrobiyalgidaguvanligi.com> adresinden ulaşılabilir.





4th International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus

Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü tarafından 2010 yılından bu yana bir farklı ülkelerde gerçekleştirilen Adriyatik'ten Kafkaslara Geleneksel Gıdalar Sempozyumlarının dördüncüsü 19-21 Nisan 2018 tarihlerinde Namık Kemal Üniversitesi ve Yakın Doğu Üniversitesi işbirliği ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://traditionalfoods2018.com/> adresinden ulaşılabilir.

3rd International Congress on Food Technology

Üçüncü Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongresi 7-9 Kasım 2018 tarihlerinde Kapadokya'da gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://www.intfoodtechno2018.org/> adresinden ulaşılabilir.

Mathematical Description for Fipronil Electrochemical Detection Assisted by Cobalt (III) Oxyhydroxide

Volodymyr V. Tkach^{1,2} , Yana G. Ivanushko¹ , Svitlana M. Lukanova¹, Sílvio C. de Oliveira² ,
Genilson R. da Silva², Fauze J. Anaissi³ , Petro I. Yagodynets¹

¹Chernivtsi National University, 58012, Kotsyubyns'ky Str., 2, Chernivtsi, Ukraine

²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Felinto. Müller, 1555, C/P. 549, 79074-460, Campo Grande, MS, Brazil

³Universidade Estadual do Centro-Oeste, , Setor de Ciências Exatas e da Terra, Departamento de Química, Laboratório de Materiais e Compostos Inorgânicos, Rua Simeão Varela de Sá, 03. CEP: 85040-080 – Guarapuava, PR, Brazil

Received (Geliş Tarihi): 16.08.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 02.10.2017

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): nightwatcher2401@gmail.com (V. Tkach)

☎ +380506400359

ABSTRACT

The possibility of fipronil pesticide electrochemical determination assisted by cobalt (III) oxyhydroxide was determined in this study. The redox pair CoO(OH)/CoO_2 was used in this process. The correspondent mathematical model was developed and analyzed by means of linear stability theory and bifurcation analysis. It was shown that the oxyhydroxide may be applied as an efficient electrode modifier in the detection of fipronil in neutral and lightly alkaline media. Electrochemical response was clear and easy to interpret. The possibility of oscillatory and monotonic instabilities was also verified.

Keywords: Intoxication prevention, Fipronil, Cobalt (III) oxyhydroxide, Electrochemical sensors, Stable steady-state

Kobalt (III) Oksihidroksit Yardımıyla Fipronilin Elektrokimyasal Tespiti İçin Matematiksel Açıklama

ÖZ

Bu çalışmada, kobalt (III) oksihidroksit kullanılarak fipronil pestisidinin elektrokimyasal tespit olasılığı belirlenmiştir. Bu işlemde redoks çifti CoO(OH)/CoO_2 kullanılmıştır. Karşılık gelen matematiksel model, doğrusal kararlılık teorisi ve bifurkasyon analizi vasıtasıyla geliştirilmiş ve analiz edilmiştir. Oksihidroksidin, nötr ve hafif alkali ortamda fipronilin saptanmasında etkili bir elektrot değiştirici olarak uygulanabileceği gösterilmiştir. Elektrokimyasal cevabın açık ve kolay anlaşılır olduğu belirlenmiştir. Titreşimli ve monotonik istikrarsızlık olasılığı da çalışmada doğrulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zehirlenme önleme, Fipronil, Kobalt (III) oksihidroksit, Elektrokimyasal sensörler, Kararlı hal

INTRODUCTION

Fipronil (Figure 1) (5-amino-1-[2,6-dichloro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(trifluoromethylsulfanyl) pyrazole-3-carbonitrile) is used as a broad-spectrum insecticide, employed to control the population of dangerous insects [1 – 5]. It is also used as drug for

treatment and prevention of parasitic infections, generally for veterinary use [2]. Its mechanism of action includes disruption of chloride passage through GABA-mediated channels in nerve cell membranes, resulting in terminal neurologic malfunction. Being an active substance of different commercial formulations like Regent®, Frontline®, Termidor®, 4fleas®, Activo®,

Alfamed® among others, it is used against beetles, ticks, seas, termites and other pests and currently registered in more than 70 countries worldwide for the control of insect pests in more than hundred crops like corn, soybean, sugar cane and wheat.

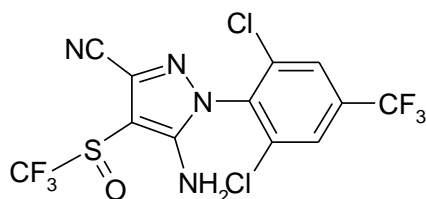


Figure 1. Fipronil's chemical structure

Fipronil is classed by the World Health Organization as Class II moderately hazardous pesticide [6]. Its major metabolite (Figure 2) [7] in vertebrates and invertebrates appears to be fipronil sulfone [8]. On plants and in soils, fipronil undergoes a photoreduction reaction, yielding a desulfinyl derivative [8]. There have been limited studies of the degradation of fipronil on the surface (skin) of domestic species, particularly dogs and cats. It has been reported that basic conditions (pH > 7) and increased temperatures will induce hydrolysis of fipronil [9], conditions, that may occur on the skin surface of mammals.

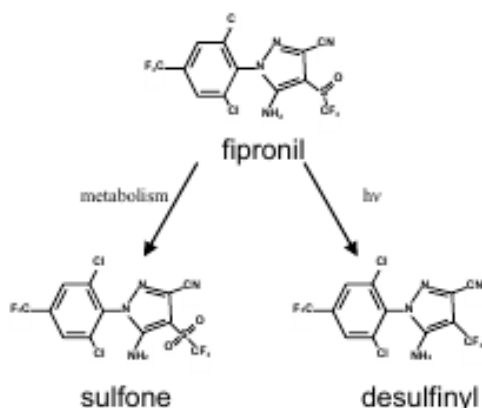


Figure 2. Fipronil metabolism (Reproduced from [7])

The selective toxicity of fipronil therefore depends on the relative rate of conversion to the more persistent and less selective sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct [10]. Desulfinyl photoproduct, in particular, has a 10 fold greater selectivity for mammalian GABA chloride channels than the parent compound [8]. No directly applicable data are available on the influence of degradation products on the toxicity of Fipronil applied to target animals.

The intoxication symptoms include sweating, nausea, vomiting, headache, abdominal pain, dizziness, agitation, weakness, and tonic-clonic seizures [11–12]. The U.S. EPA has classified fipronil as a group C (possible human) carcinogen based on an increase in thyroid follicular cell tumors in both sexes of the rat [12].

Its ecotoxicity for crustaceans, insects and zooplankton is very high [13]. Its half-life lasts four months to one

year depending on the media. It is relatively stable in water, but it's not so stable in soil, due to its photolysis. Thus, the development of a precise, exact, rapid and efficient method of its quantification is really actual task [14–16].

For now, two works concerning fipronil electrochemical determination are known, both, authored by Brazilian groups [17–18]. The conditions of the electrooxidation were neutral or lightly alkaline, so cobalt (III) oxyhydroxide, yet used for the detection of the similar compounds [19–20] would be used as an active substance. As fipronil is hard to be oxidized, due to the presence of the acceptor groups (like pyridinic nitrogen heteroatom – CF₃, - SOCF₃, - CN) it's more convenient to employ CoO(OH) as a reductant, so the redox pair CoO(OH) – CoO₂ has to be used.

On the other hand, the development of new electroanalytical systems may confront the problems like:

- the indecision in the modifier mechanism of action;
- the compatibility of the modifier with the pharmaceutical tissue or biological object (some modifiers, used *in vitro* may be non-compatible with *in vivo* sensing);
- the presence of electrochemical instabilities, accompanying both electrochemical synthesis of cobalt (III) oxyhydroxide [21], and electrochemical oxidation and electrooxidative polymerization of organic molecules [22–23].

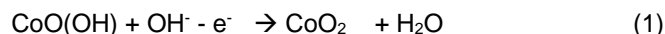
The mentioned problems may only be solved by means of an analysis of a mathematical model, capable to describe adequately the electroanalytical system. By modeling it is also capable compare the behavior of this system with that for the similar ones without any experimental essay.

So, the goal of this work is the mechanistic theoretic analysis of the possibility of fipronil electrochemical quantification, assisted by the cobalt (III) oxyhydroxide. In order to achieve it, specific goals include:

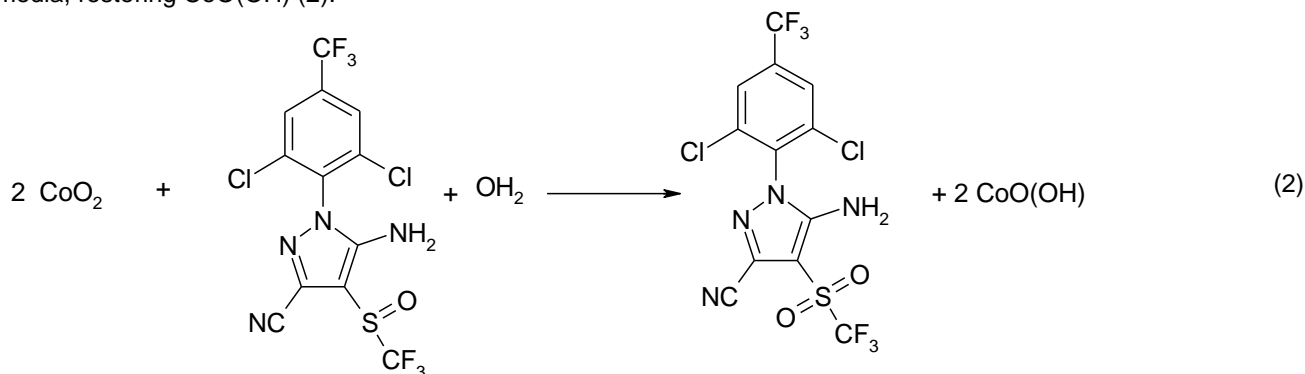
- suggestion of the mechanism of the electroanalytical reaction consequence, leading to the appearance of analytical signal;
- development of the balance equation mathematical model, correspondent to the electroanalytical system;
- analysis and interpretation of the model in terms of the electroanalytical use of the system;
- the seek for the possibility of electrochemical instabilities and for the factor, causing them;
- the comparison of the mentioned system's behavior with the similar ones [24–28].

SYSTEM and ITS MODELING

As it was mentioned, in this system, CoO(OH) electro-oxidation in alkaline media is used. This process may be described as:



Fipronil is being oxidized by cobalt (IV)oxide in aqueous media, restoring CoO(OH) (2).



So, in order to describe this system, supposing the excess of alkali, we introduce two variables:

f – fipronil concentration in the pre-surface layer;
 θ – CoO(OH) coverage degree.

To simplify the modeling, we suppose that the reactor is intensively stirred, so we can neglect the convection flow. Also we assume that the background electrolyte is in excess, so we can neglect the migration flow. The diffusion layer is supposed to be of a constant thickness, equal to δ , and the concentration profile in it is supposed to be linear.

Fipronil enters the pre-surface layer by means of its diffusion and reacts with cobalt (IV) oxide. Thus, its balance equation can be rewritten as:

$$\frac{df}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{\Delta}{\delta} (f_0 - f) - r_1 \right) \quad (3)$$

in which Δ is the diffusion coefficient, f_0 is the fipronil bulk concentration and r_1 is its reaction rate with cobalt (IV) oxide.

Cobalt(III) oxyhydroxide, covering the entire electrode surface at the beginning of the electroanalytical process, is electro-oxidized and restored by reaction of its oxidation product with fipronil. So, its balance equation may be rewritten as:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{pmatrix} \quad (7)$$

In which

$$a_{11} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{\Delta}{\delta} - k_1(1 - \theta)^2 \right) \quad (8)$$

$$a_{12} = \frac{2}{\delta} \left(2k_1f(1 - \theta) \right) \quad (9)$$

$$a_{21} = \frac{1}{G} \left(k_1(1 - \theta)^2 \right) \quad (10)$$

$$a_{22} = \frac{1}{G} \left(-k_1(1 - \theta)^2 - k_2 \exp\left(\frac{F\varphi_0}{RT}\right) - jk_2\theta \exp\left(\frac{F\varphi_0}{RT}\right) \right) \quad (11)$$

In order to avoid the cumbersome expressions, we introduce new variables, so the Jacobian determinant will be rewritten as:

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{G} (r_1 - r_2) \quad (4)$$

in which G is CoO(OH) maximal surface concentration, and r_2 its oxidation rate.

The correspondent reaction rates may be described as:

$$r_1 = k_1f(1 - \theta)^2 \quad (5)$$

$$r_2 = k_2\theta \exp\left(\frac{F\varphi_0}{RT}\right) \quad (6)$$

In which the parameters k are correspondent reaction rate constants, n is the number of electrons transferred, F is the Faraday number, φ_0 is the DEL potential slope in the double, related to the zero-charge potential, R is the universal gas constant and T is the absolute temperature.

In general, the behavior of this system obeys the classical bivariate model, and its electroanalytical aspects will be discussed below.

RESULTS and DISCUSSION

In order to investigate the behavior of the system with the electrochemical detection of fipronil over cobalt(III)oxyhydroxide, we analyze the equation set (3-4) by means of linear stability theory. The steady-state members of Jacobian functional matrix may be described as:

$$\frac{2}{\delta G} \begin{vmatrix} -\kappa - \varepsilon & \Omega \\ \varepsilon & -\Omega - \phi \end{vmatrix} \quad (12)$$

For the bivariant systems, the conditions of the steady-state stabilities and the principal instabilities may be

Steady-state stability
 Oscillatory instability
 Monotonic instability

joined in the table:

Tr J<0, Det J>0
 Tr J=0, Det J>0
 Tr J=0, Det J=0

It is possible to show that, *the oscillatory behavior* in this system is possible, as in the similar ones [24–28]. It may be only caused by the DEL influences of the electrooxidation of cobalt oxyhydroxide, described by the positivity of the main diagonal element $-\Phi = -k_2 \exp\left(\frac{F\phi_0}{RT}\right) - jk_2\theta \exp\left(\frac{F\phi_0}{RT}\right)$. The general condition for the oscillatory instability for this system is:

$$\begin{cases} \frac{2}{\delta}(-\kappa - \varepsilon) = \frac{1}{G}(\Omega + \Phi) \\ \kappa\Omega + \Phi + \varepsilon\Phi > 0 \end{cases} \quad (18)$$

And it may only be realized in the case of the negativity of Φ (as the rest of the parameters may only be positive). The oscillations are expected to be frequent and of small amplitude. Mostly, they are realized beyond the detection limit.

The *steady-state stability* for this system may be described as:

$$\begin{cases} \frac{2}{\delta}(-\kappa - \varepsilon) - \frac{1}{G}(\Omega + \Phi) < 0 \\ \kappa\Omega + \Phi + \varepsilon\Phi > 0 \end{cases} \quad (19)$$

and it is warranted to be satisfied, as the only element, capable to be negative is Φ , and its negativity, as it was described above, is linked to the strong influences of the electrochemical stage in DEL. So, if these influences are not so strong, Φ is positive, so the upper inequation left side tends to possess more negative values, and the lower inequation left side tends to possess more positive values, which is correspondent to the steady-state stability.

As there are no side reactions involving the medium, the electroanalytical efficiency of the stable steady-state isn't compromised, so the steady-state stability is correspondent to the linear dependence between the electrochemical parameter and concentration. The electroanalytical process tends to be diffusion-controlled, and its conditions are similar to those described in [19 – 20].

The *monotonic instability* in this system is possible, being caused by the equality between the stabilizing influences and the destabilizing ones of the electrochemical process influences on DEL. It is correspondent to the detection limit and its condition may be described as:

$$\begin{cases} \frac{2}{\delta}(-\kappa - \varepsilon) - \frac{1}{G}(\Omega + \Phi) < 0 \\ \kappa\Omega + \Phi + \varepsilon\Phi = 0 \end{cases} \quad (20)$$

The detection limit may be obtained from this model, if the set (20) is resolved from the point of view of fipronil concentration. It may be found for different media, but

the knowledge of reaction constant and DEL parameters' values is required.

The composite of CoO(OH) with a conducting polymer may be used in this analysis. Nevertheless, the formed CoO₂ may overoxidize chemically some polymers, which may influence strongly the electroanalytical function of the composite. So, it is recommended to use a relatively stable polymer (like polythiophene, formed by the polymerization of bithiophene) or overoxidized polymer. This aspect of this system will be described in our next works.

CONCLUSIONS

From the theoretical investigation of the possibility of the fipronil electrochemical detection, assisted by cobalt(III) oxyhydroxide it is possible to conclude that:


- CoO(OH) may serve as an excellent modifier for fipronil electrochemical determination. The system is electroanalytically efficient, although CoO(OH) is used as a reductant;
- The electroanalytical process tends to be diffusion-controlled;
- The oscillatory behavior in this system is possible, being caused only by DEL influences of the electrochemical process. The amplitude is expected to be small and dependent on the solution composition.

REFERENCES

- [1] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fipronil>, accessed at the 9th of August 2017.
- [2] <https://www.drugs.com/dict/fipronil.html>, accessed at the 9th of August 2017.
- [3] Bobe, A., Colste, C.M., Cooper, J.F., 1997. Factors influencing the adsorption of fipronil on soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(12): 4861- 4865.
- [4] <http://npic.orst.edu/factsheets/fipronil.pdf>, accessed at the 9th of August 2017.
- [5] Tingle, C.C., Rother, J.A., Dewhurst, C.F., Lauer, S., King, W.J., 2003. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 176: 1–66.
- [6] http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Reports_1991-2006/Report_2000.pdf, accessed at the 9th of August 2017.
- [7] https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/15191-fipronil-prf-vol2-animal-safety-literature_0.pdf, accessed at the 9th of August 2017.
- [8] Hainzl, D., Casida, J.E., 1993. Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention

- of neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(23): 12764–12767.
- [9] Ramesh, A., Balasubramanian, B., 1999. Kinetics and hydrolysis of fenamiphos, fipronil, and trifluralin in aqueous buffer solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(8): 3367-3371.
- [10] Hainzl, D., Cole, L.M., Casida, J.E., 1998. Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfanyl photoproduct. *Chemical Research in Toxicology* 11(12): 1529-1535.
- [11] https://www.casqa.org/sites/default/files/library/technical-reports/casqa_review_of_pyrethroid_fipronil_and_toxicity_monitoring_data_-_july_2013.pdf, accessed at the 9th of August 2017.
- [12] <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+7051>, accessed at the 9th of August 2017.
- [13] <http://www.livingwithbugs.com/PDFfiles/fipronil.pdf>, accessed at the 9th of August 2017.
- [14] Hafeez, A., Tawab, I.A., Iqbal, S., 2016. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of fipronil, chlorfenapyr, and pyriproxyfen in insecticide formulations. *Journal of AOAC International* 9(5): 1185-1190.
- [15] http://www.ingenieria-analitica.com/downloads/dl/file/id/1039/product/91/fipronil_analysis_from_a_variety_of_matrices_by_gc_xsd_following_post_extraction_gel_permeation_chromatography_cleanup.pdf, accessed at the 9th of August 2017.
- [16] Cid, Y.P., Ferreira, T.P., Medeiros, D., Oliveira, R.M., Silva, N.C.C., Magalhães, V.S., Scott, F.B., 2012. Determination of fipronil in bovine plasma by solid phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet detection. *Química Nova* 35(10): 2063–2066.
- [17] Montes, R.H.O., Dornellas, R.M., Silva, L.A.J., Squizzato, A.L., Richter, E.M., Munoz, R.A.A., 2016. Amperometric determination of the insecticide fipronil using batch injection analysis: comparison between unmodified and carbon-nanotube-modified electrodes. *Journal of Solid State Electrochemistry* 20(9): 2454–2459.
- [18] Okumura, F., Amaral, R.B., Orestes, E., Silvab, A.B.F., Mazo, L.H., 2015. Electrochemical and Quantum Chemical Investigations of the Insecticide Fipronil. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 27(5): 925-932.
- [19] Stadnik, A.A., Caldas, E.M., Galli, A., Anaissi, F.J., 2015. Eletrodo modificado com [CoO(OH)] coloidal aplicado na detecção de ácido oxálico, orbital. *Electronic Journal of Chemistry* 7(2): 122–130.
- [20] Bonini, J.S., Mariani, F.Q., Guimarães Castro, E., Galli, A., Marangoni, R., Anaissi, F.A., 2015. Partículas de COO(OH) dispersas em pasta de carbono aplicado na eletrooxidação de compostos fenólicos. *Electronic Journal of Chemistry* 7(4): 318–326.
- [21] Stadnik O. Synthesis, Electrochemical and Photoelectrochemical Properties of the Oxide-hydroxide Compounds of Cobalt, Diss. Kand. Chim. N.–Kyiv.–2011.
- [22] McQuade, T., Pullen, A., Swager, T.M., 2015. Conjugated polymer-based chemical sensors. *Chemical Reviews* 100(7): 2537–2574.
- [23] Das, I., Agrawal, N.R., Ansari, S.A., Gupta, S.K., 2008. Pattern formation and oscillatory electropolymerization of thiophene. *Indian Journal of Chemistry* 47A 1798-1803.
- [24] Tkach, V.V., Ivanushko, Y.G., Lukanova, S.M., Romaniv, L.V., de Oliveira, S.C., Ojani, R., Yagodynets, P.I., 2017. The theoretical evaluation for the possibility of the CoO(OH)-assisted electrochemical detection in water. *Applied Journal of Environmental Engineering Science* 3(2): 90–95.
- [25] Tkach, V.V., de Oliveira, S.C., Anaissi, F.J., Ojani, R., Neves, V.S., Galeano Espínola, M.O., Yagodynets', P.I., 2016. The possibility of the Use of CoO(OH) as an electrode modifier for hydrazine detection and its mathematical evaluation. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry* 8(5): 557–565.
- [26] Tkach, V.V., Ivanushko, Y., de Oliveira, S.C., da Silva, G.R., Ojani, R., Yagodynets', P.I., 2016. The theoretical evaluation of the possibility of CoO(OH)-assisted omeprazole electrochemical detection. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry* 8(6): 749–760.
- [27] Tkach, V.V., de Oliveira, S.C., Anaissi, F.J., Ojani, R., Páramo-García, U., Yelenich, O., Yagodynets', P.I., 2016. The mechanism of electroanalytical function of CoO(OH) in the oxalic acid electrochemical determination and its mathematical representation. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry* 8(1): 1–11.
- [28] Tkach, V.V., de Oliveira, S.C., Maia, G., Anaissi, F.J., Ojani, R., Páramo-García, U., Yelenich, O., Yagodynets, P.I., 2016. The mathematical investigation for the mechanism of the electrochemical oxidation of phenolic Compounds over CoO(OH) in alkaline media. *Moroccan Journal of Chemistry* 4(1): 157–163.

Simultaneous Optimization of Protease and Biopesticide Productions: A Case Study with Industrial Perspective

Ahmet Katı¹ , Özlem Aytekin² , Ali Özhan Aytekin³ , Fikretin Şahin³ 

¹Hayat Chemicals Inc., Research and Development Center, 41275 Kocaeli, Turkey

²Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Health Sciences University, 34668 İstanbul, Turkey

³Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, 34755 İstanbul, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 03.05.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 09.11.2017

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): ali.aytekin@yeditepe.edu.tr (A. O. Aytekin)

☎ +90 216 578 06 19 📠 +90 216 578 08 29

ABSTRACT

Bacillus sphaericus is a biopesticide that is highly effective for the control of mosquitos under harsh conditions such as polluted areas and UV light. In addition to its bioactivity, it produces proteases. In this present study, the composition of media comprising corn steep liquor (CSL) and molasses was optimised using response surface methodology (RSM) with a central composite design (CCD). Four different scenarios were arranged involving sole biopesticide and protease optimization (Scenarios 1 and 2), biopesticide optimization with protease as a by-product (Scenario 3) and protease optimization with biopesticide as a by-product (Scenario 4). The optimization of the simultaneous production of biopesticide and protease was not satisfactory to obtain large amounts of both products; however, when the production aim was a sole production with a by-product, optimal working conditions could be achieved. Also, according to industrial view, Scenario 1 is the only possible process for large scale systems.

Keywords: *Bacillus sphaericus*, Biopesticide, Protease, Response surface methodology (RSM), Molasses, Corn steep liquor (CSL)

Proteaz ve Biyopestisit Üretimlerinin Eşzamanlı Optimizasyonu: Endüstriyel Bakış Açısında Bir Durum Çalışması

ÖZ

Bacillus sphaericus biyopestisit olup, kirli alanlar ve UV ışık altı gibi zorlu koşullarda bile böcekler üzerinde yüksek etkiye sahiptir. Bu biyoaktivitesiyle beraber, proteaz enzimi de üretir. Bu çalışmada, mısır ıslatma şurubu (MIS) ve melastan oluşan ortam bileşenlerinin yüzey yanıt yönteminden (YYY) merkezi birleşik dizayn ile optimize edilmesi çalışılmıştır. Optimizasyon, dört farklı senaryo üzerinden yapılmıştır. Bunlar, sadece biyopesitistin ve proteazın optimizasyonu (Senaryo 1 ve 2), proteazın yan ürün olduğu biyopesitist optimizasyonu (Senaryo 3) ve biyopesitistin yan ürün olduğu proteaz optimizasyonu (Senaryo 4). Eşzamanlı optimizasyonlar, yüksek miktarlarda ürünlerin elde edilmesinde başarılı sonuçlar vermemiştir. Ancak, üretim hedefi yan ürünlü üretim şeklinde olursa, en uygun üretim koşullarına ulaşılabilir. Aynı zamanda, endüstriyel bakış açısıyla incelenecek olursa, Senaryo 1, büyük ölçekli üretim sistemi açısından uygulanabilir tek üretim yoludur.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus sphaericus*, Biyopesitist, Proteaz, Yanıt yüzey yöntemi (YYY), Melas, Mısır ıslatma şurubu (MIS)

INTRODUCTION

Insecticides are commonly used for the protection of plant, animal and human health from pests. Chemical pesticides have approximately 90% of the market share; however, insecticides pollute the environment, disrupt ecosystems via the use of non-specific broad-spectrum chemicals, and lead to the development of insect resistance. Therefore, the use of biological insecticides is a promising and gradually increasing field [1].

Subspecies of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and *Bacillus sphaericus* (Bs) are the most common biopesticides on the market. Although Bt and its subspecies have high activity on mosquitos, these species do not show killing activity in contaminated water environments and their activity is readily inhibited by UV light. Bs is a mesophilic and Gram-positive bacterium specific to target organisms and is frequently used to kill mosquito larvae. Bs is particularly used against *Culex* and *Anopheles* mosquitoes and has lower or no mosquitocidal activity against *Aedes* larvae [2]. Formulations of Bs are highly efficient and show a long time larvicidal activity, even in polluted environments [3, 4].

In the last three decades, new microbial insecticide production has advanced to the isolation of high activity strains that are more stable under different environmental conditions and more accurate against target organisms. Because of the economic importance of Bs as a biological control agent, particular attention has been paid to the production of Bs mosquitocidal toxins. Hence, the production costs of biopesticides must be reduced to reasonable economic production levels to replace chemical insecticides. The cost of raw materials is one of the major costs involved in overall biopesticide production and is approximately 30 to 40% of the total cost of biopesticides [5, 6]. Therefore, biopesticide production requires cheap and locally available sources to reduce transportation costs and ease preparation [7].

Enzymes have the largest market in the biotechnology industry. Food and pharmaceutical grade enzymes are produced from *Bacillus* sp., among other microorganisms, which produce significant amounts of extracellular enzymes and are more susceptible to protease production, particularly regarding yield, selectivity, and productivity. Protease synthesis has been well-studied in *Bacillus* sp., and the biosynthesis of protease is influenced by sporulation, media components and the carbon and nitrogen ratio [8-13]. Different operations have been performed to improve protease production [14].

Annually, large quantities of agricultural and food industrial wastes are generated through industrial processes [15-17]. Molasses and corn steep liquor (CSL) are traditionally used as the primary carbon and nitrogen sources, respectively, for microbial production [18]. Molasses is a waste product of sugar production. The composition of molasses varies depending on the source (sugar beet or sugar cane), source location and plant operations. CSL is the first wash of corn straws in

a corn treatment plant; therefore, the nitrogen content is enriched in CSL. Response Surface Methodology (RSM) is a combination of mathematical and statistical techniques that is useful for modeling and analyzing problems influenced by some variables. The objective is to optimize this response [19]. The inherent advantages of RSM are fewer experimental numbers, suitability for multiple factor experiments, and ability to determine the relationship between factors, resulting in the most suitable conditions and estimation of the response [20-23].

The aim of the present study was to optimize the variables involved in the simultaneous production of biopesticides and extracellular alkaline proteases using response surface methodology under submerged fermentation in *Bacillus sphaericus*. This study is the first to examine the simultaneous production and optimization of biopesticides and proteases.

MATERIAL and METHODS

Preparation of Inoculum

Bacillus sphaericus MBI5 was used in the present study to produce both biopesticide and alkaline protease [24]. This strain is deposited in the Agricultural Research Service Culture Collection (United States) under accession number NRRL B-50199. The bacterium was maintained on agar slants and Petri dishes containing Luria-Bertani (LB) agar media at 30°C. The inoculum was prepared in LB medium in a 250-mL Erlenmeyer flask containing 50 mL of sterile medium (autoclaved at 121°C for 20 min) inoculated from the stock culture. After incubation for 16 h at 30°C with shaking at 150 rpm, 2% (v/v) of the culture was inoculated into 250-mL flasks containing 49 mL of sterile cultivation media.

Preparation of Media Components

In the fermentation media, two by-products were used: sugar beet molasses and CSL. To prepare the molasses solution, 100 g of raw molasses was diluted with 200 mL of distilled water. The diluted molasses was centrifuged at 8.000 rpm for 20 min. The supernatant was separated from the undesirable remains [25]. CSL was prepared at 2% (w/v), and the pH of the solution was adjusted to 7.0 using 1 M KOH. To obtain a clear solution, precipitated particles were removed by centrifugation at 4.000 rpm for 15 min. The media were sterilized at 121°C for 20 min and cooled to room temperature before use. In the optimization experiments, the concentration of the culture medium was changed according to the requirements [26]. The other components were minerals, such as MgSO₄ and MnSO₄, that are essential for sporulation and enzyme production.

Measurement of Cell Dry Weight

The biomass was collected by centrifugation at 10.000 rpm for 20 min. The supernatant was discarded, and each pellet was frozen at -80°C overnight and lyophilized using freeze-dry techniques (Labconco Free

Zone 6). The cell dry weight was calculated and expressed as grams per liter. The same sample was used to determine the contents of the cell.

Protease Activity Assay

Proteolytic activity was determined based on the hydrolysis of casein [27]. The culture supernatant was centrifuged at 8.000 rpm and 4°C for 10 min. Subsequently, 5 mL of a 0.65% casein solution in 50 mM Glycine-NaOH buffer at pH 9.0 was mixed with 1 mL of cell-free supernatant. The solution was swirled and incubated at 37°C for precisely 30 minutes. The reaction was terminated by the addition of 5 mL of 100 mM trichloroacetic acid to each tube. The blank and test solutions were subsequently filtered using a 0.45-µm filter, and 2-mL aliquots of each filtrate were mixed with 5 mL of 0.5 M Na₂CO₃ and 1 mL of 0.5 M Folin-Ciocalteu reagent. The absorbance was measured at 660 nm. One unit of the protease was equivalent to the amount of enzyme required to release 1 µg of tyrosine/mL under standard assay conditions.

Statistical Analysis

The statistical software Design-Expert ver. 7.1 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, USA) was used for the regression analysis of the experimental data and to plot the response surface. ANOVA was used to estimate the statistical parameters.

Central Composite Design (CCD)

The levels of five significant factors and the interaction effects between various media constituents that significantly influence biomass and protease production were analyzed and optimized using a response surface methodology with a CCD design. A small CCD with four variables was used to optimize the response. The selected variables were molasses, CSL, MnSO₄ and MgSO₄ concentrations. Each variable was analysed at five levels coded as: -α, -1, 0, +1 and +α (Table 1). A CCD of 30 runs included 16 runs for factorial design, 8 runs for axial points and 6 runs for replication of the central points. The working parameters and responses in the experimental design are shown in Table 2.

Table 1. The levels of the variables for the central composite experimental design.

Independent variables	Symbols	Units	Levels				
			-α	-1	0	+1	+α
Molasses	A	%, v/v	3.787	10	25	40	46.213
CSL	B	%, v/v	3.787	10	25	40	46.213
MnSO ₄	C	%, w/v	0.0515	0.3	0.9	1.5	1.7485
MgSO ₄	D	%, w/v	0.0515	0.3	0.9	1.5	1.7485

RSM was used to define the optimal levels of key factors after the optimal region of each significant variable was determined. Therefore, the predicted response can be calculated using a second-degree

polynomial (Eq. 1) that includes all of the interaction terms.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i x_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^n \beta_{jj} x_j^2 \tag{Eq 1}$$

where Y is the predicted response. In the present study, four variables were involved; hence, n = 4. Thus, Eq. 2 becomes:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 \tag{Eq 2}$$

where Y is the predicted response variable, β₀ is the constant term, and X₁, X₂, X₃, and X₄ represent the coded values of molasses, CSL, MnSO₄, and MgSO₄, respectively. β₁, β₂, ..., β₃₄ are the model coefficients.

The statistical significance of the model equation and the model terms were evaluated in Design Expert software using Fisher's test. According to the correlation coefficients R and R², which explain the quality of fit of the regression model, the contour plots were determined as a two-dimensional graphical representation that generated response surface curves.

RESULTS and DISCUSSION

Statistical Analyses and Models of Biomass and Alkaline Protease Production

The CDW response was transformed using power to obtain a significant model at -1.46. The transformation was conducted according to Box-Cox [28]. Prior to Box-Cox transformation, the predicted-R² value was 0.4432, a value lower than the adjusted model, as shown in Table 3. In addition, high probability values (data not shown), such as 0.532, 0.214, 0.491, and 0.984 for AD (Molasses x MgSO₄), BD (CSL x MgSO₄), CD (MnSO₄ x MgSO₄), and C² (MnSO₄), respectively, were removed from the model equation to sustain the model equation. Strnad et al. [22] performed Box-Cox transformation,

and R^2 and adjusted- R^2 were calculated as 0.739 and 0.691, respectively, for the cultivation conditions in erythropoietin production, and these data and transformation were approved for bioprocess optimization. The protease activity response was obtained as a linear model equation using none-transformation ($\lambda=1.0$). However, $MgSO_4$ was determined to be an insignificant parameter in these experiments. Therefore, $MgSO_4$ was eliminated from the

model equation. Before the elimination of this variable, the P -value of D ($MgSO_4$), adjusted- R^2 and predicted- R^2 values were 0.8246, 0.6619 and 0.6086, respectively, and these values were lower than the adjusted model (Table 3). Even B (CSL), C ($MnSO_4$), and D ($MgSO_4$) were not statistically important for the CDW, multiplied and square forms of these parameters, as AB , AC , BC , and D^2 were relatively significant. Therefore, these variables remained in the ANOVA results.

Table 2. The composition of various experiments of the central composite design and corresponding results on Bs growth (CDW) and protease production.

Standards	Factors				Responses	
	A:Molasses (% v/v)	B:CSL (%v/v)	C:MnSO ₄ (% w/v)	D:MgSO ₄ (% w/v)	CDW (g/L)	Protease activity (mU/mL)
1	10.00	10.00	0.30	0.30	4.409	200.734
2	40.00	10.00	0.30	0.30	1.987	540.322
3	10.00	40.00	0.30	0.30	8.511	383.151
4	40.00	40.00	0.30	0.30	3.411	575.717
5	10.00	10.00	1.50	0.30	5.582	336.371
6	40.00	10.00	1.50	0.30	2.800	597.993
7	10.00	40.00	1.50	0.30	2.813	567.549
8	40.00	40.00	1.50	0.30	5.784	678.435
9	10.00	10.00	0.30	1.50	4.713	210.882
10	40.00	10.00	0.30	1.50	2.258	364.622
11	10.00	40.00	0.30	1.50	7.298	495.275
12	40.00	40.00	0.30	1.50	3.866	605.913
13	10.00	10.00	1.50	1.50	7.849	372.260
14	40.00	10.00	1.50	1.50	3.160	559.133
15	10.00	40.00	1.50	1.50	2.402	608.636
16	40.00	40.00	1.50	1.50	4.293	622.002
17	3.79	25.00	0.90	0.90	6.693	391.567
18	46.21	25.00	0.90	0.90	3.704	606.408
19	25.00	3.79	0.90	0.90	7.096	446.020
20	25.00	46.21	0.90	0.90	3.978	620.269
21	25.00	25.00	0.05	0.90	3.869	433.149
22	25.00	25.00	1.75	0.90	2.980	532.154
23	25.00	25.00	0.90	0.05	2.562	576.459
24	25.00	25.00	0.90	1.75	2.618	553.688
25	25.00	25.00	0.90	0.90	3.767	275.730
26	25.00	25.00	0.90	0.90	2.533	572.251
27	25.00	25.00	0.90	0.90	3.058	535.867
28	25.00	25.00	0.90	0.90	2.898	505.918
29	25.00	25.00	0.90	0.90	3.016	558.391
30	25.00	25.00	0.90	0.90	3.296	585.617

The values for CDW were the best fit using a second-order polynomial equation, and the protease activity response was calculated using a first-degree polynomial

equation. The following equations (Eq. 3) of the models based on the coded values:

Eq. 3:

- a) $((CDW \text{ (g/L)})^{1.46} = 0.19+0.038 \times A - 0.011 \times B + 0.00156 \times C - 0.00347 \times D - 0.052 \times A \times B - 0.043 \times A \times C + 0.040 \times B \times C - 0.033 \times A^2 - 0.038 \times B^2 + 0.039 \times D^2$
- b) $Protease \ activity \ (mU/mL) = 497.08 + 83.66 \times A + 80.04 \times B + 55.29 \times C$

where A is molasses, B is CSL, C is $MnSO_4$, and D is $MgSO_4$.

significant) indicated that the models were significant at a high confidence level for each response. The lack of fit values (0.4212 for CDW and 0.9910 for protease activity) was not significant with respect to the corresponding pure error.

The responses were verified using ANOVA for each factor (Table 3). The P values ($P < 0.1$, statistically

Table 3. Statistical analysis of the following experiments: (a) analysis of variance (ANOVA), (b) statistical calculations of CDW, and (c) statistical calculations of protease.

(a)						
Model Transformation ANOVA for RSM Source	CDW (g/L)			Protease activity (mU/mL)		
	Power (Lambda:-1.46) Reduced Quadratic			None Reduced Linear		
	Sum of Squares	F Value	p-value Prob > F	Sum of Squares	F Value	p-value Prob > F
Model	0.16	9.59	< 0.0001	329200	21.01	< 0.0001
A-Molasses	0.029	16.66	0.0006	140000	26.80	< 0.0001
B-CSL	0.0025	1.44	0.2446	128100	24.53	< 0.0001
C-MnSO4	0.000049	0.028	0.8680	61137.16	11.71	0.0021
D-MgSO4	0.00024	0.14	0.7118			
AB	0.043	24.92	< 0.0001			
AC	0.029	17.06	0.0006			
BC	0.026	15.00	0.0010			
A2	0.011	6.19	0.0223			
B2	0.014	8.16	0.0101			
D2	0.014	8.44	0.0091			
Residual	0.033			135800		
Lack of Fit	0.025	1.28	0.4212	68405.66	0.24	0.9910
Pure Error	0.0071			67388.37		
Cor Total	0.20			465000		

(b)			
Std. Dev.	0.034	R-Squared	0.8346
Mean	0.12	Adj R-Squared	0.7476
C.V. %	28.24	Pred R-Squared	0.5523
PRESS	0.070	Adeq Precision	10.876

(c)			
Std. Dev.	0.006	R-Squared	0.7080
Mean	0.027	Adj R-Squared	0.6473
C.V. %	22.14	Pred R-Squared	0.6358
PRESS	0.0014	Adeq Precision	16.597

F-value – Calculated value from a hypothesis test; P-value – Probability level; PRESS – Prediction error sum of squares; C.V. % – Coefficient of Variance %.

The simultaneous effect of all of the factors on responses was compared using perturbation plots. CDW was affected after changing the substrates to low concentrations of molasses and CSL and high concentrations of MgSO₄, although a high *P*-value was observed. Manganese had no effect on CDW, but low and high concentrations of magnesium were associated with a slight difference in CDW (Fig. 1a). However, magnesium showed no effect on protease activity. The effect of molasses and CSL was higher than that of manganese (Fig. 1b).

The interactions between the factors visualized in the surface plots graphs showed a statistically significant effect on at least one of the responses (Fig. 2). The low concentrations of molasses and CSL generated high CDW values (Fig. 2a). However, based on biochemical reactions, biomass production is enhanced by increased the levels of carbon and/or nitrogen sources until

substrate inhibition. The results presented in Fig. 2a also show a high CDW at elevated levels of molasses and CSL, while the highest CDW was observed with minimum levels of these substrates. Consistently, Fig. 2b plot also supported low levels of molasses. Notably, Fig. 2c showed that the increasing CSL level positively affected biomass generation. However, the protease activity increased with increasing molasses and CSL concentrations (Fig. 2d). The combination of CSL and molasses was important for protease production, reflecting enriched protein and energy sources, respectively. Afify et al. [29] reported results consistent with these data. These authors used fodder yeast for protease production, showing that the highest protease activity was observed using fodder yeast as the sole medium component. The amount and type of nitrogen source are important for *B. sphaericus* protease production.

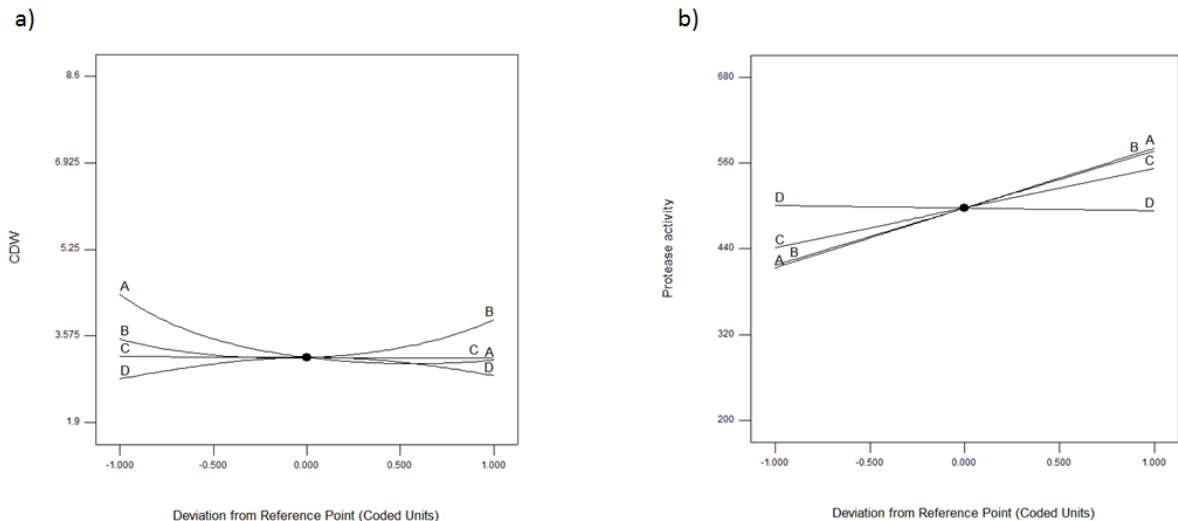


Figure 1. Perturbation graphs of CDW and protease activity showing the effect of the variables on responses (A is molasses at 25%; v/v, B is the CSL at 25%; v/v, C is the MnSO₄ at 0.9%; w/v, and D is the MgSO₄ at 0.9%; w/v).

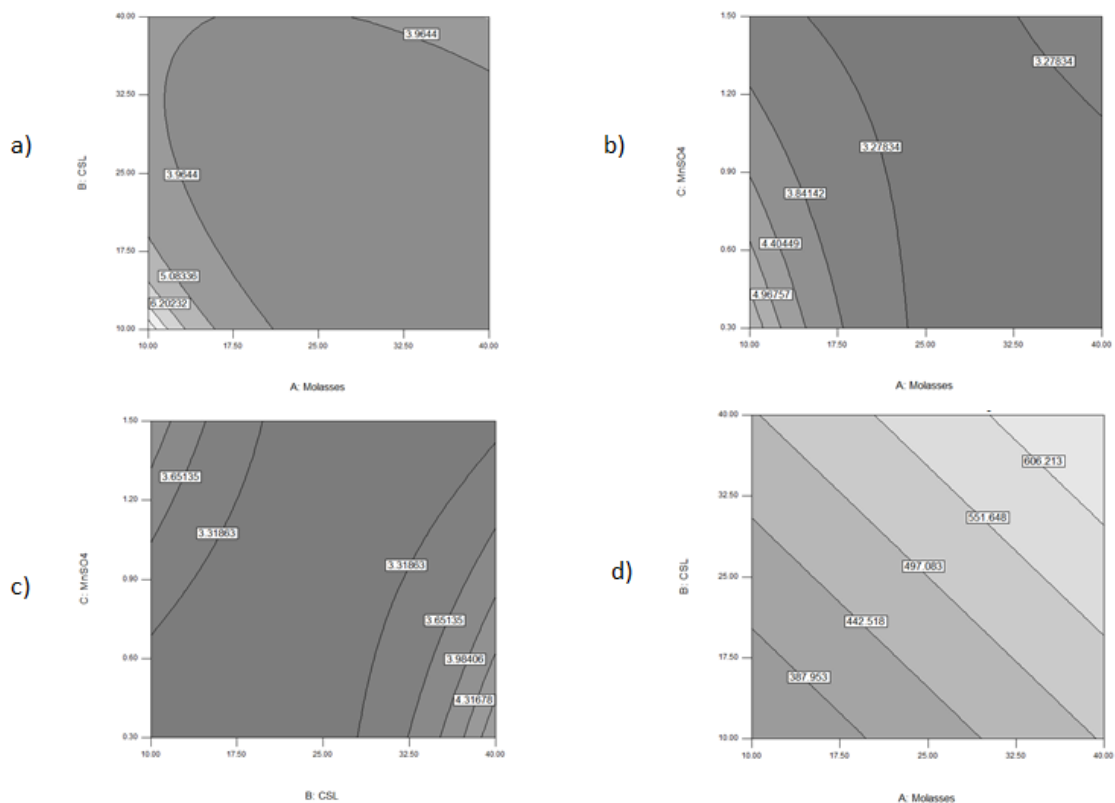


Figure 2. Contour plots of the following interactions for protease activity: molasses x CSL (a), molasses x MnSO₄ (b), CSL x MnSO₄ (c) for CDW, and molasses x CSL (d).

Optimization of Simultaneous Productions of Biomass and Protease

There are two studies concerning the simultaneous production of biopesticides and proteases [29, 30]. Surendran et al. [30] used *B. sphaericus* for protease production to investigate the enzyme activity under different carbon sources and working conditions. However, these authors did not report data concerning biomass generation during protease production. Afify et al [29] also used *B. sphaericus* to examine protease

production and larvicidal activity in fermenter production. In the present study, we investigated and optimized the appropriate media composition for the individual and simultaneous production of biopesticides and proteases. Numerical optimisation was performed to set goals in different perspectives, such as sole biopesticide production (Scenario 1), sole protease production (Scenario 2), biopesticide as the primary product and protease as the by-product (Scenario 3), and protease as the primary product and biopesticide as the by-product (Scenario 4) (Table 4).

Table 4. Potential optimized values and simultaneous optimization values for biomass and protease production

Scenario	Variables				Predicted values	Observed values
	Molasses (%)	CSL (%)	MnSO ₄ (g/L)	MgSO ₄ (g/L)		
1	11.04	39.99	0.31	0.99	8.799	8.652
2	39.01	38.32	1.48	0.71*	700.198	684.451
3	11.61	40.00	0.30	0.98	8.511 for CDW;	8.598 for CDW;
					447.162 for Protease	412.874 for Protease
4	40.00	40.00	1.49	0.93	5.234 for CDW;	5.441 for CDW;
					715.596 for Protease	692.149 for Protease

*: Not significant.

The preferable concentrations of molasses and CSL were different for biopesticide and protease activity. Higher values of biopesticide and protease activity were observed at lower and higher levels of molasses and CSL, respectively. Mineral concentrations strongly influenced biopesticide and protease activity. The optimized values of Scenario 1 aggregated in three different regions: low levels of molasses and CSL, high concentrations of molasses and CSL, and low concentration of molasses with a high concentration of CSL (Fig. 3a). As discussed above, high substrate concentrations until substrate inhibition are needed for biomass production. Therefore, proposed designs with low concentrations of molasses and CSL were discarded, although a high biomass concentration was observed in Fig. 3a. According to these data, high molasses concentrations inhibit cell growth. The proposed optimization system supported the fitted model, but not the exact structure. Hence, we focused on a design involving a low concentration of molasses and a high concentration of CSL for biopesticide media optimization (Table 4). Compared with the calculated data in Scenario 1, the error was + 1.6, which was highly acceptable. In Scenario 2, optimum values for protease production were obtained at high concentrations of substrates, including manganese. The 3-D plot for protease production is shown in Fig. 3b. We concluded that molasses have significant importance for the production of proteinaceous substances. Bioprocess plant facilities are typically established to produce one specific product. To create a cost-benefit facility, the recovery, and utilization of the by-product is an essential step for engineers. The value obviously differs depending on the biomass and protease, but the aim is to reach a minimum 5 g/L and 500 mU/mL for biomass and protease production, respectively [5, 12]. Scenario 3 served biopesticide production facilities with obtaining protease as a by-product, obtaining similar optimum values compared with sole biopesticide production (Scenario 1), as shown in Table 3. To observe the restrictions of the working conditions, biomass growth and protease production were set at 5.5 – 8 g/L and 450 – 550 mU/mL, respectively, with 0.3 g/L of MnSO₄ and 40% CSL (Fig. 4a). The precise combination of molasses and magnesium should be adjusted for

Scenario 3. Protease production and biomass growth parameters were set at 600 – 700 mU/mL and 4.5 – 5.5 g/L, respectively, with 0.9 g/L of MgSO₄ and 40% CSL for Scenario 4 (Fig. 4b). In this case, high concentrations of molasses were essential for protease production. As shown in Table 4, in both cases, biopesticide and protease activity decreased 41 and 37% based on sole productions, respectively. Therefore, it is not possible to produce both products in high amounts. The optimized values for biopesticide production were 11% molasses, 40% CSL, 0.31% MnSO₄ and 0.99% MgSO₄, to yield 8.799 g/L CDW. For protease activity of 700.198 mU/mL, the optimized values were 39% molasses, 38% CSL, and 1.48% MnSO₄.

Scenarios with Industrial Perspective

Turkey's detergent and agricultural markets were chosen as models. The calculations were summarized in Table 5. The total detergent (both heavy duty liquid and powder detergent) purchase of Turkey is around 565,082 ton/year, and hence, the protease is consumed as 2,610 ton/year in detergent formula [31]. If the market share of the detergent protease was aimed to 5%, the need for one fermenter volume is higher than 30 million liters with our enzyme activity and process time. Consequently, the protease activity in the industrial area should be higher than 60 U/mL for plant size and applicable one fermenter volume that is maximum at 300,000 liters. Therefore, Scenario 2 and 4 were eliminated. If the market share of the detergent protease was aimed to 0.5% that was the by-product approach, fermenter volume was still enormous as 3,000,000 liters as for microbial production. The most likely production in the industrial case was Scenario 1 that was sole biopesticide production. The total pesticide consumption of Turkey is around 50,000 ton/year and 3% of this one (1,500 ton/year) was biopesticide itself. The ratio of a microorganism to fertilizer was traditionally adjusted to 1/1000 in formula [32]. If the market share of biopesticide was aimed to 5%, the total working volume of fermenter was found approximately 100 L when 8.65 g/L of microorganism concentration was achieved with optimized media composition and 90 batches per year.

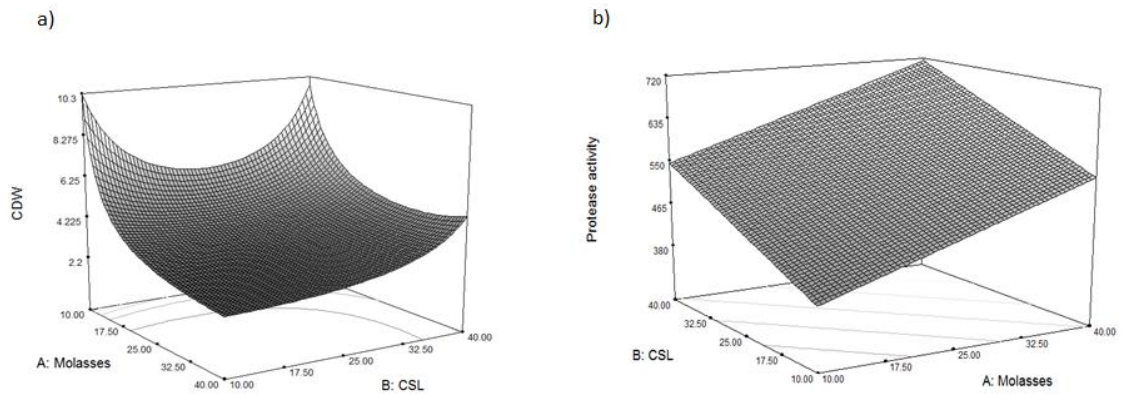


Figure 3. Numerical sole optimization graphs of CDW as Scenario 1 (a) and protease activity as Scenario 2 (b) based on molasses and CSL.

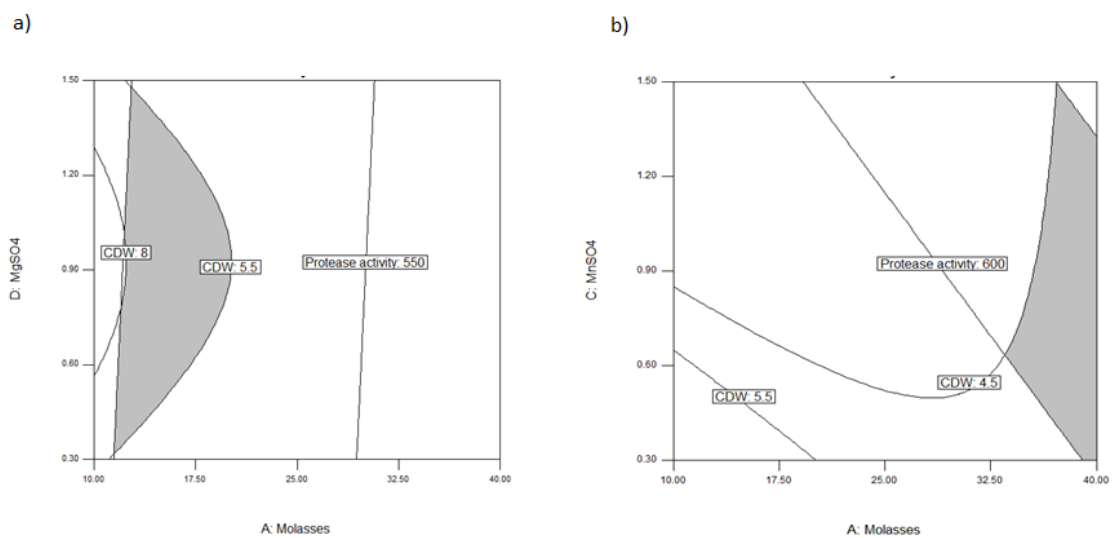


Figure 4. Graphical simultaneous optimization for Scenario 3 (a) and Scenario 4 (b).

Table 5. Process evaluation of protease and biopesticide production.

Items	Protease	Biopesticide
Consumption rate of material in Turkey (ton/year)	565082 (detergent)	50000 (pesticide)
Consumption rate of targeted active material in Turkey (ton/year)	2610 (protease)	1500 (biopesticide)
Targeted market size (%)	5	5
Production capacity (ton/year)	131	75
Fermentation time (days)	3	3
Capacity ratio of plant (%)	90	90
Working days in year	300	300
Production times (Batches/year)	90	90
Enzyme concentration (U/g)	15000	-
Enzyme activity in formulation (U/100 g detergent)	60	-
Protease production volume annually (U/year)	1.96×10^{12}	-
Enzyme unit per batch	2.18×10^{10}	-
Enzyme activity (U/L)	700	-
Necessary batch volume for enzyme production (L)	3.1×10^7	-
Biopesticide concentration in fermenter (g/L)	-	8.65
Biopesticide to fertilizer ratio	-	0.001
Biopesticide production annually (g)	-	75000
Biopesticide per batch (g/batch)	-	833
Necessary batch volume for biopesticide production (L)	-	96

CONCLUSIONS

There are no reports describing the optimization of biomass and alkaline protease production in *B. sphaericus* using a CCD and RSM. This statistical approach showed significant results for optimizing the process parameters for biomass and alkaline protease production under submerged fermentation. Results of this present study demonstrated that simultaneous production of biopesticide and protease was inefficient compared with the sole production. However, if the aim is to obtain by-product, then optimal working parameters could be obtained. As industrial perspective, sole production of biopesticide is applicable even with a large pilot plant fermentation facility as a starter company.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by a grant from the Ministry of Science, Industry and Technology in Turkey [Grant Number 590.STZ.2010-1].

REFERENCES

- [1] Copping, L.G., Menn, J.J., 2000. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science* 56: 651-676.
- [2] Senthil-Nathan, S., 2015. A Review of Biopesticides and Their Mode of Action Against Insect Pests. In: *Environmental Sustainability: Role of Green Technologies*, Edited by P. Thangavel, G. Sridevi G. Springer India, New Delhi, 49-63p.
- [3] Tripathi, A., Hadapad, A.B., Hire, R.S., Melo, J.S., D'Souza, S.F., 2013. Polymeric macroporous formulations for the control release of mosquitocidal *Bacillus sphaericus* ISPC-8. *Enzyme and Microbial Technology* 53: 398-405.
- [4] Zhang, W., Crickmore, N., George, Z., Xie, L., He, Y.Q., Li, Y., Tang, J.L., Tian, L., Wang, X., Fang, X., 2012. Characterization of a new highly mosquitocidal isolate of *Bacillus thuringiensis*—An alternative to Bti? *Journal of Invertebrate Pathology* 109: 217-222.
- [5] El-Bendary, M.A., 2006. *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* biopesticides production. *Journal of Basic Microbiology* 46: 158-170.
- [6] Sharma, M.P., Sharma, A.N., Hussaini, S.S., 2011. Entomopathogenic nematodes, a potential microbial biopesticide: mass production and commercialisation status – a mini review. *Archiv Fur Phytopathologie Und Pflanzenschutz-Archives Of Phytopathology And Plant Protection* 44: 855-870.
- [7] Zhuang, L., Zhou, S., Wang, Y., Chang, M., 2011. Mosquito biolarvicide production by sequential fermentation with dual strains of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* using sewage sludge. *Bioresource Technology* 102: 1574-1580.
- [8] Çalik, G., Pehlivan, N., Kalender, N., Özdamar, T.H., Çalik, P., 2003. Utilization of pretreated molasses for serine alkaline protease production with recombinant *Bacillus* species. *Chemical Engineering Communications* 190: 630-644.
- [9] Chu, W-H., 2007. Optimization of extracellular alkaline protease production from species of *Bacillus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34: 241-245.
- [10] Genckal, H., Tari, C., 2006. Alkaline protease production from alkalophilic *Bacillus* sp. isolated from natural habitats. *Enzyme and Microbial Technology* 39: 703-710.
- [11] Jackson, M.A., Labeda, D.P., Becker, L.A., 1995. Enantioselective hydrolysis of ethyl 2-hydroxyalkanoates by an extracellular esterase from a *Bacillus sphaericus* strain. *Enzyme and Microbial Technology* 17: 175-179.
- [12] Kumar, C.G., Takagi, H., 1999. Microbial alkaline proteases: From a bioindustrial viewpoint. *Biotechnology Advances* 17: 561-594.
- [13] Singh, J., Vohra, R., Sahoo, D., 2001. Purification and characterization of two extracellular alkaline proteases from a newly isolated obligate alkalophilic *Bacillus sphaericus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 26: 387-393.
- [14] Singh, J., Vohra, R.M., Sahoo, D.K., 2004. Enhanced production of alkaline proteases by *Bacillus sphaericus* using fed-batch culture. *Process Biochemistry* 39: 1093-1101.
- [15] El-Bendary, M.A., Moharam, M.E., Foda, M., 2008. Efficient mosquitocidal toxin production by *Bacillus sphaericus* using cheese whey permeate under both submerged and solid state fermentations. *Journal of Invertebrate Pathology* 98: 46-53.
- [16] Lin, S.S., Dou, W.F., Xu, H.Y., Li, H.Z., Xu, Z.H., Ma, Y.H., 2007. Optimization of medium composition for the production of alkaline β -mannanase by alkaliphilic *Bacillus* sp. N16-5 using response surface methodology. *Applied Microbiology and Biotechnology* 75: 1015-1022.
- [17] Shi, F., Zhu, Y., 2007. Application of statistically-based experimental designs in medium optimization for spore production of *Bacillus subtilis* from distillery effluent. *BioControl* 52: 845-853.
- [18] Kazi, F.K., Fortman, J.A., Anex, R.P., Hsu, D.D., Aden, A., Dutta, A., Kothandaraman, G., 2010. Techno-economic comparison of process technologies for biochemical ethanol production from corn stover. *Fuel* 89: 20-28.
- [19] Box, G.E.P., Wilson, K.B., 1951. On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B Methodology* 13: 1-45.
- [20] Baş, D., Boyacı, İ.H., 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78: 836-845.
- [21] Nikerel, İ.E., Öner, E., Kırdar, B., Yıldırım, R., 2006. Optimization of medium composition for biomass production of recombinant *Escherichia coli* cells using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal* 32: 1-6.
- [22] Strnad, J., Brinc, M., Spudić, V., Jelnikar, N., Mirnik, L., Čarman, B., Kravanja, Z., 2010. Optimization of cultivation conditions in spin tubes for Chinese hamster ovary cells producing erythropoietin and the comparison of glycosylation

- patterns in different cultivation vessels. *Biotechnology Progress* 26: 653-663.
- [23] Tanyildizi, M.S., Özer, D., Elibol, M., 2005. Optimization of α -amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology. *Process Biochemistry* 40: 2291-2296.
- [24] Sahin, F., Duman, G., Yazıcı, M., 2013. Novel bacterial strains for biological control of mosquitoes. Patent No. WO2013005176 A1 2013.
- [25] Küçükaşık, F., Kazak, H., Güney, D., Finore, I., Polı, A., Yenigün, O., Nicolaus, B., Öner, E.T., 2011. Molasses as fermentation substrate for levan production by *Halomonas* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89: 1729-1740.
- [26] Üstün, Ö., Öngen, G., 2012. Production and separation of dipeptidyl peptidase IV from *Lactococcus lactis*: scale up for industrial production. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 35: 1417-1427.
- [27] Kunitz, M., 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *Journal of General Physiology* 30: 291-310.
- [28] Box, G.E.P., Cox, D.R., 1964. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B Methodology* 26: 211-252.
- [29] Afify, A., Aboul-Soud, M., Foda, M., Sadik, M., Asar, A., Kahil, T., Al-Khedhairi, A., 2009. Production of alkaline protease and larvicidal biopesticides by an Egyptian *Bacillus sphaericus* isolate. *African Journal of Biotechnology* 8: 3864-3873.
- [30] Surendran, A., Vennison, S.J., Ravikumar, S., Ali, M.S. 2011. Optimization of alkaline protease production *Bacillus sphaericus* SBS4 by soil bacterium. *Journal of Pharmaceutical Research* 4: 1517-1519.
- [31] Ipsos Consumer Panel Database, www.ipsos.com.tr, 2016.
- [32] Kaymak, S., Serim, A.T., 2015. Research and development in pesticide sector. *Fruit Science* 2(1): 27-34.
-

Optimization of Olive Oil Extraction Process by Response Surface Methodology

Serife Cevik , Sedef Aydın , Onur S. Sermet , Gulcan Ozkan , Erkan Karacabey 

Suleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Isparta, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 18.11.2016, Accepted (Kabul Tarihi): 03.10.2017

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): gulcanozkan@sdu.edu.tr (G. Özkan)

☎ +90 246 211 17 76 📠 +90 246 211 17 76

ABSTRACT

Extraction yield and product quality of olive oil depend on various factors, particularly fruit's maturity and processing methods. In this present study, kneading process was optimized by response surface methodology in terms of oil yield and quality parameters. As a sample, olive fruits were used at two different maturity stages (purple versus black stages). Prediction of response was proposed with a full quadratic second order regression equation, and regression parameters were checked for each model in order to evaluate model's adequacy. Proposed models for yield and some quality parameters of olive oil were good enough for a successful prediction of experimental results. Oil yield was maximized as free acidity and peroxide value were controlled under the specified corresponding values for "extra virgin olive oil". Optimal kneading conditions for oil production were at 30°C for 45 min for purple fruits and 28°C for 55 min for black counterparts.

Keywords: Olive oil, Physicochemical properties, Oil yield, Statistics, Modelling

Zeytinyağı Ekstraksiyon İşleminin Yanıt Yüzey Metodu ile Optimizasyonu

ÖZ

Zeytinyağının ekstraksiyon verimi ve kalitesi başlıca meyve olgunluğu ve işleme metotları gibi farklı faktörlere bağlıdır. Bu çalışmada yoğurma işleminin yağ verimi ve kalite parametreleri bakımından yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu amaçlanmıştır. Örnek olarak iki farklı olgunlukta (mor ve siyah dönemler) zeytin meyvesi kullanılmıştır. Yanıtların tahmininde ikinci dereceden regresyon eşitliği kullanılmış ve her bir model için model yeterliliğini değerlendirmek için regresyon parametrelerine bakılmıştır. Yağ verimi ve bazı kalite parametrelerine yönelik önerilen modellerin deneysel sonuçları tahmin etmede yeterli düzeyde oldukları bulunmuştur. Serbest asitlik ve peroksit değeri natürel sızma zeytinyağı için belirlenmiş olan değerlerin altında tutulurken, yağ verimi maksimize edilmiştir. Optimum yoğurma şartları ise mor dönem zeytinyağları için 30°C, 45 dakika, siyah dönem zeytinyağları için 28°C, 55 dakika olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Zeytinyağı, Fizikokimyasal özellikler, Yağ verimi, İstatistik, Modelleme

INTRODUCTION

Virgin olive oil is a product extracted from the fruit of olive tree solely by mechanical or other physical methods, which include washing, crushing, kneading of

resulting pastes and separation of oily phase, or filtration according to the Codex Alimentarius, IOOC, and EC regulations. The critical factors of the extraction process for oil yield in terms of product quality are kneading time, temperature as well as fruits' maturity.

Olives are harvested at the spotted-purple or purple-black stage to produce oil. The most specific indicator to determine maturity is the oil accumulation in olives. At this point it should be noted that the percentage of oil in fresh olive fruit continuously increases as fruit ripens. This favourable effect of the maturity on olive oil yield is well documented and it is attributed to the decrease in moisture content with increasing maturity [1-11]. Additionally free acidity increases and the peroxide value decreases depending on an increase in maturity index [3, 4, 6, 7, 10, 12-14].

Kneading conditions (also mentioned as malaxation) are other critical factors to produce the highest quality and quantity of oil from fruits. Kneading process at different temperature and time pairs makes the olive paste uniform and breaks up the oil/water emulsion. Changes in quality parameters such as free acid and peroxide value as a function of temperature, time, and maturity stage have been studied [14, 15] Kneading conditions related changes in quality parameters are associated with an increase in lipase activity (responsible for free acidity increase) and an intensification of the primary oxidation processes (responsible for the increase of the peroxide value) [16-19].

As mentioned above, oil extraction in terms of yield performance and product's quality is under effects of

many factors, but being in different extents. Additionally, there may be interactions in between these factors. Thus, statistical analysis is often used to evaluate factors' effects and their possible interactions, as well as to optimize processes conditions. Response surface methodology (RSM) enables the evaluation of the effects of independent process variables and their interactions on dependent variables for developing, improving, and optimizing processes [20].

In this study, kneading conditions and fruit's ripeness dependent changes in olive oil yield as well as quality parameters were investigated to figure out the relations between factors and proposed responses. Additionally, extraction process was optimized to achieve the highest oil yield with the best quality.

MATERIAL and METHODS

Olive fruits (Memecik cultivar) were collected from an orchard located in Muğla, Turkey. Two maturity stages (purple and black stages) were determined by monitoring suitable season. Before oil extraction, some physical properties of olives were determined for each maturity level. All measurements were carried out triplicate and results were presented in Table 1.

Table 1. Physical properties of olive fruits at purple and black stages

Fruit Properties	Purple Stage**	Black Stage
Maturity Index	4.76±0.43b	6.63±0.49a
Width of Olive (mm)	16.33±1.38a	14.11±1.06c
Length of Olive (mm)	23.61±1.73a	21.90±1.75b
Weight of Olive (g)	3.49±0.76a	3.11±0.55b
Moisture of Olive (%)	52.36±0.82a	47.52±0.26b
Dry Matter Content (%)	47.64±0.82b	52.48±0.26a
Oil Content (%)*	48.42±0.51a	49.18±0.92a

*: Determined by the Soxhlet method and calculated on dry weight basis

** : Different letters within a row indicate means that are statistically different at $\alpha=0.05$ level

Extraction of Olive Oil

The extraction of olive oil was carried out using the Abencor system (Hakki Usta Machinery, Aydin, Turkey). Kneading of olive paste was carried at different conditions according to the experimental design for each maturity stage given in Table 2. Separated oil was filtered through anhydrous sodium sulphate on cotton layer to remove remaining aqueous phase and stored in amber glass bottles at 4°C for analysis. Oil yield for each trial was given as g oil 100 g⁻¹ olive paste.

Quality parameters of olive oil

Free acidity of oil sample was determined by the American Oil Chemists' Society (AOCS) method Ca 5a-40 [21] and results were given as an equivalent of oleic acid (%). The AOCS method Cd 8-53 [22] was used for determination of peroxide value (meq O₂ kg⁻¹ oil) of oil

sample. All measurements were carried out in triplicate for each sample.

Experimental Design

A central composite design was selected for optimization of kneading conditions (temperature and time), each at five levels with 13 runs including five central points. Optimization of independent variables of temperature (X₁) and time (X₂) were carried out to achieve the best performance of olive oil yield (Z₁), and the lowest levels of free acidity (Z₂) and peroxide (Z₃). Experimentally determined responses for each corresponding trial were given in Table 2 for both olive groups (purple and black stages). Response surface methodology (RSM) was used for optimization using Minitab Software (Minitab 16.1.1) [23]. Full quadratic second order regression model including the linear, quadratic and two factor interaction effects was proposed for the prediction of process (Eq. 1).

Table 2. Central composite design and experimental results

Run Order ^a	Temperature (°C)	Time (Min)	Purple			Black		
			Yield ^b	Free Acidity ^c	Peroxide Value ^d	Yield ^b	Free Acidity ^c	Peroxide Value ^d
1	45	30	7.82	0.13	11.19	9.97	0.86	7.43
2	45	60	4.67	0.14	11.81	3.29	0.87	7.94
3	35	45	11.99	0.21	9.42	12.99	0.71	8.24
4	20.85	45	13.18	0.12	9.09	13.36	0.79	6.70
5	35	45	13.45	0.13	9.25	13.27	0.71	8.24
6	35	45	12.81	0.15	9.23	13.18	0.71	8.23
7	35	45	12.63	0.13	9.24	13.18	0.71	8.24
8	49.14	45	2.29	0.17	11.73	2.01	0.83	7.58
9	25	60	14.09	0.13	9.20	14.46	0.73	7.72
10	35	66.21	11.35	0.17	10.30	13.18	0.79	8.27
11	25	30	14.18	0.12	7.54	11.90	0.75	7.37
12	35	45	13.54	0.14	9.26	13.08	0.71	8.22
13	35	23.79	12.72	0.13	9.23	12.72	0.80	8.05

^aRandomized, ^b g oil 100 g⁻¹ olive paste, ^c %, ^d meq O₂ kg⁻¹oil

$$Z = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^1 \sum_{j=i+1}^2 \beta_{ij} X_i X_j \quad \text{Eq. (1)}$$

where Z was the dependent variable, the X was the independent variables, β_0 was the constant coefficient, β_i was the linear coefficient (main effect), β_{ii} was the quadratic coefficient, and β_{ij} was the two factors interaction coefficient. Response surfaces of the predicted values obtained by proposed models were plotted in the studied variable ranges by Sigma Plot Software (SPSS Inc., Chicago, IL). Model adequacy was evaluated by considering parameters of R² value, adjusted-R² value of regression.

RESULTS and DISCUSSION

According to EU-regulations, olive oils are classified with respect to free acidity and some physicochemical properties including peroxide. As shown in Table 2, free acidity (% oleic acid) and peroxide values (meq O₂ kg⁻¹ oil) were in the range of 0.12-0.21 and 7.54-11.81 for purple stage olive oil and 0.71-0.87 and 6.70-8.24 for black stage olive oil, respectively. Oil samples obtained from olives at purple stage were found to be in the highest quality category "extra virgin olive oil". Results of free acidity indicated that some of the oil samples obtained from fruits at black stage was out of standards (free acidity ≤ 0.8%, peroxide value ≤ 20 meq O₂ kg⁻¹ oil) established for the highest quality category "extra virgin olive oil" at some extraction processes (trial 1, 2 and 8) being higher than 0.8%. An increase in free acidity could be attributed to fruits' maturity and extraction conditions. In literature it was reported that free acidity increased with ripening of olive fruits [4, 6, 24]. In some studies kneading conditions was reported to be effective on quality parameters of olive oil and especially an increase in temperature caused higher free acidity [11, 17-19, 25]. Extraction performance evaluated for olive fruits at two different maturity indexes was considered and oil yields for each trial were given in Table 2. Oil yield

measured for purple and black stage olive fruit was seen to vary from 2.29 to 14.18 g oil 100 g⁻¹ olive paste and from 2.01 to 14.46 g oil 100 g⁻¹ olive paste depending on studied parameters, respectively (Table 2). Oil yield observed in the present study agrees with that reported for Memecik cultivar by Nergiz ve Ergönül [26]. Besides of kneading conditions, maturity of olive fruit has been reported to be effective on oil yield [1-11]. Models produced by response surface methodology were given in Table 3. Adequacies of models were evaluated by checking regression coefficient for each model. Models were found to estimate with high success for olive oil yields for all stages of interest. Regression coefficients were higher than 0.90 for models belonging to oil yields. Free acidity and peroxide values of oil samples were also found to be predicted by related models with high performances.

Olive fruits harvested at two maturity stages were processed for oil production and results are given in Table 2 depending on raw material maturity and they are shown in Figures 1 and 2 for purple and black stages, respectively. Oil yield (g oil 100 g⁻¹ olive paste) from olives at purple and black stage was found to be varied under effects of kneading conditions (Figures 1 and 2). The highest extraction yield was obtained in a kneading process relatively at low temperature and for long time irrespective of fruit maturity (Figures 1-2). Time related change in oil yield was linear for processed olive fruits at two maturity stage, whereas curve effect was observed with changing temperature (Figure 1 and 2). Table 3 also displays that time has significant parameter in the model just as first order level, whereas first and second order terms are significant for temperature. It is valid for both models obtained for studied maturities. Espinola et al. [11] reported the coincident results related to kneading temperature and time effects on olive yield.

Table 3. Regression coefficients of proposed models for the investigated responses of virgin olive oil extracted from fruits at two maturity stages

Variables	Purple			Black		
	Yield	Free Acidity	Peroxide Value	Yield	Free Acidity	Peroxide Value
β_0	-13.3137*	0.896437***	9.03670*	-33.5193***	1.69232***	-0.148459 ^{ns}
β_1	1.5890***	-0.028051***	-0.15857 ^{ns}	2.3093***	-0.03398**	0.418569***
β_2	0.2749*	-0.002559 ^{ns}	0.00471 ^{ns}	0.5898**	-0.02015**	0.020753 ^{ns}
β_{11}	-0.0250***	0.000348***	0.00506*	-0.0283***	0.00050***	-0.005832***
β_{22}	-0.0015 ^{ns}	0.000014 ^{ns}	0.00092 ^{ns}	-0.0009 ^{ns}	0.00020**	-0.000163 ^{ns}
β_{12}	-0.0051*	0.000039 ^{ns}	-0.00158 ^{ns}	-0.0154***	0.00007*	0.000172 ^{ns}
Model	***	**	***	***	**	**
Linear	***	**	ns	***	**	**
Quadratic	***	**	*	***	***	***
Cross-product	*	ns	ns	***	*	ns
R^2	98.81	85.10	92.71	97.71	89.66	87.56
Adj- R^2	97.96	74.45	87.51	96.08	82.28	78.68

^{ns}, not significant ($p > 0.05$); *, significant at $p \leq 0.05$; **, significant at $p \leq 0.01$; ***, significant at $p \leq 0.001$

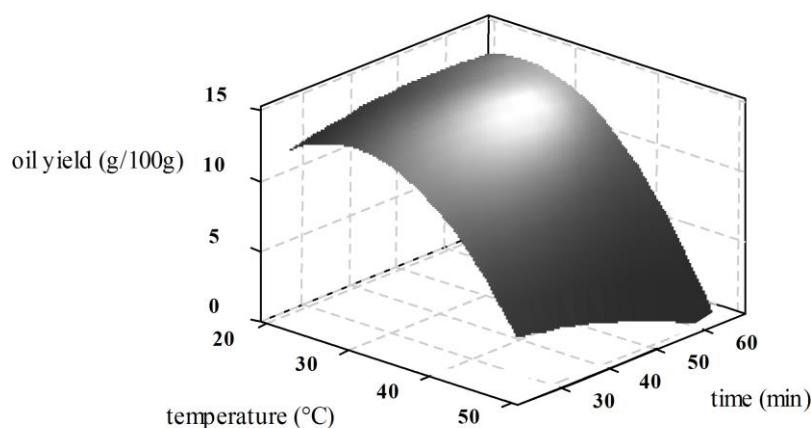


Figure 1. Influences of kneading conditions on yield of olive oil extracted from purple fruits

Free acidity of oil extracted from black olive fruits was higher than that measured for oil produced from fruits at purple stage, as shown in Figure 3 and 4. Being agree with our results, Finotti et al. [4], Salvador et al. [6], Rotondi vd. [12], Baccouri et al. [7], Baccouri et al. [13], Youssef et al. [14] and Lazzez et al. [10] reported that free acidity of oil depends on maturity of olive fruits. Temperature and time dependence of free acidity are shown in Figures 3 and 4 for oils produced from purple and black fruits, respectively. Strong temperature dependency of free acidity was seen for oil sample produced from purple olives, whereas significant change in this value was not seen with time (Figure 3). Table 3 also reveals similar results, where time related model parameters of free acidity (belonging to oil from purple olives) were found not to be significant ($p > 0.05$). Contrary to trend observed for purple fruits, significant time dependent change in free acidity was seen for oil sample extracted from black fruits (Table 3, Figure 4). Temperature was another factor and its increase resulted in an increase in free acidity which was superior especially temperature level higher than 35°C (Figure 4). Regression analysis also revealed that time

temperature interaction also significantly affected free acidity of oil sample (from black stage fruits) ($p \leq 0.05$) (Table 3). Di Giovacchino et al. [19] and Olias et al. [17] revealed similar results and pointed out the little increase in oil acidity as a result of hydrolytic action of the fruit enzymes being temperature induced. Espínola et al. [11] and Kalua et al. [18] also reported a presence of little influence on oil acidity with kneading temperature. Literature survey also showed that oils exhibiting higher acidity are obtained as a result of long kneading time at high temperature [16-19].

Changes in peroxide values of olive oils depending on maturity index of fruit are indicated in Figures 5 and 6 for oils obtained from purple and black stage fruits, respectively. Peroxide value of oil extracted from olive fruits at purple stage was higher than that measured for black fruits (Figures 5 and 6). Peroxide value change with fruit maturity agrees with that reported by Gutiérrez et al. [3], Salvador et al. [6], Rotondi et al. [12], Baccouri et al. [7], Baccouri et al. [13], Youssef et al. [14] and Lazzez et al. [10].

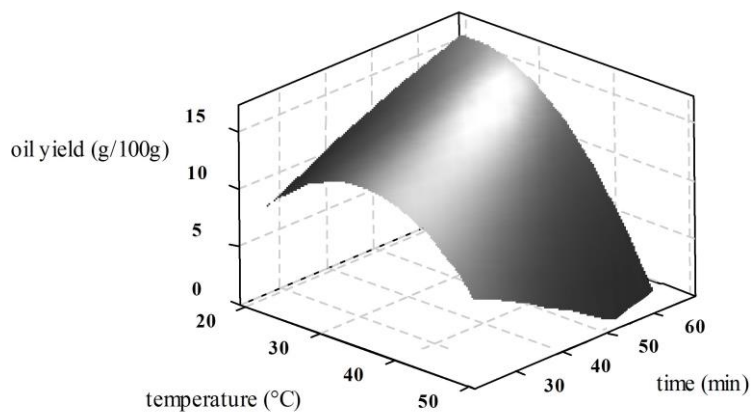


Figure 2. Effect of kneading conditions on yield of olive oil extracted from black fruits

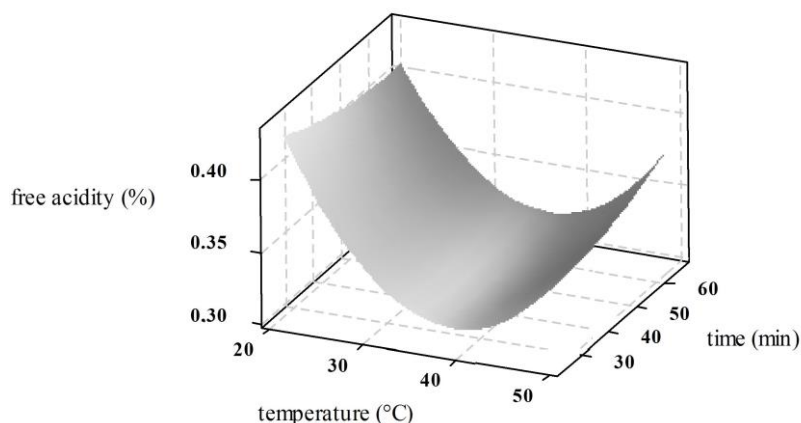


Figure 3. Effect of kneading conditions on free acidity of olive oil extracted from purple fruits

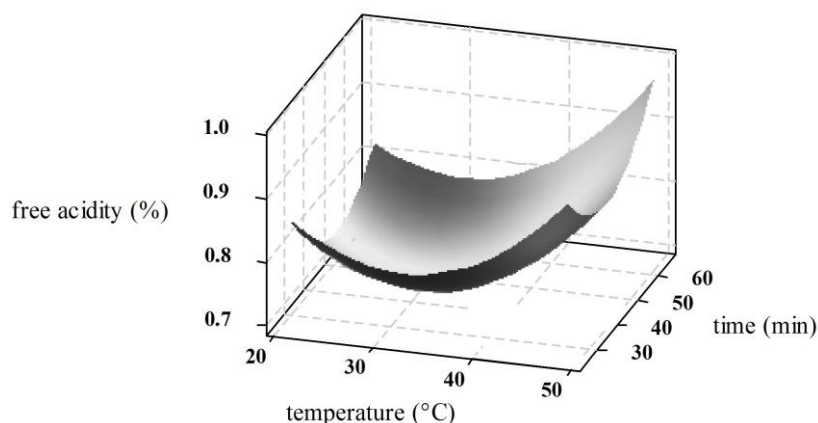


Figure 4. Effect of kneading conditions on free acidity of olive oil extracted from black fruits

Kneading conditions (temperature and time) were also examined in the present study to investigate their influences on peroxide values of produced olive oils. Significant temperature effect was found on peroxide value of oil samples extracted from fruits at both maturity stages, whereas time did not significantly change this quality parameter of olive oil in the studied conditions (Table 3). Figures 5 and 6 show the variation of peroxide values with temperature and time. Peroxide value increased with higher temperature levels, except for oil samples produced from black stage, for which

temperature increase resulted in an increase in peroxide value up to certain point and further increments in temperature caused decreased in this quality parameter (Figures 5 and 6). Similarly, Vekiari and Koutsaftakis [15] was stated that oils exhibiting higher oxidative deterioration were obtained only at long mixing time and high temperatures. In addition, Ranalli et al. [16] explained that this was due to an intensification of the primary oxidation processes (responsible for the increase in peroxide index values).

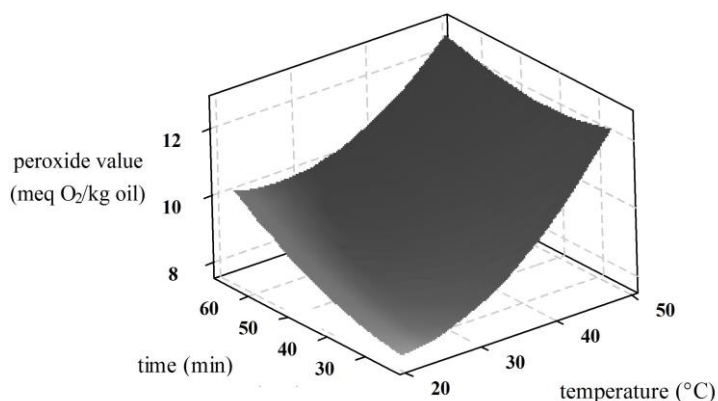


Figure 5. Effect of kneading conditions on peroxide value of olive oil extracted from purple fruits

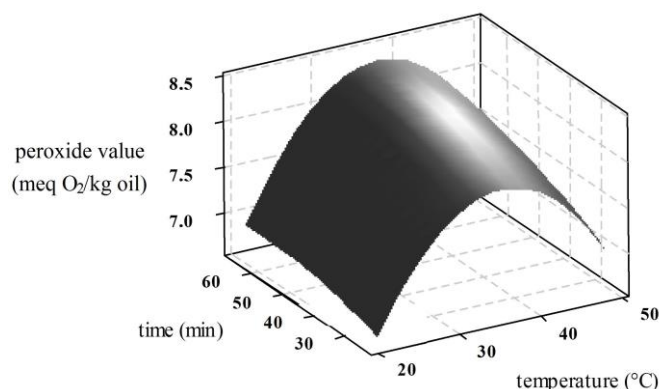


Figure 6. Effect of kneading conditions on peroxide value of olive oil extracted from black fruits

Optimization of Process Parameters

Optimization of any process is significant to reach the desired targets. In the present study main target was the maximization of oil yield, but it was not limitless since changes in process conditions required to achieve higher yield could adversely affect product quality. In the light of these facts, oil yield was maximized, as quality parameters were controlled to be under the levels classified in EU-regulations (free acidity $\leq 0.8\%$, peroxide value ≤ 20 meq O_2 kg^{-1} oil). For olive fruits at purple stage, kneading conditions were found to be $30^\circ C$ and 45 min to achieve the highest oil yield given as 14.2 g oil 100 g^{-1} olive paste. Under the same conditions, free acidity and peroxide values of olive oil were predicted as 0.33% and 8.8 meq O_2 kg^{-1} oil, respectively. Kneading at $28^\circ C$ for 55 min was enough to reach the goals (15 g oil 100 g^{-1} olive paste, 0.72% free acidity, 7.9 meq O_2 kg^{-1} oil) for processing of black olive fruits.

CONCLUSION

In olive oil production, many factors are effective on process performance and product quality. In this regard, cultivar, maturity stage, process conditions are prime ones. Even for the same cultivar, oil extraction process could differ in terms of oil yield and final quality since maturity index and process conditions are still strong parameters to affect process. Current study and other related ones in literature confirm this fact. In conclusion, kneading process's conditions were optimized in terms

of oil yield and final product quality (considering the parameters specified for extra virgin olive oil). This process was carried for processing of olive fruits at purple and black stages, separately. Developed models display high success to predict the experimental results and give reasonable optimal conditions, thus it could be said that response surface methodology is a good tool for optimization of kneading process for olive oil manufacturers.

ACKNOWLEDGMENT




The present study was financially supported by Süleyman Demirel University Scientific Research Projects Coordination Unit (3280-YL2-12, 3281-YL2-12, and 3282-YL2-12).

REFERENCES

- [1] García, J.M., Gutiérrez, F., Castellano, J.M., Perdiguero, S., Morilla, A., Albi, M.A., 1996. Influence of storage temperature on fruit ripening and olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(1): 264-267.
- [2] Boskou, D., 1996. Olive oil quality. In *Olive oil: Chemistry and technology*, Edited by D. Boskou, AOCS Press, Champaign, Illinois, 101–120p.
- [3] Gutiérrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A., Albi, M., 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(1): 121-127.
- [4] Finotti, E., Beye, C., Nardo, N., Quaglia, G.B., Milin, C., Giacometti, J., 2001. Physico-chemical characteristics of olives and olive oil from two mono-cultivars during various ripening phases. *Food / Nahrung* 45(5): 350-352.
- [5] Ayton, J., Mailer, R.J., Robards, K., Orchard, B., Vonarx, M., 2001. Oil concentration and composition of olives during fruit maturation in south-western New South Wales. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 41(6): 815-821.
- [6] Salvador, M., Aranda, F., Fregapane, G., 2001. Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry* 73(1): 45-53.
- [7] Baccouri, B., Zarrouk, W., Krichene, D., Nouairi, I., 2007. Influence of fruit ripening and crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected oleasters (*Olea europea* L.). *Journal of Agronomy* 6(3): 388-396.
- [8] Espinola, F., Moya, M., Fernández, D.G., Castro, E., 2009. Improved extraction of virgin olive oil using calcium carbonate as coadjuvant extractant. *Journal of Food Engineering* 92(1): 112-118.
- [9] Menz, G., Vriesekoop, F., 2010. Physical and chemical changes during the maturation of Gordal Sevillana olives (*Olea europaea* L., cv. Gordal Sevillana). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(8): 4934-4938.
- [10] Lazzez, A., Vichi, S., Kammoun, N.G., Arous, M.N., Khlif, M., Romero, A., Cossentini, M., 2011. A four year study to determine the optimal harvesting period for Tunisian Chemlali olives. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113(6): 796-807.
- [11] Espinola, F., Moya, M., Fernández, D.G., Castro, E., 2011. Modelling of virgin olive oil extraction using response surface methodology. *International Journal of Food Science & Technology* 46(12): 2576-2583.
- [12] 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(11): 3649-3654.
- [13] Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., Zarrouk, M., Daoud Ben Miled, D., 2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry* 109(4): 743-754.
- [14] Youssef, N.B., Zarrouk, W., Carrasco-Pancorbo, A., Ouni, Y., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., Daoud, D., Zarrouk, M., 2010. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(2): 199-204.
- [15] Vekiari, S.A., Koutsaftakis, A., 2002. The effect of different processing stages of olive fruit on the extracted olive oil polyphenol content. *Grasas y Aceites* 53(3): 5.
- [16] Ranalli, A., Ferrante, M., De Mattia, G., Costantini, N., 1999. Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(2): 417-424.
- [17] Olias, J.M., Perez, A.G., Rios, J.J., Sanz, L.C., 1993. Aroma of virgin olive oil: biogenesis of the "green" odor notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41(12): 2368-2373.
- [18] Kalua, C.M., Bedgood, D.R., Bishop, A.G., Prenzler, P.D., 2006. Changes in volatile and phenolic compounds with malaxation time and temperature during virgin olive oil production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(20): 7641-7651.
- [19] Di Giovacchino, L., Costantini, N., Ferrante, M.L., Serraiocco, A., 2002. Influence of malaxation time of olive paste on oil extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at water saving. *Grasas y Aceites* 53(2): 8.
- [20] Myers, R.H., Montgomery, D.C., Anderson-Cook, C.M., 2009. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. John Wiley & Sons, New Jersey, U.S.A.
- [21] ASTM, 2007. D6304-04: standard test method for determination of water in petroleum products, lubricating oils, and additive by coulometric Karl Fischer titration in: Annual book of ASTM standards. ASTM International, West Conshohocken, PA, U.S.A.
- [22] AOCS, 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, Illinois, U.S.A.
- [23] Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., Karacabey, E., 2014. Mikrodalga destekli soxhlet cihazı ile fındık yağı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. *Akademik Gıda* 12(1): 20-28.
- [24] Dalgıç, L., Sermet, S.O., Büyükkateş, K., Canlı, F., Özkan, G., 2013. Olgunlaşma sürecinin erken hasat memecik zeytinyağlarının raf ömrü ve bazı kalite kriterlerine etkileri. *Z&Z Akdeniz Kültürü Dergisi* 2911.
- [25] Ranalli, A., Contento, S., Schiavone, C., Simone, N., 2001. Malaxing temperature affects volatile and phenol composition as well as other analytical features of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 103(4): 228-238.
- [26] Nergiz, C., Ergönül, P.G., 2009. Organic acid content and composition of the olive fruits during ripening and its relationship with oil and sugar. *Scientia Horticulturae* 122(2): 216-220.

Physicochemical and Microbiological Properties of Sucuk produced with Different Heat Treatment Temperatures

İsra Toptancı¹ , Hüdayi Ercoşkun²  ¹Ankara University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey²Çankırı Karatekin University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Çankırı, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 12.07.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 25.10.2017

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): hercoskun@karatekin.edu.tr (H. Ercoşkun)

☎ +90 376 218 95 00 / 8351 📠 +90 376 212 81 18

ABSTRACT

The aim of this study was to determine physicochemical and microbiological properties of sucuk produced with different heat treatment temperatures. The effect of heat treatment at 60 (for 15 minutes), 65 (for 10 minutes) and 70°C (as reached) on chemical (pH, moisture, fat, protein, salt, ash, free fatty acidity, thiobarbituric acid reactive substances, residual nitrite, nitrosomyoglobin, total pigments, nitrosomyoglobin conversion ratio), physical (L*, a*, b*, nitroization, discolorization), microbiological (total mesophilic aerobic bacterial counts, Staphylococcus and Micrococcus counts and lactic acid bacteria counts) and sensory quality characteristics of heat treated sucuk were investigated. Results were compared with traditional sucuk samples produced under commercial conditions. Heat-treated sucuks were fermented for 3 days and traditional ones were fermented for 9 days under controlled conditions. Significant differences in physicochemical and sensory properties of produced sucuks were observed during production. The overall quality attributes of traditional sucuk were different in comparison to heat treated sucuks. Decreases in residual nitrite, nitrosomyoglobin and total pigment amounts in heat treatment process were determined. Nitrosopigment transformation ratio increased; however, in terms of physicochemical, microbiological and sensory properties, heat treatment at 60°C for 15 minutes resulted in sucuk samples with better acceptability.

Keywords: Heat treatment, Temperature, Sucuk, Physicochemical characteristics

Farklı Isıl İşlem Sıcaklıklarında Üretilen Sucukların Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

ÖZ

Bu çalışmada farklı ısıl işlem sıcaklıklarının sucuğun özelliklerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 60 (15 dakika), 65 (10 dakika) ve 70°C (anlık) ısıl işlemin kimyasal (pH, nem, yağ, protein, tuz, kül, serbest yağ asitliği, tiyobarbiturik asit, kalıntı nitrit, nitrozomyoglobin, toplam pigment, nitrozomyoglobin dönüşüm oranı), fiziksel (L*, a*, b*, nitrozasyon, diskolorizasyon) mikrobiyolojik (toplam mezofilik aerobik bakteri, laktik asit bakteri, stafilokok ve mikrokok sayımları) ve duyu kalite özellikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar endüstriyel şartlarda üretilen geleneksel sucuklarla karşılaştırılmıştır. Isıl işlem uygulaması 3 günlük fermentasyondan sonra yapılmış ve geleneksel sucuk 9 gün fermente edilmiştir. Üretim süresince sucuklarda önemli fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu değişiklikler gözlenmiştir. Geleneksel sucuğun toplam kalite özelliklerinin ısıl işlem görmüş sucuklardan farklı olduğu görülmüştür. Isıl işlemde kalıntı nitrit, nitrozomyoglobin ve toplam pigment miktarında düşüş gözlenmiştir. Nitrozopigment dönüşüm oranı yükselmiştir. Ancak fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özellikler bakımından 60°C'de 15 dakikalık ısıl işlemle üretilen sucuklar daha iyi kabul edilebilirlik değerleri almıştır.

Anahtar Kelimeler: Isıl işlem, Sıcaklık, Sucuk, Fizikokimyasal özellikler

INTRODUCTION

Sucuk, like other fermented sausages, is one of the most appreciated meat products that people enjoy to consume. Sucuk is a traditional fermented, semi-dry or dry sausage produced from a mixture of meat (beef, sheep and/or water buffalo meat), fat (beef fat and sheep tail fat), salt, sugar, garlic and other ingredients like spices and seasonings, and this mixture is stuffed into a casing where fermentation is carried out until a semi-dry or dry product is obtained [1, 2]. Production technology of sucuk has changed with modern plants that use controlled ripening chambers in recent decades. Moreover, these plants have changed their production method from traditional fermentation-drying to fermentation-heat treatment to shorten the production time and to improve the hygiene quality of the final product [3]. Nowadays, heat process has become a part of sucuk production [3, 4]. Heat process of sucuk production is used to eliminate pathogens, to extend shelf life, to shorten production time and to decrease production costs [3, 4]. Most of the industrial sucuk manufacturers apply similar heat process as prescribed in the regulation of the United States of America, Food Safety and Inspection Service (9 CFR 318.17) in which a 5-log¹⁰ relative reduction of *E. coli* O157:H7 can be achieved [4]. Legislation of Meat and Meat Products in Turkish Food Codex (5) has recently described heat-treated red meat sucuk with a minimum heat treatment temperature of 68°C.

Studies on heat-treated sucuks are limited and there is no study about the effect of heat treatment temperatures of sucuks. Therefore, the targets of this work were to determine the effect of different heat treatment temperatures on the quality parameters of sucuk before and after heat treatment as well as to compare traditional sucuk.

MATERIALS and METHODS

Three batches of sucuk were produced in a commercial meat processing plant, which is one of the most known sucuk establishment located in İzmir, Turkey. The beef from round and brisket of carcass, beef fat, spices, salt, sugar and nitrite were obtained from the same plant facility. A lyophilized starter culture mixture of *Staphylococcus carnosus* and *Lactobacillus plantarum* was obtained from Chr. Hansen Laboratory (Chr. Hansens Lab., Hørsholm, Denmark).

Sucuk Preparation

Sucuk dough was prepared from beef and beef fat, salt, sugar, clean dry garlic, spices, nitrite, and starter culture according to the following recipe; 90 kg beef (about 20% fat, 50% brisket and 50%round), 10 kg subcutaneous fat, 2 kg salt, 0.4 kg sucrose, 1.1 kg garlic, 0.9 kg red bell pepper, 1 kg cumin, 0.7 kg black pepper, 0.25 kg pimento and 5 g NaNO₂. Beef, nitrite, garlic and spices were added before mincing of the meat using a 1.3 cm plate mincer. Starter culture was added during the mixing stage which were a mixture of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus carnosus*, and each was

added at a dose of 10⁸ cfu/kg of sucuk dough. The mixture was kept at 4°C for 12 h. Frozen fat was added slowly to the dough during mincing using a 3 mm plate to form a mosaic appearance and was stuffed into fibrous casing (Ø: 38 mm) with a vacuum stuffer. Fermentation was carried out at 20°C and 1 m/s air velocity while initial relative humidity was 90% and decreased 3% per day to obtain 81% RH at the 3rd day. After 3 days of fermentation sucuks were heat treatment until the core temperature reached to 60 (for 15 minutes), 65 (for 10 minutes) and 70°C (as reached). The fermentation conditions of traditional sucuk were the same with heat-treated sucuks until the 3rd day, and then conditions were 20°C, 1 m/s air velocity and 75% RH until 9th day.

Sampling and Sample Preparation

Three replications of sucuk were prepared and samples were collected before and after heat treatments. Moisture, salt, ash, fat, protein, pH, residual nitrite, free fatty acidity, 2-thiobarbituric acid reactive substances, nitrosomyoglobin conversion ratio, nitrosomyoglobin, total haem pigments contents and instrumental colour and texture analyses were determined in heat treated and traditional sucuks. Heat-treated and traditional products were also subjected to sensory analyses. Analyses were duplicated.

Chemical and Microbiological Analyses

Analyses of salt, fat, protein, moisture, ash and residue nitrite contents, pH, free fatty acidity (FFA), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values were described in previous study [6]. Nitrosomyoglobin conversion ratio and nitrosomyoglobin, total haem pigments contents were measured according to Zaika et al. [7].

Instrumental colour measurements were taken after slicing the samples to prevent effect of oxygen and light. American Meat Science Association's advices were followed on colour determination [8]. Minolta 508d colorimeter (Chuo-Ku, Osaka, Japan) using the D65 illuminant was used in measuring CIE L*, a*, b* values and reflectance values. The samples were covered with a layer of stretch film and a uniform, air gap free surface was obtained. The readings were carried out on the surface of the wrapped samples by the colorimeter. The average of six readings were taken for per replication. Pigment nitroization (NI) and pigment discoloration (RSI) values were calculated from percent reflectance values according to Hunt [9].

Texture Analyzer (TA Plus Texture Analyzer Lloyd Instruments, Hants, England) equipped with a cone probe (FGC045) was used to evaluate textural properties of sucuks. Approximately 40 mm thick sucuks were peeled and allowed to achieve room temperature (20°C). The samples were pressed with 1 mm/s probe speed and 0.01 Newton force to compress 35% of their original thickness. The average of ten readings was taken per replication.

Sucuks were sensory evaluated after 30 days by a panel of ten individuals who were previously trained and experienced on the sensory evaluation of sucuks. Quantitative Descriptive Analysis (QDA) was used. Two sessions per day were conducted in which panel members were served four randomized samples per session with a break of at least 1 h between sessions to reduce fatigue. Evaluations were performed in individual booths, under white fluorescent lighting. Bread and room temperature water were provided to clean the palate between samples. The tests were carried out between meals. Sucuk samples sliced into 5-mm thickness were randomly served for evaluation as raw and fried. Unsalted bread and water were given between the samples. Sensory outer colour, inner colour, consistency, appearance, taste, odour, flavour, chewiness and overall acceptability properties of the samples were evaluated with a continuous scale between 0 and 10, where 0 was worst and 10 was best.

Total mesophilic aerobic bacterial (TMAB) counts were determined by spreading on plate count agar (PCA, Merck). Plates were incubated at 30°C for up to 96 h. Staphylococcus and Micrococcus (SM) were determined by the spread-plate method on Baird Parker (BP) agar (Merck) supplemented with egg yolk and potassium telluride. Petri plates were incubated at 37°C for 72 h. Lactic acid bacteria (LAB) were enumerated on de Man Rogosa Sharpe (MRS) agar (Merck) overlaid with the same medium after incubation at 30°C for 72 h. Bacterial counts were expressed as colony-forming units

per gram of sample (cfu/g) and were transformed into logarithms.

Statistical Analyses

Data were analysed by the analysis of variance (ANOVA). Tukey's multiple comparison test was used as a post ANOVA technique to determine significant differences among the means. Minitab (Minitab, State College, PA) software (ver. 13.0 for Windows) was used for statistical analyses.

RESULTS

pH and Proximate Composition

Table 1 shows some of the physicochemical properties of sucuk samples. The pH value was 4.99 before heat treatment and increased after the treatment ($P<0.05$). Sucuk samples heat treated at 70°C showed significant greater pH value than the others ($P<0.05$). The pH values of sucuk before heat treatment and traditional sucuk were in same statistical group ($P<0.05$). The pH increment during heat treatment may be a result of thermal protein denaturation since the pH value of heat treated sucuk at 70°C showed the highest value. Ercoşkun et al. [6] and Ercoşkun [4] reported pH increment during heat treatment of sucuk at 60 and 68°C, respectively. According to Turkish food legislation, the pH value of the final product should be less than 5.6 in heat treated sucuks and 5.4 in fermented sucuk.

Table 1. The results of Proximate Composition and pH. FFA and TBARS Values

	Before Heating	Heat Treatment Conditions			Traditional Sucuk
		60°C	65°C	70°C	
pH	4.99±0.03 ^C	5.12±0.01 ^B	5.15±0.01 ^B	5.24±0.01 ^A	4.99±0.01 ^C
Moisture (%)	49.92±0.20 ^A	48.80±0.20 ^B	48.65±0.24 ^B	48.41±0.18 ^B	35.39±0.26 ^C
Fat (%)	28.46±0.12 ^C	29.09±0.15 ^B	29.18±0.16 ^B	29.47±0.06 ^B	36.41±0.20 ^A
Protein (%)	14.63±0.08 ^C	14.96±0.03 ^B	15.00±0.08 ^B	15.00±0.21 ^B	18.72±0.23 ^A
Salt (%)	2.72±0.02 ^C	2.78±0.04 ^{BC}	2.79±0.01 ^B	2.80±0.01 ^B	3.48±0.01 ^A
Ash (%)	3.43±0.02 ^C	3.50±0.01 ^B	3.51±0.02 ^B	3.54±0.03 ^B	4.38±0.04 ^A
FFA	4.34±0.05 ^B	3.63±0.05 ^C	3.44±0.06 ^{CD}	3.26±0.03 ^D	6.66±0.17 ^A
TBARS	0.34±0.01 ^D	0.62±0.01 ^B	0.63±0.01 ^{AB}	0.65±0.01 ^A	0.40±0.01 ^C

Values are given as mean ±S.D from duplicate determinations; A-D Means in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$); FFA: free fatty acidity (mg KOH/g fat); TBARS: thiobarbituric acid reactive substances (mg malonaldehyde/kg product).

Initial moisture content of sucuks before heat treatment was 49.92 and this value significantly decreased with the heat application ($P<0.05$). Traditional sucuk showed lowest moisture content ($P<0.05$). The decrease in moisture content on heat treated samples could be due to the rapid drying during heat process. Being a part of dry matter content in sucuk; salt, ash, fat and protein contents of heat treated samples showed similar increase due to the decrease in moisture level. Decrement of moisture content and increment of salt, ash, fat and protein contents due to drying in heat treatment of sucuk and were reported by other researchers [3, 4, 6, 10-12].

Lipid Parameters

The lipid reactions were followed by FFA and TBARS values, which are shown in Table 1. The FFA value of sucuk was 4.37 mg KOH/g fat before heat treatment and heat treatment significantly decreased FFA values ($P<0.05$). As the heat treatment temperature increased the FFA value decreased ($P<0.05$) may be due to breaking of unsaturated FFA with the effect of heat. Traditional sucuk showed highest FFA value ($P<0.05$). Heat treatment significantly increased TBARS value in accordance with heat treatment temperature ($P<0.05$) indicating the acceleration of oxidative reactions. Peroxides formed by free fatty acids degradation may be decomposed to thiobarbituric acid reactive substances. Lipids are one of the main components of

fermented sausages which are source of several flavour substances, due to lipolytic and oxidative reactions [13, 14]. Since FFA and TBARS values of traditional sucuk had significant differences comparing to heat treated sucuks, changes in lipid reactions would have a direct effect on the sensory attributes as well as lipid stability of the sucuk [4]. Coşkuner, Ertaş and Soyer [15] reported decrement in FFA and increment in TBARS values in sucuks heat treated at 73°C.

Pigment and Colour Parameters

Residual nitrite content pigment amounts and colour parameters are shown in Table 2. Residual nitrite content of sucuk before heat treatment was significantly decreased during heat treatment ($P<0.05$). As the heat treatment temperature increased the residual nitrite content decreased ($P<0.05$). Sodium nitrite used in cured meat products interacts with various constituents in the complex biological systems of meat and heat treatment may accelerate these reactions. Ercoşkun [4] observed that heat treatment at 60°C (for ten minutes) decreased residual nitrite contents from 12.47 ppm to 7.28 ppm after a three days of fermentation. Yürür [12] heat treated sucuks which originally 25, 50, 75 and 100 ppm nitrite added at 68°C after 3 days of fermentation

and reported that the residual nitrite contents were 1.90, 4.35, 7.55 and 9.28, respectively. Similarly, Ercoşkun *et al.* [6] reported that heat treatment at 68°C decreased residual nitrite contents from 13.69 ppm to 5.75 ppm after three days of fermentation.

Heat treatment decreased the total pigment and nitrosomyoglobin amounts ($P<0.05$) and as the heat treatment temperature increased the total pigment and nitrosomyoglobin amounts decreased ($P<0.05$). Contrary, heat treatment increased percentage of heme pigments transformed to nitrosyl-heme pigments ($P<0.05$). These results clearly indicate that nitrosomyoglobin formation was occurred more than nitrosomyoglobin denaturation which resulted with increment in pigment conversion ratio during the heat treatment. Decrement of residual nitrite levels is also confirming this hypothesis. Üren and Babayiğit [16] reported the nitrosomyoglobin, total haem pigments contents and nitrosomyoglobin conversion ratios of 47.85–203.58 ppm 61.20-319.6 ppm and 40.19-81.71 ppm, in retail sucuks, respectively. This was reported that heat treatment of sucuk at 68°C after three days of fermentation decreased nitrosomyoglobin and total haem pigments contents and increased nitrosomyoglobin conversion ratios [4, 6, 12].

Table 2. The results of pigment and colour parameters*

Parameter	Heat Treatment Conditions				Traditional Sucuk
	Before Heating	60°C	65°C	70°C	
Residual nitrite (ppm)	11.84±0.46 ^A	6.50±0.08 ^B	4.48±0.25 ^C	3.49±0.08 ^D	6.59±0.25 ^B
Total pigment (ppm)	241.77±0.52 ^A	187.25±1.82 ^C	181.37±1.45 ^C	175.12±1.53 ^D	200.96±4.17 ^B
Nitrosomyoglobin (ppm)	168.83±2.68 ^A	153.70±3.14 ^B	150.80±1.05 ^B	148.84±3.23 ^B	167.33±2.36 ^A
Pigment conversion ratio (%)	78.61±1.39 ^B	82.09±2.08 ^{AB}	82.81±0.79 ^{AB}	83.86±2.40 ^A	83.29±1.09 ^A
L*	43.20±0.55 ^{AB}	44.11±0.16 ^A	43.86±0.35 ^A	43.89±1.07 ^A	42.28±0.10 ^B
a*	13.23±0.12 ^A	12.66±0.09 ^{AB}	12.63±0.22 ^{AB}	12.46±0.43 ^B	12.27±0.12 ^B
b*	10.75±0.13 ^A	10.53±0.14 ^A	10.59±0.10 ^A	10.64±0.11 ^A	9.59±0.12 ^B
NI	1.18±0.01 ^{AB}	1.17±0.01 ^{AB}	1.18±0.01 ^{AB}	1.19±0.01 ^A	1.15±0.01 ^B
RSI	0.39±0.01 ^B	0.41±0.01 ^{AB}	0.42±0.01 ^A	0.42±0.01 ^A	0.40±0.01 ^{AB}

*: Values are given as mean ± SD from duplicate determinations; A-D Means in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$); NI: nitrosation; RSI: discolorization; nd: not determined.

The instrumentally colour parameters of the samples (L^* , a^* , b^*) significantly changed by heat treatment ($P<0.05$). Colour was brighter in heat treated samples ($P<0.05$) that may be result of denaturation of the main meat pigment [17]. This increase in L^* value may also be accounted for by increased scattering resulted by gel formation due to protein denaturation during heat treatment. Heat process decreased a^* values of sucuks ($P<0.05$) that may be result of denaturation of the main meat pigment, too. The b^* values of the samples during heat treatment did not changed ($P>0.05$). The L^* , a^* and b^* values of marketed sucuks have been observed in the range of 42.57-54.49, 11.67-20.15 and 11.50-26.20, respectively [16].

Sucuk heat treated at 70°C showed highest nitrosation value (NI) ($P<0.05$). The nitrosation value is a ratio of nitrosomyoglobin and myoglobin that is calculated by $R560/R500$. Therefore, NI values can be used as nitrosomyoglobin formation ratio [16, 18]. Üren and Babayiğit [19] reported that the NI value of fermented

sucuks ranked between 0.97-2.15. The NI values of the sucuks used in this study were lower than the findings of Üren and Babayiğit [19]. Ercoşkun *et al.* [6] and Yürür [12] reported that heat treatment had no effect on NI values of heat treated sucuks.

Pigment discolouration values (RSI) of sucuks are increased with heat treatment ($P<0.05$). The RSI value is a ratio of Fe II pigments (myoglobin, oxymyoglobin and nitrosomyoglobin) and Fe III pigment, (metmyoglobin) and is defined as $R570/R650$. Small RSI values reflecting low levels of metmyoglobin [16, 18]. Üren and Babayiğit [19] reported that the RSI values of fermented sucuks ranged between 0.406-0.689. Ercoşkun *et al.* [6] reported that the RSI value of heat treated sucuks between 0.43-0.47. Heat treated and fermented sucuks showed RSI values between 0.39-0.42 in this study.

Textural Attributes

Heat treatment significantly affected textural attributes of heat treated sucuk ($P<0.05$) as shown in Table 3. Hardness increased from 6.29 N to 16.03 N, 16.22 N and 19.17 N in heat treated sucuks at 60, 65 and 70°C ($P<0.05$). The hardness value of traditional sucuk was 8.61 N that was significantly different comparing to the heat treated sucuks ($P<0.05$). Adhesiveness value of heat treated sucuks increased with the heat treatment

temperature. Springiness and cohesiveness values of traditional sucuk showed significant difference with all other elaborated samples ($P<0.05$). Gumminess value increased from 2.15 N to 5.53–6.64 N in heat treated sucuks during the heat treatment. Heat treatment significantly increased the chewiness value ($P<0.05$) but there were no differences in the chewiness values of heat treated samples ($P>0.05$). There were no differences in the chewiness values of sucuk before heat treatment and traditional sucuk ($P>0.05$).

Table 3. The results of textural attributes*

Parameters	Heat Treatment Conditions				
	Before Heating	60°C	65°C	70°C	Traditional Sucuk
Hardness (N)	6.29±0.08 ^B	16.03±0.045 ^A	16.22±0.99 ^A	19.17±4.41 ^A	8.61±0.82 ^B
Adhesiveness (N mm)	0.13±0.03 ^C	0.15±0.10 ^C	0.31±0.04 ^B	0.47±0.03 ^A	0.28±0.03 ^{BC}
Springiness (mm)	8.18±0.24 ^A	8.12±0.18 ^A	8.30±0.20 ^A	8.57±0.39 ^A	6.89±0.45 ^B
Cohesiveness	0.35±0.02 ^A	0.35±0.01 ^A	0.35±0.01 ^A	0.35±0.01 ^A	0.32±0.01 ^B
Gumminess (N)	2.15±0.04 ^A	5.53±0.17 ^B	5.60±0.43 ^B	6.64±1.72 ^B	2.74±0.26 ^A
Chewiness (N mm)	17.62±0.35 ^B	44.99±1.09 ^A	46.44±3.41 ^A	57.89±8.10 ^A	18.79±0.73 ^B

*: Values are given as mean ± SD from duplicate determinations; A-D Means in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

The differences of textural attributes of traditional sucuk may be attributed to the decreased moisture content. The differences of heat treated sucuks could be attributed due to thermal denaturation in which as the heat treatment temperature increased textural attributes changed. Heat treatment hardened sucuk and formed gel elastic gummy product.

Microbial Counts

The total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), lactic acid bacteria (LAB) and *Staphylococcus – Micrococcus* spp (SM) counts in traditional sucuk respectively 7.37-7.36-4.84 log cfu/g. Ercoşkun et al. [6] reported that the TMAB, LAB and SM counts of traditional sucuk were counted as 6.52-6.60-5.68 log cfu/g respectively.

TMAB, LAB and SM counts of sucuks were significantly decreased with heat treatment ($P<0.05$). TMAB, LAB and SM level of sucuks heat treated at 60°C were 4.61-4.98 and 4.93 log cfu/g. Heat process at 65°C TMAB, LAB and SM level were 3.89-2.48 and 3.60 log cfu/g and 70°C this parameters were 3.44-2.36 and 2.17 log cfu/g respectively. Tayar [6] reported similar counts.

Sensory Quality

Sensory outer and inner colour scores of traditional sucuk were significantly higher than heat treated ones ($P<0.05$) that is confirming the instrumental colour measurements. The sensory outer colour score of heat treated sucuk at 70°C was the lowest value representing the degradation of nitrosomyoglobin. The sensory inner colour scores of heat treated sucuks decreased with increasing heat treatment temperature ($P<0.05$). Consistency scores of sucuks heat treated at 65 and 70°C were significantly higher than traditional sucuk ($P<0.05$) which is confirming the thermal protein denaturation. Taste and odour scores of traditional sucuk took highest values ($P<0.05$). Sucuks heat treated

at 60°C took the best acceptability scores and acceptability scores of heat treated sucuks decreased with increasing heat treatment temperature.

CONCLUSIONS

Results of the study are clearly showing the difference of heat treated and traditional sucuks. Heat-treatment had significant effect in terms of physicochemical, microbiological and sensory and showed a very wide variation. The results of analyses showed that a highly acceptable heat treated sucuk could be manufactured with lower heat treatment temperatures as 60°C (for 15 minutes). Contrary Legislation of Meat and Meat Products in Turkish Food Codex (5) described a minimum heat treatment temperature of 68°C for red meat sucuk.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank to PINAR Integrated Meat and Feed Industries Inc., Kemalpaşa, İzmir and Department of Dairy Technology, Ege University, İzmir. This project is supported by Ankara University Research Fund (2003-07-11-80). A part of this research was İsra TOPTANCI's Master Thesis.

REFERENCES

- [1] Ertaş, A.H., Göğüş, A.K., 1980. Değişik oranlarda kuyruk yağı ve farklı starter kullanılmış olan sucuklar üzerine araştırmalar. *Doğa Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi* 4(3): 48–53.
- [2] Ockerman, H.W., Gökalp, H.Y., 1987. Manufacturing soudjouk, a fermented sausage product. *The National Provisioner* 18: 16–21.
- [3] Tayar, M., 1993. Türk sucuğu üretiminde starter kültür kullanımı. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 12(2): 83-88.

- [4] Ercoşkun, H., 2006. Effects of Fermentation Time on Some Quality Characteristics of Heat Processed Sucuks. Ph.D. Dissertation. Graduate School of Natural and Applied Science, Ankara University, Ankara.
- [5] Turkish Food Codex 2016. Legislation on Meat and Meat Products. The Official Gazette: 18.07.2016-29774.
- [6] Ercoşkun, H., Tağı, Ş., Ertaş, A.H., 2010. The effect of different fermentation intervals on the quality characteristics of heat treated and traditional sucuks. *Meat Science* 85(1): 174-181.
- [7] Zaika, L.L., Zell, T.E., Smith, J.L., Palumbo, S.A., Kissinger, J.C., 1976. The role of nitrite and nitrate in Lebanon Bologna, a fermented sausage. *Journal of Food Science* 41: 1457-1460.
- [8] Hunt, M.C., Acton, J.C., Benedict, R.C., Calkins, C.R., Cornforth, D.D., Jeremiah, L.E., Olson, D.G., Salm, C.P., Savell, J.W., Shives, S.D., 1991. Guidelines for Meat Color and Evaluation. Savoy, IL: American Meat Science Association.
- [9] Hunt, R.G.W., 1987. Measuring Colour. Chichester U.K, Ellis Horwood Limited.
- [10] Gökalp, H.Y., Kaya, M., Zorba, Ö., 1999. Engineering of Meat Products Processing. 3rd Edition, Atatürk University, No: 786, Faculty of Agriculture No: 320, Erzurum, 1999.
- [11] Coşkuner, Ö., 2002. Türk Sucuğunda Lipid Oksidasyonuna ve Serbest Yağ Asitleri Oluşumuna Isıl İşlemin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [12] Yürür, C., 2007. Effect of nitrite contents on the formation of colour in thermal processed sucuks. Master Dissertation. Graduate School of Natural and Applied Science, Ankara University, Ankara.
- [13] Demeyer, D., Hooze, J., Mesdom, H., 1974. Specificity of lipolysis during dry sausage ripening. *Journal of Food Science* 39: 293-296.
- [14] Navarro, J.L., Nadal, M.I., Izquierdo, L., Flores, J., 1997. Lipolysis in dry cured sausages as affected by processing conditions. *Meat Science* 45:161-168.
- [15] Coşkuner, Ö., Ertaş, A.H., Soyer, A., 2010. The effect of processing method and storage time on constituents of Turkish sausages (sucuk). *Journal of Food Processing and Preservation* 34(1): 125-135.
- [16] Üren, A., Babayiğit, D., 1996. Determination of Turkish-type fermented sausage colour by a reflectance method. *Food Chemistry* 57: 561-567.
- [17] Chasco, J., Lizaso, G., Beriain, M.J., 1996. Cured colour development during sausage processing. *Meat Science* 44: 203-211.
- [18] Wong, D.W.S., 1989. Mechanism and Theory in Food Chemistry. New York: Van Nostrand Reinhold.
- [19] Üren, A., Babayiğit, D., 1997. Colour parameters of Turkish-type fermented sausage during fermentation and ripening. *Meat Science* 45: 539-549.

Phenolic Content of Some Dietetic Tea Products in Turkey

Hale Secilmis Canbay¹, Mahmut Doganturk²¹Department of Bioengineering, Faculty of Engineering and Architecture, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey²Scientific and Technological Application and Research Center, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 09.04.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 17.07.2017

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): halecanbay@mehmetakif.edu.tr (H. Canbay)

☎ +90 248 213 32 44 📠 +90 248 213 32 48

ABSTRACT

High performance liquid chromatography (HPLC) system was used to determine phenolic contents of dietetic tea samples (n=10) marketed in Turkey. The most abundant phenolic compounds were gallic acid (ND–6.98 mg/100 g dw), protocatechuic acid (0.98–45.61 mg/100 g dw), 4-hydroxybenzoic acid (ND–31.56 mg/100 g dw), chlorogenic acid (ND–0.73 mg/100 g dw), caffeic acid (11.27–154.55 mg/100 g dw), *p*-coumaric acid (ND–6.56 mg/100 g dw), ferulic acid (ND–1.13 mg/100 g dw), ellagic acid (0.10–1.76 mg/100 g dw), epicatechin (7.59–290.07 mg/100 g dw), rutin (ND–49.95 mg/100 g dw) and quercetin (1.15–10.50 mg/100 g dw). Based on the results of this study, sensitivity and accuracy were good. Calibration curves had a good linearity for all compounds ($r^2 > 0.999$). The quantitation limit ranged 0.010 to 0.050 µg/g in dietetic tea products. Recoveries were in the range of 86.45-97.35%. Results had good accuracy and reproducibility.

Keywords: Phenolic compound, Dietetic tea, HPLC

Türkiye'deki Bazı Diyet Çay Örneklerinin Fenolik Bileşik İçeriği

ÖZ

Türkiye'de satılan on diyet çay örneğinin (n=10) fenolik bileşik içeriği, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sistemi ile belirlenmiştir. En çok bulunan fenolik bileşikler, gallik asit (ND-6.98 mg/100 g kuru numune), protokateşik asit (0.98-45.61 mg/100 g kuru numune), 4-hidroksibenzoik asit (ND-31.56 mg/100 g kuru numune), klorojenik asit (ND-0.73 mg/100 g kuru numune), kafeik asit (11.27-154.55 mg/100 g kuru numune), *p*-kumarik asit (ND-6.56 mg/100 g kuru numune), ferulik asit (ND-1.13 mg/100 g dw), ellajik asit (0.10-1.76 mg/100 g kuru numune), epikateşin (7.59-290.07 mg/100 g kuru numune), rutin (ND-49.95 mg/100 g kuru numune) ve kuersetindir (1.00 mg/100 g kuru numune). Elde edilen sonuçlara göre, hassasiyet ve doğruluk iyi bulunmuştur. Kalibrasyon eğrileri, tüm bileşikler için iyi bir doğrusallık göstermiştir ($r^2 > 0.999$). Diyet çay ürünlerinde tespit limiti, 0.010-0.050 µg/g arasında değişmiştir. Geri kazanımlar %86.45-97.35 aralığındadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların doğruluk ve tekrarlanabilirliklerinin iyi olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fenolik bileşik, Diyet çay, HPLC

INTRODUCTION

Phenolic compounds have become valuable compounds of research interest because of their perceived beneficial effects for health, including anti-carcinogenic, anti-atherogenic, anti-ulcer, anti-thrombotic, anti-

inflammatory, immune modulating, anti-microbial, vasodilatory, cardioprotective, anti-thrombotic, and analgesic effects [1-6].

The U.S. Food and Drug Administration (FDA) arranges dietary supplement products and dietary ingredients. In

1994, the US congress changed the Federal Food Drug and Cosmetic Act [7]. Under the Dietary Supplement Health and Education Act of 1994, botanical products (herbals), complementary nutritionals (amino acids, protein – rich foods, etc.) and micronutrients (vitamins, microminerals) are all considered to be dietary supplements [8]. Dietetic products are used up to extend our diet with needed micronutrients, herbs, protein and amino acid for ideal body function [9, 10]. Different types of tea, pills and other similar products are sold to people over the internet for diet products. Diet products can be reached very easily.

Several analytical methods have been used for the determination of phenolic acids in different products: The most commonly published techniques for the phenolic acids are high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) and gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) [11-19]. However, in the literature, there are a lot of publications focused on the phenolic acids analysis of tea. In this study, the concentration of some phenolic compounds in dietetic tea products were determined by HPLC-DAD. This study is one of the provincial studies on dietetic teas which are commercially sold on the internet.

MATERIALS and METHODS

Samples

Ten dietetic tea products (of different brands) were purchased from national suppliers, and all samples were in tea powder form.

Standards

Gallic acid, protocatechuic acid, 4-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, ellagic acid, epicatechin, rutin and quercetin were purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) and Merck (Germany). BHT (butylated hydroxytoluene) was supplied by Aldrich (Sigma Aldrich, USA), Methanol (HPLC grade), 37% HCl (ACS reagent) were obtained from Merck (Germany) and Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). All standards were prepared as stock solutions in methanol.

Standard Solutions, Calibration Curves and Recovery Studies

Stock standard solutions of 10 mg/mL of each compound were prepared in methanol and stored at -20°C. In both cases, different working standard solutions were prepared by dilution in the same solvent. The six concentrations used for calibration curves of target compounds. The average recoveries of the analytes were determined by comparing the peak areas obtained from each phenolic acid compounds and extracted from dietetic tea product samples.

Sample Preparation

The extraction method used for dried samples had as follows: 40 mL of 65% aqueous methanol containing BHT (1 g/L) was added to 1.0 g of dried dietetic tea sample. Then the extract was acidified with 10 mL of 6 M HCl under N₂. The extraction mixture was then sonicated for 15 min and was carried out for 2 h at 90°C in a water bath (Termal, J11540KD, Istanbul, Turkey). The mixture was then filtered and made up to 100 mL with methanol [20, 21], furthermore filtered quickly through a 0.45 µm membrane filter membrane filter and injected to HPLC.

The LC Method

The analytical HPLC system employed consisted of a Shimadzu Prominence high performance liquid chromatograph coupled with a 20A CBM (HPLC System Controller), a diode array detector (SPD-M20A, Tokyo, Japan), a SIL 20A automatic sampler, a CTO-10ASvp column oven and a LC20 AT pump. The analytical data were evaluated using a LC Solution data processing system. The separation was achieved on a Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 µm column at 25°C. The mobile phase consisted of water with 3% glacial acetic acid (A) versus (B) methanol. The elution gradient applied at a flow rate of 0.8 mL/min was 95% A/5% B for 3 min, 80%A/20%B in 15 min and isocratic for 2 min, 60%A/40%B in 10 min, 50%A/50%B in 10 min, and 100% B in 10 min until the end of the run. Samples were dissolved in methanol, and 100 µL of this solution was injected into the column [22]. The monitoring wavelength was 280 nm for the phenolic acids and 320 and 370 nm (flavones, flavonoles). The identification of each target compound was based on a combination of retention time and spectral matching.

Statistical Analysis

Limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), linearity of calibration, and recovery were estimated for the validation of this method. Each phenolic acid compounds concentration was measured in five replicates. We defined the LOD as three times the background noise of the chromatographic instrument. The extraction recovery of this method were determined by spiking blank dietetic tea products with each compound in three replicates; they were extracted as previously described. Recovery was assessed by analyzing the target compounds spiked at 5 different days.

RESULTS and DISCUSSION

HPLC Analysis

Hydrolysis of glycosides or esters to detect a free phenolic compounds content by HPLC-DAD [23]. Sample preparation was applied with a methanol-water extraction. Methanol has an important preservative quality and can prevent the oxidation of phenolic compounds [24]. The retention time (R_t) and wavelength for detection for analyses of phenolic compounds in tea

samples. A summary of all of the phenolic compounds within each class identified in tea samples is given in Table 1.

Analytical Results

When applied to dietary and diet products the proposed method showed good results. The calibration curves for all the species studied showed good linear correlation coefficients ($r^2 \geq 0.999$), independent of the method used

for sample preparation (Table 2). The quantitation limit ranged 0.010 to 0.050 $\mu\text{g/g}$ in dietetic tea products (Table 2). Bae et al. [12] evaluated the different extraction methods, and obtained LOD values between 0.06-2.92 mg/L. The LOD 3.50 – 16.80 ng/mL for phenolic compounds were reported in teas [13].

As a result, average recoveries of studied phenolic compounds were higher than 85 % (Table 3).

Table 1. Retention time (R_t) and wavelength (λ_{nm}) for detection for analyses of phenolic compounds

Compounds	R_t (min) (HPLC-DAD)	λ_{nm}
Gallic acid	7.8	280
Protocatechuic acid	12.2	280
4-hydroxybenzoic acid	18.1	280
Chlorogenic acid	19.9	320
Caffeic acid	23.0	280
Epicatechin	29.0	320
p-Coumaric acid	30.3	320
Ferulic acid	35.7	320
Rutin	45.6	360
Ellagic acid	47.7	280
Quercetin	70.4	320

Table 2. Correlation coefficients (r^2), limits of detection (LOD, $s/n=3.3$), limits of quantification (LOQ, $s/n=10$) as determined for the methanol-water extraction

Compounds	r^2	LOD ($\mu\text{g/g}$)	LOQ ($\mu\text{g/g}$)
Gallic acid	0.999	0.010	0.033
Protocatechuic acid	0.999	0.031	0.102
4-hydroxybenzoic acid	0.999	0.011	0.036
Chlorogenic acid	0.999	0.010	0.363
Caffeic acid	0.999	0.013	0.043
Epicatechin	0.999	0.010	0.033
p-Coumaric acid	0.999	0.014	0.046
Ferulic acid	0.999	0.010	0.033
Rutin	0.999	0.050	0.165
Ellagic acid	0.999	0.045	0.149
Quercetin	0.999	0.048	0.158

Table 3. Methanol-water extraction average recovery (RSD, %)

Compounds	Average Recovery, R % (mean \pm SD (%))
Gallic acid	91.43 (1.03)
Protocatechuic acid	95.78 (1.11)
4-hydroxybenzoic acid	90.72 (0.93)
Chlorogenic acid	97.35 (1.21)
Caffeic acid	88.86 (0.97)
Epicatechin	86.78 (1.11)
p-Coumaric acid	89.58 (0.99)
Ferulic acid	93.18 (1.05)
Rutin	95.21 (1.11)
Ellagic acid	86.45 (0.99)
Quercetin	97.11 (1.21)

Bae et al. [12] studied different methods, and recoveries varying from 96.6-103.50%. The recovery values equal and higher than 83% for target compounds were found [13].

The amounts of phenolic compounds detected in the samples are presented in Table 4. 10 samples were analyzed according to the above described method.

Results are expressed in mg/100 g dry sample. The most abundant phenolic acids were: gallic acid (ND–6.98 mg/100 g dry sample), protocatechuic acid (0.98–45.61 mg/100 g dry sample), 4-hydroxybenzoic acid (ND–31.56 mg/100 g dry sample), chlorogenic acid (ND–0.73 mg/100 g dry sample), caffeic acid (11.27–154.55 mg/100 g dry sample), p-coumaric acid (ND–6.56 mg/100 g dry sample), ferulic acid (ND–1.13

mg/100 g dry sample) and ellagic acid (0.10–1.76 mg/100 g dry sample). Epicatechin (7.59–290.07 mg/100 g dry sample), rutin (ND–49.95 mg/100 g dry

sample) and quercetin (1.15–10.50 mg/100 g dry sample) were the main flavonoids identified in diet teas.

Table 4. Phenolic compounds in tea (mg/100 g dw) (mean \pm SD (%))

Compounds	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gallic acid	4.33 (0.12)	ND	2.85 (0.15)	4.21 (0.10)	0.35 (0.12)	6.98 (0.15)	2.22 (0.16)	3.51 (0.12)	2.70 (0.10)	0.18 (0.12)
Protocatechuic acid	15.22 (0.13)	0.98 (0.18)	8.97 (0.16)	13.45 (0.15)	45.61 (0.19)	29.33 (0.14)	1.52 (0.13)	22.33 (0.14)	1.33 (0.15)	1.07 (0.11)
4-hydroxybenzoic acid	10.30 (0.17)	15.23 (0.15)	3.52 (0.18)	4.78 (0.13)	3.71 (0.17)	13.32 (0.14)	31.56 (0.14)	22.11 (0.15)	ND	8.59 (0.13)
Chlorogenic acid	ND	0.21 (0.10)	0.73 (0.11)	ND	0.29 (0.13)	0.43 (0.12)	ND	0.61 (0.12)	0.18 (0.12)	0.14 (0.14)
Caffeic acid	45.09 (0.18)	33.81 (0.15)	154.55 (0.11)	67.91 (0.13)	22.56 (0.15)	14.44 (0.12)	12.50 (0.18)	33.90 (0.14)	11.27 (0.15)	58.73 (0.13)
Epicatechin	189.71 (0.15)	9.28 (0.17)	21.75 (0.14)	189.43 (0.17)	31.27 (0.18)	11.90 (0.17)	49.95 (0.13)	117.33 (0.11)	290.07 (0.10)	7.59 (0.14)
<i>p</i> -Coumaric acid	2.67 (0.16)	0.31 (0.15)	2.68 (0.16)	0.33 (0.11)	4.59 (0.11)	ND	0.23 (0.13)	6.56 (0.16)	0.10 (0.14)	ND
Ferulic acid	ND	0.92 (0.17)	ND	0.29 (0.19)	1.13 (0.15)	ND	0.83 (0.14)	0.21 (0.18)	ND	0.18 (0.13)
Rutin	11.29 (0.20)	27.41 (0.18)	4.57 (0.21)	8.03 (0.18)	23.21 (0.16)	36.41 (0.21)	49.95 (0.20)	48.31 (0.21)	15.47 (0.18)	ND
Ellagic acid	0.45 (0.21)	0.93 (0.19)	0.97 (0.22)	0.18 (0.20)	1.76 (0.18)	1.67 (0.19)	0.28 (0.21)	0.54 (0.20)	0.10 (0.22)	0.29 (0.21)
Quercetin	8.76 (0.22)	4.31 (0.20)	3.67 (0.24)	5.21 (0.21)	1.98 (0.21)	7.92 (0.22)	10.50 (0.23)	2.23 (0.19)	2.92 (0.20)	1.15 (0.23)

Abbreviations ND; not detected; SD, Standard deviation

CONCLUSIONS

Methanol-water showed high extraction efficiency for dietetic tea products. Average recoveries of target phenolic compounds were higher than 85 %. The LOD ranged 0.010 to 0.050 μ g/g in dietetic tea products. The most abundant phenolic acids were: gallic acid, protocatechuic acid, 4-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, ellagic acid, epicatechin, rutin and quercetin.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank to the Mehmet Akif Ersoy University, Scientific and Technological Application and Research Center.

REFERENCES

- [1] Wollgast, J., Anklam, E., 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423–447.
- [2] Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A., 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 4505–4515.
- [3] Manach, C., Mazur, A., Scalbert, A., 2005. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinions in Lipidology* 16: 77–84.
- [4] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews* 52: 673–751.
- [5] Puupponen-Pimiä R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., Oksman-Caldentey, K.M., 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology* 90: 494–507.
- [6] Samman, S., Lyons Wall, P.M., Cook, N.C., 1998. Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives. In C.A. Rice Evans & L. Packer (Eds.), *Flavonoids in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, pp. 469–482.
- [7] Federal Food, Drug, and Cosmetic Act of 1938. Public Law 75-717, 52 Stat 1040, USA.
- [8] Dietary Supplement Health and Education Act of 1994. Public Law 103-417, 108 Stat 4325, USA.
- [9] Raman, P., Patino, L.C., Nair, M.G., 2004. Evaluation of metal and microbial contamination in botanical supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7822–7827.
- [10] Garcia-Rico, L., Leyva-Perez, J., Jara-Marini, M.E., 2007. Content and daily intake of copper, zinc, lead, cadmium and mercury from dietary supplements in Mexico. *Food and Chemical Toxicology* 45: 1599–1605.
- [11] Moraes-de-Souza, R.A., Oldoni, T.L.C., Regitano-d'Arce, M.A.B., Alencar, S.M., 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 6(1): 41-47.

- [12] In Kyung, B., Hyeon, Mi, H., Min Hee, J., Dong Ho, K., Ho Jin, K., 2015. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process. *Food Chemistry* 172: 469–475.
- [13] Priscilla. P.F., José A.F., Jorge A.M.P., José S.C., 2015. A fast and innovative microextraction technique, μ SPEed, followed by ultrahigh performance liquid chromatography for the analysis of phenolic compounds in teas. *Journal of Chromatography A* 1424: 1–9.
- [14] Junfeng, T., Ulrich H.E., Zhi L., Nils K., Beate M., 2017. Flavonoids, phenolic acids, alkaloids and theanine in different types of authentic Chinese white tea samples. *Journal of Food Composition and Analysis* 57: 8–15.
- [15] Jovana, N.V., Aleksandra, N.P., Snežana, S.M., Snežana, B.T., Gordana, S.S., Biljana, M.K., Dalibor, M.S., Milan, B.S., Milan, N.M., Jelena, M.B., 2013. Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches. *Journal of Food and Nutrition Research* 52(1): 12–24.
- [16] Nimal Punyasiri, P.A., Jeganathan, B., Dananjaya Kottawa-Arachchi, J., Ranatunga, M.A.B., Abeysinghe, S.B., Kumudini Gunasekare, M.T., Rathnayake Bandara, B.M., 2015. New sample preparation method for quantification of phenolic compounds of tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze): A polyphenol rich plant. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 1-6.
- [17] Li, Y., Qing-Hua, Y., Jin-You, M., Qing, W., Jian-Wei, Z., Guo-Xi, X., 2013. High performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in propolis. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 12(5): 771-776.
- [18] Del Rio, D., Stewart, A.J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M.E.J., Brighenti, F., Crozier, A., 2004. HPLC-MSn analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 2807-2815.
- [19] Proestos, C., Komaitis, M., 2013. Analysis of naturally occurring phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC Coupled to Diode Array Detector (DAD) and GC-MS after Silylation. *Foods* 2: 90-99.
- [20] Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Venema, D.P., 1992. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1591–1598.
- [21] Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 799: 101–110.
- [22] Caponio, F., Alloggio, V., Gomes, T., 1999. Phenolic compounds of virgin olive oil: Influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry* 64: 203-209.
- [23] Lee H.S., Widmer B.W. In: Handbook of Food Analysis. Nollet L.M.L., editor. Marcel Dekker; New York, NY, USA: 1996. pp. 821–894.
- [24] Harborne J.B., 1998. Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman and Hall; London, UK: pp. 40–106.

Karbon Fiber Destekli Kabin Kurutucuda Farklı Sıcaklıklarda Elma Dilimlerinin Kurutulmasının İncelenmesi: Kurutma Karakteristikleri ve Performans Değerlendirmesi

Serpil Pekdoğan Göztok¹, Filiz İçier²

¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 15.02.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 10.04.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): serpilpekdogan@hotmail.com (S. Pekdoğan Göztok)

☎ 0 232 311 30 31 📠 0 232 342 75 92

ÖZ

Elma dilimlerinin karbon fiber destekli kabin kurutucuda (KFKK) 60, 70 ve 80°C'de kuruma davranışı incelenmiş ve işlemin performans değerlendirilmesi yapılmıştır. On dört farklı ince tabaka kuruma modelinin deneysel verilere uyumluluğu istatistiksel olarak incelenmiştir. Model uyumluluğu kriteri olarak en yüksek düzeltilmiş belirleme katsayısı, en düşük indirgenmiş ki-kare ve en düşük hata kareleri ortalamasının karekökü seçilmiştir. Difüzyon yaklaşım" modeli kuruma davranışını en iyi ifade eden model olarak belirlenmiştir. Efektif difüzyon katsayısı (D_{eff}) 2.06×10^{-10} ve 4.56×10^{-10} m²/s değerleri arasında bulunmuştur. 60-80°C kurutma sıcaklıklarında, işlemin enerji verimliliğinin %10.51-13.12, ekserji verimliliğinin %9.44-11.64 arasında olduğu tespit edilmiştir. Elma örneklerinin KFKK'da özgül nem kaybı hızı 60, 70 ve 80°C kurutma sıcaklıkları için sırasıyla $4.44 \times 10^{-5} \pm 0.00$, $4.85 \times 10^{-5} \pm 0.00$, $5.63 \times 10^{-5} \pm 0.00$ kg buharlaşan su/kJ olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karbon fiber, Kurutma, Elma, Enerji-ekserji

Investigation of Drying of Apple Slices in Carbon Fiber Assisted Cabin Dryer at Different Temperatures: Drying Characteristics and Performance Evaluation

ABSTRACT

Drying behaviour of apple slices in carbon fiber assisted cabin dryer (CFACD) was investigated, and performance evaluation of the process was conducted. The compatibilities of fourteen different thin layer drying models to the experimental data were examined. The highest corrected coefficient of determination, the lowest reduced chi-square and the lowest root mean square error were chosen as the model compatibility criterion. "Diffusion approach" model was determined as best model describing the drying behavior. Effective diffusion coefficient (D_{eff}) was found between 2.06×10^{-10} and 4.56×10^{-10} m²/s. For the temperature between 60-80°C, energy efficiency was in the range of 10.51-13.12% while exergy efficiency values were between 9.44-11.64%. The specific moisture removal rate of apple slices in KFKK was found as $4.44 \times 10^{-5} \pm 0.00$, $4.85 \times 10^{-5} \pm 0.00$, $5.63 \times 10^{-5} \pm 0.00$ kg removed water/kJ for the drying temperatures of 60, 70 and 80°C, respectively.

Keywords: Carbon fiber, Drying, Apple, Energy-exergy

GİRİŞ

Türkiye coğrafi konum itibarıyla meyve türü ve çeşidi açısından oldukça zengin olup, meyvecilik sektörü gelişmiş ülkeler arasında yer almaktadır. Yetiştirilen meyvelerin bir kısmı dönemde satışa sunulup bir kısmı çeşitli işlemlere tabi tutulmaktadır [1]. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2015 verilerine göre, Türkiye elma üretiminde dünya çapında üçüncü sırada yer almaktadır [2]. Elmaların kolay ve ucuz taşınması, uzun raf ömrüne sahip olması ve her mevsimde tüketilmesi imkânlarını sağlayabilmek amacıyla uygulanan kurutma işlemi, gıda endüstrisinde alışlagelmiş ve geniş çapta uygulanan metotlar arasında yer almaktadır [3, 4]. Kurutma, gıdaların sahip olduğu suyun uzaklaştırılması işlemidir. Geleneksel olarak güneş altında kurutma işlemi, ucuz ve pratik olması nedeniyle dünya çapında tercih edilen bir kurutma işlemi olmasına rağmen iklimsel koşullara bağlı olarak uzun süren kurutma işlemi, homojen olmayan su içerikli ürün eldesi ve çevresel koşullar nedeniyle ürüne istenmeyen bulaşmalar (mikrobiyolojik, pestisit kalıntıları, toz, yabancı maddeler vb.), geniş çaplı kurutma yer ihtiyacı, direkt güneş ışınlarıyla temas etmesinden dolayı vitamin ve aroma kayıpları gibi dezavantajlara sahiptir [5-8]. Bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için yapay kurutucular kullanılmaya başlanmıştır [3, 9]. Günümüzde yapay kurutucular kabin kurutucular, tünel kurutucular, akışkan yatak kurutucular, ısı elektriksel yöntemler (mikrodalga, kızılötesi vb.) vb. 400 farklı tipe yakın kurutucu sistemi bulunmaktadır [10].

Gıdaların ince tabaka halinde yayılarak kurutulmasına yönelik oldukça yaygın kurutma sistemleri bulunmaktadır. Kurutma işlemlerinde ürün geliştirme ve tasarım çalışmalarında, deneysel çalışmaların yanı sıra farklı işlem parametrelerinin etkilerini de dikkate alan kuramsal öngörülerden de yararlanılmaktadır. Gıdaların ince tabaka kurutulmasının matematiksel modellemesi pratik ve doğru sonuçlar vermektedir [4]. Elmanın dilimler halinde konvektif [11-13], konvektif silikon [14], mikrodalga [15] kurutucularında, kızılötesi kurutucu [16], güneş enerjisi destekli kurutucu [17-18], ısı pompalı kurutucu [18] gibi kurutucularında kurutulmasının ince tabaka modelleri ile başarı ile incelendiği çalışmalara literatürde rastlanmaktadır. Yeni bir ısıtma kaynağı tasarımı içeren karbon fiber destekli kurutucularında, yüksek sıcaklıklarda çalışabilen, enerji verimliliği yüksek olduğu belirtilen karbon fiber destekli ısıtma ortamları kullanılmakta ve kombine ısı aktarım mekanizmaları (taşınım, iletim, ışınım) yoluyla gıda maddesinin ısınması sağlanmaktadır [19-24].

Kurutma işlemi yüksek enerji gerektiren bir prosestir. Bu nedenle, günümüzde yüksek verimli ve düşük maliyetli kurutma sistemleri tercih edilmekte ve sistemlerin performans analizleri üzerine çalışmalar yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Kurutucu sistemlerinin performanslarını belirlemek için son yıllarda ekserji analizleri tercih edilmektedir [10, 25-38]. Sistemlerin birinci yasa analizlerinin gerçekleştirilmesi, üretim sırasında kullanılan enerjinin miktarı ile ilgili sonuçlar veren, temel ve geleneksel bir analiz metodudur [39].

Termodinamiğin birinci yasası ile elde edilen sonuçlar doğrultusunda sistemin enerji performansı ile ilgili bilgi edinilebilmektedir. Ancak, termodinamiğin ikinci yasa analizi olarak bilinen ekserji analizi ile birlikte enerjinin maksimum kullanılabilirlik değeri belirlenebilmektedir. Ayrıca, sistemlerin her bir parçasına ve prosesin her bir aşamasına gerçekçi bir bakış açısıyla güçlü verilerin elde edilmesini sağlamaktadır [10, 25-40].

Alternatif bir kurutma sistemi olarak oluşturulan karbon fiber destekli kabin kurutucuda elma örneklerinin kurutulması sırasında kurutma sıcaklığının kurutma davranışı ve performans analizleri üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışmaya, yazarların bilgisi dahilinde literatürde rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, elma dilimlerinin (4.5 cm x 4.5 cm x 0.5 cm) karbon fiber destekli kabin kurutucuda (KFKK), farklı sıcaklıklarda (60, 70 ve 80°C) kurutulması amaçlanmıştır. Elma örneklerinin kuruma süresi, nem değişimi, kurutmayı temsil eden en iyi ince tabaka modeli ve kurutmanın efektif difüzyon hızı değeri belirlenmiştir. Ayrıca, sistemin enerjetik/ekserjetik analizi gerçekleştirilerek performans analizi, geliştirme potansiyeli ve kurutmanın özgül nem kaybı incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Golden elma (*Golden delicious*) yerel bir marketten temin edilerek, kullanım süresi boyunca iklimlendirme kabininde 0-5°C sıcaklıkta %90-96 nisbi nemde depolanmıştır. Elmalar 4.5 x 4.5 x 0.5 cm boyutunda kesilerek kurutma işleminden önce esmerleşmesini önlemek amacıyla 5 dakika sitrik asit (%0.2 w/v) ve askorbik asit (%1 w/v) karışım çözeltisinde bekletilmiştir [41].

Elma örneklerinin kurutma öncesi kompozisyonu şu şekilde alınmıştır; %84.4 su, %0.2 protein, %14.5 karbonhidrat, %0.6 yağ, %0.3 kül [42]. Enerji ve ekserji analiz çalışmasında, elma örneklerinin kurutma sırasındaki kompozisyon değişimi uzaklaşan su dikkate alınarak düzenlenmiştir.

Karbon Fiber Destekli Kabin Kurutucuda Kurutma İşlemi

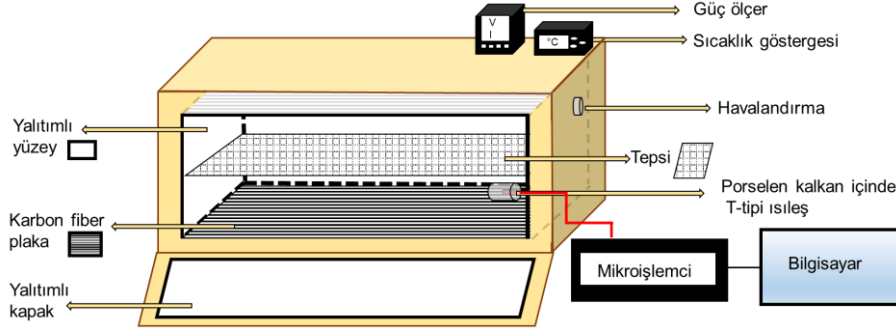
Bu çalışmada, Denizkızı Isıtma ve Soğutma Sistemleri (İzmir) tarafından özel olarak tasarlanmış karbon fiber destekli kabin kurutucu ünitesi kullanılmıştır [19]. KFKK ünitesinin alt ve üst kısmının iç yüzeyleri karbon fiber ısıtıcı plakaları ile kaplanmıştır ve ünite iç ortam sıcaklığı ayarlanabilmektedir [20] (Şekil 1). Ünitenin iç hacmi 0.01 m³'dir. Ünite üzerine entegre edilen güç ölçer (Entes, Mpr 45s, Türkiye) yardımıyla sistemden geçen voltaj ve akım değerleri kaydedilmiştir. Kabin yan duvarında havalandırma ünitesi bulunmaktadır. Kurutma işlemleri süresince iç ortam sıcaklığı porselen kalkan yerleştirilmiş T-tipi ısıtıcı kullanılarak mikroişlemci (Cole Parmer, UK) ile kaydedilmiştir.

Boyutları belli olan elma örnekleri 36.5 x 8.6 x 0.82 cm boyutlarına sahip teflon malzemeden yapılmış ve

perfore edilmiş (delikli) tepsi üzerine dizilmiş ve karbon fiber destekli kabin kurutucuda (KFKK) farklı kurutma ortamı sıcaklıklarında (60, 70 ve 80°C) 0.12–0.11 kg su/kg kurumaddeye ulaşınca kadar kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Toplam kuru madde içeriği gravimetrik yöntemle vakumlu etüvde (Nüve EV 018, Türkiye) 0.5 bar vakumda 70°C’de gerçekleştirilmiştir [43]. Örneklerin

ağırlık ölçümleri hassas terazi (Mettler-Toledo JB3002, ABD) ile belirlenmiştir.

Kurutma işlemi sırasında elma örneklerinin yüzeylerinden alınan termal kamera (Testo 880-3, Almanya) görüntüleri, cihaza ait görüntü işleme paket programı (IRSoft V 3.3, Testo) kullanılarak işlenmiş ve örnek yüzey sıcaklık dağılımları elde edilmiştir.



Şekil 1. KFKK sisteminin şematik gösterimi

Kurutma Davranışının Belirlenmesi

Azalan hız periyodunda kuruyan biyolojik materyallerin kuruma işleminin temel mekanizmasının sıvı ve/veya gaz difüzyonu olduğu kabul edilir ve bu mekanizma Fick'in 2. yasası ile ifade edilir [Denklem (1)]. Fick'in difüzyon modelinde konsantrasyon değişkeni yerine ürün nem içeriği değişkeni kullanılmıştır.

$$\frac{dM}{dt} = D_{eff} \frac{d^2M}{dx^2} \quad (1)$$

Denklem (1)'de M ürün nem içeriği (kg su/kg kuru madde), x difüzyon yolu (m), t süre (s) ve D_{eff} ise efektif difüzyon hızı (m²/s) değerini ifade etmektedir.

Kurutmanın gerçekleştirdiği kabin içinde ısı aktarımı açısından ışınım mekanizmasının yanı sıra doğal taşınım ile aktarım mekanizması da etkilidir. Hava, doğal sirkülasyon ile kabin içinde harekete sahip olmakla beraber, momentum aktarımı açısından ölçülebilir ve akış olarak ifade edilebilir hız değerlerinin çok altında hareketliliğe sahip olduğu için durağan olarak ifade edilmiştir. Diğer yandan kabin boyutları ve örneğin yerleştirildiği ızgara dikkate alındığında, havanın doğal sirkülasyon hareketini engelleyecek direncin oluşmadığı kabul edilmiştir.

Kütle aktarımı açısından incelendiğinde ise, kurutma süresince su gıda içinde yüzeye doğru moleküler difüzyon mekanizması ile aktarılmaktadır. Kurutma işleminin karmaşık süreci nedeniyle, sabit ve azalan akı bölgelerinin tamamı için suyun gıda içindeki difüzyonu efektif difüzyon katsayısı ile ifade edilmiştir. İncelenen kurutma işlemi için gıdayı çevreleyen havanın durağan olması nedeniyle, su buharının gıda yüzeyinden hava içine moleküler difüzyon mekanizması ile aktarılmaya devam etmesi beklenmektedir. Ancak kurutma işlemi sırasında doğal taşınım ile ısı aktarımının etkisiyle oluşan hareketliliğin de sınır koşulunda yer alması açısından, Fick'in 2. Kanunu'nun çözümü için sınır koşulu olarak

dikkate alınan bazı matematiksel yaklaşımlar bulunmaktadır [44]. Bu yaklaşımlardan biri olan film teorisi, kurutma işlemi gibi karmaşık aktarım mekanizmalarının pratik çözümü amacıyla havanın difüze olmayan bileşen olduğu ve durağan ortam olarak kabul edildiği durumda, su buharının hava içinde aktarımını moleküler difüzyon tetikli-taşınım ile kütle aktarımı olarak kabul etmektedir. Bu yaklaşımda, su buharının hava içindeki kütle aktarımını ifade eden kütle aktarım katsayısı, difüzyon katsayısına ve sınır katmanı kalınlığına bağlı olarak yazılmaktadır [44].

Başka bir deyişle sınır koşulu, difüzyon tetikli-taşınım ile kütle aktarımı olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle yüzeyde kütle aktarımına oluşacak direnç, difüzyon tetikli-taşınım ile kütle aktarımını direnci olarak dikkate alınmaktadır. Su buharının hava içindeki difüzyon katsayısı ve penetrasyonuna bağlı olarak belirlenen bu direncin gıda içinde gerçekleşen difüzyonla aktarım direncine göre oldukça düşük olması nedeniyle, Fick'in 2. Kanunu'nun çözümlenmesinde yüzey sınır koşulunda ihmal edilebilir dış kütle aktarım direnci olarak dikkate alınmıştır. Film teorisi, özellikle düşük hızlarda ve durağan ortamda kurutma işlemlerinde Fick'in 2. Kanunu'nun çözümünde sınır koşulunun dikkate alınması açısından pratiklik sağlamaktadır. Özellikle yığın akışının olmadığı, hava neminin düşük olduğu ortamlardaki gibi seyreltik durumlarda k_c^0 taşınım ile kütle aktarım katsayısı k_c taşınım ile kütle aktarım katsayısına dönüşmektedir. Yüzey konsantrasyonuna ve sınır katmanındaki havanın ortalama mol kesrine bağlı olarak düzeltme faktörleri de tanımlanabilmektedir. k_c^0 değerleri deneysel olarak da belirlenebilmektedir. Film teorisinin, yığın akışının olmadığı, durağan ortamlar için penetrasyon teorisi ve sınır katmanı teorilerinin sonuçlarına da yakın sonuçlar verdiği belirtilmektedir [44].

Bu çalışmada kurutma işleminin gerçekleştirildiği kabin tasarımına bağlı olarak, kabin içinde doğal sirkülasyona engel oluşturacak direncin ihmal edilebilir olması ve

kurutucu tasarımında yer alan havalandırma ünitesi ve karbon fiber ısıtıcılar sayesinde kabin içi neminin düşük tutulabilmesiyle nem sürüklenme kuvvetinin etkin olması sağlanabilmektedir. Diğer yandan su buharının hava içindeki aktarımına karşı oluşan direncin, suyun gıda içindeki aktarımına karşı oluşan dirence kıyasla oldukça düşük olması nedeniyle, yüzeyde kütle aktarımı direncinin ihmal edilebilir olduğu ve kurutmanın örnek içindeki difüzyon ile kontrol edildiği varsayımıyla çözüm gerçekleştirilmiştir.

Yukarıdaki açıklamalarda da belirtildiği gibi, doğal taşınım ile ısı aktarımı ve moleküler difüzyon tetikli taşınım ile kütle aktarımı yapılan varsayımlar doğrultusunda Fick'in 2. Kanunu film teorisi yaklaşımıyla çözülmüştür. Bu yöntem, diferansiyel denklemin çözümü açısından hata doğurmamakla birlikte yapılan varsayımlar doğrultusunda çözüm yaklaşımı sağlamaktadır.

Aşağıdaki başlangıç ve sınır koşullarına göre (Denklem (2));

$$\begin{array}{lll} t = 0 & -L < x < L & M = M_i \\ t > 0 & x = 0 & dM/dx = 0 \\ t > 0 & x = L & M = M_e \end{array} \quad (2)$$

Kurutma işleminde ortam nemi sabit olduğu sonsuz düzlem geometrisi için, nem içeriği boyutsuz nem içeriği oranı (MR) değişkenine, gıda içindeki merkezden olan uzaklık değişkeni boyutsuz mesafe değişkenine ($n=x/L$)

ve süre boyutsuz süreye (Kütle Fourier sayısı; $FO_m = D_{eff} t/L^2$) dönüştürülerek analitik olarak çözüldüğünde Denklem (3) elde edilir [44- 45];

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_i - M_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D_{eff} t}{4L^2} \right] \quad (3)$$

Burada M_i başlangıç nem içeriği, M_e denge nem içeriği, M_t t anındaki ürünün nem içeriğidir ve tüm nem içerikleri kuru madde üzerinden hesaplanmaktadır. D_{eff} efektif difüzyon hızı (m^2/s) ve L ise örneğin yarı kalınlığını (m) temsil etmektedir.

- Kurutma işlemi süresince efektif nem difüzyon hızı sabit kabul edilir.

Uzun sürelerde ilk terimin alınması yeterlidir (Denklem (4)).

Bu çalışmada kurutma işlemi sırasında alınan zamana bağlı fraksiyonel nem oranı değerlerini en iyi karakterize eden matematiksel modelin belirlenmesi amacıyla, literatürde yaygın olarak kullanılan on dört farklı teorik ince tabaka denklemi incelenmiştir (Tablo 1). Modellerin deneysel verilere uyumunu incelemek amacıyla, istatistik paket programında (SPSS, Ver. 20, 2012) doğrusal olmayan regresyon analizi yapılmış ve temel uyum değeri en yüksek düzeltilmiş belirleme katsayısı, en düşük indirgenmiş ki-kare ve en düşük hata kareleri ortalamasının karekökü olması dikkate alınmıştır. Modellerde yer alan a, b, c, n, g, model sabitlerini, k kurutma hızı sabitini (s^{-1}), t kurutma süresini (s), MR ise fraksiyonel nem oranını temsil etmektedir.

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \exp \left[-\frac{\pi^2 D_{eff} t}{4L^2} \right] \quad (4)$$

D_{eff} değerinin belirlenmesi için $\ln(MR)$ değerlerinin zamana bağlı değişimi grafik olarak çizilerek, elde edilen doğruların eğimleri (Denklem (5)) ile D_{eff} değerleri hesaplanmıştır [4]:

$$eğim = -\frac{\pi^2 D_{eff}}{4L^2} \quad (5)$$

Yapılmış olan kabuller aşağıda maddeler halinde verilmiştir [4]:

Enerji Ekserji Analizi

- Malzeme özellikleri sabit kabul edilir ve kuruma süresi boyunca büzüşme ihmal edilir.
- Basınç değişimleri ihmal edilir.
- Üründe meydana gelen ısı transferinin ürün içerisinde iletimle, yüzeyde ise doğal taşınım ile olduğu kabul edilir.
- Üründe meydana gelen kütle transferinin ürün içerisinde moleküler difüzyon, ürün dışında ise difüzyon tetikli taşınım ile kütle transferi mekanizması olduğu kabul edilir.
- Buharlaşmanın sadece yüzeylerde gerçekleştiği kabul edilir.
- Başlangıç nem dağılımı homojen alınır ve işlem sırasında nem dağılımı simetrik kabul edilir.

Kurutma işlemi sırasında kurutucu kabin içerisinde kurutulan üründen kurutma havasına su geçişi vardır. Ekserji analizinin uygulanması amacıyla öncelikle kütle ve enerji denklemleri incelenmiş ve ardından entropi ve ekserji denklemleri incelenmiştir.

Kütle Denklemleri

Genel kütle korunumu, kontrol haciminde her bir zaman dilimini baz alarak incelenmiştir (Denklem (6)). Kurutma işlemi süresince buharlaşan su buharı (m_{bs}) de dikkate alınmıştır ve kuruma başlangıcındaki örnek miktarı (m_b), buharlaşan ve son örnek miktarına (m_s) eşitlenmiştir (Denklem (7)).

$$\sum m_g = \sum m_c \quad (6)$$

$$(m_b) = (m_s) + (m_{bs}) \quad (7)$$

Tablo 1. Kurutma karakteristiklerinin belirlenmesi amacıyla deneysel verilerle uyumu incelenen ince tabaka kuruma modelleri

Model	Model Eşitliği	Kaynak
Lewis	$MR = e^{(-k*t)}$	[46]
Page	$MR = e^{(-k*t^n)}$	[47]
Modifiye Page	$MR = e^{(-(k*t)^n)}$	[48]
Henderson ve Pabis	$MR = a * e^{(-k*t)}$	[49]
Logaritmik (Asimptotik)	$MR = a * e^{(-k*t)} + c$	[50]
Midilli	$MR = a * e^{(-k*t^n)} + b * t$	[51]
İki Terimli	$MR = a * e^{(-k_1*t)} + b * e^{(-k_2*t)}$	[52]
İki Terimli Üstel	$MR = a * e^{(-k*t)} + (1 - a) * e^{(-k*a*t)}$	[53]
Difüzyon Yaklaşımı	$MR = a * e^{(-k*t)} + (1 - a) * e^{(-k*b*t)}$	[54]
Verma	$MR = a * e^{(-k*t)} + (1 - a) * e^{(-g*t)}$	[55]
Modifiye Henderson ve Pabis	$MR = a * e^{(-k*t)} + b * e^{(-g*t)} + c * e^{(-h*t)}$	[56]
Kaleta ve ark. Model 1	$MR = a * e^{(-k*t^n)}$	[57]
Kaleta ve ark. Model 2	$MR = a * e^{(-k*t^n)} + b * e^{(-g*t^n)}$	[57]
Kaleta ve ark. Model 3	$MR = a * e^{(-k*t^n)} + (1 - a) * e^{(-g*t^n)}$	[57]

Enerji Analizi

Genel enerji korunumu, kontrol hacimdeki her bir zaman dilimini dikkate alınarak incelenmiştir (Denklem (8)). Verilen enerjinin bir kısmı üründe sıcaklık artışına ve kütle kaybına sebep olurken, diğer kısım kayıp (Q_k) olarak kabul edilmiştir (Denklem (9)).

$$\sum E_g = \sum E_c + Q_k \quad (8)$$

$$E_b + W_{kfk} = E_s + E_{bs} + Q_k \quad (9)$$

Sistemler için kurulan enerji denkleminde elde edilen kayıp enerji terimi (Q_k), sistemlerde işlem sırasında ürün yüzeyi ile ortam arasında meydana gelen ısı aktarımını, ışık enerjisini ve diğer enerji kayıpları temsil etmektedir. Karbon fiber destekli kabin kurutucu

sistemlerinde kurutma işlemleri sırasında tüketilen güç değerleri her bir işlem saniyesi (t , s) sırasında kaydedilen voltaj (V , volt), akım (I , amper) değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (Denklem (10)).

$$W_{kfk} = \sum VIt \quad (10)$$

Sistemin enerji denkleği Denklem (11) belirtildiği gibi;

$$m_b x h_b + W_{kfk} = m_s x h_s + m_{bs} x h_{fg} + Q_k \quad (11)$$

Elma örneklerinin C_p değeri, sıcaklığa ve kompozisyona bağlı ilişkiyi veren Denklem (12-17)'deki gibi hesaplanmıştır [58]. Gıdanın C_p değeri hesaplamasında 'X' elma örneklerinin kütleli kompozisyon dağılımlarını temsil etmektedir.

$$C_{p_{yağ}} = 1.9842 + 1.4733x10^{-3}T - 4.8008x10^{-6}T^2 \quad (12)$$

$$C_{p_{kül}} = 1.0926 + 1.8896x10^{-3}T - 3.6817x10^{-6}T^2 \quad (13)$$

$$C_{p_{protein}} = 2.0082 + 1.2089x10^{-3}T - 1.3129x10^{-6}T^2 \quad (14)$$

$$C_{p_{su}} = 4.1762 - 9.0864x10^{-5}T + 5.4731x10^{-6}T^2 \quad (15)$$

$$C_{p_{karbonhidrat}} = 1.5488 + 1.9625x10^{-3}T - 5.9399x10^{-6}T^2 \quad (16)$$

$$C_p = C_{p_{su}}X_{su} + C_{p_{yağ}}X_{yağ} + C_{p_{kül}}X_{kül} + C_{p_{protein}}X_{protein} + C_{p_{karbonhidrat}}X_{karbonhidrat} \quad (17)$$

Elma örneklerinin başlangıç (h_b) ve son entalpi değerleri (h_s) Denklem (18)'deki gibi hesaplanmıştır.

$$h = C_p(T) \times T \quad (18)$$

Kurutma sistemindeki enerji verimliliğinin (η_l) hesaplamasında aşağıda belirtilen Denklem (19) kullanılmıştır.

$$\eta_l = \left(\frac{Q_{bs}}{W_{kfk}} \right) x 100 \quad (19)$$

Ekserji Analizi

Ekserji, enerjiden farklı olarak, tersinmez ve atıklarla orantılı bir şekilde sistemdeki entropi üretimini incelemektedir. Başka bir deyişle Termodinamiğin 1. ve 2. yasalarını birlikte inceleyebilmektedir. Dolayısıyla, ekserji analizi ile sistemdeki tersinmezlikler belirlenebilmekte, enerji kayıpları minimize edilebilmekte ve kullanılmadan atılan enerjinin değerlendirilmesi sağlanabilmektedir.

Sistemin ekserji analizinin inceleyebilmek için elma örneklerinin başlangıç (b) ve son (s) entropileri Denklemi (20)'deki gibi hesaplanmıştır. 'i' indeksi b ve s durumunu temsil etmektedir.

$$s_i = m_i \left(\frac{cp_i + cp_o}{z} \right) x \ln \frac{T_i}{T_o} \quad (20)$$

Sistem için ekserji denkleği genel olarak Denklem (21) ve (22)'deki gibi düzenlenmiştir.

$$\sum Ex_g = \sum Ex_c + Ex_{yıkım} \quad (21)$$

$$Ex_b + Ex_{kfk} = Ex_s + Ex_{bs} + Ex_{yıkım} \quad (22)$$

Örneklerin başlangıç, son ekserjileri ile buharlaşan suyun ekserjileri sırasıyla Denklem (23), (24), ve (25) ile hesaplanmıştır.

$$Ex_b = m_b [h_b - T_o s_b] \quad (23)$$

$$Ex_s = m_s [h_s - T_o s_s] \quad (24)$$

$$Ex_{bs} = m_{bs} [h_{fg} - T_o s_{fg}] \quad (25)$$

KFKK kurutucusunda verilen ekserji Denklem (26)'deki gibi hesaplanmıştır.

$$Ex_{kfk} = \left(1 - \frac{T_o}{T_{ortam}} \right) x W_{kfk} \quad (26)$$

Ekserji yıkımı, kurutma işleminin ekserji denkleğini kontrol etmek amaçlı kullanılır (Denklem (27)).

$$Ex_{yıkım} = S_{birikim} T_o \quad (27)$$

Kurutma sistemindeki enerji verimliliğinin (η_{II}) hesaplamasında aşağıda belirtilen Denklem (28) kullanılmıştır.

$$\eta_{II} = \left(\frac{Ex_{bs}}{Ex_{kfk}} \right) x 100 \quad (28)$$

Ekserji analizinin uygulanma amacına göre, uygulandığı işlem veya sistemdeki geliştirme olanaklarını belirlemek açısından geliştirilmiş olan "geliştirme potansiyeli (GP)" terimi de hesaplanmıştır (Denklem (29)) [59]. GP teriminde kullanılan işleme giren ekserji (Ex_g) değeri, kurutucun verdiği ekserji (Ex_{kfk}) ile başlangıç elma örneklerinin ekserji (Ex_b) değerlerini ifade ederken, işlemden çıkan ekserji değeri (Ex_c) kurutma sonundaki elma örneklerinin ekserji (Ex_s) değeri ile örnekten buharlaşan suyun ekserji (Ex_{bs}) değerlerini ifade etmektedir.

$$GP = (1 - \eta_{II})(Ex_g - Ex_c) \quad (29)$$

Ayrıca kurutma işleminde sistemden uzaklaşan su buharı miktarı ile sistemin verdiği enerji arasındaki ilişkiyi veren özgül nem kaybı hızı Denklem (30)'deki gibi hesaplanmıştır.

$$\text{Özgül nem kaybı hızı} = \left(\frac{kg \text{ buharlaşan su}}{kg_{kfk}} \right) \quad (30)$$

Varsayımlar

- Ölü durumdaki sıcaklık (T_o) 10°C, basınç ise 1 atm olarak varsayılmıştır.
- Uzaklaşan suyun entalpi ve entropi değerleri, ürünün sıcaklığı kabul edilerek dikkate alınmıştır.
- Potansiyel ve kinetik enerji ihmal edilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma süresince, bütün kurutma denemeleri 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Elma örneklerinin kurutulması işleminde uygulanan farklı koşulların ince tabaka modelleme katsayılarına, enerji ve ekserji verimlilikleri üzerine etkisi İstatistik Paket Programı (SPSS, ver. 22, 2013) kullanılarak değerlendirilmiştir. Kurutma işleminin ince tabaka model eşitliklerinin katsayıları ve en yüksek düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2) değerleri Doğrusal Olmayan Regresyon analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca uygulanan ince tabaka modellerinin deneysel verilere uyumluluklarının incelendiği, en düşük indirgenmiş ki-kare (χ^2) ve en düşük hata kareleri ortalamasının karekökü (RMSE) değerleri arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Güven seviyesi %95 olarak kabul edilmiştir. Tek yönlü varyans analizi kullanılmış ve önemli farklılıklar Duncan çoklu fark testi ile tespit edilmiştir. χ^2 ve RMSE değerleri aşağıda verilen denklemlere göre hesaplanmıştır (Denklem 31-32):

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{dny,i} - MR_{bkl,i})^2}{N-n} \quad (31)$$

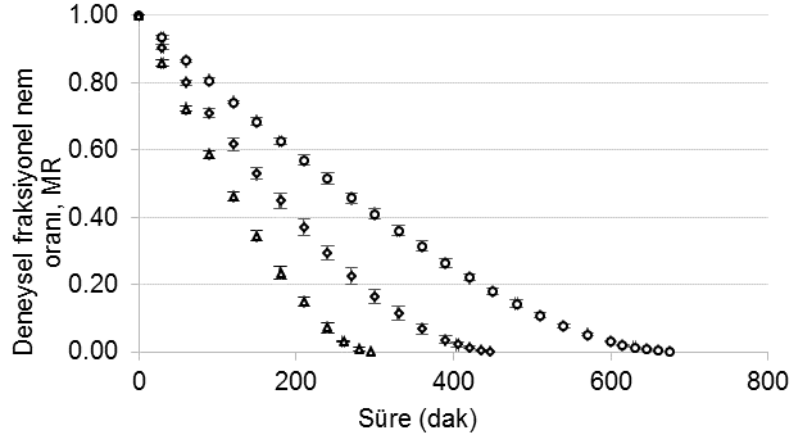
$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{bkl,i} - MR_{dny,i})^2 \right]^{1/2} \quad (32)$$

Burada, $MR_{dny,i}$ değeri i.deneysel gözlemde ölçülen değer, $MR_{bkl,i}$ değeri modeldeki i.gözlemde beklenen değer, N gözlem sayısı ve n kullanılan modeldeki katsayı adedidir.

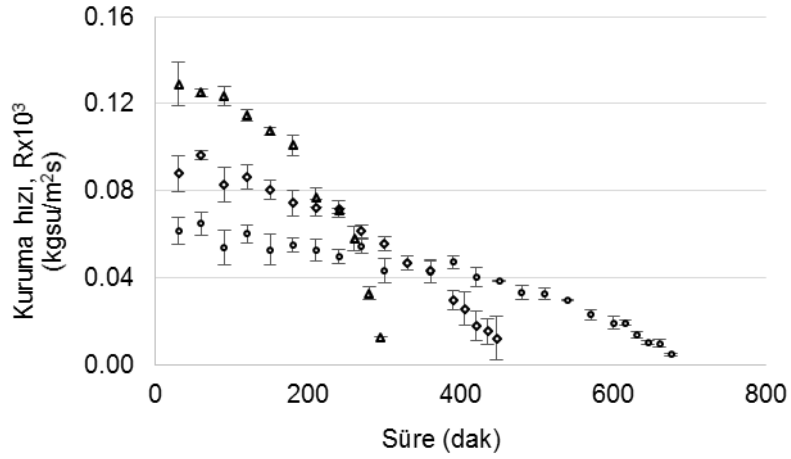
BULGULAR ve TARTIŞMA

Kurutma Süresi

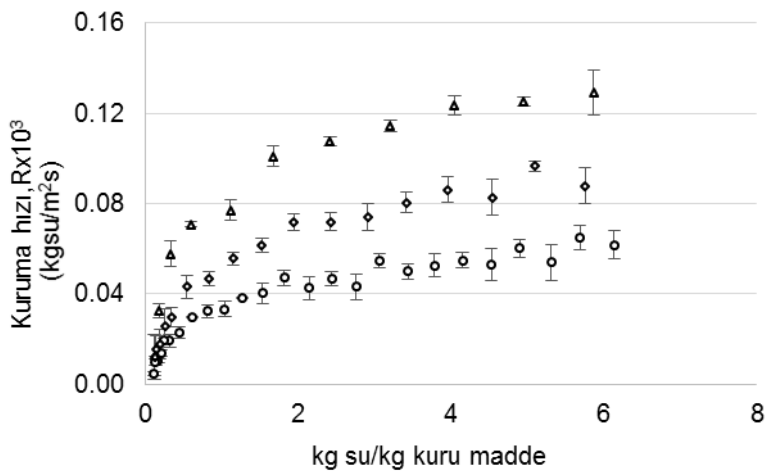
Kurutma işleminin başlangıcında ortalama nem içeriği 86 ± 2 olan elma dilimleri 10 ± 0.6 nem içeriğine kadar kurutulmuştur. Farklı kurutma sıcaklıklarının elma örneklerinin kuruma davranışı üzerine etkilerini daha detaylı karşılaştırmak amacıyla, fraksiyonel nem oranının (MR) zamana bağlı değişimi (Şekil 2) incelenmiştir. Beklendiği gibi, kurutma sıcaklığı arttıkça kuruma süresi azalmaktadır. Ayrıca, elma örneklerinden saniyede birim alandan uzaklaşan suyu temsil eden kurutma hızının (R , kg su/m²s), zamana ve kuru madde başına düşen su içeriğine bağlı değişimi Şekil 3 ve 4'te gösterilmiştir. KFKK sisteminde, örneklerinin kurutma sıcaklığı arttıkça elma dilimlerinden suyun uzaklaşma hızının arttığı belirlenmiştir.



Şekil 2: Farklı sıcaklıklarda kurutulan elma örneklerinin kuruma süresine karşı fraksiyonel nem oranı değişimi (○ 60°C; ◇ 70°C; Δ 80°C)



Şekil 3: Farklı sıcaklıklarda kurutulan elma örneklerinin kuruma süresine karşı kuruma hızı (○ 60°C; ◇ 70°C; Δ 80°C)



Şekil 4: Farklı sıcaklıklarda kurutulan elma örneklerinin serbest nem içeriğine karşı kuruma hızı (○ 60°C; ◇ 70°C; Δ 80°C)

İnce Tabaka Kurutma Modelleri İle Kuruma Davranışının Belirlenmesi

Elma örneklerinin kurutma davranışını karakterize etmek amacıyla, deneysel veriler ile elde edilen MR-zaman değerlerinin 14 farklı ince tabaka modeline (Tablo 1) uyumlulukları incelenmiştir. Farklı ince tabaka modellerinin deneysel kuruma eğrileriyle uyumları incelenmiş, farklı sıcaklıklarda kurutulan elma örneklerinin kurutma hızı katsayıları hesaplanmıştır. Elde edilen model katsayıları doğrusal olmayan regresyon analizi ile belirlenmiştir. On dört farklı model içerisinde yüksek R^2 , düşük χ^2 ve düşük RMSE değerleri dikkate alınarak uyum sağlayan ilk 4 modelin uyum istatistikleri Tablo 2'de gösterilmiştir. "Karbon fiber destekli kabin kurutucuda elma örneklerinin kurutulması işleminde en yüksek R^2 değerlerini, en düşük χ^2 ve RMSE değerlerini içeren modelin 'Difüzyon Yaklaşım' modeli olduğu belirlenmiştir"

Literatürde yer alan sadece 2 farklı çalışmada, KFKK kurutucuda kurutma işleminin ince tabaka modellemesi incelenmiştir. Meyankökünün karbon fiber destekli kabin kurutucuda kurutulması ile ilgili yapılan bir çalışmada, $65\pm 0.1^\circ\text{C}$ ve 0.8 m/s hava hızında kurutulan meyankökünde, Lewis modelinin kuruma karakteristiğini en iyi ifade eden model olduğu belirtilmiştir [21]. Başka bir çalışmada ise, KFKK sisteminde meyankökünün 90°C 'de kurutulması sırasında kurutma davranışını en iyi Page modelinin ifade ettiği rapor edilmiştir [22]. Literatürde KFKK kurutucu sistemi dışında yer alan konvektif kurutucu sistemlerinde genellikle $32-80^\circ\text{C}$ sıcaklık ve 0.25-5 m/s hava hız aralıkları içerisinde kurutulmuş farklı boyutlardaki meyve örneklerinin ince tabaka modellerinde genellikle Page, Logaritmik ve Midilli modellerin uygun olduğu görülmektedir [4]. Yapılan çalışmalar ışığında, kurutucu sistemi değişikçe, kurutma koşulları ve hammadde çeşidine göre ince tabaka modellerinin uyumunun, elde edilen hız sabitlerinin değerlerinin değiştiğini ve bu sebeple farklı sistemlerde farklı kuruma davranışları tespit edilebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo 2. KFKK sisteminde farklı sıcaklıklarda kurutulan elma örneklerinin kurutma davranışını en iyi ifade eden ince tabaka modellerinin istatistiksel uyum sonuçları

Sıcaklık ($^\circ\text{C}$)	Model	Model Katsayıları	R^2	χ^2	RMSE
60	Lewis (Newton)	$k=5.777\times 10^{-5}$	0.950 ± 0.0036^a	0.0054 ± 0.0004^a	0.0719 ± 0.0027^a
	İki Terimli	$k_1=k_2=6.325\times 10^{-5}$, $a=0.551$, $b=0.551$	0.961 ± 0.0035^b	0.0047 ± 0.0004^a	0.0632 ± 0.0028^a
	İki Terimli Üstel	$k=1.242$, $a=0.320\times 10^{-5}$	0.950 ± 0.0036^a	0.1185 ± 0.0980^b	0.2917 ± 0.1908^b
	Difüzyon Yaklaşımı	$k=0.143\times 10^{-5}$, $a=-64.42$, $b=0.984$	0.987 ± 0.0021^c	0.0015 ± 0.0002^a	0.0360 ± 0.0028^a
70	Lewis (Newton)	$k=8.955\times 10^{-5}$	0.952 ± 0.0036^a	0.0054 ± 0.0004^b	0.0714 ± 0.0026^c
	İki Terimli	$k_1=k_2=9.577\times 10^{-5}$, $a=0.548$, $b=0.550$	0.962 ± 0.0020^b	0.0053 ± 0.0003^b	0.0640 ± 0.0015^b
	İki Terimli Üstel	$k=1.753$, $a=5.105\times 10^{-5}$	0.952 ± 0.0036^a	0.0057 ± 0.0004^b	0.0714 ± 0.0026^c
	Difüzyon Yaklaşımı	$k=0.009$, $a=-0.1915$, $b=0.0115$	0.971 ± 0.0021^c	0.0038 ± 0.0003^a	0.0561 ± 0.0019^a
80	Lewis (Newton)	$k=0.1337\times 10^{-5}$	0.949 ± 0.0036^a	0.0063 ± 0.0004^b	0.0757 ± 0.0020^c
	İki Terimli	$k_1=k_2=0.144\times 10^{-5}$, $a=0.540$, $b=0.544$	0.958 ± 0.0035^b	0.0073 ± 0.0005^b	0.0686 ± 0.0019^b
	İki Terimli Üstel	$k=2.685$, $a=4.986\times 10^{-5}$	0.949 ± 0.0036^a	0.0070 ± 0.0004^b	0.0757 ± 0.0020^c
	Difüzyon Yaklaşımı	$k=0.0113$, $a=-0.2373$, $b=0.0137$	0.973 ± 0.0035^c	0.0046 ± 0.0010^a	0.0582 ± 0.0056^a

^{a,b,c}; 60, 70 ve 80°C deki kolonlara ait farklı harflendirmeler ince tabaka modeller arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$)

Efektif Difüzivite Değeri

KFKK sisteminde elma dilimlerinin 60, 70 ve 80°C de kurutulması sırasında efektif difüzivite değerleri, yüksek düzeltilmiş belirleme katsayısı değerleri ($R^2 > 0.83$) ile sırasıyla 3.02×10^{-10} , 2.06×10^{-10} ve 4.56×10^{-10} m^2/s olarak tespit edilmiştir. Literatürde konvektif kurutucularda gıdaların kurutulmasında D_{eff} değerlerinin incelendiği çalışmaların çoğunda (%86.2) D_{eff} değerinin 10^{-10} ve 10^{-8} m^2/s arasında olduğunu rapor edilmektedir [4]. Literatürde, sıcak havalı konvektif kurutucuda 40, 50 ve 60°C de 0.8 m/s hava hızında 5 mm ve 9 mm kalınlığında elma dilimlerinin kurutulmasında D_{eff} değerleri 2.27×10^{-10} ve 4.97×10^{-10} m^2/s aralığında bulunduğu rapor edilmiştir [13]. Bir başka çalışmada da,

konvektif silikon kurutucu da 60, 70 ve 80°C de 1-1.5 m/s hava hızında 12.5 mm ve 8 mm kalınlığında elma dilimlerinin kurutulmasında efektif difüzivite değerleri (D_{eff}) 8.41×10^{-10} ve 20.60×10^{-10} m^2/s aralığında olduğu rapor edilmiştir [14]. Bu çalışmada yeni bir ısıtma kaynağı tasarımına sahip olan ve durağan hava ortamında kurutma işlemi uygulayan KFKK sisteminde de elma dilimlerinin kurutulması sırasında, hava akımlı konvektif kurutuculardakine benzer efektif difüzivite değerlerinin bulunması dikkati çekmektedir. Isıtma işleminin ışınım, doğal taşınım ve iletim mekanizmalarının etkin kullanımı ile sağlanmış olmasının hava hızı gerektirmeksizin benzer kurutma davranışlarına neden olmuş olabileceği düşünülmektedir.

Enerji ve Ekserji Verimlilikleri

Bu çalışmada enerji-ekserji analizlerinde kullanılmak üzere kurutma boyunca elma yüzeylerinin sıcaklıkları termal kamera ile ölçülmüştür. Ölçümler kurutma süresince 30 dakika aralıklarla son kuruma sürelerinde ise 15 dakika aralık sıcaklık dağılımı tespiti yapılmış ve değerlendirilmiştir. 60, 70 ve 80°C'de kurutulan elma dilimi örneklerinin 270. dakikada yüzey sıcaklıklarının sırasıyla ortalama 46.5°C, 49.3°C, 68.1°C aralığında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5). Kurutma işlemi sırasında aynı zaman periyodunda farklı su içeriğine sahip örneklerin yüzey sıcaklıklarının da farklı olduğu belirlenmiştir.

Elma dilimlerinin KFKK sisteminde kurutulması işleminin enerji verimliliği %10.51-13.12 değerleri arasında tespit edilmiştir. Sıcaklık arttıkça enerji verimliliğinin arttığı, en yüksek enerji verimliliğinin 80°C'de olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ekserji verimliliği ise %9.44-11.64 değerleri arasında tespit edilmiş ve en yüksek ekserji verimliliği benzer şekilde 80°C olarak tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 3 ve 4).

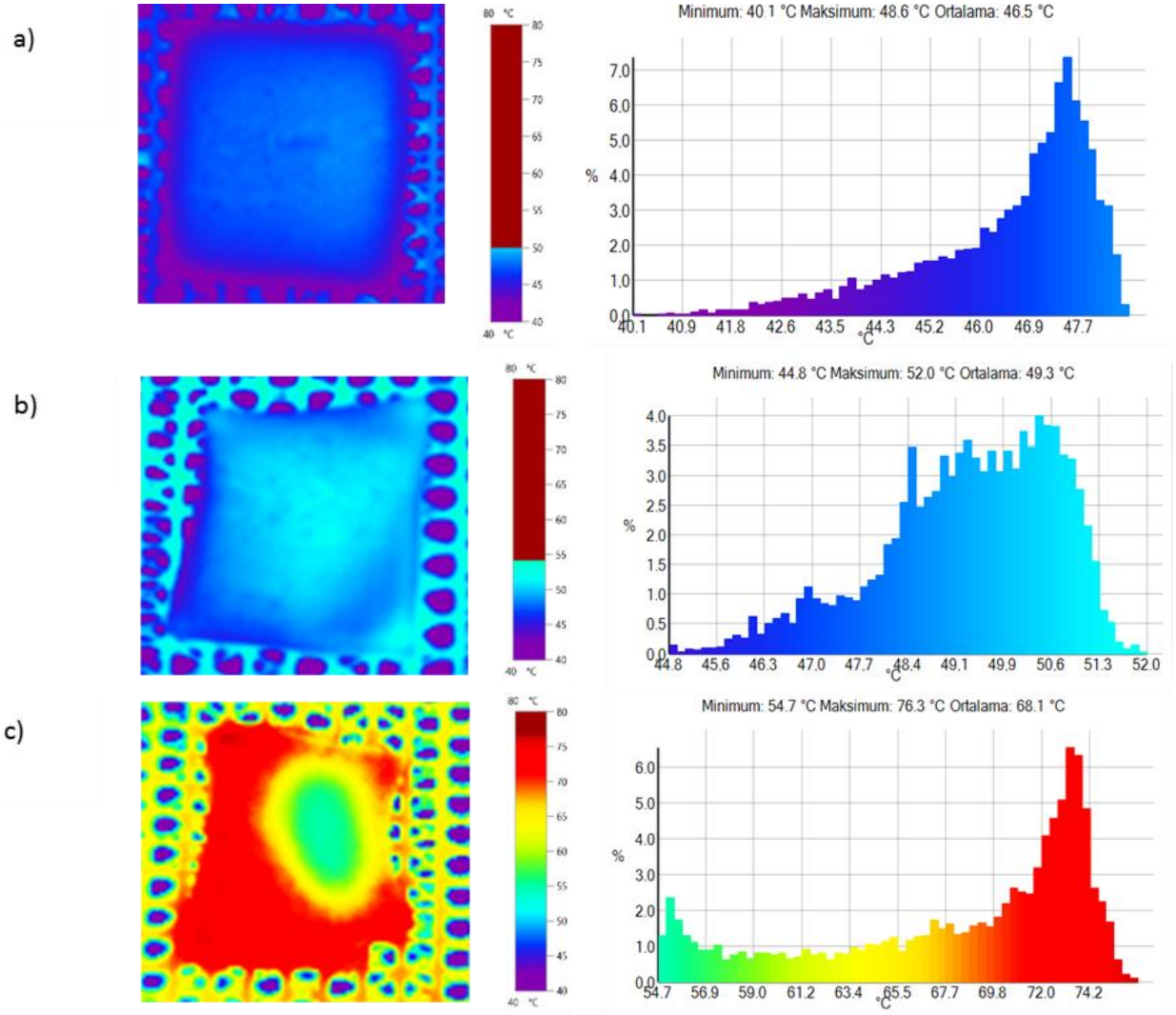
Kurutma sıcaklığı arttıkça, kurutma süresinin azalmasıyla birlikte KFKK sisteminin tükettiği enerjide azalma belirlenmiştir ($p<0.05$). Kurutmanın sonunda elma dilimlerinin yüzey sıcaklıklarında, kurutma ortam sıcaklıklarından kaynaklanan farklılıklar gözlenmiştir. Kurutma sıcaklığı arttıkça toplam işlem süresi azaldığı için, KFKK sisteminin tükettiği enerjide azalma gerçekleşmiştir. Buna bağlı olarak kurutma işleminde meydana gelen toplam enerji kaybında azalma ve işlem enerji verimliliklerinde artma tespit edilmiştir. Farklı kurutma sıcaklıklarında, sistemden uzaklaşan suyun sıcaklıkları farklıdır ve sıcaklık arttıkça buharlaşma gizli ısı değerlerinde azalma gözlemlenmektedir (Tablo 3).

Ekserji analiz sonuçları incelendiğinde, kurutma başlangıcında elma örnekleri aynı ekserji değerlerine sahip iken, kurutma sonunda en düşük ekserji değerine 60°C'de ulaşılmıştır ve 70-80°C kurutma sıcaklığında istatistiksel olarak benzer sonuçlar gözlemlenmektedir. Farklı sıcaklıklarda uzaklaşan suyun buharlaşma entropisi değerlerinin değişmesi nedeniyle ekserji değerleri de etkilenmektedir. Bununla birlikte, her bir 10°C sıcaklık artışı için KFKK kurutucu sisteminde tüketilen enerjideki değişim oranının, ekserji değerlerindeki değişim oranlarından farklı olduğu saptanmıştır. KFKK sisteminde ekserji verimliliği ise sıcaklık arttıkça artış göstermektedir (Tablo 4).

Literatürde benzer şekilde tepsili kurutucuda 40 ve 93°C sıcaklıkları aralıklarında ve 0.5-1.5 m/s hava hızlarında kurutulan meyve ve sebze örneklerinin ekserji verimliliklerinin %3.17-100 değerleri arasında olduğu bilgisi yer almaktadır [10]. Literatürde karbon fiber destekli kabin kurutucunun enerji ve ekserji analizleri üzerine yapılan çalışmalar ise sınırlı sayıdadır. KFKK sisteminde yapılan çalışmalardan birinde [23]; zeytin yapraklarının 70°C sıcaklıklarında kurutulma işleminin enerji verimliliklerinin kurutma işleminin başlangıcında %20.48±1.71, kurutma işleminin sonunda ise %7.02±1.15 olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada ekserji verimliliği ise kurutma işleminin başlangıcında sırasıyla %15.58±0.68 iken kurutma işleminin sonunda ise %2.03±1.41 olduğu rapor etmişlerdir [23]. Başka bir çalışmada, meyan kökünün KFKK kurutucu sisteminde 90°C sıcaklıkta kurutulması işleminin enerji ve ekserji verimlilikleri sırasıyla %40.2, %30.63 olarak belirtilmiştir [22]. Güncel bir başka çalışmada ise, KFKK sisteminde 55, 60 ve 65°C'de 0.8±0.05 m/s hava hızında kurutulan ince tabaka çilek örneklerinin enerji verimlilikleri %26.83 - 31.66 arasında iken, ekserji verimliliği %24.62-29.83 arasında tespit edilmiş ve sıcaklık arttıkça enerji-ekserji verimliliğinin arttığını rapor etmişlerdir ($p<0.05$) [24].

Elma dilimlerinin KFKK kurutucu sisteminde kurutma işleminin geliştirme potansiyelleri farklı sıcaklıklarda farklı değerler göstermektedir ($p<0.05$) (Şekil 6). Geliştirme potansiyeli en yüksek olan 70°C kurutma sıcaklığında gözlemlenmektedir. Bunun nedeni, 70°C kurutma sıcaklığında işleme giren ve çıkan ekserji farkını gösteren ekserji yıkım değerinin daha yüksek olması ve kurutucu sisteminde tüketilen ekserji değerlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Kurutma işleminde elde edilen özgül nem kaybı hızları 60, 70 ve 80°C sıcaklıkları için sırasıyla $4.44*10^{-5}±0.00$, $4.85*10^{-5}±0.00$, $5.63*10^{-5}±0.00$ kg buharlaşan su/ kJ dir. Sıcaklık arttıkça, kurutma işleminin özgül nem kayıp hızı artmaktadır ($p<0.05$).

Yapılan çalışma sonuçları literatürdeki bulgularla karşılaştırıldığında, KFKK sisteminde elma dilimlerinin kurutulması işleminin enerji ve ekserji verimlilikleri meyan kökü, zeytin yaprağı ve çilek örneklerine nazaran daha düşük çıkmıştır. Ayrıca tepsili kurutucuda gerçekleştirilen kurutma işlemlerindeki değerlere göre de farklılık içermektedir. Çalışmalarda elde edilen bu farklılıkların nedeninin hesaplamalarda ölü faz değerlerinin farklı alınması, kurutma ortam sıcaklıklarının farklı olması, örnek çeşitliliği ve enerji ve ekserji verimliliklerinin hesaplama yönteminin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 5. Elma diliminin KFKK sisteminde farklı kurutma sıcaklıklarında kurutulması sırasında (270. dakika) yüzey sıcaklıkları dağılımı; a) 60°C, b) 70°C, c) 80°C

Tablo 3. KFKK sisteminde elma dilimlerinin farklı sıcaklıklarda kurutulması işleminin enerji analizi sonuçları

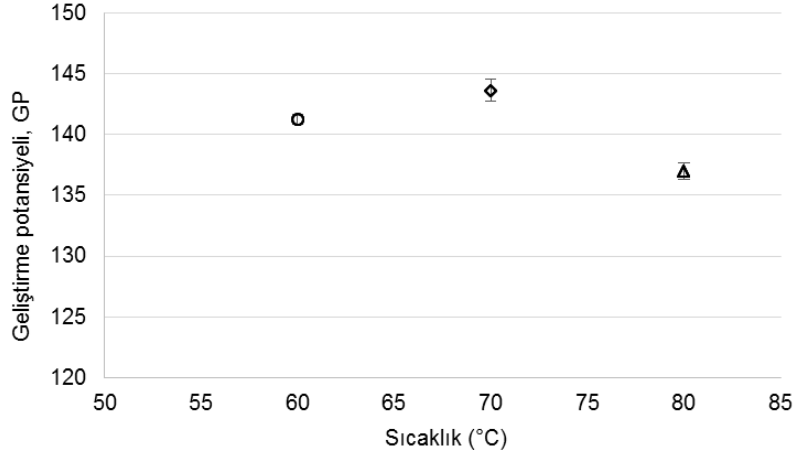
Sıcaklık (°C)	$Q_{kfk k}$ (kJ)	Q_{bs} (kJ)	Q_b (kJ)	Q_s (kJ)	$Q_{kayıp}$ (kJ)	η_I (%)
60	1114.60±3.54 ^c	117.19±1.11 ^b	3.23±0.03 ^a	0.74±0.01 ^a	999.90±4.60 ^c	10.51±0.13 ^a
70	1007.40±7.78 ^b	114.79±1.09 ^a	3.16±0.07 ^a	0.91±0.03 ^b	894.86±4.96 ^b	11.40±0.07 ^b
80	867.4±11.63 ^a	113.77±0.68 ^a	3.17±0.12 ^a	1.04±0.12 ^b	755.51±11.67 ^a	13.12±0.18 ^c

^{a,b,c}; kolonlara ait farklı harflendirmeler enerji analiz sonuçları arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Tablo 4. KFKK sisteminde elma dilimlerinin farklı sıcaklıklarda kurutulması işleminin enerji analizi sonuçları

Sıcaklık (°C)	$Ex_{kfk k}$ (kJ)	Ex_{bs} (kJ)	Ex_b (kJ)	Ex_s (kJ)	$Ex_{yıkım}$ (kJ)	η_{II} (%)
60	171.85±0.72 ^a	16.23±0.17 ^a	0.08±0.00 ^a	-0.29±0.00 ^a	156.00±0.00 ^a	9.44±0.06 ^a
70	178.14±1.14 ^c	18.40±0.18 ^b	0.08±0.00 ^a	-0.34±0.01 ^{a,b}	160.15±1.00 ^b	10.33±0.06 ^b
80	174.93±1.11 ^b	20.37±0.32 ^c	0.08±0.01 ^a	-0.36±0.04 ^b	155.00±0.85 ^a	11.64±0.12 ^c

^{a,b,c}; kolonlara ait farklı harflendirmeler ekserji analiz sonuçları arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05)



Şekil 6. KFKK sisteminde elma dilimlerinin farklı sıcaklıklarda kurutulması işleminin Geliştirme Potansiyeli (GP)

SONUÇ

Bu çalışmada, kabin kurutucuya alternatif bir ısıtma kaynağının entegre edilmiş olduğu karbon fiber destekli kurutucu sistemi kullanılmıştır. KFKK'da farklı sıcaklıklarda (60, 70 ve 80°C) kurutulmuş elma dilimlerinin kuruma davranışı incelenmiş ve işlemin performansının belirlenmesi için enerji ve ekserji analizleri yapılmıştır. Kurutma sıcaklığı arttıkça elma dilimlerinin kuruma süresinin azaldığı ve kuruma hızının arttığı belirlenmiştir. İncelenen on dört farklı ince tabaka modelleri içerisinde 'Difüzyon Yaklaşım' modelinin en uygun model olduğu tespit edilmiştir. Sistemin performans analizinde en yüksek enerji ve ekserji verimliliğinin 80°C'de elde edildiği saptanmıştır. Bu çalışmanın, KFKK sisteminde gıdaların kurutulması için yapılan güncel çalışmalardan biri olması ve elma dilimlerinin kurutulmasına uygulanabilirliğinin incelenmesi konusunda ilk çalışma olması açısından literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. KFKK sistemlerinde gıdaların kurutulması amacıyla yapılacak çalışmalarda, hava hızı, örnek miktarı, örnek boyutu, uygulama gücü gibi işlem parametrelerindeki farklılıklarının etkilerinin incelenmesi önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada, karbon fiber destekli kabin kurutucunun temin edilmesinde, kurulumunda ve araştırma-geliştirme aşamasında teknik destek veren Denizkızı Isıtma ve Soğutma Sistemleri (İzmir) firmasına teşekkür ederiz. Ayrıca, bu çalışma "Karbon fiber destekli kabin kurutucuda elma kurutulmasının deneysel ve kuramsal incelenmesi ve işlemin enerjetik/ekserjetik değerlendirilmesi" başlıklı yüksek lisans tezinin bir bölümünü kapsamaktadır ve Ege Üniversitesi 16 MÜH 114 nolu Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) kapsamında maddi olarak desteklenmektedir.








KAYNAKLAR

- [1] Tarhan, S., Ergüneş, G., Güneş, M., Mutlu, A., 2009. Farklı Kurutma Koşullarının Amasya Elmasının Kuruma Süresi ve Kalitesi Üzerine Etkileri. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi* 2(2): 1-6.
- [2] TÜİK. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=18706> (08.01.2017).
- [3] Doymaz, I., Tugrul, N., Pala, M., 2006. Drying characteristics of dill and parsley leaves. *Journal of Food Engineering* 77(3): 559–565.
- [4] Erbay, Z., İçier, F., 2010. A review of thin layer drying of foods: theory, modeling, and experimental results. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50(5): 441-464.
- [5] Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., Hassan-Beygi, S.R., 2010. Drying and rehydration characteristics of sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *Journal of Food Processing and Preservation* 34(3): 351–365.
- [6] Ertekin, C., Yaldiz O., 2004. Drying of eggplant and selection of a suitable thin layer drying model. *Journal of Food Engineering* 63(3): 349-359.
- [7] Adom, K.K., Dzogbefia, V.P., Ellis, W.O., 1997. Combined effect of drying time thickness on the solar drying of okra. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73(3): 315–320.
- [8] Midilli, A., 2001. Determination of pistachio drying behaviour and conditions in solar drying system. *International Journal of Energy Research* 25(8): 715–725.
- [9] Doymaz, I., Pala, M., 2002. Hot-air drying characteristics of red pepper. *Journal of Food Engineering* 55(4): 331–335.
- [10] Aghbashlo, M., Mobli, H., Rafiee, S., Madadlou, A., 2013. A review on exergy analysis of drying processes and systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 22: 1-22.
- [11] Menges, H.O., Ertekin, C., 2006. Mathematical modeling of thin layer drying of Golden apples. *Journal of Food Engineering* 77(1): 119–125.
- [12] Akpinar, E.K., 2006. Determination of suitable thin layer drying curve model for some vegetables and fruits. *Journal of Food Engineering* 73(1):75–84.
- [13] Sacilik, K., Elicin, A.K., 2006. The thin layer drying characteristics of organic apple slices. *Journal of Food Engineering* 73(3): 281-289.
- [14] Akpinar, E.K., Bicer, Y., Midilli, A., 2003. Modeling and experimental study on drying of apple slices in a convective cyclone dryer. *Journal of Food Process Engineering* 26(6): 515-541.

- [15] Çelen, S., Kahveci, K., 2013. Microwave drying behaviour of apple slices. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E, Journal of Process Mechanical Engineering* 227(4): 264-272.
- [16] Toğrul, H., 2005. Simple modeling of infrared drying of fresh apple slices. *Journal of Food Engineering* 71(3): 311-323.
- [17] Blanco-Cano, L., Soria-Verdugo, A., Garcia-Gutierrez, L.M., Ruiz-Rivas, U., 2016. Modeling the thin-layer drying process of Granny Smith apples: Application in an indirect solar dryer. *Applied Thermal Engineering* 108: 1086-1094.
- [18] Aktaş, M., Ceylan, İ., Yılmaz, S., 2009. Determination of drying characteristics of apples in a heat pump and solar dryer. *Desalination* 239(1): 266-275.
- [19] Çakmak, K., 2013. Drying ovens for fruits and vegetables with a possibility of possibility of solar panel integration. Turkish Patent No:12 TR 97NA 3PJR. Turkish Patent Institute.
- [20] İcier, F., Cokgezme O.F., Sabancı, S., 2016. Alternative thawing methods for the blanched/non-blanched potato cubes: microwave, ohmic, and carbon fiber plate assisted cabin thawing. *Journal of Food Process Engineering* (doi:10.1111/jfpe.12403) (Basımda).
- [21] Çokgezme, O.F., Çevik, M., İçier, F., Sabancı, S., Tezcan, D., Çakmak, K., 2015. Drying of licorice in carbon fiber assisted drier". *The 3rd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus*, October 01-04, 2015, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Book of Proceedings, 508p.
- [22] Özmen, D., 2016. Meyankökünün kurutulmasında alternatif kurutma yöntemlerinin etkilerinin incelenmesi, kurutma kinetiğinin ve işlem performansının değerlendirilmesi. Lisans Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- [23] Doğan, K., Güneş, D., Yılmaz, S., 2015. Alternatif kurutma sistemlerinin enerjetik ve ekserjetik değerlendirmesi. Lisans Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- [24] Cokgezme, O.F., Cevik, M., Doner, D., Sabancı, S., 2016. Performance Evaluation of Carbon Fiber Assisted Cabin Dryer during the Drying Process of Strawberry Slices. *3rd International Conference On Thermophysical And Mechanical Properties Of Advanced Materials*, September 1 – 3, 2016, Izmir, Turkey, Book of Proceedings, 25p.
- [25] Midilli, A., Kucuk, H., 2003. Energy and exergy analyses of solar drying process of pistachio. *Energy* 28(6): 539-556.
- [26] Akpınar, E.K., 2004. Energy and exergy analyses of drying of red pepper slices in a convective type dryer. *International Communications in Heat and Mass Transfer* 31(8): 1165-1176.
- [27] Akpınar, E., Midilli, A., Bicer, Y., 2005. Energy and exergy of potato drying process via cyclone type dryer. *Energy Conversion and Management* 46(15): 2530-2552.
- [28] Akpınar, E., Midilli, A., Bicer, Y., 2005. Thermodynamic analysis of the apple drying process. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E: Journal of Process Mechanical Engineering* 219(1): 1-14.
- [29] Akpınar, E., Midilli, A., Bicer, Y., 2006. The first and second law analyses of thermodynamic of pumpkin drying process. *Journal of Food Engineering* 72(4): 320-331.
- [30] Ozgener, L., Ozgener, O., 2006. Exergy analysis of industrial pasta drying process. *International Journal of Energy Research* 30(15): 1323-1335.
- [31] Ozgener, L., Ozgener, O., 2009. Exergy analysis of drying process: An experimental study in solar greenhouse. *Drying Technology* 27(4): 580-586.
- [32] Syahrul, S., Dincer, I., Hamdullahpur, F., 2003. Thermodynamic modeling of fluidized bed drying of moist particles. *International Journal of Thermal Sciences* 42(7): 691-701.
- [33] Dincer, I., Sahin, A.Z., 2004. A new model for thermodynamic analysis of a drying process. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 47(4): 645-652.
- [34] Kuzgunkaya, E.H., Hepbasli, A., 2007. Exergetic performance assessment of a ground-source heat pump drying system. *International Journal of Energy Research* 31(8): 760-777.
- [35] Liu, Y., Zhao, Y., Feng, X., 2008. Exergy analysis for a freeze-drying process. *Applied Thermal Engineering* 28(7): 675-690.
- [36] Erbay, Z., İcier, F., 2011. Energy and exergy analyses on drying of olive leaves (*Olea europaea* L.) in tray drier. *Journal of Food Process Engineering* 34(6): 2105-2123.
- [37] Çolak, N., Kuzgunkaya, E., Hepbasli, A., 2008. Exergetic assessment of drying of mint leaves in a heat pump dryer. *Journal of Food Process Engineering* 31(3): 281-298.
- [38] Corzo, O., Bracho, N., Vásquez, A., Pereira, A., 2008. Energy and exergy analyses of thin layer drying of coroba slices. *Journal of Food Engineering* 86(2): 151-161.
- [39] Nazghelichi, T., Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., 2011. Optimization of an artificial neural network topology using coupled response surface methodology and genetic algorithm for fluidized bed drying. *Computers and Electronics in Agriculture* 75(1): 84-91.
- [40] Çengel, Y.A., Boles, M.A., 2006. Thermodynamics: an Engineering Approach (5th Ed.). McGraw Hill, New York, NY.
- [41] Yildiz, H., İcier, F., Eroglu, S., Dagci, G., 2016. Effects of electrical pretreatment conditions on osmotic dehydration of apple slices: Experimental investigation and simulation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 35: 149-159.
- [42] Singh, R.P., Heldman, D.R., 2009. Introduction to food engineering (4th ed.). Academic Press, London, UK, 777p.
- [43] AOAC, 1990. Dry matter content. In Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Method No. 920.151 (K. Helrich, ed.) AOAC, Inc., Washington, DC.
- [44] Geankoplis, J.C., 2003. Transport Processes and Separation Process Principles (Includes Unit Operations)(4th Ed.). Prentice Hall Press, 410-512p.

- [45] Kaleta, A., Górnicki, K., 2010. Evaluation of drying models of apple (var. McIntosh) dried in a convective dryer. *International Journal of Food Science and Technology* 45(5): 891-898.
- [46] Lewis, W.K., 1921. The Rate of Drying of Solid Materials. *The Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 13(5): 427-432.
- [47] Page, G.E., 1949. Factors influencing the maximum rate of air drying shelled corn in thin-layers. M.S.Thesis, Purdue University, West Lafayette, Indiana.
- [48] White, G.M., Bridges, T.C., Loewer, O.J., Ross, I.J., 1978. Seed coat damage in thin layer drying of soybeans as affected by drying conditions. ASAE paper no. 3052, ASAE St Joseph MI.
- [49] Henderson, S.M., Pabis, S., 1961. Grain drying theory I: Temperature effect on drying coefficient. *Journal of Agricultural Engineering Research* 6(3): 169–174.
- [50] Chandra, P.K., Singh, R.P., 1995. Applied Numerical Methods for Food and Agricultural Engineers. CRC Press, Boca Raton, FL, 163–167.
- [51] Midilli, A., Kucuk, H., Yapar, Z., 2002. A new model for single-layer drying. *Drying Technology* 20(7):1503–1513.
- [52] Henderson, S.M., 1974. Progress in developing the thin layer drying equation. *Transaction of the ASAE* 17(6): 1167–1172.
- [53] Sharaf-Eldeen, Y.I., Blaisdell, J.L., Hamdy, M.Y., 1980. A model for ear corn drying. *Transaction of the ASAE*, 23(5): 1261–1271.
- [54] Kaseem, A.S., 1998. Comparative studies on thin layer drying models for wheat". In *13th International Congress on Agricultural Engineering*, February 2–6, Morocco.
- [55] Verma, L.R., Bucklin, R.A., Ednan, J.B., Wratten, F.T., 1985. Effects of drying air parameters on rice drying models. *Transaction of the ASAE* 28(1): 296–301.
- [56] Karathanos, V.T., 1999. Determination of water content of dried fruits by drying kinetics. *Journal of Food Engineering* 39(4): 337–344.
- [57] Kaleta, A., Górnicki, K., Winiczenko, R., Chojnacka, A., 2013. Evaluation of drying models of apple (var. Ligol) dried in a fluidized bed dryer. *Energy Conversion and Management* 67: 179–185.
- [58] Rahman, S., 1995. Food Properties Handbook. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 225–271p.
- [59] Hammond, G.P., Stapleton, A.J., 2001. Exergy analysis of the United Kingdom energy system. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers* 215 (2): 141–162.
-

Sütün Homojenizasyonunun Kefirin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi

Firuze Ergin , Gülsüm Öz , Ümit Özmen , Şener Erdal , Eray Çavana , Ahmet Küçükçetin  

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 21.05.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 25.07.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): kucukcetin@akdeniz.edu.tr (A. Küçükçetin)

☎ 0 242 310 65 69 📠 0 242 310 63 06

ÖZ

Bu çalışmada, tek veya çift kademeli dört farklı basınçta (15, 15/5, 30 ve 30/5 MPa) homojenize edilen sütlerden üretilen kefirlerin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. Kefir örnekleri 4°C'de 30 gün süreyle depolanmıştır. Kefirlerin kurumadde, kül, yağ ve protein içerikleri depolamanın 1. gününde; pH, titrasyon asitliği değerleri ile reolojik ve mikrobiyolojik özellikleri ise depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde belirlenmiştir. Ayrıca, farklı normlarda homojenize edilen sütlerde partikül boyutları belirlenmiştir. Homojenizasyon basıncı ile kademe sayısı arttıkça D[4,3] (µm) ve D[3,2] (µm) değerleri azalmış, spesifik yüzey alanı değerleri ise artmıştır. Kefir örneklerinde depolama süresi sonunda pH, viskozite, tiksotropi, kıvam katsayısı değerleri ile laktobasil, laktokok, toplam mezofilik aerob bakteri ve maya sayıları azalmıştır. Örneklerdeki en yüksek viskozite, tiksotropi, kıvam katsayısı değerleri, tek kademede 15 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneğinde, en yüksek laktobasil, laktokok ve maya sayıları homojenizasyon işlemi uygulanmayan süttten üretilen kefir örneklerinde saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Partikül boyutu, Homojenizasyon, Kefir

Effect of Homogenization of Milk on Physicochemical and Microbiological Properties of Kefir

ABSTRACT

In this study, the physicochemical and microbiological characteristics of kefir produced from homogenized milk at four different pressures (15, 15/5, 30 and 30/5 MPa) in single-stage or two-stages were determined. Kefirs were stored at 4°C for 30 days. Dry matter, ash, fat and protein contents of samples were determined on the first day of storage while pH, titratable acidity and rheological and microbiological properties of samples were determined on the 1st, 15th and 30th days of storage. Moreover, particle sizes were determined in milk homogenized at different pressures. With an increase in the homogenization pressure and stage, the D[4,3] (µm) and D[3,2] (µm) values of milk samples increased while their specific surface area values decreased. At the end of the storage period, pH, viscosity, thixotropy and consistency coefficient values, lactobacilli, lactococci, total mesophilic aerobic bacteria and yeast counts decreased in kefir samples. The highest viscosity, thixotropy and consistency coefficient values were determined in samples produced at 15 MPa in a single-stage, and the highest counts of lactobacillus, lactococcus and yeast were in samples produced with non-homogenized milk.

Keywords: Particle size, Homogenization, Kefir

GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı beslenmeye olan ilginin artmasıyla diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de fermente süt ürünleri tüketimi artmıştır. Yüzyıllardır doğallığını koruyarak günümüze kadar gelmiş sağlıklı ve lezzetli bir fermente süt ürünü olan kefir, sütte bulunan besin öğelerini bileşiminde içermektedir [1]. Yapılan çalışmalar, kefirin düzenli tüketiminin insan bağışıklık sistemini güçlendirdiğini, anti-alerjik ve anti-astimatik etki gösterdiğini, kanser riskini azalttığını, kolesterolü düşürdüğünü ve diyabet ile obeziteyi engellediğini göstermektedir [2]. Sağlıkla ilgili yararlarının yanında kefirin fiziksel özellikleri de tüketici tarafından kabul edilebilirliğini etkilemektedir [3]. Üretimde kullanılan sütün bileşimi, starter kültür çeşidi, süte uygulanan ısı işlemi ile homojenizasyon işlemi, inkübasyon sıcaklık ve süresi, soğutma ve depolanma koşulları gibi pek çok faktör kefir ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin fizikokimyasal özelliklerini etkilemektedir [4]. Söz konusu faktörlerden biri olan homojenizasyon işlemi ile, süt içerisinde emülsiyon halde bulunan ve sürekli olmayan fazı oluşturan yağ globüllerinin daha küçük parçalara bölünerek yağın daha stabil hale getirilmesi, diğer bir ifade ile emülsiyon fazındaki yağ taneciklerinin sıvı faz içerisindeki doğal sedimantasyonunun durdurulması veya yavaşlatılması sağlanmaktadır [5].

Homojenizasyon, yağ globüllerinin ürün içerisinde homojen bir şekilde dağılmasını sağlayan ve ürünlerin kalitesini doğrudan etkileyen önemli bir işlemdir. Mekanik bir kuvvet etkisiyle yağ globüllerinin birbirleriyle birleşmeyecek biçimde parçalanması ilkesine dayanan homojenizasyon işlemi, ürünün pek çok özelliğini (aroma-tat, tekstür, görünüş, yapı gibi) etkilemektedir [6]. Homojenizasyon işleminin temel amacı, ürün içindeki yağ globüllerinin boyutunu 2 mm'nin altına düşürmektir [7]. Yapılan bu çalışmada, tek kademeli (15 ve 30 MPa) ve çift kademeli (15/5 ve 30/5 MPa) olmak üzere dört farklı normda homojenize edilen sütlerden üretilen kefirlerin bazı önemli kalite özellikleri karşılaştırmalı olarak ortaya konulmuştur.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Kefir üretiminde kullanılan inek sütü Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne bağlı Sığır Çiftliği'nden, kefir danesi Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir. Kefir üretimi Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ait laboratuvarlarda gerçekleştirilmiştir.

Yöntem

Kefir Üretimi

Yapılan bu çalışmada kefir üretiminde kullanılmak üzere %2.7 yağ içeren ve toplam kurumaddesi %10.0'a standardize edilmiş sütler hazırlanmıştır. Standardize edilen ve homojenizasyon işlemi için 60°C'ye ısıtılan sütler laboratuvar tipi homojenizatör (Buffalo Series Homolab 2, H.P. Homogenizers FBF, Parma, İtalya)

kullanılarak tek veya çift kademeli olmak üzere toplam dört farklı şekilde homojenizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Homojenizasyon işlemine tabi tutulmayan sütlerden üretilen kefir örnekleri çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. Tek kademeli homojenizasyon işlemine tabi sütler 15 veya 30 MPa basınçta, çift kademeli homojenizasyon işlemine tabi sütler ikinci kademe basıncı 5 MPa'da sabit olmak üzere birinci kademede 15 veya 30 MPa basınçta homojenize edilmiştir. Homojenize edilen ve edilmeyen sütler, 85°C'de 10 dakika ısıtılma işlemine tabi tutulmuş ve ısıtılma işlemi sonrasında 25°C'ye soğutulan süte %3 oranında kefir danesi ekilip 25°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemine tabi ürünlerin pH'sı 4.6'ya ulaşınca son verilmiştir. İnkübasyon sonucunda kefir danelerinden arındırıldıktan sonra elde edilen kefir, 200 mL'lik kapaklı plastik ambalajlara doldurulmuş ve 4°C'de 30 gün boyunca depolanmıştır. Depolanmanın 1., 15. ve 30. günlerinde örneklerde fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

Analizler

Üretimlerde kullanılan sütlerin toplam kurumadde içeriği (%) TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda verilen gravimetrik yöntemle [7], yağ içeriği (%) Gerber metoduna [8] göre, kül içeriği (%) ise gravimetrik yöntemle [10] tespit edilmiştir. Süt örneklerinin pH değerleri Orion 2 Star pH metre (Thermo Scientific, Bremen, Almanya) kullanılarak, protein içeriği (%) Kjeldahl metoduna göre [10], titrasyon asitliği (%) TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda belirtilen Soxhlet-Henkel yöntemi ile yapılmış olup sonuçlar % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır [8]. Partikül boyutu analizi Jensen ve ark. [11]'nin belirttiği metoda göre lazer kırınımı prensibiyle çalışan Malvern Mastersizer 2000S (Malvern Instruments Ltd, Worcs, İngiltere) kullanılarak yapılmıştır. Yapılan partikül analizi sonucunda süt örneklerinin hacim ağırlıklı ortalama yarı çapları $D[4,3]$ ($\sum n_i \cdot d_i^4 / \sum n_i \cdot d_i^3$; n_i , d_i çapındaki partikül sayısı), yüzey alanı ağırlıklı ortalama yarı çapları $D[3,2]$ ($\sum n_i \cdot d_i^3 / \sum n_i \cdot d_i^2$) ve spesifik yüzey alanları ($6 \cdot \phi / D[3,2]$; ϕ , süt yağının hacim oranı) tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinin kurumadde miktarı TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda verilen yöntemle [8], yağ içeriği (%) Gerber yöntemine göre [9], kül miktarı gravimetrik yöntem kullanılarak [10], protein içeriği (%) Kjeldahl yöntemine [10] göre belirlenmiş ve örneklerin titrasyon asitliği değerleri % laktik asidi cinsinden hesaplanmıştır [10]. Kefir örneklerinin pH değeri Orion 2 Star (Thermo Scientific, Singapur) marka pH metre kullanılarak tespit edilmiştir. Örneklere ait reolojik parametreler Tratnik ve ark. [12]'nin belirttiği yöntemle göre Brookfield R/S plus reometre kullanılarak (Brookfield, Middleboro, MA, ABD) yapılmıştır. Ölçümlerde "double gap concentric cylinder geometry" (DG 3) kullanılmıştır. Ölçüm sırasında su banyosu (Brookfield TC-502) kullanılarak örneklerin sıcaklığı 10°C'de sabit tutulmuştur. Kontrollü artan ve azalan kayma hızında örneklerin kayma gerilimleri ölçülmüştür. Kayma hızı 0.1'den 300 1/s artırılarak 5 dakika çıkış ve 300'den 0.1 1/s azaltılarak 5 dakika iniş eğrileri belirlenmiştir. Örneklerin reolojik özellikleri, çıkış ve iniş eğrilerine ait veriler kullanılarak, üslü yasa modeline göre Rheo3000 (Rheotec

Messtechnik GmbH, Berlin, Almanya) yazılımı kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerdeki tiksotropi iniş ve çıkış eğrilerinin arasında kalan alan Rheo3000 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Çıkış viskozite/kayma hızı eğrisindeki 50 1/s kayma hızındaki değer, Köksoy ve Kılıç [13]'a göre örneklerin görünür viskozite değerleri olarak alınmıştır. Kefir örneklerinde mikrobiyolojik ekimler yapılmadan önce 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisi kullanılarak aseptik şartlar altında uygun desimal seri dilüsyonlar hazırlanmıştır [14]. Kefir örneklerinde maya sayımı için Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) Agar besi ortamı [15], toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) besi ortamı [16] laktobasil sayımı için De Man Rogosa Sharp (MRS) Agar besi ortamı [17] ve laktokok sayımı için M17 Agar besi ortamı [17] kullanılmıştır.

Kefir örneklerinin kurumadde, protein, kül ve yağ içerikleri depolamanın ilk gününde; pH, titrasyon asitliği değerleri ile reolojik ve mikrobiyolojik özellikleri ise depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde belirlenmiştir. Araştırma 2 tekerrürlü yapılmış olup, analizler paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçları varyans analizine tabi tutulmuş ve farklı bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır [18].

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kefir üretiminde kullanılan sütlerin ortalama kurumadde, toplam protein, yağ, kül, titrasyon asitliği (% laktik asit) ve pH değerleri sırasıyla 11.49 ± 0.05 , 3.31 ± 0.01 , 2.80 ± 0.00 , 0.65 ± 0.01 , 0.17 ± 0.02 ve 6.73 ± 0.03 olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'ne göre inek sütlerinde protein miktarının en az %2.8 ve titrasyon asitliği değerinin laktik asit cinsinden % 0.135-0.20 arasında olması gerektiği bildirilmiştir [19]. Elde edilen sonuçlara göre kefir üretiminde kullanılan sütlerde belirlenen değerlerin, standarta belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

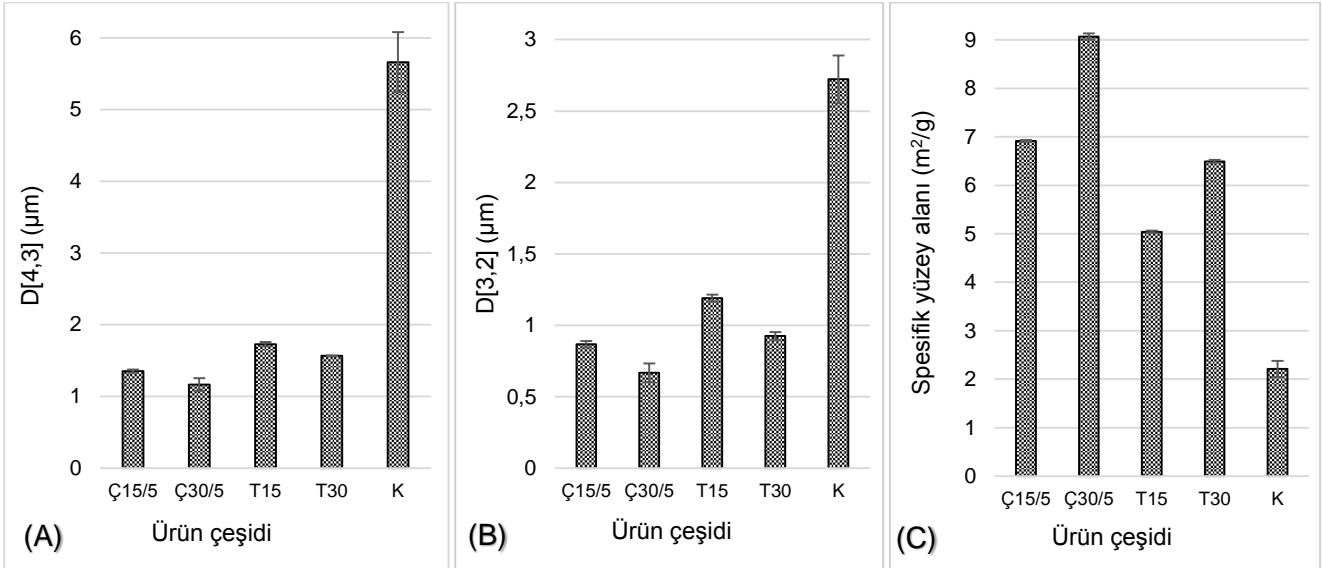
Sütlerde homojenizasyon işlemi sonrası yapılan yağ globülü partikül boyutu analiz sonuçları Şekil 1'de verilmiştir. Sütlerin D[4,3] (μm), D[3,2] (μm) ve spesifik yüzey alanı (m^2/g) değerlerinin sırasıyla 1.17 ± 0.09 μm ile 5.66 ± 0.42 μm , 0.67 ± 0.07 μm ile 2.72 ± 0.17 μm ve 2.22 ± 0.17 m^2/g ile 9.07 ± 0.07 m^2/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Sütlere uygulanan homojenizasyon basıncı ile kademe sayısı arttıkça D[4,3] (μm) ve D[3,2] (μm) değerlerinin azaldığı, spesifik yüzey alanı değerlerinin ise arttığı saptanmıştır. Nguyen ve ark. [20] yaptıkları çalışmada, homojenizasyon işlemi uygulamadıkları ve 8 ile 16 MPa basınç uygulayarak homojenize ettikleri sütlerin D[4,3] değerlerinin sırasıyla 5.3 ± 0.1 , 1.6 ± 0.0 ve 1.0 ± 0.1 μm olduğunu ve homojenizasyon basıncındaki artışın yağ globül boyutunu azalttığını tespit etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, homojenizasyon işlemi uygulanmayan ve 15 ile 30 MPa basınç uygulanarak homojenize edilen %2 oranında yağ içeren sütlerin D[3,2] değerlerinin sırasıyla 2.59, 1.64 ve 0.51 μm olduğu ve homojenizasyon basıncının örneklerin D[4,3], D[3,2] ve spesifik yüzey

alanı değerleri üzerine $P < 0.001$ düzeyinde etkili olduğu saptanmıştır [22]. Huppertz ve ark. [21] homojenize edilmemiş sütün ortalama spesifik yüzey alanının 1.9 ile 2.5 m^2/g arasında değiştiğini ve homojenizasyon işleminin spesifik yüzey alanını arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışmada tespit edilen değerlerin konu ile ilgili diğer çalışmalarla benzer olduğu belirlenmiştir [20,22].

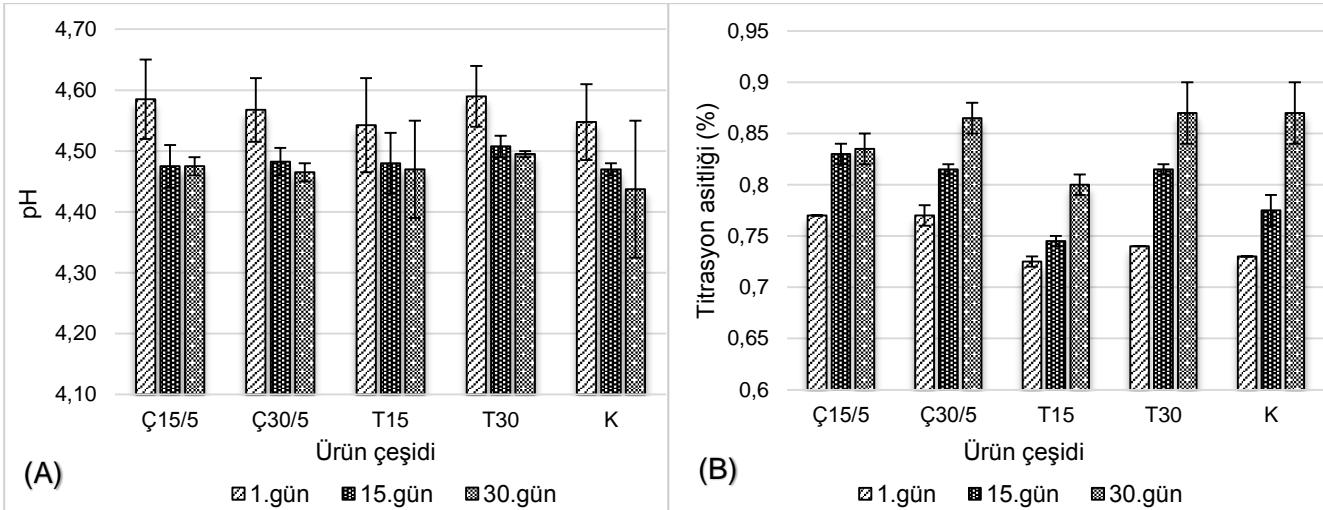
Kefir örneklerinin ortalama toplam kurumadde, protein, yağ ve kül değerleri sırasıyla 10.65 ± 0.24 , 3.32 ± 0.08 , 2.78 ± 0.15 ve 0.67 ± 0.03 olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre kefirin protein miktarının en az %2.7, yağ oranının ise en fazla %10 olması gerekmektedir [23]. Elde edilen sonuçlara göre üretilen kefirlerde tespit edilen değerlerin, söz konusu tebliğde belirtilen değerler ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Şekil 2 (A)'da görüldüğü üzere 30 günlük depolama süresince üç farklı zamanda yapılan pH analizlerinde kefir örneklerinde belirlenen değerlerin 1. gün sonunda 4.54-4.59, 15. gün sonunda 4.47-4.51 ve 30. gün sonunda 4.44-4.50 arasında değiştiği saptanmıştır. Süte uygulanan farklı homojenizasyon işlemlerinin kefir örneklerinin pH değişimi üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P > 0.05$) belirlenirken, depolama süresince örneklere ait pH değerlerinin azaldığı ve söz konusu azalmanın istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresince örneklerde görülen pH değerlerindeki azalmanın kefir üzerine yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olduğu belirlenmiştir [24, 25].

Kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin depolama süresince 0.73 - 0.87 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 2B). Depolamanın 1. gününde en düşük titrasyon asitliği değerini tek kademe 15 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği ile homojenizasyon işlemi uygulanmayan sütlardan üretilen kefir örneği alırken, depolamanın 30. gününde en düşük titrasyon asitliği değerini tek kademe 15 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği almıştır. Yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre 15 MPa basınçta homojenizasyon işlemi uygulanan sütlerden üretilen kefir örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değerleri 0.79 ; 30 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değerleri ise 0.81 olarak belirlenmiş ve aradaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0.05$) saptanmıştır. Süte uygulanan homojenizasyon kademesindeki ve basıncındaki artışın kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerini arttırdığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). Söz konusu durumun homojenizasyon işleminin fermente süt ürünlerinde mikrobiyal gelişimi etkilemesinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir [26]. Buna karşın, üretiminde kullanılan süte uygulanan homojenizasyon işleminin yoğurdun özellikleri üzerine etkisini belirlemeye yönelik bir çalışmada da homojenizasyon işleminin yoğurtta depolama süresince sonradan oluşan asitlik gelişimini engellediği de belirtilmiştir [27].



Şekil 1. Farklı homojenizasyon basınçlarına tabi tutulan sütlerin ortalama (A): D[4,3] (µm), (B): D[3,2] (µm) ve (C): spesifik yüzey alanı (m²/g) değerleri [Ç15/5: İlk kademedede 15 MPa, ikinci kademedede 5 MPa basınçta homojenize edilen süt, Ç30/5: İlk kademedede 30 MPa, ikinci kademedede 5 MPa basınçta homojenize edilen süt, T15: Tek kademedede 15 MPa basınçta homojenize edilen süt, T30: Tek kademedede 30 MPa basınçta homojenize edilen süt, K: Homojenizasyon işlemi uygulanmayan süt. Her bir bar, farklı homojenizasyon normlarında homojenize edilen ve homojenize edilmeyen sütleri ait ortalama D[4,3] (µm), D[3,2] (µm) ve spesifik yüzey alanı (m²/g) değerlerini; hata çubukları standart sapma değerlerini göstermektedir.]



Şekil 2. Kefir örneklerine ait (A): pH ve (B): titrasyon asitliği değerleri [Ç15/5: İlk kademedede 15 MPa, ikinci kademedede 5 MPa basınçta homojenize edilen sütten üretilen kefir örneği, Ç30/5: İlk kademedede 30 MPa, ikinci kademedede 5 MPa basınçta homojenize edilen sütten üretilen kefir örneği, T15: Tek kademedede 15 MPa basınçta homojenize edilen sütten üretilen kefir örneği, T30: Tek kademedede 30 MPa basınçta homojenize edilen sütten üretilen kefir örneği, K: Homojenizasyon işlemi uygulanmayan sütten üretilen kefir örneği. Her bir bar, kefir örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama pH ve titrasyon asitliği değerlerini; hata çubukları standart sapma değerlerini göstermektedir.]

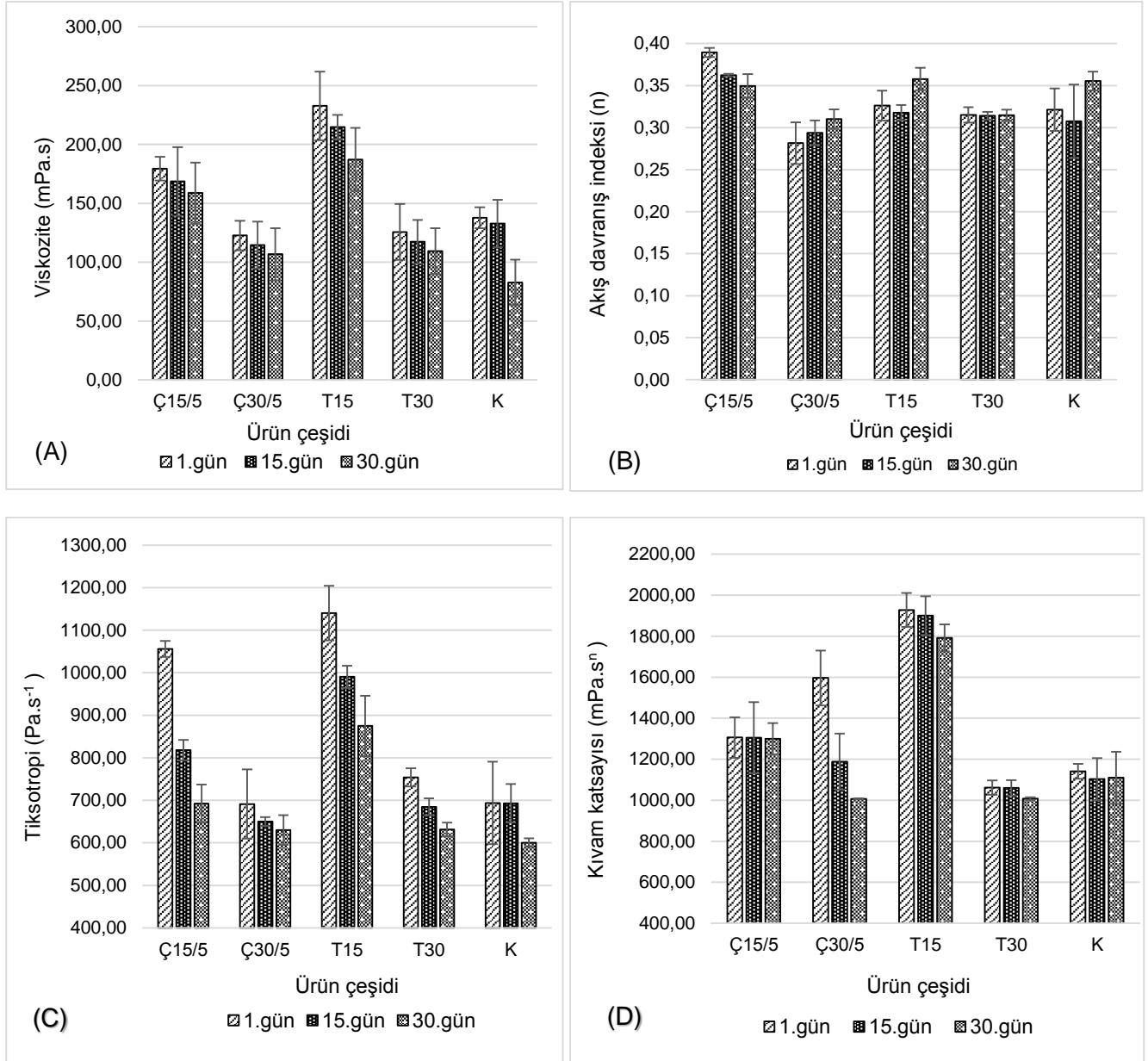
Şekil 3'de görüldüğü üzere kefir örneklerine ait viskozite, tiksotropi ve kıvam katsayısı değerlerinin sırasıyla 82.80 ile 232.80 mPa.s, 600.51 ile 1140.06 Pa.s⁻¹ ve 1006.50 ile 1927.90 mPa.sⁿ arasında değiştiği belirlenmiştir. Akış davranış indeksi, akışkanların Newtoniyen akış davranışa yönelik eğilimini gösteren bir parametredir [28]. Çalışmamızda, kefir örneklerinin akış davranış indeksi (n) değerlerinin 0.28 ile 0.39 arasında değiştiği belirlenmiş, dolayısıyla da üretilen kefir örneklerinin Newtoniyen olmayan (n<1) psödoplastik akış davranışı gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Kefir örneklerinin reolojik ölçümlerine ait çıkış ve iniş eğrilerindeki kayma gerilimi ve kayma hızı değerlerine üslü yasa modeli uygulanmış ve model için elde edilen regresyon

katsayıları 0.91 ile 0.97 arasında değişkenlik göstermiştir. Ölçüm sırasında kefir örneklerine uygulanan kayma hızının kayma gerilimi ile doğru orantılı olmayıp, kayma geriliminin 1/n'ci üssüyle orantılı olması, kefir örneklerinin eşik kayma gerilimine sahip olmaması ve diğer modellere göre daha yüksek regresyon katsayılarının elde edilmesinden ötürü kefir örneklerinin üslü yasa modeline uyan akış davranışı gösterdiği tespit edilmiştir.

Reolojik ölçümlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda kefir örneklerinin viskozite, akış davranış indeksi, tiksotropi ve kıvam katsayısı değerleri üzerine incelenen ana varyasyon kaynaklarından

homojenizasyon basıncının $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu saptanırken, diğer bir ana varyasyon kaynağı olan homojenizasyon kademesinin kefir örneklerinin viskozite değerleri üzerine $P<0.05$ önem düzeyinde, akış davranış indeksi, tiksotropi ile kıvam katsayısı değerleri

üzerine ise $P<0.001$ önem düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin viskozite ($P>0.05$), tiksotropi ($P<0.001$) ve kıvam katsayısı ($P<0.05$) değerlerinin depolama süresince azaldığı saptanmıştır.



Şekil 3. Kefir örneklerine ait (A): viskozite, (B): akış davranış indeksi, (C): tiksotropi, (D): kıvam katsayısı değerleri [Ç15/5: İlk kademe 15 MPa, ikinci kademe 5 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, Ç30/5: İlk kademe 30 MPa, ikinci kademe 5 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, T15: Tek kademe 15 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, T30: Tek kademe 30 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, K: Homojenizasyon işlemi uygulanmayan süttten üretilen kefir örneği. Her bir bar, kefir örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama viskozite, akış davranış indeksi, tiksotropi ve kıvam katsayısı değerlerini; hata çubukları standart sapma değerlerini göstermektedir.]

Süte uygulanan homojenizasyon işlemi ile sütte bulunan yağ globüllerinin yüzey alanı artmakta ve süt yağı globül membranı, miktar olarak yeni oluşan yüzeyi kaplamakta yetersiz kalmaktadır. Parçalanmış yağ globüllerinin süt ortamındaki stabilizasyonu, homojenizasyon sırasında kazein misellerinin parçalanmasıyla meydana gelen kazein ve serum proteinlerinden oluşan yeni ve daha kalın bir tabaka ile sağlanmaktadır [29]. Yağ

globüllerinin süt içerisinde homojenizasyonu ile süt daha stabil hale gelmekte, süttün hidrofilik özellikleri iyileşmekte, reolojik özellikleri gelişmekte ve viskozitesi artmaktadır [22]. Tek kademe farklı homojenizasyon basınçları (15, 17, 19 ve 21 MPa) uygulanarak homojenize edilen süttten üretilen kefir örneklerinin reolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada; süte uygulanan homojenizasyon basıncının 19 MPa'ya kadar

arttırılmasıyla birlikte ürünün elastik özelliğini gösteren depo modülü (G'), viskoz özelliğini gösteren kayıp modülü (G'') ve kompleks viskozite (η) değerlerinin arttığı; ancak 21 MPa basınçta homojenize edilen sütte üretilen kefir örneklerinin G' , G'' ve η değerlerinin 15 MPa basınçta homojenize edilen sütte üretilen kefir örneklerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Söz konusu durumun, sütün homojenizasyonu sırasında uygulanan yüksek basıncın yağ globüllerinin süt içinde aşırı dağılmasından ve dolayısıyla üründe kuvvetli bir yapının oluşması için ortamda bulunması gereken serbest kazein miktarının azalmasından kaynaklandığı belirtilmiştir [29]. Çalışmamızda, tek kademede 15 MPa basınçta homojenize edilen sütte üretilen kefir örneğine ait viskozite, tiksotropi ve kıvam katsayısı değerlerinin 30 MPa basınçta homojenize edilen sütlerden üretilen kefir örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tratnik ve ark. [12] tarafından yapılan bir çalışmada inek ve keçi sütüne farklı oranlarda peyniraltı suyu konsantresi ve inülin eklenerek üretilen kefir örneklerinin viskozite değerlerinin 42.20 ile 166.60 mPa.s, kıvam katsayısı değerlerinin 702 ile 4756 mPa.sⁿ ve akış davranış indeksinin ise 0.27 ile 0.63 arasında değiştiği saptanmıştır. Söz konusu çalışmada, kefir örneklerine ait viskozite ve kıvam katsayısı değerlerinin depolama süresince azaldığı tespit edilirken, akış davranış indeksi değerleri ile depolama süresi arasında herhangi bir korelasyon belirlenmemiştir. Ayrıca çalışmada tüm kefir örneklerinin üslü yasa modeline uyan akış davranışı gösterdiği ve regresyon katsayılarının 0.96 ile 0.99 arasında değiştiği saptanmıştır. Yapılan bir başka çalışmada, değişik oranlarda (%0, 1.5 ve 3.5) yağ içeren sütlere farklı miktarlarda (%1.0, 3.0 ve 7.0) kefir danesi aşılanarak üretilen kefir örneklerinin reolojik özellikleri incelenmiştir. Kefir örneklerinin kıvam katsayısı ve akış davranış indeksi değerlerinin sırasıyla 21 ile 545 mPa.sⁿ ve 0.56 ile 0.98 arasında değiştiği, depolama süresince tüm örneklerde kıvam katsayısı değerlerinin azaldığı saptanmıştır. Çalışmada tüm kefir örneklerinin psödoplastik ve üslü yasa modeline uyan akış davranışı gösterdiği belirlenmiştir. Depolama süresince kefir örneklerinin kıvam katsayısı ve viskozitelerinde meydana gelen azalmanın, polisakkarit üretiminden sorumlu laktobasilin sayısındaki düşüş ile birlikte kefirin hidrolizinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir. Bununla beraber, depolama süresince kefirde bulunan mikroorganizmaların proteolitik aktivitelerinin sonucunda süt proteinlerinin üç boyutlu yapısının zayıflamasına bağlı olarak kefir örneklerinin viskozitesinin azalabileceği belirtilmiştir [30]. Çalışmamızda kefir örneklerinin reolojik özelliklerine ait değerler, genel olarak yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermekle birlikte, ortaya çıkan bazı uyumsuzlukların kullanılan hammadde ve kefir danesi ile üretim yöntemi farklılıklarından kaynaklanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda depolamanın ilk gününde kefir örneklerindeki laktobasil, laktokok, toplam mezofilik aerobik bakteri ve maya sayılarının sırasıyla 8.48-8.76, 8.72-8.91, 8.58-8.93 ve 5.48-5.94 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır. Depolamanın 30. gününde aynı örneklerdeki laktobasil, laktokok, toplam mezofilik aerobik bakteri ve maya sayıları

sırasıyla 6.85-7.58, 6.99-7.53, 7.13-7.85 ve 5.25-5.48 log kob/g arasında değişmiştir (Şekil 4).

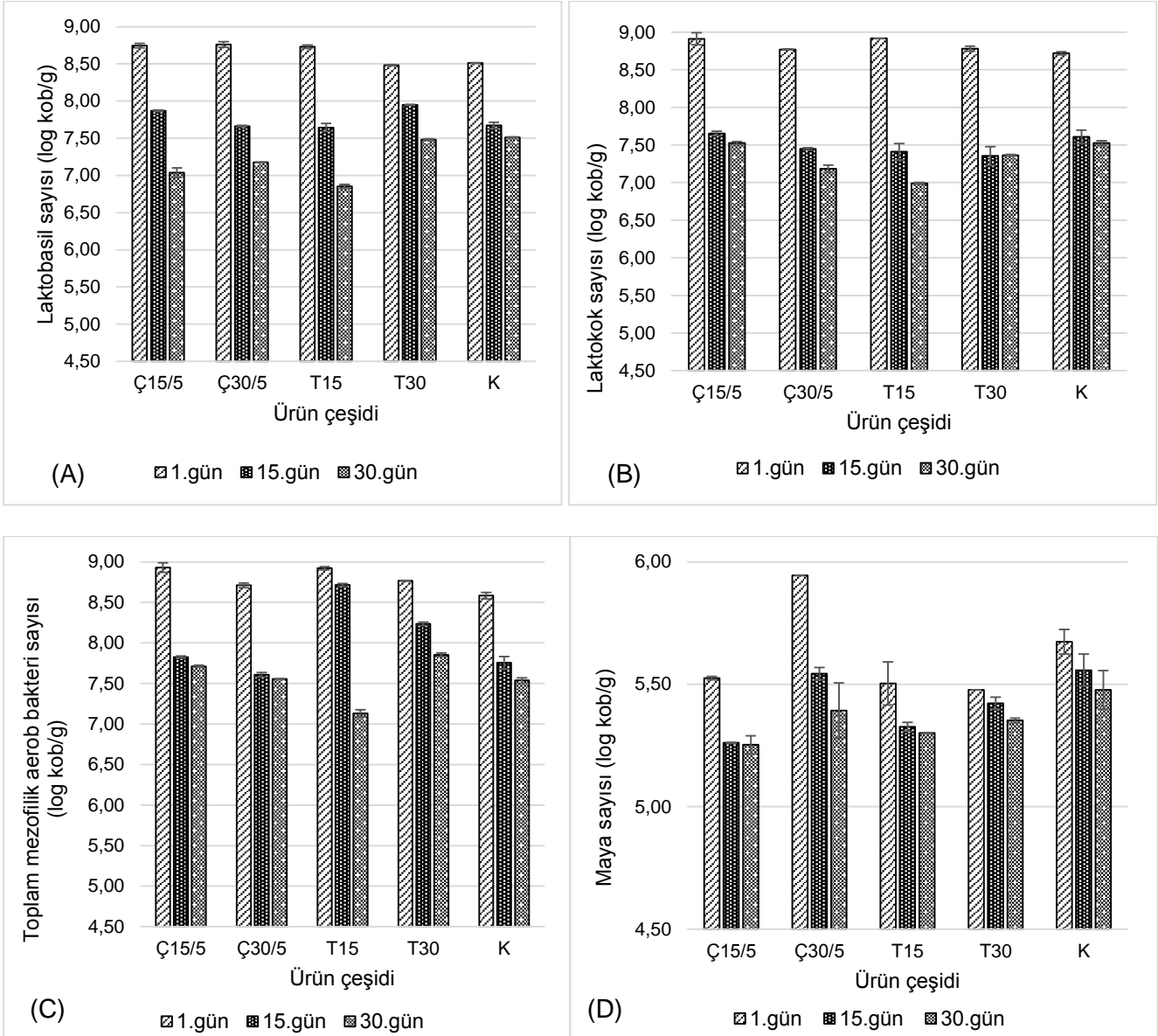
Mikrobiyolojik analizlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından homojenizasyon kademe sayısının, kefir örneklerinde belirlenen toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı üzerine $P<0.001$ önem düzeyinde, laktokok ve maya sayıları üzerine $P<0.01$ önem düzeyinde etkisi olduğu; ancak laktobasil sayısı üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Süte uygulanan homojenizasyon basıncının kefir örneklerinde belirlenen laktobasil ve maya sayıları üzerine $P<0.001$ düzeyinde, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı üzerine $P<0.01$ önem düzeyinde ve laktokok sayısı üzerine $P<0.05$ önem düzeyinde etkili olduğu saptanmıştır. Depolama zamanının kefir örneklerinde belirlenen mikroorganizmaların sayım sonuçları üzerine etkisinin $P<0.001$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde kefirin toplam spesifik mikroorganizma sayısının en az 10^7 kob/mL, maya sayısının en az 10^4 kob/mL düzeylerinde olması gerektiği belirtilmektedir [23]. Çalışmamızda üretilen kefir örneklerinin 30 günlük depolama süresince maya sayım sonuçlarının söz konusu Tebliğ'de belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Süte farklı oranlarda (%1 ve %5) kefir danesi aşılanarak üretilen kefir örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, başlangıçta 10^8 kob/mL olan laktobasil ve laktokok sayılarının depolamanın 14. gününe kadar 1.5 logaritmik birim azalma gösterdiği ve sonrasında 28 günlük depolama süresince sabit kaldığı; maya sayısının ise depolamanın başlangıcında 10^5 kob/mL düzeyinde olduğu ve depolama süresince değişmediği tespit edilmiştir [17]. Kefir üretiminde kullanılan inek ve keçi sütlerinden oluşan karışıma farklı yağ ikame maddelerinin ilavesinin üretilen kefirin mikrobiyal özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, kefir örneklerindeki laktobasil sayısının 12×10^7 - 82×10^7 kob/mL, maya sayısının 33×10^1 - 60×10^3 kob/mL ve toplam bakteri sayısının ise 8×10^7 - 32×10^8 arasında değiştiği saptanmıştır [31]. Kök-Taş ve ark. [32] kefirin kalite karakteristikleri üzerine fermantasyon parametrelerinin etkisini inceledikleri çalışmaları sonucunda, 21 günlük depolama süresince kefir danesi kullanılarak üretilen kefir örneklerindeki laktobasil, laktokok ve maya sayılarının sırasıyla 8.0-9.2, 8.0-9.2 ve 5.1-5.3 log kob/mL arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Farklı yağ oranı ve starter kültür çeşidinin kefirin nitelikleri üzerine etkisinin incelendiği bir başka çalışmada ise hem kefir danesi hem ticari kefir starter kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinde laktobasil, laktokok ve maya sayılarının sırasıyla 6.4-9.8, 5.9-9.6 ve 6.5-10.2 log kob/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada kefir örneklerinin mikroorganizma sayılarının genel olarak depolama süresince azalma gösterdiği tespit edilmiştir [33]. Çalışmamızda tespit edilen laktobasil ve laktokok sayılarının Irigoyen ve ark. [17], Kezer [31] ve Yıldız [33], tarafından yapılan çalışmalarda belirtilen değerlerle

benzerlik gösterdiği, Kök-Taş ve ark. [32]'nin bulduğu değerlerden ise düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda kefir örneklerinde belirlenen maya sayılarının Irigoyen ve ark. [17], Kezer [31], ve Kök-Taş ve ark. [32] tarafından belirlenen değerler ile benzerlik gösterdiği, Yıldız [33]'in değerlerinden ise düşük olduğu

belirlenmiştir. Kefir örneklerinde belirlenen bakteri ve maya sayılarındaki farklılıkların üretim yöntemleri ve üretimde kullanılan kefir danelerinin içermiş olduğu mikroorganizma farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.



Şekil 4. Kefir örneklerine ait (A): laktobasil sayısı, (B): laktokok sayısı, (C): toplam mezofilik aerob bakteri sayısı, (D): maya sayısı [Ç15/5: İlk kademede 15 MPa, ikinci kademede 5 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, Ç30/5: İlk kademede 30 MPa, ikinci kademede 5 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, T15: Tek kademede 15 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, T30: Tek kademede 30 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen kefir örneği, K: Homojenizasyon işlemi uygulanmayan süttten üretilen kefir örneği. Her bir bar, kefir örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama laktobasil, laktokok, toplam mezofilik aerob bakterileri ve maya sayılarını; hata çubukları standart sapma değerlerini göstermektedir.]

Yüksek dinamik basınç (15-70 MPa) uygulanan farklı oranlarda yağ (%2-6) ve yağsız süt kurumaddesi (%2-8) içeren sütlere üretilen yoğurtlarda *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısı 60 günlük depolama süresinin sonunda incelenmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayılarındaki azalmanın sırasıyla 0.16-1.10 ve 0.11-1.00 log kob/mL arasında değiştiği

saptanmıştır. Süte uygulanan homojenizasyon basıncındaki artış ile birlikte sütlere yağ ve yağsız kurumaddesi oranlarına bağlı olarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* canlılıklarının olumsuz etkilendiği belirlenmiştir. En az oranda yağ ve yağsız süt kurumaddesi içeren sütlere uygulanan homojenizasyon basıncı artışının starter kültürlerin sayılarında azalmaya neden olduğu, en yüksek oranda yağ ve yağsız süt

kurumaddesi içeren sütlere uygulanan homojenizasyon basıncı artışının ise *S. thermophilus* sayısındaki azalmayı engellediği tespit edilmiştir [27]. Yüksek basınçta (200 ve 300 MPa) homojenize edilen sütlerle üretilen yoğurtlardaki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayısının incelendiği başka bir çalışma sonucunda, depolamanın 14. gününde 200 MPa basınçta homojenize edilen sütlerden üretilen yoğurt örneklerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısında yaklaşık 2.5 log kob/g azalma olduğu, homojenizasyon işlemi uygulanmayan sütlerden üretilen yoğurt örneklerinde ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısındaki azalmanın yaklaşık 0.3 log kob/g olduğu saptanmıştır. Söz konusu durumun 200 MPa basınçta homojenize edilen sütlerden üretilen yoğurt örneklerinde starter kültürler için toksik etki gösterebilecek pirüvat birikiminden kaynaklanabileceği belirtilmiştir [34]. Çalışmamızda, homojenizasyon işlemi uygulanmayan sütten üretilen kefir örneklerindeki laktobasil, laktokok ve maya sayılarının homojenize edilen sütten üretilen kefir örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada, süte uygulanan farklı normlardaki homojenizasyon işlemlerinin kefir örneklerinin pH değişimi üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Tüm kefir örneklerinin üslü yasa modeline uyan akış davranışı gösterdiği ve en yüksek viskozite, tiksotropi, kıvam katsayısı değerlerinin, tek kademede 15 MPa basınçta homojenize edilen sütten üretilen kefir örneğine ait olduğu tespit edilmiştir. Homojenizasyon işlemi uygulanmayan sütten üretilen kefir örneklerindeki laktobasil, laktokok ve maya sayılarının homojenize edilen sütten üretilen kefir örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Depolama süresince kefir örneklerindeki laktobasil, laktokok, toplam mezofilik aerob bakteri ve maya sayılarının azaldığı saptanmıştır. Tüm bu bilgiler ışığında, üretimlerinde kullanılacak sütlere tek ve çift kademeli olmak üzere farklı homojenizasyon basınçlarının uygulanmasının kefir örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Kefir üretiminde kullanılacak süte tek kademede ve 15 MPa basınçta homojenizasyon işlemi uygulanması, kefirin yapı ve kıvam özelliklerini olumlu yönde geliştirmiştir. Süte uygulanan homojenizasyon işleminin, fermente ürünlerin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi, üretimde kullanılan sütün özelliklerine (elde edildiği hayvan türü, kurumadde ve yağ oranı vb.) ve homojenizasyon sırasında uygulanan farklı normlara (homojenizasyon basıncı, kademesi, sıcaklığı vb.) bağlı olarak değişebilmektedir. Kefirin kalite özelliklerinin geliştirilmesi için yapılacak çalışmalarda üretiminde kullanılacak sütün özelliklerinin ve süte uygulanacak homojenizasyon işlemi normlarının birlikte ele alınması gerektiği sonucuna varılmıştır.



KAYNAKLAR

[1] Ertekin, B., 2008. Yağ İkame Maddelerinin Kullanımının Kefirin Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi.

- Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demiral Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 89 s.
- [2] Kim, D.H., Kim, H., Jeong, D., Kang, B., Chon, J.V., Kim, H.S., Song, K.Y., Seo, K.H., 2017. Kefir alleviates obesity and hepatic steatosis in high-fat diet-fed mice by modulation of gut microbiota and mycobiota: targeted and untargeted community analysis with correlation of biomarkers. *Journal of Nutritional Biochemistry* 44: 35-43.
- [3] Yovanoudi, M., Dimitreli, G., Raphaelides, S.N., Antoniou, K.D. 2013. Flow behavior studies of kefir type systems. *Journal of Food Engineering* 118: 41-48.
- [4] Bensmira, M., Jiang, B., 2010. Effect of some operating variables on the microstructure and physical properties of a novel kefir formulation. *Journal of Food Engineering* 108: 579-584.
- [5] Metin, M., 2009. Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniversitesi Basım Evi. 127, 172-176, 552 ss Bornova, İzmir.
- [6] Biasutti, M., Venir, E., Marino, M., Maifreni, M., Innocente, N., 2013. Effects of high pressure homogenisation of ice cream mix on the physical and structural properties of ice cream. *International Dairy Journal* 32(1): 40-45.
- [7] Tamaçay Özünlü, B.T., Koçak, C. 2010. Sütte farklı homojenizasyon basınçları uygulamanın ayran kalitesine etkisi. *Gıda* 35(3): 189-195.
- [8] Anonim, 1994. TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 14 s.
- [9] Anonim, 1995. TS 8189 Sütte Yağ Tayini-Gerber Metodu (Rutin Metod) Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 10 s.
- [10] Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A., 1993. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 252, Erzurum.
- [11] Jensen, S., Rolln, C., Ipsen, R. 2010. Stabilisation of acidified skimmed milk with hm pectin. *Food Hydrocolloids* 24: 291-299.
- [12] Tratnik, L., Bozanic, R., Herceg, Z., Drgalic, I. 2006. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *International Journal of Dairy Technology* 59: 40-46.
- [13] Köksoy, A., Kılıç, M. 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food Hydrocolloids* 18: 593-600.
- [14] Anonymous, 2001. Milk and milk products-general guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination. *International Dairy Federation Standard*, Belgium, 122: 12 p.
- [15] Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Cilliers, A., Britz, T.J., 2005. Impact of preservation and different packaging conditions on the microbial community and activity of kefir grains. *Food Microbiology* 22: 337-344.
- [16] Mainville, I., Montpetit, D., Durand, N., Farnworth, E.R., 2001. Deactivating the bacteria and yeast in kefir using heat treatment, irradiation and high pressure. *International Dairy Journal* 11: 45-49.
- [17] Iriyogen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibañez, F.C., 2005. Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry* 90: 613-620.

- [18] Düzgüneş, O., Kesici, T. Kavuncu, O. Gürbüz, F., 1987. Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik metodları-II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1021, 381 s., Ankara.
- [19] Anonim, 2006. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, No: 2006/38.
- [20] Nguyen, H.T., Ong, L., Kentish S.E., Gras, S.L., 2015. Homogenisation improves the microstructure, syneresis and rheological properties of buffalo yoghurt. *International Dairy Journal* 46: 78-87.
- [21] Huppertz, T., Fox, P.F., de Kruif, K.G., Kelly, A.L., 2006. High pressure-induced changes in bovine milk proteins: A review. *Biochimica et Biophysica Acta* 1764: 593-598.
- [22] Yalçın, S., 2016. Homojenizasyon ve Isıl İşlem Uygulamalarının Farklı Oranlarda Yağ İçeren Sütlerden Üretilen Ayranın Fizikokimyasal Ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 67 s.
- [23] Anonim, 2009. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, No: 2009/25.
- [24] Öner, Z., Karahan, A.G., Çakmakçı, M.L. 2010. Effects of different milk types and starter cultures on kefir. *Gıda* 35(3): 177-182.
- [25] Songun, E.G., 2016. İnülin Takviyesi ile Üretilmiş İnek-Keçi Sütü Kefirinin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 65 s.
- [26] Patrignani, F., Lucci, L., Lanciotti, R., Vallicelli, M., Maina Mathara, J., Holzappel, W.H., Guerzoni, M.E., 2007. Effect of high-pressure homogenization, nonfat milk solids, and milkfat on the technological performance of a functional strain for the production of probiotic fermented milks. *Journal of Dairy Science* 90: 4513-4523.
- [27] Lanciotti, R., Vannini, L., Pittia, P., Guerzoni, M.E., 2004. Suitability of high-dynamic-pressure-treated milk for the production of yoghurt. *Food Microbiology* 21: 753-760.
- [28] Dimitreli, G., Gregoriou, E.A., Kalantzidis, G., Antaniou, K.D., 2013. Rheological properties of kefir as affected by heat treatment and whey protein addition. *Journal of Texture Studies* 1-6.
- [29] Bensmira, M., Nsabimana, C., Jiang, B., 2010. Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of Kefir. *LWT-Food Science and Technology* 43: 1180-1184.
- [30] Magra, T.I., Antoniou, K.D., Psomas, E.I., 2012. Effect of milk fat, kefir grain inoculum and storage time on the flow properties and microbiological characteristics of kefir. *Journal of Texture Studies* 1-10.
- [31] Kezer, G., 2013. İnek ve Keçi Sütü Karışımından Yapılan Kefirlerin Fizikokimyasal, Mikrobiyal ve Duyusal özellikleri Üzerine Yağ İkame Maddelerinin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 73 s.
- [32] Kök-Taş T., Seydim, A.C., Özer, B., Güzel-Seydim, Z.B., 2013. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *Journal of Dairy Science* 96(2): 780-789.
- [33] Yıldız, F., 2009. Farklı Yağ Oranlarının ve Farklı Starter Kültürlerin Kefirin Nitelikleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 200 s.
- [34] Serra, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., Ferragut, V., 2009. Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal* 19: 100-106.

Organik ve Konvansiyonel Fındıkların (*Corylus avellana* L.) Bazı Fiziksel Özellikleri

Hasan Karaosmanoğlu¹ , N. Şule Üstün² ¹Giresun Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Fındık Ekspertiği Programı, Giresun²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun

Geliş Tarihi (Received): 21.05.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 25.07.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): hasan.karaosmanoglu@giresun.edu.tr (H. Karaosmanoğlu)

☎ 0 454 310 15 04 📠 0 454 216 89 73

ÖZ

Son yıllarda bilimsel çalışmalar ışığında beslenme-sağlık ilişkisi açık bir şekilde ortaya koyulmuştur. Bunun neticesinde tüketicilerde daha sağlıklı gıda arayışı doğmuş ve bu talebin karşılanması için organik (ekolojik) tarım ve organik gıda uygulamaları ortaya çıkmıştır. Organik fındık tarımı sınırlı üretimin yanında birçok organik üründe olduğu gibi artış eğilimindedir. Bu çalışmada organik ve konvansiyonel fındık üretiminin yapıldığı Karadeniz Bölgesi'nden (Trabzon, Ordu, Samsun, Düzce) ticari öneme sahip Tombul, Foşa, Sivri, Çakıldak, Mincane ve Palaz çeşitlerine ait örnekler üzerinde çeşitli pomolojik analizler yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda meyve genişliği, iç meyve uzunluğu, iç meyve genişliği, iç meyve kalınlığı, meyve ağırlığı, iç ağırlığı ve kabuk kalınlığı değerlerinde konvansiyonel örneklerin daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Meyve uzunluğu, meyve kalınlığı, göbek boşluğu, randıman, sağlam iç oranı ve kusurlu iç oranlarında uygulamalar arasında fark tespit edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Fındık, Fiziksel özellikler, Fındık kalitesi, *Corylus avellana* L., Karadeniz Bölgesi

Some Physical Properties of Organic and Conventional Hazelnuts (*Corylus avellana* L.)

ABSTRACT

In recent years, the relationship between nutrition and health has been clearly presented in the light of scientific studies. Recently, consumers have been demanding for healthier foods; therefore, organic (ecological) agriculture and organic food applications have emerged to meet this demand. Organic hazelnut production has limited and its agriculture tends to increase gradually in recent years. In this study, various pomological analyses were carried out on samples belonging to Tombul, Foşa, Sivri, Çakıldak, Mincane and Palaz varieties of commercial importance grown in the Black Sea Region of Turkey (Trabzon, Ordu, Samsun and Düzce cities) where organic and conventional hazelnut production was located. Results indicated that conventional samples had higher values in terms of nut width, kernel length, kernel width, kernel thickness, nut weight, kernel weight and shell thickness values. There was no difference in nut length, nut thickness, internal cavity, kernel percentage, good kernels and the rate of defected kernel between two types of hazelnuts.

Keywords: Hazelnut, Physical properties, Nut quality, *Corylus avellana* L., Black sea region

GİRİŞ

Fındık *Betulaceae* familyası içinde yer alan, dünya çapında tüketimi yaygın olan sert kabuklu bir meyvedir

[1]. Türkiye dünya fındık üretiminde %70'lik pay ile en büyük üretici ve %79'luk pay ile de en güçlü ihracatçı konumundadır [2]. Türkiye'den sonra en fazla fındık yetiştiriciliğinin yapıldığı ülkeler İtalya, İspanya, Portekiz,

Fransa, Yunanistan gibi Avrupa devletlerinin yanı sıra ABD, Yeni Zelanda, Çin, Azerbaycan, Şili, İran ve Gürcistan'dır [3]. Son 6 yılın verileri incelendiğinde dünyada toplam fındık alanının 800-880 bin hektar arasında değiştiği görülmektedir. Bu alanın % 77'si Türkiye, %8'i İtalya, %3'ü Azerbaycan ve %2'si Gürcistan topraklarındadır [4].

Ekonomik öneminin yanı sıra fındık, içerdiği besinsel lif, bitkisel protein, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve selenyum gibi elzem mineral maddeler, vitamin E, B grubu vitaminler, doymamış yağ asitleri, bitkisel steroller ve fitokimyasal bileşikler içeriğiyle insan beslenmesi ve sağlığı açısından da önemli bir gıda maddesidir [5]. Fındık önemli miktarda yağ, protein, karbonhidrat ve mineral madde içermektedir. Özellikle fındık yağının yüksek doymamışlık oranına sahip olması kalp ve damar sağlığının korunması yönünden önemlidir [6]. Ayrıca özellikle fındık zarında yoğunlaşmış olan fitokimyasal maddeler güçlü birer antioksidan olup kanser türü hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynamaktadır [7].

Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan 18 fındık çeşidi bulunmaktadır. Bunlar Acı, Cavcava, Çakıldak, Foşa, Ham, İncekara, Kalinkara, Kan, Karafındık, Kargalak, Kuş, Mincane, Palaz, Sivri, Tombul, Uzunmusa, Yassı Badem ve Yuvarlak Badem çeşitleridir. Bu çeşitlerden yedisi (Tombul, Çakıldak, Foşa, Kara fındık, Mincane, Palaz, Sivri) ticari öneme sahiptir, diğer çeşitlerin toplam üretimdeki payları ise %10'dan daha azdır [8].

Organik veya ekolojik tarım, hayvansal ve bitkisel üretimi bir bütün olarak ele alan, toprak verimliliği ve hayvan refahını esas alan, işletme içerisinden sağlanan girdileri kullanmayı amaçlayan, tarım alanındaki en son bilimsel ve teknolojik gelişmelerden yararlanan, tohumdan toprağa, girdiden işleme kadar belirli kurallar dahilinde denetim ve belgelendirmeyi gerektiren bir üretim sistemidir [9]. Organik tarımda gübre olarak organik atıklardan, hayvan gübrelerinden, yeşil gübrelerden ve mineral kayalardan faydalanılmakta ayrıca kompost, humik asit, leonardit gibi organik ve zeolit gibi inorganik toprak iyileştiriciler kullanılmakta [10], bunların dışında herhangi bir kimyasal madde kullanımına izin verilmemektedir.

Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar ışığında beslenme-hastalık ve beslenme-sağlıklı yaşam ilişkisi net bir biçimde ortaya koyulmuştur. Tüketicilerin bilinçlenmesine paralel olarak daha sağlıklı olduğu düşünülen organik gıdalara olan talep artmıştır. Ülkemizdeki organik bitkisel üretim miktarı 2005 yılında 421.934 ton iken 2016 yılında 2.473.600 tona ulaşarak yaklaşık 5.5 kat artış gerçekleşmiştir [11]. Ülkemizde üretilen organik fındık miktarı toplam fındık üretiminde yaklaşık % 2'lik paya sahiptir. 2015 yılı verilerine göre ekonomik getiri bakımından en değerli ürün olan organik fındık, üretim miktarı açısından üçüncü sırada yer almıştır [12].

Organik tarım yöntemleri uygulanarak üretilen fındıkların konvansiyonel fındıklardan farkının olup olmadığının belirlenmesi tüketici için tükettiği ürünü tanıması, üretici ve sanayici için de ürünlerinin katma değer kazanması

açısından önemlidir. Yapılan literatür taraması sonucunda organik fındığın pomolojik özelliklerinin belirlendiği az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Giresun koşullarında organik fındık imkanlarının araştırıldığı bir çalışmada Tombul fındık çeşidinde konvansiyonel üretimin yanında çiftlik gübresi ve zuruf kompostu gübre olarak kullanılmış, çalışma sonucunda uygulamaların meyve ağırlığı, iç ağırlığı, kabuk kalınlığı, randıman gibi meyve özelliklerine etkisinin olmadığı belirlenmiştir [13]. Tombul fındıkta yürütülen bir başka çalışmada ise organik ve konvansiyonel uygulamaların meyve ağırlığı, iç ağırlığı, iç oranı, kabuk kalınlığı ve sağlam iç oranı üzerine etkilerinin istikrarsız olduğu vurgulanmıştır [14]. Bu çalışmanın ana amacı ülkemizde tarımı yapılan organik fındığın bazı fiziksel özelliklerinin konvansiyonel fındıktan farklı olup olmadığının ortaya koyulmasıdır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmanın materyalini, Trabzon, Ordu, Samsun ve Düzce illerinde organik ve konvansiyonel tarım sistemlerine göre yetiştirilen fındıklar oluşturmuştur. Organik örnekler sertifikalı organik tarım yapılan, gübre olarak sıvı yaprak gübresi, mikro besin elementleri (B, Zn, Fe) ve katı gübreler (kompost, tavuk ve hayvan gübresi) kullanılan, zararlılarla mücadele için spinosat, *Bacillus thuringiensis*, toz ve sıvı kükürt kullanılan, konvansiyonel örnekler ise aynı bölgelerden kimyasal ilaç ve gübre kullanılan bahçelerden temin edilmiştir. Organik ve konvansiyonel bahçelerde gübreleme ve ilaçlama dışında budama, hasat ve depolama gibi kültürel uygulamalarda ise farklı bir uygulama yapılmamıştır. Çalışma için toplanan fındık örnekleri her yörede ticari öneme sahip çeşitlerden seçilmiştir. Trabzon'dan Foşa, Sivri, Mincane; Ordu'dan Tombul, Palaz, Çakıldak; Samsun'dan Tombul, Palaz, Çakıldak ve Düzce'den Foşa, Sivri, Tombul çeşitleri seçilmiştir. Her yöredeki her fındık çeşidi 3 farklı üreticiden 3'er kg olarak temin edilmiştir. Böylece her yöre için 9 organik 9 konvansiyonel olmak üzere 18, toplamda da 36 organik 36 konvansiyonel olmak üzere 72 farklı örnek toplanmıştır. Toplanan örnekler kraft kağıttan üretilmiş ambalajlara koyulmuş ve analiz gününe kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Yöntem

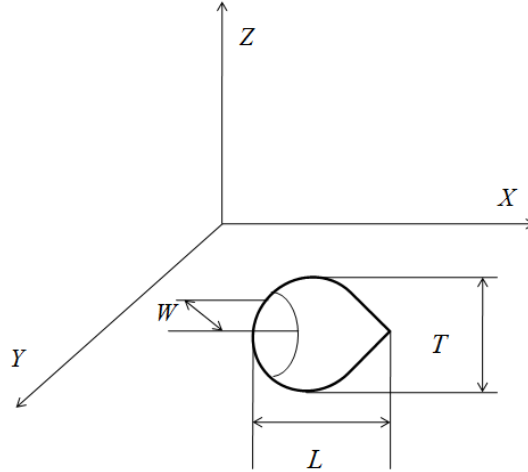
Kabuklu meyve ve naturel iç boyutları (Şekil 1), tesadüfen seçilen 30 meyvede 0.01 mm'ye duyarlı dijital kumpas ile ölçülmüştür. Meyve ağırlığı ölçümleri 0.01 g'a duyarlı dijital hassas terazi kullanılarak, tesadüfen seçilen 30 örnek üzerinde gerçekleştirilmiştir [15, 16].

Meyve uzunluğu (mm) meyve tablası ile uç kısım arasındaki mesafenin ölçülmesi ile bulunmuştur. Meyve genişliği (mm) iki kotiledon birleşme çizgisi (sutura) arasındaki en geniş mesafenin ölçülmesiyle belirlenmiştir. Meyve kalınlığı (mm) her iki kabuk yanakları arasındaki en geniş mesafenin ölçülmesi ile tespit edilmiştir. İç uzunluğu (mm) naturel iç fındıkta tabla ve uç arasındaki mesafe ölçülerek belirlenmiştir. İç genişliği (mm) iki kotiledon birleşme çizgileri arasındaki

ölçülmesiyle bulunmuştur. İç kalınlığı (mm) iki yanak arası mesafenin en geniş yerinden ölçülmesi ile belirlenmiştir. Meyve ağırlığı (g) tesadüfen seçilen 30 meyvenin terazide tek tek tartılıp aritmetik ortalamasının alınmasıyla elde edilmiştir. İç ağırlığı (g) tesadüfen seçilen 30 meyvenin terazide tek tek tartılıp aritmetik ortalamasının alınmasıyla tespit edilmiştir. Kabuk kalınlığı (mm) meyve tablasından yukarıya doğru orta veya ortaya yakın kısımdan şişkin yerin en kalın yerinden ölçülmesiyle belirlenmiştir. Göbek boşluğu

(mm) birleşen iki kotiledon arasında kalabilen boşluk göbek boşluğu olarak ifade edilir. Göbek boşluğunun en geniş yerinden ölçülmesiyle belirlenmiştir. İç oranı (%) toplam meyve ağırlığının toplam iç (sağlam ve kusurlu içler) ağırlığına oranlanması ile aşağıdaki formülle % olarak hesaplanmıştır.

$$\text{İç oranı (\%)} = \frac{\text{İç ağırlığı}}{\text{Meyve ağırlığı}} \times 100$$



Şekil 1. Fındık ve fındık içinin üç boyutlu eksenlerdeki görüntüsü (L: Uzunluk, T: Kalınlık, W: Genişlik)

Sağlam iç oranı (%) sert kabuğu tamamen doldurmuş kusurlu olmayan içlerin toplam meyve sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. Kusurlu iç oranı (%) sağlam ve dolgun içli meyveler ile boş içli meyveler dışındaki meyvelerden elde edilen içlerin (abortif, buruşuk, siyah uçlu, küflü, çürük, kurtlu) toplam meyve sayısına oranlanmasıyla belirlenmiştir.

$$\text{Kusurlu iç oranı (\%)} = \frac{\text{Kusurlu iç (adet)}}{\text{Toplam iç (adet)}} \times 100$$

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin normal dağılım kontrolü Kolmogorov-Smirnov testi ile, grup varyanslarının homojenlik kontrolü Levene testi ile yapılmıştır. Değişkenlerin ortalama, standart hata gibi tanıtıcı istatistik değerleri hesaplanmıştır. Değişkenlerin değerlendirilmesinde iki faktörlü (üretim şekli ve çeşit) varyans analizi (Two-way ANOVA) kullanılmıştır. Farklı ortalamalar Tukey çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiş ve sonuçlar harfli gösterim şeklinde ifade edilmiştir. Hesaplamalarda ve yorumlamalarda %5 önem düzeyi kullanılmıştır. Tüm hesaplamalar Minitab 17 istatistik paket programı ile yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Organik ve konvansiyonel koşullarda yetiştirilen fındıkların meyve uzunlukları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Konvansiyonel örneklerde meyve uzunluğu 16.46 mm (Samsun Palaz) ile 23.14 mm (Düzce Sivri) arasında, organik örneklerde ise 16.44 mm (Ordu Palaz) ile 23.16

mm (Düzce Sivri) arasında değişmiştir. Konvansiyonellerde ortalama meyve uzunluğu 18.41 mm, organiklerde ise 18.28 mm olmuştur. Çeşitler kendi içerisinde değerlendirildiğinde en yüksek değer 23.15 mm Düzce Sivri'de en düşük değer ise 17.32 mm ile Ordu Tombul örneğinde belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Tablo 1). Konvansiyonel fındıklarda yürütülen bir çalışmada meyve uzunluğunun 16.10-23.40 mm arasında değiştiği rapor edilmiştir [17]. Türk fındıkları üzerine yapılan bir başka çalışmada meyve uzunlukları Palaz' da 15.66 mm, Tombul' da 16.52 mm ve Çakıldak' ta 18.55 mm olarak belirlenmiştir [18].

Konvansiyonel örneklerin meyve genişliği ortalaması 17.57 mm, organiklerinki ise 17.33 mm olarak hesaplanmış ve aralarındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Konvansiyonel örneklerde meyve genişliği 14.78 (Düzce Sivri)- 20.26 mm (Düzce Foşa), organiklerde 14.75 (Düzce Sivri)- 20.23 mm (Düzce Foşa) arasında değişmiştir. Çeşit faktörünün ortalamaları arasında en yüksek değer 20.25 mm Düzce Foşa'da, en düşük değer 14.77 mm ile Düzce Sivri'de saptanmıştır ($P < 0.05$) (Tablo 1). Konvansiyonel fındıklarda yürütülen bir çalışmada meyve genişliği 18.0-16.0 mm arasında ölçülmüştür [19]. Diğer bir çalışmada meyve genişliği 18.97 mm olarak belirlenirken [20], Giresun fındıklarında yürütülen bir çalışmada Foşa'da 18.61 mm, Mincane'de 17.20 mm ve Sivri'de 15.09 mm olarak tespit edilmiştir [21].

Konvansiyonel örneklerin meyve kalınlıkları 13.00 mm (Düzce Sivri) ile 18.30 mm (Düzce Foşa), organiklerinki ise 13.18 mm (Düzce Sivri) ile 18,45 mm (Düzce Foşa) arasında ölçülmüş ve istatistiksel olarak önemli

bulunmamıştır ($P>0.05$). Çeşit ortalamaları arasında en yüksek değer 18.38 mm ile Düzce Foşa'da en düşük değer 14.03 mm ile Trabzon Mincane ve Trabzon Sivri örneğinde tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Tablo 1). Konvansiyonel fındıklarda yapılan bir çalışmada meyve kalınlığı Palaz çeşidinde 16.17 mm, Tombul'da 15.79 mm, Çakıldak'ta ise 15.67 mm olarak ölçülmüştür [18]. Diğer çalışmalarda 16.58 mm [20] ve 14.2 mm - 18.5 mm olarak rapor edilmiştir [17].

Bu çalışmada organik ve konvansiyonel fındık örneklerinde belirlenen meyve uzunluğu, meyve genişliği ve meyve kalınlığına ilişkin bulgular diğer çalışmalardan elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir. Buna göre organik ve konvansiyonel yöntemlerle yetiştirilen fındıkların söz konusu özellikler yönünden benzer olduğu söylenebilir.

Naturel iç fındıkların iç meyve uzunluğu ortalaması konvansiyonel örneklerde 14.16 mm, organiklerde 13.95 mm olarak bulunmuştur ($P<0.05$). Bu değer konvansiyonel örneklerde 12.09 mm (Samsun Palaz) ile 18.60 mm (Düzce Sivri) arasında, organik örneklerde ise 12.10 mm (Samsun Palaz) ile 18.42 mm (Düzce Sivri) arasında değişmiştir. Çeşit faktörünün ortalamaları arasında en yüksek değer 18.51 mm Düzce Sivri'de, en düşük değer 12.09 mm ile Samsun Palaz'da tespit edilmiştir (Tablo 2) Konvansiyonel fındıklarda yürütülen bir çalışmada iç meyve uzunluğu 11.9 mm ile 18.7 mm arasında belirlenmiş [17], diğer çalışma sonuçları ise 11.8 mm [19], 14.32 mm [20], 13.60 mm [22], Palaz'da 11.16 mm, Tombul'da 11.63 mm, Çakıldak'ta 13.97 mm [18] olarak bildirilmiştir.

İç meyve genişliği ortalaması organik örneklerde 12.75 mm, konvansiyonel örneklerde 13.29 mm olarak hesaplanmış, aralarındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Konvansiyonel örneklerde iç meyve genişliği 10.80 mm (Düzce Sivri) ile 14.94 (Ordu Palaz) arasında, organik örneklerde 10.74 mm (Düzce Sivri) ile 14.75 mm (Düzce Foşa) arasında ölçülmüştür. Çeşitler arasında en yüksek değer 14.78 mm ile Düzce Foşa'da en düşük ise 12.16 mm ile Samsun Çakıldak örneğinde saptanmıştır ($P<0.05$) (Tablo 2). Konvansiyonel fındıklarla yürütülen bir çalışmada meyve genişliği Foşa çeşidinde 14.39 mm, Mincane'de 14.05 mm, Sivri'de 12.44 mm [21]; başka bir çalışmada Palaz'da 13.91, Tombul'da 12.69, Çakıldak'ta 12.60 mm [18] olarak bulunmuştur.

Organik ve konvansiyonel örneklerin iç meyve kalınlığı ortalamaları sırasıyla 11.96 mm ve 12.18 mm olarak belirlenmiş, farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). İç meyve kalınlığı konvansiyonel örneklerde 9.85 mm (Düzce Sivri)-14.72 mm (Düzce Foşa), organik örneklerde 9.64 mm (Düzce Sivri)-14.74 mm (Düzce Foşa) arasında ölçülmüştür. Çeşit faktörünün ortalamaları arasında en yüksek değer 14.73 mm ile Düzce Foşa'da en düşük değer 9.74 mm ile Düzce Sivri'de belirlenmiştir ($P<0.05$) (Tablo 2). Konvansiyonel koşullarda yetiştirilen fındıklarda meyve kalınlığı Foşa'da 14.38 mm, Mincane'de 13.59 mm ve Sivri'de 10.87 mm olarak belirtilmiştir [21]. Diğer çalışmalarda elde edilen meyve kalınlığı değerleri ise 12.68 mm [20], 10.3-14.2

mm [17]; Palaz'da 12.37 mm, Tombul'da 11.96 mm ve Çakıldak'ta 11.97 mm [18]'dir. Tarafımızdan bulunan sonuçlar literatür verileriyle uyumludur.

Organik ve konvansiyonel uygulamaların örneklerin iç meyve genişliği ve iç meyve kalınlığı üzerine bir etkisinin olmadığı, ancak iç meyve uzunluğunu az miktarda etkilediği saptanmıştır ($P<0.05$). Bu durumun konvansiyonel tarımdaki muhtemel verim artışına paralel olarak çotanaktaki meyve sayısındaki artış ve buna bağlı olarak meyvelerin birbirlerine baskı uygulamasıyla meyve boyunun uzamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca sonuçların literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Konvansiyonel örneklerin ortalama kabuklu meyve ağırlığı 1.95 g, organiklerinki 1.83 g olarak saptanmış, aradaki farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Konvansiyonel örneklerde kabuklu meyve ağırlığının 1.64 g (Trabzon Sivri) ile 2.62 g (Düzce Foşa) arasında, organiklerde ise 1.51 g (Samsun Tombul) ile 2.60 g (Düzce Foşa) arasında değiştiği görülmüştür. Çeşitler arasında en büyük değer 2.61 g ile Düzce Foşa'da en küçük değer 1.59 g ile Trabzon Sivri örneğinde belirlenmiştir ($P<0.05$) (Tablo 3). Konvansiyonel fındıklarda yapılan bir çalışmada Türk fındıklarında meyve ağırlığının 3.56-1.85 g arasında değiştiği bildirilmiştir [17]. Diğer çalışmalarda kabuklu meyve ağırlığı 1.33-2.91 g [23], 1.97 g [19], 2.46-3.39 g [24], 2.27 g [25] olarak belirlenmiştir. Organik ve konvansiyonel uygulamalarla yetiştirilen fındıklar üzerine yapılan bazı çalışmalarda uygulamaların meyve ağırlığına etkisi önemsiz bulunmuştur [10, 13, 14].

Organik ve konvansiyonel örneklerde iç ağırlığı ortalamaları sırasıyla 0.98 g ve 1.05 g olarak bulunmuştur ($P<0.05$). İç ağırlığı konvansiyonel fındıklarda 0.83 g (Trabzon Sivri)-1.37 g (Düzce Foşa), organiklerde 0.79 g (Trabzon Sivri)-1.37 g (Düzce Foşa) aralığında belirlenmiştir. Çeşitler kendi içerisinde değerlendirildiğinde en yüksek değer 1.37 g ile Düzce Foşa'da en düşük değer ise 0.81 g ile Trabzon Sivri'de saptanmıştır ($P<0.05$) (Tablo 3). Konvansiyonel fındıklarda yapılan bazı çalışmalarda iç fındık ağırlığı 0.54-0.74 g [19], 1.09 g [20], 1.22-1.38 g [24], 1.12 g [25], 0.87-1.33 g [17], 0.99 g [22] olarak tespit edilmiştir. Organik ve konvansiyonel koşullarda yetiştirilen fındıklar üzerinde yürütülen çalışmalarda uygulamalar arasında fark bulunmamıştır [13,14].

Randıman (iç oranı) en önemli meyve özelliklerinden birisidir. Fındık alım satım işlemleri sırasında belli bir miktar kabuklu fındık örneğinde sağlam iç, çürük iç ve kabuk oranları belirlenir. Bu oranlar içerisinde yüzde ve katsayılar göz önüne alınarak ödenecek birim fiyatın tespitine esas olan sağlam ve buruşuk iç yüzdesi toplamı randıman olarak tanımlanmaktadır. Randıman çeşit faktörüyle birlikte fındık fiyatını etkileyen en önemli parametrelerden birisidir [26]. Konvansiyonel örneklerde randıman %50.63 (Trabzon Sivri) ile %55.24 (Samsun Çakıldak) arasında, organik örneklerde ise %51.37 (Trabzon Sivri) ile % 54.89 (Ordu Tombul) arasında değişmiştir. Çeşitler arasında en yüksek randıman %54.68 ile Ordu Tombul'da en düşük randıman ise %

51.00 ile Trabzon Sivri örneğinde tespit edilmiştir (Tablo 3). Çeşitli araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmalarda konvansiyonel fındıklarda randıman; %52.22 [22], %52.78 [27], %30.87 [23], %39.6 [19], %34.3-45.4 [17], %40.64-49.45 [24] olarak tespit edilmiştir. Organik ve

konvansiyonel uygulamalarla yetiştirilen fındıklar üzerinde yürütülen çalışmalardan alınan sonuçlara göre uygulamaların randımana etkisinin olmadığı görülmüştür [10] [13].

Tablo 1. Fındık örneklerinin kabuklu meyve uzunluk, genişlik ve kalınlık değerleri

	Meyve Uzunluğu (mm)			Meyve Genişliği (mm)			Meyve Kalınlığı (mm)		
	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması
Düzce Foşa	18.48±0.07	18.21±0.15	18.34±0.10DE	20.26±0.10	20.23±0.10	20.25±0.06A	18.30±0.13	18.45±0.09	18.38±0.08A
Düzce Sivri	23.14±0.03	23.16±0.09	23.15±0.04A	14.78±0.11	14.75±0.03	14.77±0.05F	13.00±0.03	13.18±0.02	13.09±0.04H
Düzce Tombul	17.78±0.21	17.59±0.13	17.69±0.12FG	18.37±0.07	18.33±0.09	18.35±0.05CD	16.50±0.13	16.58±0.07	16.54±0.07B
Ordu Çakıldak	19.13±0.15	19.33±0.35	19.23±0.18BC	18.16±0.33	17.10±0.18	17.63±0.29D	16.26±0.27	15.70±0.16	15.98±0.19CD
Ordu Palaz	16.47±0.04	16.44±0.15	16.46±0.07H	19.30±0.24	18.94±0.11	19.12±0.14B	16.53±0.19	16.66±0.01	16.60±0.09B
Ordu Tombul	17.69±0.04	16.95±0.10	17.32±0.17G	16.69±0.30	16.38±0.17	16.53±0.17E	15.38±0.21	15.18±0.20	15.28±0.14F
Samsun Çakıldak	19.88±0.15	19.24±0.30	19.56±0.21B	16.73±0.24	16.77±0.12	16.75±0.12E	15.32±0.25	15.53±0.06	15.43±0.13EF
Samsun Palaz	16.46±0.14	16.47±0.06	16.47±0.07H	19.19±0.10	18.57±0.11	18.88±0.15BC	16.68±0.12	16.33±0.12	16.51±0.11BC
Samsun Tombul	17.47±0.28	17.28±0.12	17.37±0.14G	16.73±0.32	16.66±0.30	16.69±0.20E	15.73±0.10	15.25±0.09	15.49±0.12DEF
Trabzon Mincane	17.39±0.18	17.51±0.18	17.45±0.12G	16.44±0.18	16.46±0.29	16.45±0.15E	14.07±0.17	13.99±0.16	14.03±0.11G
Trabzon Sivri	19.00±0.24	18.70±0.11	18.85±0.14CD	16.33±0.29	16.00±0.38	16.17±0.23E	14.22±0.16	14.04±0.25	14.13±0.14G
Trabzon Foşa	17.99±0.21	18.45±0.12	18.22±0.15EF	17.80±0.32	17.71±0.25	17.76±0.18D	15.96±0.27	15.93±0.12	15.94±0.13DE
Ortalama	18.41±0.30	18.28±0.30		17.57±0.26a	17.33±0.25b		15.66±0.23	15.57±0.23	

Ortalama ± Standart Hata. Ortak büyük harfi olmayan çeşit ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Tukey testi, p<0.05), Ortak küçük harfi olmayan üretim yöntemi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Varyans analizi, p<0.05), K: Konvansiyonel, O: Organik, n=3.

Tablo 2. Natürel fındık (iç fındık) örneklerinin uzunluk, genişlik ve kalınlık değerleri

	İç Meyve Uzunluğu (mm)			İç Meyve Genişliği (mm)			İç Meyve Kalınlığı (mm)		
	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması
Düzce Foşa	13.83±0.07a	13.71±0.15a	13.77±0.08	14.81±0.11	14.75±0.12	14.78±0.07A	14.72±0.03	14.74±0.09	14.73±0.04A
Düzce Sivri	18.60±0.07a	18.42±0.08a	18.51±0.06	10.80±0.10	10.74±0.26	10.77±0.13G	9.85±0.04	9.64±0.07	9.74±0.06G
Düzce Tombul	13.36±0.18a	13.01±0.14a	13.18±0.13	13.73±0.21	13.50±0.19	13.62±0.13BC	13.18±0.34	13.18±0.14	13.18±0.16B
Ordu Çakıldak	14.86±0.10a	14.95±0.20a	14.90±0.10	14.14±0.28	12.47±0.37	13.31±0.43BCDE	12.69±0.31	11.76±0.30	12.22±0.28C
Ordu Palaz	12.17±0.07a	12.20±0.04a	12.18±0.03	14.94±0.29	14.74±0.32	14.84±0.20A	13.31±0.18	13.54±0.12	13.43±0.11B
Ordu Tombul	13.62±0.05a	12.76±0.12b	13.19±0.20	12.60±0.28	12.36±0.04	12.48±0.14DEF	12.20±0.08	12.11±0.19	12.15±0.09C
Samsun Çakıldak	15.74±0.13a	14.20±0.14a	15.37±0.19	12.65±0.18	11.66±0.27	12.16±0.26F	11.49±0.29	11.10±0.19	11.29±0.18DE
Samsun Palaz	12.09±0.12a	12.10±0.16a	12.09±0.09	14.73±0.04	13.36±0.12	14.05±0.31AB	13.46±0.07	12.88±0.27	13.17±0.18B
Samsun Tombul	13.19±0.34a	12.92±0.05a	13.05±0.17	12.57±0.44	11.96±0.76	12.26±0.42EF	12.28±0.31	11.51±0.50	11.89±0.31CD
Trabzon Mincane	13.42±0.12a	13.38±0.07a	13.40±0.06	12.87±0.28	12.84±0.28	12.85±0.18CDEF	10.78±0.17	10.88±0.17	10.83±0.11EF
Trabzon Sivri	14.91±0.21a	14.68±0.09a	14.80±0.11	12.05±0.34	11.51±0.62	11.78±0.34FG	10.15±0.09	10.16±0.45	10.15±0.21FG
Trabzon Foşa	14.11±0.07a	14.29±0.19a	14.20±0.10	13.64±0.38	13.10±0.37	13.37±0.27BCD	12.10±0.33	12.05±0.20	12.08±0.17CD
Ortalama	14.16±0.29a	13.95±0.28b		13.29±0.21a	12.75±0.22b		12.18±0.24a	11.96±0.24b	

Ortalama ± Standart Hata. Ortak büyük harfi olmayan çeşit ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Tukey testi, p<0.05), Ortak küçük harfi olmayan üretim yöntemi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Varyans analizi, p<0.05), K: Konvansiyonel, O: Organik, n=3.

Tablo 3. Fındık örneklerinin meyve ağırlığı, iç ağırlık ve randıman değerleri

	Meyve Ağırlığı (g)			İç Ağırlık (g)			Randıman (%)		
	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması
Düzce Foşa	2.62±0.03	2.60±0.03	2.61±0.02A	1.37±0.02	1.37±0.02	1.37±0.01A	52.04±0.61	52.76±0.23	52.40±0.33AB
Düzce Sivri	1.77±0.03	1.72±0.04	1.74±0.03CDE	0.99±0.02	0.98±0.01	0.98±0.01BCD	54.79±0.49	54.33±0.97	54.56±0.50A
Düzce Tombul	2.01±0.04	1.98±0.02	1.99±0.02B	1.09±0.04	1.07±0.02	1.08±0.02B	53.04±1.19	54.11±0.82	53.58±0.69AB
Ordu Çakıldak	2.16±0.11	1.86±0.05	2.01±0.09B	1.19±0.05	0.99±0.04	1.09±0.05B	54.78±0.81	52.83±1.35	53.80±0.83A
Ordu Palaz	1.99±0.05	2.01±0.06	2.00±0.04B	1.09±0.04	1.11±0.05	1.10±0.03B	53.09±0.82	54.28±0.86	53.68±0.59AB
Ordu Tombul	1.78±0.07	1.59±0.01	1.69±0.05DE	0.97±0.02	0.88±0.00	0.93±0.02CDE	54.47±1.30	54.89±0.86	54.68±0.71A
Samsun Çakıldak	1.92±0.07	1.69±0.05	1.81±0.07BCDE	1.06±0.05	0.91±0.04	0.99±0.04BCD	55.24±0.56	54.01±1.04	54.63±0.60A
Samsun Palaz	2.04±0.04	1.81±0.04	1.92±0.06BCD	1.10±0.02	0.97±0.03	1.04±0.03BC	53.51±0.63	53.46±0.91	53.49±0.49AB
Samsun Tombul	1.75±0.12	1.51±0.09	1.63±0.09E	0.96±0.08	0.81±0.08	0.88±0.06CDE	54.63±1.06	53.53±1.97	54.08±1.03AB
Trabzon Mincane	1.69±0.08	1.70±0.06	1.69±0.04DE	0.87±0.03	0.89±0.03	0.88±0.02DE	51.29±1.06	51.92±0.89	51.60±0.63AB
Trabzon Sivri	1.64±0.11	1.53±0.15	1.59±0.09E	0.83±0.07	0.79±0.03	0.81±0.05E	50.63±0.98	51.37±0.69	51.00±0.56B
Trabzon Foşa	1.98±0.10	1.96±0.05	1.97±0.05BC	1.05±0.05	1.01±0.08	1.03±0.03BCD	52.69±0.16	51.70±0.50	52.20±0.32AB
Ortalama	1.95±0.05a	1.83±0.05b		1.05±0.03a	0.98±0.03b		53.35±0.32	53.27±0.30	

Ortalama ± Standart Hata. Ortak büyük harfi olmayan çeşit ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Tukey testi, $p<0.05$), Ortak küçük harfi olmayan üretim yöntemi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Varyans analizi, $p<0.05$), K: Konvansiyonel, O: Organik, $n=3$.

Bu araştırmada elde edilen meyve ağırlığı, iç ağırlığı ve randıman değerlerinin literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Elde edilen bulgular ışığında organik ve konvansiyonel uygulamaların fındıkların bu özellikleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Organik ve konvansiyonel örneklerin kabuk kalınlığı ortalamaları sırasıyla 0.93-0.95 mm olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Konvansiyonel örneklerde bu değer 0.79 mm (Düzce Sivri) ile 1.06 mm (Trabzon Foşa) arasında, organik örneklerde 0.79 mm (Düzce Sivri) ile 1.08 mm (Düzce Foşa) arasındadır. Çeşit ortalamalarına göre en yüksek kabuk kalınlığı 1.06 mm ile Düzce Foşa'da en düşük kabuk kalınlığı ise 0.79 mm ile Düzce Sivri'de belirlenmiştir ($P<0.05$) (Tablo 4). Konvansiyonel fındıklarda yapılan bazı çalışmalarda örneklerin kabuk kalınlıkları 0.82 mm [23], 1.28-1.90 mm [17], 1.17 mm [25] olarak ölçülmüştür. Organik ve konvansiyonel yöntemlerle yetiştirilen fındıkların kabuk kalınlıklarının belirlendiği çalışmalarda uygulamalar arasında kabuk kalınlığı yönünden farklılık görülmemiştir [13, 14].

Göbek boşluğu konvansiyonel örneklerde 0.95 mm (Trabzon Mincane)-3.71 mm (Düzce Foşa), organik örneklerde 1.15 mm (Trabzon Mincane)-3.47 mm (Düzce Foşa) olarak ölçülmüş ve farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Çeşitler incelendiğinde en büyük göbek boşluğu 3.59 mm ile Düzce Foşa'da en küçük göbek boşluğu ise 1.05 mm ile Trabzon Mincane'de tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Tablo 4). Göbek boşluğunun, konvansiyonel fındıklarda yürütülen bir çalışmada 1.13-1.29 mm [27], diğer bir çalışmada Çakıldak' ta 3.39 mm, Palaz' da 2.37 mm, Tombul' da 1.08 mm olduğu kaydedilmiştir [26]. Göbek boşluğu çeşide özgü olmakla beraber aynı çötanakta da meyveler arasında farklılık gözlemlenebilmekte, aynı

zamanda meyve büyüklüğüne göre de değişebilmektedir. Göbek boşluğu çevresinde polifenoloksidaz enzimlerince gerçekleştirilen esmerleşme reaksiyonları sonucunda fındık içinde renk bozulması görülmektedir [26]. Sonuç olarak göbek boşluğu değerleri bakımından örnekler arasında önemli farklılık olduğu, ancak bu durumu etkileyen faktörün organik ve konvansiyonel uygulamalar olmayıp çeşit faktörü olduğu, ayrıca enzimatik kaynaklı muhtemel renk değişikliklerinin de çeşit faktöründen kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kabuk kalınlığı ve göbek boşluğu değerleri üzerine uygulamaların etkili olmadığı belirlenmiştir. Kabuk kalınlığı özelliği bakımından Düzce Foşa'nın kalın kabuklu, Düzce Sivri'nin ise ince kabuklu olması göze çarpmaktadır. Göbek boşluğu değerleri açısından örnekler arasında geniş bir varyasyon dikkat çekmektedir. Kabuk kalınlığı ve göbek boşluğu bulguları literatür verileriyle oldukça benzeşmektedir.

Konvansiyonel örneklerde sağlam iç oranları %91.11 (Düzce Sivri-Trabzon Mincane)-%98.89 (Ordu Tombul-Samsun Tombul) arasında, organik örneklerde ise %85.55 (Düzce Sivri)-%98.89 (Düzce Tombul) arasında değişmiştir ($P>0.05$). Çeşitler kendi aralarında incelendiğinde en yüksek sağlam iç oranı % 96.11 ile Düzce Foşa'da en düşük oran ise % 85.55 ile Trabzon Mincane'de saptanmıştır ($P<0.05$) (Tablo 5). Konvansiyonel fındıklarda yürütülen bir çalışmada sağlam iç oranı %83.89 olarak [27]; organik ve konvansiyonel uygulamalarla yetiştirilen fındıklar üzerinde yürütülen bir başka çalışmada organiklerde %92.56 konvansiyonellerde %88.23 olarak bulunmuş, aradaki fark önemli bulunmamıştır [14]. Benzer bir diğer çalışmada da uygulamalar arasında farklılık tespit edilememiştir [13].

Tablo 4. Fındık örneklerinin kabuk kalınlığı ve göbek boşluğu değerleri*

	Kabuk Kalınlığı (mm)			Göbek Boşluğu (mm)		
	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması
Düzce Foşa	1.04±0.01	1.08±0.02	1.06±0.01A	3.71±0.11	3.47±0.06	3.59±0.08A
Düzce Sivri	0.79±0.01	0.79±0.02	0.79±0.01H	1.54±0.10	1.70±0.24	1.62±0.12DE
Düzce Tombul	0.95±0.03	0.93±0.02	0.94±0.02DEF	3.05±0.13	2.79±0.11	2.92±0.10B
Ordu Çakıldak	0.95±0.03	0.93±0.01	0.94±0.02DEF	2.50±0.17	1.65±0.20	2.08±0.22CD
Ordu Palaz	0.96±0.02	0.95±0.01	0.95±0.01CDE	3.32±0.36	2.70±0.26	3.01±0.24AB
Ordu Tombul	0.89±0.01	0.85±0.01	0.87±0.01FG	1.57±0.16	1.43±0.09	1.50±0.09DE
Samsun Çakıldak	0.87±0.01	0.80±0.01	0.84±0.02GH	1.58±0.30	1.79±0.16	1.69±0.16DE
Samsun Palaz	1.03±0.01	0.92±0.02	0.98±0.03BCD	2.54±0.22	2.65±0.17	2.59±0.13BC
Samsun Tombul	0.92±0.03	0.85±0.02	0.89±0.02EFG	1.33±0.06	1.71±0.32	1.52±0.17DE
Trabzon Mincane	1.01±0.03	1.05±0.05	1.03±0.03ABC	0.95±0.12	1.15±0.24	1.05±0.13E
Trabzon Sivri	0.92±0.03	0.92±0.04	0.92±0.02DEF	1.64±0.13	1.40±0.25	1.52±0.14DE
Trabzon Foşa	1.06±0.02	1.04±0.01	1.05±0.01AB	1.92±0.12	1.87±0.10	1.89±0.07D
Ortalama	0.95±0.01a	0.93±0.02b		2.14±0.15	2.03±0.01	

*: Ortalama ± Standart Hata. Ortak büyük harfi olmayan çeşit ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Tukey testi. p<0.05). Ortak küçük harfi olmayan üretim yöntemi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Varyans analizi, p<0.05). K: Konvansiyonel, O: Organik. n=3.

Sağlam ve dolgun içli meyveler ile boş içli meyveler dışındaki meyvelerden elde edilen içlerin (abortif, buruşuk, siyah uçlu, küflü, çürük, kurtlu) toplam meyve sayısına oranlanmasıyla belirlenen kusurlu iç oranı, fındık kalitesi açısından önemli bir kriterdir ve kusurlu iç oranının olabildiğince düşük olması istenir. Konvansiyonel örneklerin kusurlu iç oranları %1.11 (Ordu Tombul-Samsun Tombul)-%16.67 (Trabzon Sivri) arasında değişirken organiklerde %1.11 (Düzce Tombul)-% 14.44 (Düzce Sivri) arasında değişmiştir

(P>0.05). Çeşit faktörünün ortalamalarına göre en yüksek kusurlu iç oranı %14.44 ile Trabzon Sivri'de en düşük kusurlu iç oranı %2.22 ile Samsun Çakıldak örneğinde belirlenmiştir (P<0.05) (Tablo 5). Organik ve konvansiyonel uygulamalarla yetiştirilen fındıklar üzerinde yapılan bir çalışmada uygulamaların buruşuk iç oranına etkisinin olmadığı vurgulanmıştır [13]. Literatür verilerine benzer şekilde bu çalışma sonucunda da organik ve konvansiyonel uygulamaların sağlam ve kusurlu iç oranına etkisinin olmadığı görülmüştür.

Tablo 5. Fındık örneklerinin sağlam ve kusurlu iç oranları*

	Sağlam İç Oranı(%)			Kusurlu İç Oranı(%)		
	K	O	Çeşit Ortalaması	K	O	Çeşit Ortalaması
Düzce Foşa	96.66±1.93	95.55±2.22	96.11±1.34A	3.33±1.92	4.44±2.22	3.89±1.34B
Düzce Sivri	91.11±2.22	85.55±2.94	88.33±2.06AB	8.88±2.22	14.44±2.94	11.66±2.07AB
Düzce Tombul	93.33±3.85	98.89±1.11	96.11±2.18A	6.66±3.85	1.11±1.11	3.89±2.18B
Ordu Çakıldak	97.78±2.22	91.11±5.55	94.44±3.06AB	2.22±2.22	8.89±5.56	5.55±3.06AB
Ordu Palaz	95.55±2.22	92.22±4.01	93.89±2.18AB	4.44±2.22	7.78±4.01	6.11±2.18AB
Ordu Tombul	98.89±1.11	91.11±4.84	95.00±2.82AB	1.11±1.11	8.89±4.84	5.00±2.82AB
Samsun Çakıldak	97.77±1.11	97.77±1.11	97.77±0.70A	2.22±1.11	2.22±1.11	2.22±0.70B
Samsun Palaz	97.77±1.11	96.66±1.93	97.22±1.03A	2.22±1.11	3.33±1.92	2.78±1.02B
Samsun Tombul	98.89±1.11	95.55±1.11	97.22±1.03A	1.11±1.11	4.44±1.11	2.78±1.02B
Trabzon Mincane	91.11±4.01	94.44±2.94	92.78±2.34AB	8.88±4.01	5.55±2.94	7.22±2.34AB
Trabzon Sivri	83.33±3.33	87.77±4.44	85.55±2.68B	16.67±3.33	12.22±4.44	14.44±2.68A
Trabzon Foşa	95.55±2.94	93.33±41.92	94.44±1.65AB	4.44±2.94	6.66±1.93	5.55±1.65AB
Ortalama	94.81±0.94	93.33±1.00		5.18±0.94	6.66±1.00	

*:Ortalama ± Standart Hata. Ortak büyük harfi olmayan çeşit ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (Tukey testi. p<0.05), K: Konvansiyonel, O: Organik. Ortalama±Standart Hata, n=3

SONUÇ

Son yıllarda beslenme ve sağlık arasındaki sıkı ilişkinin belirlenmesi ve toplumdaki farkındalığın artmasına paralel olarak tüketicilerde daha sağlıklı gıda talebi oluşmuştur. Bu ihtiyacın karşılanması amacıyla konvansiyonel üretime karşılık organik veya ekolojik tarım olarak bilinen hem yetiştirme hem de işleme aşamasında kimyasal ilaç ve gübrenin kullanılmadığı üretim sistemleri geliştirilmiştir. Organik fındık üretim miktarı ülkemizde sınırlı olmakla beraber artış eğilimindedir.

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'nde (Trabzon, Ordu, Samsun, Düzce) organik ve konvansiyonel koşullarda yetiştirilen, ticari öneme sahip (Tombul, Foşa, Çakıldak, Mincane, Palaz, Sivri) fındık çeşitlerinin bazı fiziksel özellikleri belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda meyve genişliği, iç meyve uzunluğu, iç meyve genişliği, iç meyve kalınlığı, meyve ağırlığı, iç ağırlığı ve kabuk kalınlığı bakımından konvansiyonel örneklerin daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Meyve uzunluğu, meyve kalınlığı, göbek boşluğu, randıman, sağlam iç oranı ve kusurlu iç oranları açısından uygulamalar arasında farklılık tespit edilmemiştir. Kabuk kalınlığı değerlerinin organik

örneklerde daha düşük olmasının fındık kırma teknolojisi bakımından önem arz edebileceği düşünülmektedir. Kabuk kalınlığı dışında incelenen tüm parametreler bakımından organik ve konvansiyonel örneklerde birbirlerine yakın değerler elde edildiğinden, organik uygulamalarla söz konusu pomolojik özellikler yönünden konvansiyonel kalitenin yakalanabileceği düşünülmektedir. Organik fındık yetiştiriciliğinin verim, maliyet ve pazarlama boyutu da incelenmelidir. Çevre dostu ekolojik tarımın ve organik gıda üretiminin artması ilaç, kimyasal gübre, pestisit gibi gıdada kalıntı bırakabilen maddelerin kullanımını azaltarak insan sağlığını ve çevre kirliliğini önlemeye yardımcı olabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.MUH.1904.14.009 No'lu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Alasalvar, C., Amaral, J., S., Satır, G., Shahidi, F., 2009. Lipid characteristics and essential minerals of native Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry* 113: 919–925.
- [2] Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., Karacabey, E., 2014. Mikrodalga destekli Soxhlet cihazı ile fındık yağı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. *Akademik Gıda* 12(1): 20-28.
- [3] Seyhan, F., Ozay, G., Saklar, S., Ertaş, E., Satır, G., Alasalvar, C., 2007. Chemical changes of three native Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) during fruit development. *Food Chemistry* 105: 590–596.
- [4] Anonim, 2017a. Fındık Raporu. http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=26370&tipi=17&sube=0. (Erişim Tarihi: 06.12.2017).
- [5] Jakopic, J., Petkovsek, M. M., Likozar, A., Solar, A., Stampar, F., Veberic, R., 2011. HPLC–MS identification of phenols in hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels. *Food Chemistry* 124: 1100–1106.
- [6] Kıralan, S., Yorulmaz, A., Şimşek, A., Tekin, A., 2015. Classification of Turkish hazelnut oils based on their triacylglycerol structures by chemometric analysis. *European Food Research and Technology* 240: 679–688.
- [7] Mexis, S., F., Kontominas M. G., 2009. Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Radiation Physics and Chemistry* 78: 407–413.
- [8] Pelvan, E., Alasalvar, C., Uzman, S., 2012. Effects of Roasting on the Antioxidant Status and Phenolic Profiles of Commercial Turkish Hazelnut Varieties (*Corylus avellana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 1218–1223.
- [9] Anonim, 2012. Türkiye organik tarım stratejik plan (2012–2016). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü.
- [10] Özyazıcı, G., Özdemir O., Özyazıcı M. A., Üstün G. Y., Turan, A., 2010. Bazı organik materyallerin ve toprak düzenleyicilerin organik fındık yetiştiriciliğinde verim ve toprak özellikleri üzerine etkileri. Türkiye 4. Organik Tarım Sempozyumu, 28 Haziran-1 Temmuz, *Bildiriler Kitabı*, Erzurum, Türkiye, 368-372s.
- [11] Anonim, 2017b. (http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001) (Erişim Tarihi:06.12.2017).
- [12] Anonim, 2016. 2015-2016 Sezonu çalışma raporu ve faaliyet planı. Ege Kuru Meyve ve Mamulleri İhracatçıları Birliği. İzmir.
- [13] Turan A, Ruşen M, İslam A., Kurt H., Ak K., Sezer A., Sarioğlu M., Kalyoncu İ.H., Kalkışım Ö., 2010. Giresun koşullarında organik fındık üretim imkanlarının araştırılması. Türkiye 4. Organik Tarım Sempozyumu, 28 Haziran-1 Temmuz, *Bildiriler Kitabı*, Erzurum, Türkiye, 123-129s.
- [14] Turan, A., Sezer, A., Ak, K., 2007. Bazı organik materyallerin fındıkta verim ve kalite üzerine etkisi. Türkiye 5. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 04-07 Eylül, *Bildiriler Kitabı 1. Cilt Meyvecilik*, Erzurum, Türkiye, 607-610s.
- [15] Ayfer, M., Uzun, A., Baş, F., 1986. Türk fındık çeşitleri. Karadeniz Bölgesi Fındık İhracatçıları Birliği Yayınları, Ankara, 95s.
- [16] Turan, A., 2007. Giresun İli Bulancak İlçesi Tombul Fındık Klon Seleksiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 99s.
- [17] Balta, M. F., Yarılgaç, T., Aşkın, M. A., Kuçuk, M., Balta, F., Özrenk, K., 2006. Determination of fatty acid compositions, oil contents and some quality traits of hazelnut genetic resources grown in eastern Anatolia of Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 681–686.
- [18] Ozdemir, F., Akinci, I., 2004. Physical and nutritional properties of four major commercial Turkish hazelnut varieties. *Journal of Food Engineering* 63: 341–347.
- [19] Xu, Y. X., Hanna, M. A., 2010. Evaluation of Nebraska hybrid hazelnuts: Nut/kernel characteristics, kernel proximate composition, and oil and protein properties. *Industrial Crops and Products* 31: 84–91.
- [20] Aydın, C., 2002. Physical properties of hazel nuts. *Biosystems Engineering* 82 (3): 297-303.
- [21] Ercisli, S., Ozturk, I., Kara, M., Kalkan, F., Seker, H., Duyar, O., Erturk, Y., 2011. Physical properties of hazelnuts. *International Agrophysics* 25: 115-121.
- [22] Kalkışım, O., Turan A., Okcu, Z., Özdes D., 2016. Evaluation of the effect of different harvest time on the fruit quality of foşa nut. *Erwerbs-Obstbau* 58: 89–92.
- [23] Erdogan, V., Aygun, A., 2005. Fatty acid composition and physical properties of Turkish tree hazelnuts. *Chemistry of Natural Compounds* 41(4): 378-381.
- [24] Oliveira, I., Sousa, A., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J.A., 2008. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 46: 1801–1807.

- [25] Delprete, C., Sesana, R., 2014. Mechanical characterization of kernel and shell of hazelnuts: Proposal of an experimental procedure. *Journal of Food Engineering* 124: 28–34.
- [26] Turan, A., 2017. Fındıkta kurutma yöntemlerinin meyve kalitesi ve muhafazası üzerine etkileri. Doktora Tezi. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ordu, 240s.
- [27] İslam, A., Turan, A., Kurt, H., 2005. Effect of ocak and single trunk training systems on yield and nut quality. Proceedings of the VI. International Congress on Hazelnut. Editors: J., Tous, M., Rovira, A., Romero. June 14-18. Tarragona-Reus, Spain, 259-262s.
-

Fonksiyonel Dondurma

Nazlı Türkmen , Ayşe Gürsoy 

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 06.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 06.11.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): nazli.turkmen@ankara.edu.tr (N. Türkmen)

☎ 0312 596 13 46 📠 0312 318 22 19

Öz

Tüketicilerin daha kaliteli bir yaşam sürdürebilmek için daha sağlıklı ürünlere yöneliminin artması ile birlikte fonksiyonel gıdalara olan talebi de gün geçtikçe artış göstermektedir. Ülkelerde tüketilen fonksiyonel gıda grupları incelendiğinde, süt ve süt ürünlerinin en üst sırada yer aldığı görülmektedir ve buna paralel olarak süt ve süt ürünlerine fonksiyonel özellik kazandırılması yönünde yapılmış çalışmaların sayısı da oldukça fazladır. Bu ürünler içerisinde, besin değerinin oldukça yüksek olması ve bileşimi en kolay değiştirilebilen süt ürünlerinden biri olması sebebiyle dondurmanın da önemli bir yeri bulunmaktadır. Dondurmaya fonksiyonel özellik kazandırılması üzerine yapılmış çalışmalar incelendiğinde, ürünün daha çok probiyotik ve prebiyotikler, peyniraltı suyu, diyet lifler, omega-3 yağ asitleri ve mineral maddelerce zenginleştirilmesi ve yağ ve/veya şeker içeriğinin azaltılması ve antioksidan kapasitesinin artırılması üzerine çeşitli araştırmalar yapıldığı görülmektedir. Ülkemizde kişi başına düşen dondurma tüketim miktarının giderek artıyor olması, fonksiyonel dondurma üzerine yapılacak çalışmaların da yoğunlaşacağını göstermektedir. Bu çalışmada fonksiyonel dondurma üretimi ile ilgili çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fonksiyonel gıda, Dondurma, Sağlık

Functional Ice Cream

ABSTRACT

With the increasing trend of consumers towards healthier products in order to be able to live a better life, the demand for functional foods is also increasing day by day. When functional food groups consumed in various countries are considered, milk and dairy products are usually at the top of the list, and accordingly, the number of studies aiming to give functional properties to milk and dairy products are also quite high. Among these products, ice cream is also important because its nutritional value is high and the composition is one of the milk products that can be modified most easily. When studies on functionalization of ice cream are reviewed, it is seen that various researches have been carried out on enhancing the product more probiotic and prebiotics, whey, dietary fibers, omega-3 fatty acids and minerals enrichment, reducing fat and / or sugar content and increasing antioxidant capacity. The amount of ice cream consumed per capita in Turkey is increasing gradually, and this shows that the work to be done on functional ice cream will also be intensified. In this study, researches on the production of functional ice cream were reviewed.

Keywords: Functional food, Ice cream, Health

GİRİŞ

Değişen yaşam koşulları ile birlikte, tüketicilerin gıdalardan beklentileri de değişmektedir. Beslenme alışkanlıklarını değiştirmeden daha sağlıklı ürünlere

yönelim gün geçtikçe artmaktadır. Tüketiciler, daha sağlıklı ve kaliteli yaşam sürdürebilmek için, sağlık sorunlarına çözüm aramanın yanı sıra, hastalıklardan korunmak için de çeşitli arayışlar içerisinde. Fonksiyonel gıda tüketimi, günümüzün bilinçli tüketicileri

açısından bu noktada alınan önlemlerden biri olarak ortaya çıkmaktadır [1-3].

Günlük beslenme şeklinin, şişmanlık, kalp ve damar hastalıkları, osteoporoz ve kanser gibi hastalıkların önlenmesinde büyük rol oynadığı bilinmektedir. Fonksiyonel gıdalar, günlük diyetle vücuda alınan ürünlerin fonksiyonel hale getirilmesiyle ortaya çıkan ve besleyici değerlerine ek olarak, fiziksel performansta, zihinsel aktivitede, hastalıkların tedavisi ve kontrolünde de etkili olan gıdalardır.

Toplumlar fonksiyonel gıdalara karşı farklı eğilimler göstermektedir. Örneğin, Japonya'da üretimi yapılan fonksiyonel gıdaların mide-bağırsak ve kemik sağlığı üzerine etki etmesi öncelikli olarak hedeflenirken, batı ülkelerinde kalp hastalıkları ve kanseri önleyici etkileri daha çok gündemdedir [4].

Fonksiyonel süt ürünleri üzerine yapılan çalışmalar, fonksiyonel gıda ürünleri ile ilgili çalışmalar içerisinde önemli bir yere sahiptir. Süt ve süt ürünlerinin, hem sağlık üzerindeki etkilerinden dolayı, hem de hemen hemen her bireyin günlük diyetinde yer alması nedeniyle fonksiyonel ürün haline getirilmesi oldukça uygun olmaktadır. Fonksiyonel dondurma da, fonksiyonel süt ürünleri içerisinde önemli bir yer teşkil etmektedir. Sağlık açısından yararlarının yanı sıra, bileşiminin kolaylıkla değiştirilebilmesi ve her yaşta bireyin severek tükettiği bir ürün olması, dondurmanın fonksiyonel hale getirilmesi üzerine yapılan araştırmaların artmasını sağlamıştır. Bu makalede, bahsedilen konu ile ilgili yapılan çeşitli araştırmalar ortaya konmuştur.

FONKSİYONEL GIDANIN TANIMI

"Fonksiyonel gıda" terimi ilk kez 1980'lerin başında Japonya'da özel bileşenlerce zenginleştirilmiş ve işlevsel etkilere sahip gıdalar için kullanılmıştır [5]. Japonların FOSHU (Foods For Specific Health Use) adını verdikleri fonksiyonel gıdalar temelde, vücudun genel sağlık durumuna faydalı olan (örneğin probiyotik ve prebiyotik içeren gıdalar), bazı hastalıklara yakalanma riskini azaltan (örneğin kolesterol içeriği azaltılmış gıdalar) ve hatta bazı hastalıkların iyileşmesine yardımcı olan bileşenlerle zenginleştirilmiş ürünlerdir [5, 6]. Diğer bir ifadeyle fonksiyonel gıdalar, probiyotikleri, prebiyotikleri, sinbiyotikleri, nutrasötikleri (hastalıkların tedavisinde veya önlenmesinde sağlığa yararları bilimsel olarak ispatlanmış, toksik olmayan, herhangi bir gıda takviyesi desteği) ve amaca hizmet eden tüm kavramları bünyesinde barındıran ürünlerdir [7].

1984'te Japonya'da Eğitim, Bilim ve Kültür Bakanlığı tarafından, yetersiz doğal kaynakların yarattığı sorunları aşmak ve bu konuda üniversitelerde temel ve uygulamalı araştırmanın geliştirilmesi amacıyla fonksiyonel ürünler üzerine bir proje çalışması başlatılmıştır [6, 8]. Bu proje, fonksiyonel ürünler üzerine yapılan çalışmaların başlangıcı özelliğini taşımaktadır. Japonya'da fonksiyonel gıdalara olan ilgi, zamanla Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa ülkelerine de yansımış ve özellikle 1990'lardan itibaren fonksiyonel

gıda ürünleri pazarı gelişmeye başlamıştır [9, 10]. Türkiye'de ise fonksiyonel gıda pazarı son beş yılda gelişme göstermiş ve tüketicilerin fonksiyonel ürünlere olan ilgisine paralel olarak, günümüzde marketlerde pek çok firma tarafından satışa sunulmuş çeşitli fonksiyonel gıda ürünleri görmek mümkündür. Fonksiyonel gıdaların pazar büyüklüklerine ilişkin veriler incelendiğinde ülkemizin henüz çok gerilerde olduğu görülse de, son yıllarda yerli ve yabancı pek çok firmanın bu ürünlere yaptığı yatırımlar göz önünde bulundurulduğunda, Türkiye'de fonksiyonel gıda pazarının büyümekte olduğunu söylemek mümkündür [3].

Fonksiyonel gıdaların yaygınlaşması ve giderek önem kazanması, bu ürünlere yönelik kavramsallaştırma çalışmalarını da hızlandırmış ve ilk adım ürün grubunun sınırlarını belirlemek amacıyla tanım geliştirme yönünde olmuştur. Ancak günümüzde halen fonksiyonel gıdalar için standart bir tanım bulunmamakta, beslenme alanında çalışan uzmanlar ve kurumlar kendilerine göre bir tanım kullanmaktadırlar [6]. Endüstri, üniversite ve devlet temsilcilerinin yer aldığı ortak bir zemin olan ILSI Europe (Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü) tarafından yapılan tanım şu şekildedir [11-14]:

"Bir gıda ürününün, beslenmeye yönelik uygun niteliklerinin yanı sıra, vücudun bir ya da daha fazla hedef işlevini daha sağlıklı ve iyi duruma getirmek ve/veya hastalık riskini azaltmak yoluyla yararlı yönde etkilediği ikna edici bir şekilde ortaya koyulabilirse, o gıda ürünü 'fonksiyonel' olarak nitelendirilebilir."

Uluslararası Gıda Bilgi Konseyi Vakfı'nın (IFIC) tanımı ise çok daha geniş olup, "temel beslenme gereksinimlerinin ötesinde yarar sağlayan gıda ve içecekler" şeklindedir [6].

"Fonksiyonel gıda" kavramı için hala net ve herkesin kabul ettiği bir tanım bulunmamakta birlikte, çeşitli kurum ve konu hakkındaki uzmanlar tarafından yapılan tanımlar bazı ortak noktalara sahiptir. Bunları aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür [15, 16]:

- İlaç veya kapsül formunda olmamalıdır.
- Konu hakkındaki uzman kişiler tarafından etkileri onaylanmış olmalıdır.
- Beslenme bakımından yeterli olmanın yanında ayrıca, vücutta bir veya birden fazla fonksiyon üzerine iyi olma durumunu sağlama ve/veya hastalık riskini azaltma gibi olumlu etkilere sahip olmalıdır.
- Günlük tüketimi yapılan, normal diyetin bir parçası olmalıdır.

Fonksiyonel gıdaların pratikte aşağıdaki şekillerde olması mümkündür:

- Doğal bir gıda,
- Bazı bileşenler ilave edilmiş bir gıda,
- İçerisinden bazı bileşenleri çıkarılmış bir gıda,
- İçerdiği bir veya daha çok bileşeni modifiye edilmiş bir gıda,

Veya bütün bunların birleşimiyle ortaya çıkabilecek bir gıda.

FONKSİYONEL DONDURMA ÜRETİMİ

Dondurma genel olarak süt ve süt ürünleri (süttozu, krema gibi), tatlandırıcılar, stabilizerler, emülsifiyerler, renk ve aroma maddelerinden oluşan karışıma (dondurma miksi) hava verilerek dondurucularda işlenmesiyle elde edilen ve günümüzde her yaşta insanın severek tükettiği bir süt ürünüdür [17].

Dondurma, hemen hemen bütün ülkelerde üretimi ve tüketimi yaygın olarak yapılan, çok önemli besin maddeleri içerdiği için beslenme değeri yüksek olan bir üründür. Ülkemizde ise daha çok zevk için ve çoğunlukla yazın sıcak günlerde serinlemek amacıyla tüketilen bir süt ürünü olarak bilinmektedir. Ülkemizde kişi başı dondurma tüketimi, pek çok ülkeye kıyasla oldukça düşüktür. Ancak artık günümüzde dondurma üreten modern işletmelerin sayılarının artması, kalitenin yükselmesi ve çeşitli eğitici faaliyetlerin yapılmasına bağlı olarak bu ürünün hem yaz hem kış aylarında tüketimi giderek artmaktadır. Öyle ki, ülkemizde 2000 yılında 1 litre olan ortalama kişi başı dondurma tüketim miktarı, 2005 yılında 1.5 litreye, 2010 yılında 2.5 litreye ve 2015 yılında 4.2 litreye kadar çıkmıştır [18].

Diğer süt ve süt ürünleriyle kıyaslandığında dondurmaya, bileşimi en kolay değiştirilebilen ürün olarak kabul etmek mümkündür. Fonksiyonel ürünlerin sağlık üzerine etkilerinden dolayı, dondurmaya fonksiyonel özellik kazandırılması özellikle son yıllarda üzerinde sıkça çalışılan bir konudur.

Çok farklı bileşenler kullanılarak dondurmaya fonksiyonel hale getirmek mümkündür. En sık kullanılan yöntemler dikkate alındığında, fonksiyonel dondurma çeşitleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik dondurma
2. Peyniraltı suyu ile zenginleştirilmiş dondurma
3. Yağ ve/veya şeker içeriği azaltılmış dondurma
4. Antioksidan kapasitesi artırılmış dondurma
5. Diyet liflerce zenginleştirilmiş dondurma
6. Omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmiş dondurma
7. Mineral maddeler açısından zenginleştirilmiş dondurma
8. Diğer yöntemlerle fonksiyonel hale getirilmiş dondurmalar

Probiyotik, Prebiyotik ve Sinbiyotik Dondurma

Probiyotik bakteriler ve prebiyotik maddeler içeren ürünler bireylerde gastrointestinal sistemi düzenlediği için, fonksiyonel gıdalar içerisinde önemli bir yere sahiptir. Probiyotikler, belirli miktarda tüketildiklerinde bireyin mide-bağırsak sistemi üzerinde olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalardır [19]. Bağırsak mikroflorasında bulunan probiyotiklerin çeşitli hastalıklara karşı vücudu koruyucu, bağırsıklık sistemini geliştirici, antikanserjenik ve serum kolesterol değerini düşürücü etkileri olduğu bilinmektedir [20]. Gıdaların probiyotik bakteriler açısından zenginleştirilmesinde en

yaygın kullanılan bakteri grubu laktik asit bakterileridir. Dolayısıyla gastrointestinal sistemi düzenleyici etki gösteren fonksiyonel gıda grubunun başında süt ürünleri gelmektedir.

Prebiyotikler ise, vücuda alındıklarında doğrudan bağırsak sistemine geçen ve buradaki probiyotik bakterilerin gelişimini teşvik eden maddelerdir [19]. Şekerlerin sindirimi ve hazmı üzerine olumlu etkileri, glukoz ve yağ metabolizması ile kalp hastalığı riskine karşı koruyucu etkileri ve patojen mikroorganizmaları engelleyici etkileri, prebiyotiklerin fonksiyonel etkileri olarak sıralanabilir [20]. Fonksiyonel gıda katkısı olarak prebiyotik maddeler, genel olarak inülin, oligofruktozlar ve fruktooligosakkaritler olarak sınıflandırılmaktadır [21]. Yine prebiyotiklerin en sık kullanıldığı gıda grubu süt ürünleridir.

Probiyotikler ve prebiyotiklerin bir arada kullanıldığı durumlarda ortaya çıkan ürün sinbiyotik olarak adlandırılmaktadır. Eğer probiyotik bakteri, ortamda bulunan bir prebiyotiği kullanırsa, "sinbiyotik etki" ortaya çıkmakta ve bu durumda her ikisinin de bulunduğu ürün tüketildiğinde, hem probiyotiklerin hem de prebiyotiklerin fonksiyonel özelliklerinden yararlanılmış olmaktadır [20, 22].

Probiyotik ve prebiyotiklerin ayrı ayrı veya birlikte kullanımı ile ortaya çıkan fonksiyonel dondurmalar ve bunların özelliklerinin incelendiği pek çok araştırma bulunmaktadır. Alamprese ve ark. [23] tarafından gerçekleştirilen çalışma kapsamında, farklı yağ ve şeker içeriklerine sahip dondurma örneklerine *Lactobacillus johnsonii* La1 probiyotik bakterisi ilave edilmiş ve ürünün çeşitli özellikleri incelenmiştir. Araştırma sonucuna göre, dondurma üretiminde kullanılan probiyotik bakterilerin 8 aylık depolama süresince varlığını yüksek seviyelerde devam ettirebildiği görülmüş, dolayısıyla araştırmada kullanılan yöntemle probiyotik dondurma üretiminin mümkün olduğu kanıtlanmıştır. Bir başka çalışmada [24], probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik dondurmaların duyu özellikleri ve besleyicilikleri araştırılmıştır. Bu amaçla, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus rhamnosus* bakterileri kullanılarak probiyotik dondurma, prebiyotik özelliği olan inülin ilave edilerek prebiyotik dondurma ve bunların birleşimi kullanılarak sinbiyotik dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre, örneklerin çoğu iyi besleyicilik özelliği göstermiş ve duyu özellikleri kabul edilebilir bulunmuştur. Leandro ve ark. [25], farklı yağ içeriklerine sahip dondurma örneklerine probiyotik bakteri özelliği taşıyan *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 ilave etmişler ve 40 günlük depolama süresince bakterinin dondurmadaki varlığını incelemişlerdir. -16°C'de 40 günlük depolama boyunca incelenen örneklerde canlı bakteri sayısı üretim sonrasındaki sayıya göre farklılık göstermemiş, ayrıca farklı yağ içeriğine sahip örneklerde de canlı bakteri sayısı açısından depolama süresince herhangi bir farklılık görülmemiştir. Keçi sütünden probiyotik dondurma üretiminin gerçekleştirildiği bir başka çalışmada [26], probiyotik özellik gösteren *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1 ilave edilmiş örnek ile bu bakteriyi içermeyen kontrol örneği çeşitli özellikler açısından karşılaştırılmıştır. Yapılan

fiziksel, kimyasal ve duyuşsal analiz sonuçları keçi sütünden probiyotik dondurma üretiminin mümkün olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bifidobakteri ilaveli örneklerde üretim sonrası ilk 24 saat içerisinde yaklaşık 7 log kob/g canlı mikroorganizma saptanmış, yani bakterilerin %84.3'ü canlı kalabilmiştir. Buzdolabı koşullarında 120 günlük depolama süresince canlı bakteri sayısının 6.5 log kob/g'ın altına düşmediği görülmüştür. Bu araştırmaların tamamında dondurma örneklerine probiyotik veya prebiyotik özellik gösteren çeşitli mikroorganizmalar ve bileşenler ilave edilmiş ve elde edilen bu fonksiyonel dondurmaların çeşitli fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir. Konu ile ilgili yapılmış bu çalışmaların tamamından elde edilen sonuçlar, örneklerin probiyotik, prebiyotik veya sinbiyotik özelliklerini uzun depolama süreleri boyunca devam ettirdiklerini göstermiştir.

Peyniraltı Suyu ile Zenginleştirilmiş Dondurma

Peyniraltı suyu, peynir yapımı sırasında, pıhtının kesilmesi ile ayrılan sarı-yeşilimsi sıvı kısımdır [27]. Laktoz, serum proteinleri, yağ, mineral maddeler ve suda çözünen vitaminleri bünyesinde bulunduran peyniraltı suyu, besleyici değeri yüksek olan bir süt yan ürünüdür [28, 29].

Peyniraltı suyu, biyolojik değeri yüksek olan serum proteinlerini önemli oranda içerdiği için sağlık üzerine pek çok etkisi bulunmaktadır. Antibakteriyel, antiviral etkiler, bağışıklık sisteminin desteklenmesi, antioksidan etki, antikarsinogenik etki ve hipokolesterolemik etki peyniraltı suyunun önemli biyolojik etkilerindedir. Ayrıca, büyümeyi, kemik gelişimini ve kilo kontrolünü destekleyen yararları bulunduğu da yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur [30, 31].

Peyniraltı suyunun bahsedilen etkilerinden dolayı fonksiyonel ürünlerde kullanımı oldukça yaygındır. Dondurmanın peyniraltı suyu ile zenginleştirilmesi üzerine yapılmış pek çok araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda dondurma örneklerine peyniraltı suyu, peyniraltı suyu protein konsantratu veya peyniraltı suyu tozu ilave edilmiş ve örneklerin çeşitli fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir. Örneğin, Parsons ve ark. [32], dondurma miksinde kullanılan süt yağsız kurumadde oranını azaltarak ve yerine tatlı peyniraltı suyu (tatlı PAS) ve peyniraltı suyu (PAS) protein konsantratu ile sodyum kazeinat ilave ederek dondurma üretimi gerçekleştirmiş ve örneklerin duyuşsal özelliklerini incelemişlerdir. Eğitilmiş panelistler tarafından yapılan duyuşsal değerlendirme sonuçlarına göre, aroma ve tekstür açısından örnekler arasında fark olmadığı belirlenmiştir. Tüketici testi sonuçlarına göre ise genel kabul edilebilirlik açısından tatlı PAS ve tatlı PAS/PAS protein konsantratu karışımı kullanılan örnekler kontrolden farksız bulunmuş, ancak tatlı PAS ve sodyum kazeinatın birlikte kullanıldığı örnek diğerlerinden düşük puan almıştır. Lee ve White [33] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, süt yağsız kurumadde oranı azaltılarak yerine ultrafiltrat (UF) edilmiş retentat ve PAS protein konsantratu ilave edilmiş vanilyalı dondurmaların bazı özellikleri incelenmiştir. Patel ve ark. [34] tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise, dondurmanın protein

içeriğini artırmak amacıyla dondurma mikslerine farklı oranlarda PAS protein konsantratu veya toz haline getirilmiş süt protein konsantratu ilavesi yapılmıştır. Örneklerin tekstürel özellikler açısından genel kabul edilebilirliğinin kontrol örneğine göre daha yüksek olduğu belirtilmiş, bütün parametreler açısından karşılaştırma yapıldığında ise %30 PAS protein konsantratu ilaveli örnek ile %30 ve %60 süt protein konsantratu ilaveli örnekler kontrol örneğine yakın veya kontrol örneğinden daha iyi bulunmuştur. Lim ve ark. [35], yüksek hidrostatik basınç uygulanmış PAS protein konsantratının yağ oranı azaltılmış dondurmada kullanımı üzerine bir araştırma yapmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre hidrostatik basınç uygulanmış PAS protein konsantratını içeren dondurma örneği, hidrostatik basınç uygulanmamış PAS protein konsantratu ve ticari olarak satışı yapılan PAS protein konsantratu içeren örnekler göre hacim artışı ve köpük stabilitesi açısından en iyi bulunan örnek olmuştur.

Yağ ve/veya Şeker İçeriği Azaltılmış Dondurma

Süt yağının kalp hastalığı ve kanser riskini azaltıcı, bağışıklık sistemini geliştirici özellikleri ile kemik sağlığı ve vücut yapısı üzerinde olumlu etki yaratması gibi önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Dondurma genel olarak %10-14 arasında yağ içeriğine sahiptir. Özellikle kalp, kolesterol hastaları ve diyabetik bireylerin, her ne kadar süt yağının pek çok olumlu işlevi olsa da, bu kadar yüksek oranda yağ içeriğine sahip bir ürünü tüketmesinin sağlık açısından sakınca yaratabileceği düşünülmektedir. Yağ içeriği düşürülmüş gıda ürünleri, özellikle son yıllarda, sağlık sorunları nedeniyle sağlıklı bireylerden daha düşük miktarda süt yağı tüketmesi gereken bireylerin yanı sıra, sağlıklı beslenmeye önem veren kişiler tarafından da daha çok tercih edilmektedir.

Dondurmanın şeker içeriği oldukça yüksek olup, yaklaşık %15-17 arasında değişmektedir. Diyabet hastalığı başta olmak üzere şeker tüketiminin azaltılmasını gerektiren rahatsızlıklara sahip bireyler için yüksek şeker içeriğine sahip ürünlerin tüketimi uygun olmamaktadır. Aynı zamanda günlük diyetine önem veren ve zayıflamak isteyen bireyler de şeker içeriği azaltılmış gıda ürünlerini tüketmeyi tercih etmektedirler.

Yağ ve/veya şeker içeriği azaltılmış dondurmalar üzerine yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların pek çoğunda, yağ ve/veya şeker içeriğinin azaltılmasından dolayı ortaya çıkabilecek istenmeyen fiziksel ve duyuşsal özellikleri iyileştirmek için çeşitli yağ ve/veya şeker ikame maddeleri ile aromayı artırıcı bileşen veya ürünlerin ilave edildiği görülmektedir. Örneğin, Aime ve ark. [36], yağ içeriği azaltılmış vanilyalı dondurmaların süt yağı içeriğinin azaltılmasından kaynaklanan tekstürel bozuklukların giderilmesi amacıyla yağ ikame maddesi kullanarak dondurma üretimi yapmışlardır. Bu amaçla yağ oranları farklı (%5, 2.5 ve 0.4) dondurma örneklerinin her birine yağ ikame maddesi olarak %5 oranında bezelye nişastası ilave edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre %5 süt yağı ve %5 bezelye nişastası içeren örnek ile %10 süt yağı içeren kontrol örneği arasında incelenen duyuşsal ve enstrümantal analizler bakımından herhangi

bir farklılık bulunmamış, diğer örnekler ise kontrol örneğine göre daha az beğenilmiştir. Cody ve ark. [37] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, farklı yağ içeriklerine (%0, 4 ve 10) sahip vanilyalı dondurmada iki farklı tipte un haline getirilmiş pirinç %2, 4 ve 6 olmak üzere üç farklı oranda kullanılmıştır. Yapılan tanımlayıcı test sonuçlarına göre %2 ve 4 oranında ilave edilen pirinç unu, dondurmanın tekstürünü iyileştirmiş ancak örneklerin aroma karakteristikleri üzerine olumlu bir katkıda bulunmamıştır. %6 oranında pirinç unu içeren örnekte ise pirinç aromasının algılanabilir olduğu belirtilmiştir. Rossa ve ark. [38] tarafından yapılan çalışmada, mikrobiyal transglutaminaz enziminin (TG), farklı yağ içeriklerine (%4, 6 ve 8) sahip dondurmaların fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. TG ilaveli örneklerin erime oranı TG içermeyen örneklerle göre önemli oranda daha düşük, viskoziteleri ise daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca örneklerdeki yağ içeriğinin azalmasıyla birlikte erime oranında düşüş ve viskozitede ise yükselme tespit edilmiştir.

Antioksidan Kapasitesi Artırılmış Dondurma

Metabolizmanın işleyişi sırasında doğal olarak oluşan oksidasyon, kanser ve kalp hastalıkları gibi hayati öneme sahip bazı rahatsızlıkların görülmesinde etkili olan serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Vücutta serbest radikallerin oluşumu katabolik reaksiyonların yanı sıra, yağlı diyet, sağlıksız beslenme, sigara ve alkol tüketimi, ilaç tedavileri, radyasyon, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta ve artmaktadır. Serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına ve canlı hücrelere zarar vererek erken yaşlanmaya neden olmaktadır. Antioksidanlar, hücreler üzerinde koruyucu, tedavi edici etkilere sahiptirler. Yapılan araştırmalar, antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücreler üzerinde koruyucu etki yaptıklarını ortaya koymaktadır [39]. Antioksidan özellik gösteren maddelerin, katarakt, kanser, kalp-damar rahatsızlıkları, nörolojik rahatsızlıklar gibi pek çok hastalığın önlenmesinde önemli rol oynadıkları belirtilmektedir [40-42].

A, C ve E vitaminleri ile birlikte en önemli doğal antioksidatif özellik gösteren bileşikler, tahıl, meyve ve sebzelerde bulunan karotenoitler, flavonoidler ve diğer basit fenolik bileşiklerdir [43]. Dolayısıyla, antioksidatif özellik açısından fonksiyonel hale getirilmek istenen gıda ürünlerinde, genellikle bahsedilen antioksidan bileşikler yüksek oranlarda bulunduran çeşitli tahıl, meyve ve sebzeler kullanılmaktadır.

Antioksidan kapasitesi artırılmış fonksiyonel dondurma üretimi ve bu ürünlerin bazı özelliklerinin araştırılması ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Hwang ve ark. [44] tarafından yapılan çalışmada, şarap posasının dondurmanın reolojik özellikleri ve antioksidan kapasitesi üzerine etkileri incelenmiştir. İlave edilen şarap posası miktarının artmasıyla, örneklerin viskozitesi de artmış, hatta şarap posalı örneklerin viskozitesi stabilizer ilaveli örneklerden bile daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca örneklerin erime oranları, şarap

posası ilavesi ile önemli ölçüde azalmıştır. Şarap posasının antioksidan içeriğinden dolayı dondurma örneklerinin antioksidan kapasitesinin arttığı, antioksidan bileşenlerin üretim sırasında stabil kaldığı araştırmadan elde edilen bir başka önemli sonuçtur. Çam ve ark. [45] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, dondurmaya nar kabuğu tozu ve nar çekirdeği yağı ilave edilmiş, böylece yağ asitleri bakımından zenginleştirilmiş ve antioksidan kapasitesi artırılmış dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. Sadece nar kabuğu tozu fenolik bileşikler içerdiği için beklendiği gibi yalnızca nar kabuğu tozu içeren örneklerin fenolik bileşiklerce zengin olduğu görülmüş, dolayısıyla sadece bu örneklerin antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Yağ ilaveli örneklerde yağ asitleri içeriğinin arttığı görülmüş, ancak duyuval değerlendirme sonuçlarına göre ilave edilen yağ miktarı ile örneklerde hissedilen okside tat ve doğal olmayan aromanın doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Dondurmanın tekstürü ile ilgili özelliklerinin ise toz veya yağ ilavesinden etkilenmediği tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada Sun-Waterhouse ve ark. [46] tarafından, antioksidan özelliği gösteren ve C vitamini içeriği yüksek olan kivi, yeşil, altın ve kırmızı renkli üç farklı çeşidinin püreleri %9.5 yağlı dondurma üretiminde kullanılmıştır. En yüksek antioksidan kapasitesine sahip örneğin kırmızı kivi püresi ilave edilmiş dondurma örneği olduğu belirlenmiştir. Yeşil kivi püresi ilaveli örneğin C vitamini içeriği ise diğer örneklerden biraz daha düşük bulunmuştur. Ayrıca duyuval değerlendirme sonuçlarına göre örneklerin tamamının hoşça giden aromaya sahip olduğu belirtilmiştir. Rizk ve ark. [47] tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise, manda sütünden yapılan dondurmanın antioksidan kapasitesini artırmak ve aynı zamanda ürünü doğal yollardan renklendirmek amacıyla domates kabuğunun ekstraksiyonu ile elde edilen karotenoitler farklı oranlarda (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) kullanılmıştır. Gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre, ilave edilen karotenoit miktarı arttıkça, örneklerin yağ oranının, özgül ağırlığının ve kilogram başına ağırlığının doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. 30 günlük depolama boyunca duyuval özellikler açısından en yüksek puanı %3 karotenoit ilave edilen örnek almıştır.

Diyet Liflerce Zenginleştirilmiş Dondurma

Diyet lifi başlıca tahıl, meyve ve sebzelerde bulunan, sindirim enzimlerine karşı oldukça dirençli, ince bağırsakta sindirilemeyen ancak kalın bağırsakta tamamen ya da kısmen fermente olan gıda bileşenleridir. Lifler, genel olarak sebze ve meyvelerin kabuk, zar, sap, çekirdek gibi sindirilemeyen ve nispeten daha katı olan kısımlarını ifade etmektedir. Diyet lifler, özellikle son yıllarda giderek artan düşük enerji değerine sahip diyet ürünlerin temel bileşenini oluşturmanın yanı sıra, sağlık üzerine pek çok olumlu etkisi bulunması nedeniyle fonksiyonel gıdalarda da sıklıkla kullanılmaktadır. Diyet lif bileşenlerinin kalın bağırsak fonksiyonlarını düzenlediği, glukoz ve lipit metabolizması ile mineral emilimi üzerinde fizyolojik etkileri olduğu belirtilmekte ve günümüzde kabızlık, hemoroit, kolon kanseri, şişmanlık, diyabet, kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etkisi kesin olarak bilinmektedir [48].

Diyet liflerin dondurmada kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Soukoulis ve ark. [49], çeşitli diyet lifleri ile zenginleştirilmiş dondurma örneklerinin bazı reolojik ve termal özelliklerini incelemiştir. Çalışmada dondurma örneklerine yulaf lifi, buğday lifi, elma lifi ve inülin %2 ve 4 olmak üzere iki farklı oranda ilave edilmiş ve diyet lif ilavesi yapılmış örneklerin tamamının viskozite değerlerinde kontrol örneğine kıyasla bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, diyet liflerin kullanım oranının da dondurma mikslarının donma noktaları üzerine etki ettiği görülmüş, bütün lif çeşitlerinde %2'lik oranın daha etkili olduğu saptanmıştır. Bir başka çalışmada [50], diyet liflerce zengin dondurma üretimi gerçekleştirmek amacıyla çözümlü soya fasulyesi polisakkaritleri (SF) farklı oranlarda (%1, 2, 3, 4) kullanılmış ve örneklerin bazı duyuşsal özelliklerine bakılmıştır. 102 panelist ile gerçekleştirilmiş duyuşsal değerlendirme sonuçlarına göre görünüş, aroma, tatlılık ve tekstür özellikleri açısından %2 SF içeren örnek en yüksek puanları almış, aynı özellikler bakımından en düşük puanları ise %4 SF içeren örnek almıştır. Crizel ve ark. [51] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, diyet liflerce zengin olan portakaldan elde edilen bazı yan ürünler (portakal kabuğu, posası ve tohumundan elde edilen lifler) dondurmada kullanılmış ve örneklerin çeşitli duyuşsal özellikleri incelenmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre diyet lif içermeyen kontrol örneği ile çeşitli lifleri içeren örnekler arasında renk, koku ve tekstür açısından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Panelistlerin %74'ü diyet lifleri içeren dondurma örneklerini satın alabileceklerini belirtmiş, bir kısmı ise diyet lifler bakımından zenginleştirildiğinin belirtilmesi halinde ürünü fonksiyonel özelliklerinden dolayı satın alabileceklerini bildirmişlerdir. Konu ile ilgili gerçekleştirilen bir başka çalışmada [52] ise, dondurma üretiminde balkabağında elde edilen lif konsantresi farklı oranlarda (%0, 0.5, 1 ve 1.5) kullanılmış ve örneklerin bazı özellikleri 90 günlük depolama süresince incelenmiştir. İlave edilen balkabağı lif miktarı arttıkça, örneklerin toplam diyet lif, fenolik madde miktarları ile antioksidan aktivite değerlerinin arttığı, erime oranlarının ise azaldığı görülmüştür. Duyusal nitelikler açısından en beğenilen örnek %1 balkabağı lifi içeren örnek olmuştur.

Omega-3 Yağ Asitlerince Zenginleştirilmiş Dondurma

Omega-3 yağ asitleri bakımından zengin ürünler veya bileşenler tarafından zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdaları, kardiyovasküler rahatsızlıkları azaltıcı yönde rol oynayan gıdalar arasında ilk sıraya koymak mümkündür. Bahsedilen rahatsızlıklara karşı esas etkili olan omega-3 yağ asitleri EPA (eikosapentaenoik asit) ve DHA (dekozaheksaenoik asit)'dir [53, 54] ve bunlar su ürünleri dışındaki gıdalarda hiç bulunmamakta veya eser miktarda bulunmaktadır [55].

EPA+DHA'nın kardiyovasküler hastalıklar dışında da sağlık üzerine olumlu birçok etkisi bulunmaktadır. Söz konusu yağ asitlerinin damar tıkanıklığı, kangren, felç, migren ve alerjik astımı önlediği, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, çeşitli bağırsak ve deri hastalıklarına karşı

koruyucu, hatta tedavi edici etkileri olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur [56-63]. Bahsedilen fonksiyonel özelliklerden dolayı, özellikle balık yağı ile zenginleştirilmiş ürünler üzerine yapılan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Ayrıca yine omega-3 yağ asitlerinden ALA (α -linolenik asit) açısından zengin olan keten tohumu ve yağı, semizotu, ıspanak, soya, kolza gibi bitkisel ürünlerin de gıdalarda kullanımı mümkündür [64-66].

Omega-3 yağ asitleri bakımından zenginleştirilmiş fonksiyonel dondurma üretimi üzerine yapılmış bazı araştırmalar bulunmaktadır. Chee ve ark. [67] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, %14 yağ, %40 kurumadde içeren dondurma örneklerinin her bir porsiyonu (65 g) 300 mg omega-3 yağ asitlerini içerecek şekilde alg yağı ile zenginleştirilmiştir. Dondurma örneklerinin duyuşsal özelliklerini iyileştirmek amacıyla vanilya ve çilek aromaları örneklere ayrı ayrı ilave edilmiştir. Tüketiciler tarafından yapılan duyuşsal değerlendirme sonuçlarına göre, bütün örnekler "kısmen" beğenilmiş, ancak alg yağı ilavesiz vanilyalı ve çilekli kontrol örnekleri, alg yağı ilaveli örneklere göre daha çok tercih edilmiştir. Bir başka çalışmada, Corradini ve ark. [68] tarafından omega-3 yağ asitleri bakımından zenginleştirilmiş dondurma üretimi için, palm yağı ve hindistancevizi yağı ile beslenmiş ineklerden sağılan süt kullanılmıştır. Kromatografik analiz sonuçları, palm yağı ile beslenen hayvanların sütlerinin hindistancevizi yağı ile beslenen hayvanlardan elde sütlerden daha fazla omega-3 yağ asidi içerdiğini göstermiş ve bu sütlerden yapılan dondurma örneklerinin omega-3 yağ asitleri içeriği de sütlerle paralellik göstermiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, palm yağı ve hindistancevizi yağı ile beslenmiş hayvanların sütlerinden yapılan dondurma örneklerinin kabul edilebilirliği %70'ten fazla çıkmıştır.

Mineral Maddeler Açısından Zenginleştirilmiş Dondurma

Dondurma daha önce bahsedildiği gibi, özellikle kalsiyum ve fosfor açısından önemli bir besin unsurudur [69]. Ancak hemen hemen bütün gıda ürünlerinde olduğu gibi dondurmanın da mineral maddelerce zenginleştirilmesi, sahip oldukları önemli fonksiyonlardan dolayı üzerinde çalışılan bir konudur. Kemik ve diş yapısının temelini oluşturmaları, protein, yağ gibi kas, organ, kan hücreleri ve diğer yumuşak dokulardaki organik bileşikler içerisinde yer almaları, bazı enzim sistemlerinde, kas ve sinirlerin uyarılmasında, ozmotik basıncın ve pH'nın ayarlanmasında ve antioksidan olarak önemli rollerinin bulunması mineral maddelerin genel fonksiyonları arasındadır [70].

Bahsedilen fonksiyonel özelliklerden dolayı, dondurmanın mineral maddelerce zenginleştirilmesi konusunda çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Costa ve ark. [71] tarafından yapılan çalışmada, κ -karragenan ve kalsiyum klorit ilavesinin dondurmanın yapısı ve kalite özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre, kalsiyum klorit ilavesi buz kristallerinin boyutlarında büyüme etkisi göstermiş ve süt yağında kısmi koalesansa neden olmuştur. Ayrıca bahsedilen

etkilerin, κ-karragenan ilavesi ile daha da arttığı gözlenmiştir. Bir başka çalışmada [72], %5, 10 ve 15 oranlarında burun Bektaşı üzümü (BBÜ - *Physalis peruviana* L.) ilave edilmiş dondurma örneklerinin bazı kimyasal ve duyuşsal özellikleri ile mineral madde içeriği incelenmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre, BBÜ ilaveli örneklerin toplam kül içerikleri artmış, BBÜ ilavesinin dondurmanın Ca, P ve Mg oranını düşürdüğü, K, Fe ve Zn oranını ise artırdığı görülmüştür. Ayrıca ilave edilen BBÜ miktarı arttıkça, örneklerin viskozite değerlerinin de arttığı görülmüş, en düşük viskozite değeri kontrol örneğinde, en yüksek değer ise %15 oranında BBÜ ilave edilmiş örnekte görülmüştür. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre ise panelistler tarafından en çok tercih edilen örneğin %15 oranında BBÜ ilave edilmiş örnek olduğu belirtilmiştir.

Diğer Yöntemlerle Fonksiyonel Hale Getirilmiş Dondurmalar

Yukarıda bahsedilen çeşitli fonksiyonel dondurma üretim yöntemlerinin yanı sıra, bazı doğal aroma maddelerinin ilave edildiği, çeşitli yağ asitleri tarafından zenginleştirilen, laktoz içeriği azaltılan dondurma üretimleri ile ilgili araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin, Trzeciecki [73], laktoz intoleransı olan bireylerin yüksek laktoz içeriğinden dolayı tüketmesinin güç olduğu dondurmanın laktoz içeriğini düşürmek üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu amaçla örneklere laktoz (β -galaktosidaz) preparatı ilave edilmiş, böylece laktozun glukoz ve galaktoza hidrolize olması sağlanmıştır. Örneklerin duyuşsal değerlendirmesi eğitilmiş panelistler tarafından yapılmış ve 1-5 arasında puan verilmesi istenen örnekler en yüksek puanı almışlardır. Bir başka çalışmada, Choo ve ark. [74], özellikle önemli fonksiyonel özellikleri olan laurik ve miristik asit açısından zengin olan Virgin hindistancevizi yağını (VHY) dondurmaya %4, 8 ve 12 olmak üzere üç farklı oranda ilave etmişler ve elde edilen ürünün çeşitli fizikokimyasal ve duyuşsal özellikleri ile yağ asitleri içeriğini incelemişlerdir. %8 ve 12 VHY ilave edilmiş örneklerdeki laurik asit içeriği, beklendiği gibi en yüksek bulunmuştur. Ancak palmitik ve stearik asit içeriği, örneklere ilave edilmiş olan VHY içeriği arttıkça azalmıştır. Yapılan duyuşsal değerlendirme sonuçlarına göre, tekstür, aroma ve genel kabul edilebilirlik açısından ise VHY içeren örnekler kontrol örneğine göre daha iyi bulunmuş ve tüketiciler tarafından en çok tercih edilen örnek %12 VHY içerikli örnek olmuş, bunu sırasıyla %8 ve 4 VHY içerikli örnekler ile kontrol örneği takip etmiştir.

SONUÇ

Yaşam koşullarına bağlı olarak, tüketicilerin beslenme alışkanlıklarıyla beraber tükettikleri gıdalardan beklentileri de değişmektedir. Bireylerin daha sağlıklı beslenme isteği ile birlikte, aynı zamanda tükettikleri gıdalar sayesinde hastalıklardan korunma talebi de gün geçtikçe artmaktadır. Tüketicilerin bu beklentilerini karşılamak adına ilk adım 1980'li yılların başında Japonya'da atılmış ve fonksiyonel gıda kavramı ilk kez bu şekilde kullanılmıştır.

Bireylerin günlük diyetlerinde tükettikleri gıdalara fonksiyonel özellik kazandırılması, özellikle son 10 yıldır sıkça çalışılan bir konudur. Bu çalışmalarda üzerine yoğunlaşılacak konu ülkelere göre farklılık göstermekte, fonksiyonel hale getirilmek istenen ürün grubu veya hangi yönden fonksiyonelleştirileceği ülkede yaşayan bireylerin taleplerine ve orada en sık görülen rahatsızlıklara göre değişmektedir.

Hem besleyici değeri, hem de hemen her bireyin günlük diyetinde yer alması, süt ürünlerinin fonksiyonel hale getirilmesinde büyük etken olmuştur. Ülkelerde tüketilen fonksiyonel gıda gruplarına bakıldığında, çoğu ülkede tüketimi en yaygın grubun fonksiyonel süt ürünleri olduğu görülmektedir.

Fonksiyonel süt ürünleri içerisinde dondurmanın önemli bir yeri bulunmaktadır. Yüksek besleyici değere sahip olmasının yanı sıra, her yaşta bireyin severek tükettiği bir ürün olması ve diğer süt ürünlerine kıyasla bileşimi en kolay değiştirilebilen ürün olması, dondurmanın fonksiyonel hale getirilmesi üzerine yapılan araştırmaların artmasında önemli etkidir.

Ülkemizde yıllık kişi başına tüketilen dondurma miktarı çoğu ülkeye kıyasla çok düşük olmasına rağmen, dondurma üreten modern işletmelerin sayıları giderek artmakta ve kalite yükselmektedir. Konu ile ilgili hem üreticiler hem de tüketiciler için çeşitli eğitici faaliyetlerin yapılmasına bağlı olarak bu miktarın artırılması, fonksiyonel dondurma üzerine yapılan araştırmaların da yoğunlaşmasına öncülük edecektir.

KAYNAKLAR

- [1] Shimizu, T., 2003. Health claims and scientific substantiation of functional foods-Japanese system aiming the global standard. *Current Topics in Nutraceutical Research* 1(3): 213-224.
- [2] Sanguansri, L., Augustin, M.A., 2010. Microencapsulation in functional food product development. In: Functional food product development, Edited by Smith, J., Charter, E., Blackwell Publishing Ltd., United Kingdom.
- [3] Hacıoğlu, G., Kurt, G., 2012. Tüketicilerin fonksiyonel gıdalara yönelik farkındalığı, kabulü ve tutumları: İzmir ili örneği. *Business and Economics Research Journal* 3(1): 161-171.
- [4] Vural, A., 2004. Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi* 6: 51-58.
- [5] Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A., 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite* 51: 456-467.
- [6] Özkan Özdemir, P., Fettahlioğlu, S., Topoyan, M., 2009. Fonksiyonel gıda ürünlerine yönelik tüketici tutumlarını belirleme üzerine bir araştırma. *Ege Akademik Bakış* 9(4): 1079-1099.
- [7] Dayısoylu, K.S., Gezinç, Y., Cingöz, A., 2014. Fonksiyonel gıda mı, fonksiyonel bileşen mi? Gıdalarda fonksiyonellik. *Gıda* 39(1): 57-62.
- [8] Farr, D.R., 1997. Functional foods. *Cancer Letters* 114: 59-63.

- [9] Menrad, K., 2003. Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* 56: 181-188.
- [10] Bech-Larsen, T., Scholderer, J., 2007. Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science & Technology* 18: 231-234.
- [11] Roberfroid, M.B., 1999. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *The Journal of Nutrition* 129: 1398-1401.
- [12] Roberfroid, M.B., 2007. Inulin-type fructans: Functional food ingredients. *The Journal of Nutrition* 137: 2493-2502.
- [13] Urala, N., Lähteenmäki, L., 2007. Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Quality and Preference* 18: 1-12.
- [14] Ares, G., Giménez, A., Gámbaro, A., 2008. Influence of nutritional knowledge on perceived healthiness and willingness to try functional foods. *Appetite* 51: 663-668.
- [15] Roberfroid, M.B., 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease* 34(2): 105-110.
- [16] Karakaya, S., El, S.N., 2004. Bazı Geleneksel Ürünlerin Fonksiyonel Gıda veya Gıda Bileşeni Olarak Kullanımları. *I. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, 23-24 Eylül, 2004, Van, Türkiye, Bildiri Kitabı.
- [17] Gürsoy, A., 2007. Dondurma teknolojisi. In: Süt Teknolojisi, Edited by Yetişemiyen, A., Ankara Üniversitesi Yayınları No: 249, Ankara.
- [18] Anonim, 2016. Dondurma Sektöründen Dış Pazar Atağı. <https://www.asuder.org.tr/dondurma-sektorunden-dis-pazar-atagi/> [Erişim Tarihi: 26.12.2016]
- [19] İnanç, N., Şahin, H., Çiçek, B., 2005. Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi* 27(3): 122-127.
- [20] Sağıdıç, O., Küçüköner, E., Özçelik, S., 2004. Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 35(3-4): 221-228.
- [21] Roberfroid, M.B., 2000. A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition* 16(7/8): 689-691.
- [22] Holzapfel, W.H., Schillinger, U., 2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International* 35: 109-116.
- [23] Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., Savani, L., 2002. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. *International Dairy Journal* 12: 201-208.
- [24] Di Criscio, T., Fratianni, A., Mignogna, R., Cinquanta, L., Coppola, R., Sorrentino, E., Panfilii, G., 2010. Production of functional probiotic, prebiotic and symbiotic ice creams. *Journal of Dairy Science* 93(10): 4555-4564.
- [25] Leandro, E.S., de Araújo, E.A., da Conceição, L.L., de Moraes, C.A., de Carvalho, A.F., 2013. Survival of *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 in ice cream produced with different fat levels and after submission to stress acid and bile salts. *Journal of Functional Foods* 5: 503-507.
- [26] da Silva, P.D.L., Bezerra, M.F., dos Santos, K.M.O., Correia, R.T.P., 2015. Potentially probiotic ice cream from goat's milk: Characterization and cell viability during processing, storage and simulated gastrointestinal conditions. *Food Science and Technology* 62(1): 452-457.
- [27] Koçak, C., 2007. Peynir teknolojisi. In: Süt Teknolojisi, Edited by Yetişemiyen, A., Ankara Üniversitesi Yayınları No: 249, Ankara.
- [28] Gonzáles-Martínez, C., Becerra, M., Cháfer, M., Albors, A., Carot, J.M., Chiralt, A. 2002. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science & Technology* 13: 334-340.
- [29] Gürsel, A. Tarihsiz. Süt Yan Ürünleri ve Özellikleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Süt Yan Ürünleri Teknolojisi Ders Notları (basılmamış).
- [30] Karagözlü, C., Bayarer, M., 2004. Peyniraltı suyu proteinlerinin fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 41(2): 197-207.
- [31] Gür, F., Güzel, M., Öncül, N., Yıldırım, Z., Yıldırım, M., 2010. Süt serum proteinleri ve türevlerinin biyolojik ve fizyolojik aktiviteleri. *Akademik Gıda* 8(1): 23-31.
- [32] Parsons, J.G., Dybing, S.T., Coder, D.S., Spurgeon, D.G., Seas, S.W., 1985. Acceptability of ice cream made with processed wheys and sodium caseinate. *Journal of Dairy Science* 68(11): 2880-2885.
- [33] Lee, F.Y., White, C.H., 1991. Effect of ultrafiltration retentates and whey protein concentrates of ice cream quality during storage. *Journal of Dairy Science* 74(4): 1170-1180.
- [34] Patel, M.R., Baer, R.J., Acharya, M.R., 2006. Increasing the protein content of ice cream. *Journal of Dairy Science* 89(5): 1400-1406.
- [35] Lim, S.Y., Swanson, B.G., Ross, C.F., Clark, S., 2008. High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrate for improved body and texture of lowfat ice cream. *Journal of Dairy Science* 91(4): 1308-1316.
- [36] Aime, D.B., Arntfield, S.D., Malcolmson, L.J., Ryland, D., 2001. Textural analysis of fat reduced vanilla ice cream products. *Food Research International* 34: 237-246.
- [37] Cody, T.L., Olabi, A., Pettingell, A.G., Tong, P.S., Walker, J.H., 2007. Evaluation of rice flour for use in vanilla ice cream. *Journal of Dairy Science* 90(10): 4575-4585.
- [38] Rossa, P.N., Burin, V.M., Bordignon-Luiz, M.T., 2012. Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents. *Food Science and Technology* 48: 224-230.
- [39] Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 23(1/1): 85-89.
- [40] Riemersma, R.A., 1994. Epidemiology and the role of antioxidants in preventing coronary heart

- disease: a brief overview. *Proceedings of the Nutrition Society* 53: 59-65.
- [41] Halliwell, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* 16: 33-50.
- [42] Schwartz, J.L., 1996. The dual roles of nutrients as antioxidants and prooxidants: their effects on tumor cell growth. *The Journal of Nutrition* 126: 1221-1227.
- [43] Duell, P.B., 1996. Prevention of atherosclerosis with dietary antioxidants: fact or fiction?. *The Journal of Nutrition* 126: 1067-1071.
- [44] Hwang, J.Y., Shyu, Y.S., Hsu, C.K., 2009. Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. *Food Science and Technology* 42: 312-318.
- [45] Çam, M., Erdoğan, F., Aslan, D., Dinç, M., 2013. Enrichment of functional properties of ice cream with pomegranate by-products. *Journal of Food Science* 78(10): 1543-1550.
- [46] Sun-Waterhouse, D., Edmonds, L., Wadhwa, S.S., Wibisono, R., 2013. Producing ice cream using a substantial amount of juice from kiwifruit with green, gold or red flesh. *Food Research International* 50: 647-656.
- [47] Rizk, E.M., El-Kady, A.T., El-Bialy, A.R., 2014. Characterization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream. *Annals of Agricultural Science* 59(1): 53-61.
- [48] Dülger, D., Şahan, Y., 2011. Diyet lifin özellikleri ve sağlık üzerindeki etkileri. *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 25(2): 147-157.
- [49] Soukoulis, C., Lebesi, D., Tzia, C., 2009. Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. *Food Chemistry* 115: 665-671.
- [50] Chen, W., Duizer, L., Corredig, M., Goff, D. 2010. Addition of soluble soybean polysaccharides to dairy products as a source of dietary fiber. *Journal of Food Science* 75(6): 478-484.
- [51] Crizel, T.M., Jablonski, A., Rios, A.O., Rech, R., Flôres, S.H., 2013. Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *Food Science and Technology* 53(1): 9-14.
- [52] Kahveci Erdoğan 2016. Dondurma üretiminde balkabağından elde edilen lif konsantrinin kullanılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
- [53] DeFilippis, A.P., Sperling, L.S., 2006. Understanding Omega-3's. *American Heart Journal* 151(3): 564-570.
- [54] Chang, J.P., Chen, Y.T., Su, K.P., 2009. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 pufas) in cardiovascular diseases (cvds) and depression: the missing link? *Cardiovascular Psychiatry and Neurology* 2009:725310.
- [55] Uysal, K., 2007. Balık yağında bulunan ω -3 yağ asitlerinin farmakolojik özellikleri. *Türk Sucul Yaşam Dergisi* 5-8: 783.
- [56] Eritsland, J., Arnesen, H., Seljeflot, I., Høstmark, A.T., 1995. Long-term metabolic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with coronary artery disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 61: 831-836.
- [57] Caughey, G.E., Mantzioris, E., Gibson, R.A., Cleland, L.G., James, M.J., 1996. The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *American Journal of Clinical Nutrition* 63: 116-122.
- [58] Schacky, C.V., Angerer, P., Kothny, W., Theisen, K., Mudra, H., 1999. The effect of dietary ω -3 fatty acids on coronary atherosclerosis. *Annals of Internal Medicine* 130(7): 554-562.
- [59] Simopoulos, A.P., 2000. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 79: 961-970.
- [60] Simopoulos, A.P., 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College Nutrition* 21(6): 495-505.
- [61] Altun, T., Usta, F., Çelik, F., Danabaş, D., 2004. Su ürünlerinin insan sağlığına yararları. *Türk Sucul Yaşam Dergisi* 3: 11-18.
- [62] Domingo, J.L., 2007. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: Is all that glitters gold?. *Environment International* 33: 993-998.
- [63] Domingo, J.L., Bocio, A., Falcó, G., Llobet, J.M., 2007. Benefits and risks of fish consumption Part 1. A quantitative analysis of the intake of Omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* 230(2-3): 219-226.
- [64] Yaprak, S., Karabulut, İ., Ergin, G., 2003. Omega 3 yağ asitleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *GIDA* 28(2): 115-122.
- [65] Kaya, Y., Duyar, H.A., Erdem, M.E., 2004. Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 21(3-4): 365-370.
- [66] Olcay, İ., Besler, H.T., 2012. Yeni doğanda beyin gelişimi ve Omega-3 yağ asitleri. http://www.danoneenstitusu.org.tr/pdf/yeni_dogan_omega3.pdf [Erişim Tarihi: 03.09.2012]
- [67] Chee, C.P., Djordjevic, D., Faraji, H., Decker, E.A., Hollender, R., Julian McClements, D., Peterson, D.G., Roberts, R.F., Coupland, J.N., 2007. Sensory properties of vanilla and strawberry flavored ice cream supplemented with Omega-3 fatty acids. *Milchwissenschaft-Milk Science International* 62: 66-69.
- [68] Corradini, S.A.S., Madrona, G.s., Visentainer, J.V., Bonafe, E.G., Carvalho, C.B., Roche, P.M., Prado, I.N., 2014. Sensorial and fatty acid profile of ice cream manufactured with milk of crossbred cows fed palm oil and coconut fat. *Journal of Dairy Science* 97(11): 6745-6753.
- [69] Akın, N. 2009. Dondurma Bilimi ve Teknolojisi. Damla Ofset, Konya, Türkiye.
- [70] Demirci, M., 1981. Sütün mineral maddeleri ve insan beslenmesindeki önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 12(1): 195-207.
- [71] Costa, F.F., Resende, J.V., Abreu, L.R., Goff, H.D., 2008. Effect of calcium chloride addition on ice cream structure and quality. *Journal of Dairy Science* 91(6): 2165-2174.
- [72] Erkaya, T., Dağdemir, A., Şengül, M., 2012. Influence of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) addition on the chemical and sensory

characteristics and mineral concentrations of ice cream. *Food Research International* 45: 331-335.

- [73] Trzemieski, J., 1983. Lactose-reduced ice cream and process for the production thereof. US 4,374,861. Patent.

- [74] Choo, S.Y., Leong, S.K., Henna Lu, F.S., 2010. Physicochemical and sensory properties of ice-cream formulated with virgin coconut oil. *Food Science and Technology International* 16(6): 531-541.
-

Peynir Üretimi İçin Süt Pıhtılaştırıcı Enzimlere Genel Bir Bakış ve Güncel Gelişmeler

Songül Çakmakçı¹✉ , Ayşin Cantürk¹ , Yusuf Çakır^{1,2} 

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum

²Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Bingöl

Geliş Tarihi (Received): 28.02.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 05.04.2017

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): cakmakci@atauni.edu.tr (S. Çakmakçı)*

☎ 0 442 231 24 91 📠 0 442 231 58 78

ÖZ

Farklı kaynaklardan elde edilip kullanıma hazır hale getirilen, kazeini pıhtılaştırıcı enzimlere sütü pıhtılaştırıcı enzim, peynir mayası veya rennet denir. Rennet (büyük oranda rennin/kimozin içeren), geviş getiren genç hayvanların midelerinin şirden bölümünden elde edilmekte ve peynir yapımında süt pıhtılaştırıcı olarak binlerce yıldır kullanılmaktadır. Dünyada peynir üretimi ve tüketimi giderek artış gösterirken buzağı renneti temininin giderek azalması, alternatif kaynaklardan buzağı renneti yerine kullanılabilir enzim elde etme çalışmalarına hız kazandırmış, yüksek verimli üretim yöntemlerinin araştırılması zorunlu hale gelmiştir. Buzağı rennetine alternatif olarak yapılan çalışmalar; (i) bitkisel kaynaklardan elde edilen pıhtılaştırıcılar (bitkisel rennet), (ii) mikroorganizmalardan direkt olarak elde edilen ve proteolitik enzimlerden oluşan mikrobiyal peynir mayaları (mikrobiyal rennet), (iii) rennin enzimi üretiminde görevli genetik materyalin, belirli mikroorganizmalara aktarılması sonucu, bu mikroorganizmaların ürettiği rennin enzimine özdeş enzimlerden oluşan mikrobiyal peynir mayaları (rekombinant kimozin) olmak üzere sınıflandırılabilir. Rekombinant kimozin, gelişen gen teknolojisi ile birlikte hızla artan araştırmalara konu olmaktadır. Bu derlemede, hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklı enzimlerin/peynir mayalarının sütü pıhtılaştırma ve peyniri olgunlaştırma aşamalarındaki etkileri ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kimozin, Rennin, Rennet çeşitleri, Süt pıhtılaştırıcı enzim, Peynir

An Overview of Milk-Coagulating Enzymes in Cheese Production and Recent Developments

ABSTRACT

Enzymes obtained from different sources and made ready for further use, which also coagulate caseins, are called milk coagulant enzyme, cheese rennet or rennet. For thousands of years, rennet (in general rennin/chymosin) from the abomasus section in stomachs of young ruminants animals has been obtained, and it has been used as milk coagulant in cheese making. As cheese production and consumption in the world have been increasing gradually, the steady declining supply of calf rennet has accelerated the acquisition of enzymes that can be used in place of alternative sources of calf rennet, and the search for highly efficient production methods has become compulsory. Studies on alternative sources for calf rennet are categorized as (i) the coagulants obtained from herbal sources (herbal rennet), (ii) the rennet source, the microbial cheese rennets consisting of proteolytic enzymes and obtained directly from microorganisms (microbial rennet), (iii) the transfer of genetic material responsible for rennin enzyme production to certain microorganisms, (recombinant chymosin), which is composed of enzymes identical to the renin enzyme that it produces. Recombinant chymosin is rapidly becoming a subject of research together with developing gene technology. In this review, the effects of animal, plant and microbial origin enzymes/cheese rennets on milk clotting and cheese ripening stages are discussed.

Keywords: Chymosin, Rennin, Rennet varieties, Milk-clotting enzyme, Cheese

GİRİŞ

Sütün peynire işlenmesi sırasındaki en temel işlem sütün pıhtılaştırılmasıdır. Pıhtılaştırmada binlerce yıldır kullanılan ve hayvansal kaynaklı bir enzim preparatı olan rennet (peynir mayası, büyük oranda kimozin içeren), sütle beslenen buzağuların midesinin dördüncü bölümünden (şirden, abomasum) elde edilmektedir. Dünyada peynir üretimi ve tüketimindeki artışla birlikte buzağı rennetinin fiyatının artması ve rennet arzının azalması, yeni rennet kaynakları ve süt pıhtılaştırıcı enzimlerle ilgili alternatif arayışların artmasına sebep olmuştur [1-3]. Sütü pıhtılaştırıcı enzimlerin hepsi asit proteaz olup hayvanlardan, bitkilerden ve mikroorganizmalardan elde edilmektedirler [3-8]. Peynir endüstrisinde kullanılan enzimlerin en etkili olanı kimozin olmakla birlikte, bunun dışında kullanılan spesifik olmayan bazı aspartik proteazlar peynirde acı tada, protein miktarında azalmaya ve peynir randımanında ciddi kayıplara yol açabilmektedir [1-3]. Pıhtılaştırıcı enzimin kaynağına göre mayalama performansının ve peynirin kalitesinin direkt olarak etkilendiği belirtilmektedir [9]. Bu derlemede, peynir üretiminde peynir mayası adıyla kullanılan/kullanılabilecek enzimlerin özellikleri ile peynir kalitesi ve olgunlaşmasına etkileri araştırma sonuçlarına dayalı olarak anlatılmıştır.

HAYVANSAL KAYNAKLI PIHTILAŞTIRICILAR

Hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcılar; kimozin, pepsin, tripsin ve kimotripsindir [8]. Proteolitik aktiviteleri çok yüksek olan tripsin ve kimotripsin peynirde acı peptid oluşmasına neden olmaktadır. Peynir üretiminde en yaygın kullanılan enzim, süt emme döneminde bulunan geviş getiren hayvanların, özellikle buzağuların şirdeninden elde edilen kimozin enzimi olup rennet preparatında hakim enzimdir [10]. Rennet temel olarak peynir endüstrisinde kullanılan bir aspartik proteaz çeşididir [11, 12]. Kimozin (EC, 3.4.23.4) süt proteini k-kazeini fenilalanin (105) - metionin (106) (Phe-Met) peptid bağından kırarak çözünmeyen para-k-kazeini oluşturur, sonuçta sütün pıhtılaşmasını sağlar [13, 14]. Kimozin bu işlem için çok spesifik olup aşırı bir proteoliz oluşturmadan proteinle peptidler arasında uygun oranı sağlamakta ve olgunlaşma sırasında peynirin acılaştırmasını önlemektedir [4, 15, 16]. Kimozin pepsine göre daha yüksek pıhtılaştırma aktivitesine sahiptir ve bu peynir üretiminde istenen bir özelliktir. Pepsin ise belirli bir bölgeyi hedeflemeyen proteolitik aktivitesinden dolayı tüm protein ağını zayıflatmaktadır. Bu protein ağı süt yağının sıkılaşmakta ve peynir veriminin düşmesine neden olmaktadır [17]. Kimozin esas olarak sütü pıhtılaştırmak için kullanılır. Ancak %5-8 kadarı pıhtıda kalır ve peynirin olgunlaşması sırasında düşük proteolitik özelliğiyle farklı kazein fraksiyonlarını hidrolize ederek peynirlerin kendilerine özgü lezzetlerinin oluşmasında etkili olur [14]. Buzağının dışında kuzu, oğlak, manda yavrusu, domuz, sığır, tavşan ve tavuk midesinde de kimozin enzimi bulunmaktadır [14, 18].

Uygulamada en yaygın kullanılan hayvansal kaynaklı enzim preparatı buzağı rennetidir. Bu nedenle "standart" kabul edilir ve diğer enzimlerle karşılaştırılır [19].

Rennet, hayvanın kesildiği yaşa, beslenme şekline ve kaynağına (buzağı veya sığır) göre farklı oranlarda kimozin ve pepsin içerir. Ticari ürünlerde kimozin %50-%95 arasında değişir [20]. İyi kalitede standart buzağı rennetinde süt pıhtılaşma işleminin %88-94 kimozin tarafından gerçekleştirilmesi istenmekte, yetişmiş bir hayvandan elde edilen rennet ise %90-94 pepsin ve %6-10 kimozin bulunmaktadır [19, 22, 23]. Kimozin hidrolazlar grubunun endopeptidaz alt grubunda, izoelektrik noktası pH 4.6-4.7 olan bir enzimdir [14]. Moleküler olarak 320 aminoasit içeren tek zincirli bir polipeptiddir. Molekül ağırlığı 35600 dalton'dur ve katalitik olarak aktif aspartil gruplarının yer aldığı iki aktif bölge ile ayrılmıştır [21, 24, 25]. Kimozin, pH 5.3-6.3 aralığında oldukça stabildir. Asidik koşullarda ve pH 7'nin üzerinde aktivitesi çok azalır. Optimum sıcaklığı 41°C olup 20°C'nin altında ve 50°C'nin üzerinde pıhtılaştırma gücü çok azdır. Kimozinin farklı üç izoenzimi (A, B, C) vardır. Kimozinde A ve B'nin miktarı çok, C'nin ise azdır. Kimozin A, kimozin B'ye göre daha aktiftir, C ise A'nın bir parçalanma ürünüdür [2]. Kimozin A ve Kimozin B'nin optimum pH'ları sırasıyla 4.2 ve 3.7'dir. Prokimozin 40777 dalton molekül ağırlığında bir propeptiddir. Prokimozin pH'sı asidik olan midede, amino terminal ucunda bulunan 42 aminoasitlik propeptid kısmını kaybederek aktif kimozin molekülünü oluşturur. [21, 25, 26].

Buzağı, oğlak ve kuzu şirdeninden elde edilen rennetin %95'i kimozin geri kalanı pepsin'dir. Pepsin bir asit proteaz olup optimum pH'sı 2.0 civarındadır. Molekül ağırlığı yaklaşık 34000 daltondur [14]. Ticari olarak satılan buzağı renneti %70 kimozin ve %30 pepsin içerir. Peynir üretiminde pepsinin tek başına kullanımı sınırlıdır [14, 18]. Pepsin, midenin alt kısmındaki mukoz hücrelerinde inaktif pepsinojen halinde bulunur. Bu hücrelerden salgılanan pepsinojen, midenin asitli ortamında, küçük bir polipeptidin kopması ile etkin şekli olan pepsine dönüşür. pH 7'nin üzerinde ise hızla inaktive olur. Kimozine göre daha düşük pH'larda aktivite gösterdiği için sütün normal pH'sında pıhtılaşma süresini uzatır. Buna karşılık proteolitik aktivitesi yüksektir. Dolayısıyla rennette pepsin oranının fazla olması peynirin olgunlaşma süresince acı tat bileşenlerinin oluşumuna neden olduğundan istenmemektedir [23, 27]. Ayrıca, peynir olgunlaşmasında ortalama pH değeri (pH 4.9-5.2), pepsinin optimum pH değerinin (pH 2) üzerinde olduğu için pepsin ile üretilen peynirler biraz daha yavaş olgunlaşırlar. Bu nedenle iki enzimin karışımının kullanılması tercih edilmektedir [2].

Eskiden, pıhtılaştırıcı enzimler peynir üreticileri tarafından temizlenmiş ve kurutulmuş şirdenlerin, peynir altı suyuyla ıslatılması ile ekstrakte edilmekteydi. Bu yöntem hala uygulanmaktadır ve üretilen peynir mayası hemen hemen sadece ustalık gerektiren peynirlerde kullanılmaktadır [28]. Örneğin Erzincan Tulum (Şavak) peyniri üretiminde; kullanılan rennetin ekstraksiyonu; temizlenmiş genç buzağuların şirdenlerinin gölgede ve kuru havada kurutulduktan sonra ince dilimler halinde doğranması, yaklaşık %10 NaCl içeren peynir altı suyunda (ağırlık/hacim) 1-2 hafta süresince ara ara karıştırılması ile gerçekleştirilmektedir. Süre sonunda

tülbentten süzülen süzüntü peynir mayası olarak kullanılmaktadır (Şekil 1) [29, 30]. Geleneksel Feta peyniri üretiminde de peynir mayası; sütte kesilmemiş kuzu şirdeninin kurutulup kıyılması ve belli oranlarda tuz ve su ile ıslatılarak yumuşatıldıktan sonra, daha fazla tuzla 4-5°C'de ekstrakte edilmesi ile hazırlanmaktadır [31]. Henüz ot yemeye başlamadan kesilen buzağılardan alınan ve içerdiği enzime zarar vermeden temizlenen, kurutulmuş ya da dondurulan şirdenler peynir mayası üretiminde kullanılır. Şirden mayası, %12-20 oranında tuz ve koruyucu içeren çözeltiler içerisinde belirli oranlarda ilave edilen kıyılmış şirdenlerden enzimin özütlenmesi ile elde edilmektedir. Özütlenmeden sonra çözeltilerden posa ayrılma, çözeltiler filtre edilerek temizlenmektedir. Bu şekilde elde edilen sıvı maya

teknik, fizyolojik, hijyenik ve duyuşsal olarak kodekse uygun hale getirildikten sonra kullanıma hazır hale getirilmektedir. Sıvı şirden mayası tuz ile doyurularak toz veya tablet haline de dönüştürülmektedir [8]. Modern rennet üretiminde ise şirdenler hayvanın kesiminden hemen sonra dondurulmaktadır. Ticari ekstraksiyonda, eskiye göre sadece; hammaddenin öğütülmesi, enzim ekstraksiyonu, asit pH'da proenzim aktivasyonu, nötrleştirme, ekstraktın arıtılması, saflaştırma ve konsantrasyonu kapsayan küçük detaylarda değişiklikler olmuştur [20]. Zhang ve Wang [32], buzağı şirdeninin ultrasonla ekstraksiyonunun optimizasyonundan sonra daha hızlı enzim transferi olduğu ve enzim veriminin arttığını belirtmişlerdir.



Buzağı →

Şekil 1. Erzincan Tulum (Şavak) peyniri üretiminde kullanılan, geleneksel olarak şirdenden hazırlanan buzağı renneti ve sütün pıhtılaştırılmasına ait fotoğraflar (Fotoğraf: S. Çakmakçı)

Son yıllarda, en çok üzerinde durulan konular arasında, diğer geviş getiren hayvanlar, özellikle de koyundan rennet geliştirme ve karakterizasyonu gelmektedir [20]. Çok ticari olmasa da, kuzu rennet macunu süt dolu midelerden öğütme ve sonrasında kurutma, tuzlama ve olgunlaştırma ile üretilmekte ve bazı Akdeniz ülkelerinde geleneksel koyun sütü peyniri üretiminde kullanılmaktadır [33]. Orijini koruma altına alınmış (Protected Origin Designation, PDO) statüsüne sahip tipik çeşitleri; İtalya'da Provolone, Valpadana, Pecorino Romano ve FioreSardo ve Majorero, Roncal, Idiazabal ve İspanya'da Cabrales peynirleridir [20]. Rennetin kompozisyonu üzerine geleneksel macunu hazırlama işlemleri, hayvanın yaşı, yemleme, kesim şartları önemli etkiye sahiptir [20]. Kuzu rennet macunları, serbest yağ asidi oluşumunu başlatan lipolitik enzimleri içerir. Bunlar peynirlere keskin ve acı bir aroma verirler ve serbest aminoasit oluşumunun gecikmesine sebep olabilirler [34, 35]. Sığır ve koyun rennetlerinin proteolitik farklarının olup olmadığı hususunda net bir sonuca varılamamış, ancak üretim koşulları ve enzim

preparatlarının bileşiminin (örneğin, pepsin/kimozin oranı), proteolitik özellikler üzerinde etkili oldukları belirtilmiştir [36, 37].

Endüstriyel proses, geleneksel yöntemden çok büyük farklılık göstermemektedir. Şirdenler tuzlanmakta ve tabakalar halinde en az 3 ay olgunlaştırılmaktadır. Daha sonra, öğütülüp, karıştırılarak macun haline getirilmektedir [33]. Kuzu rennet macunu, lipolitik enzimler içermekte [34, 35], peynire keskin bir aroma vermektedir [20]. Buzağı rennetinin hazırlanması sırasında, kimozin ve pepsin aktivasyonu süresince lipolitik enzimler denatüre olduklarından, peynir üretiminde lipolitik enzim aktivitesi görülmemekte veya son derece sınırlı kalmaktadır. Kuzu rennet macununda bulunan lipolitik enzimlerin aktivitesi sonucu sütün yapısında bulunan trigliseritler, serbest yağ asitlerine parçalanmakta ve peynire karakteristik tat-koku veren bileşikler oluşmaktadır [35]. Kuzuların beslenmesine probiyotik mikroorganizmalar eklendiğinde [38, 39], rennet macunu enzimatik aktivitesinde, özellikle de

lipazlarla ilgili, artış görülmüştür. Probiyotikleri, rennet macunu olgunlaştırma aşamasında direkt olarak uygulamanın lipolitik ve proteolitik aktiviteyi artırdığı tespit edilmiştir [40, 41].

Rennet, yüksek pıhtılaştırma özelliği göstermeli, κ -kazein üzerine kuvvetli bir etki göstererek iyi bir aktiviteye sahip olmalıdır. Ayrılan peyniraltı suyu aktif pıhtılaştırıcı içermemelidir. Sütü pıhtılaştırmak için kullanılan peynir mayaları saf proteaz preparatlarından oluşmaktadır. Sığır pepsini, domuz pepsini, tavuk pepsini ve *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pusillus* ve *Cryphonectria parasitica*'dan elde edilen asit proteazların kullanılabilmesi belirtilmektedir [42]. Beyaz peynirde randıman, titrasyon asitliği, kurumadde, yağ ve tuz içeriği üzerinde buzağı renneti, mikrobiyel rennet ve rekombine mikrobiyel rennet kullanımının önemli farklılık yapmadığı bildirilmiştir [43]. Fromase 46T (*R. miehei*), Rennilase 150 L (*R. miehei*), Maxiren 50 (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*) ve buzağı renneti dahil 4 farklı peynir mayası ile yapılan başka bir araştırmada da aktivitelerin aynı olduğu bildirilmiştir [44]. Ancak ısı işleminin, serum proteinlerinin denatürasyonuna neden olarak sütün rennetle pıhtılaşma özellikleri üzerinde olumsuz etkiler yaptığı, bunu önlemek için de mikrofiltrasyonla serum proteinlerinin uzaklaştırıldığı veya ultrafiltrasyonla sütün protein içeriğinin artırıldığı belirtilmektedir [45]. Proteolitik aktivitenin fazla olması sonucu çözünmüş protein miktarının artması ile peynir randımanının düştüğü, olgunlaşma süresince acı tat oluşturma riskinin de arttığı belirtilmektedir [46]. Hayvansal rennetlerin proteolitik aktiviteleri; tavuk pepsini > domuz pepsini > sığır pepsini > buzağı kimozi olarak sıralanmaktadır. Rennetler içerisinde süt pıhtılaştırma aktivitesinin proteolitik aktiviteye oranı en fazla olan buzağı rennetidir. Bu oran buzağı rennetinde mikrobiyel rennete göre yaklaşık olarak 1.5 kat fazladır [22, 25]. Pıhtılaştırıcı enzimlerin peynir verimi üzerine etkisini incelemek için altı farklı süt pıhtılaştırıcı enzim kullanılarak (buzağı renneti, rekombinant kimozi, sığır pepsini ve buzağı renneti karışımı (50:50), *Mucor miehei*, *M. pusillus* ve *Endothia parasitica*'dan elde edilen mikrobiyel enzimler) eşit pıhtılaşma sürelerine ayarlanarak peynir üretilmiştir. Hayvansal kaynaklı proteazlar ve rekombinant kimozi ile üretilen peynirlerin, kurumadde miktarlarının, buzağı renneti ile üretilen peynirle benzer özellikler gösterdiği tespit edilirken *E. parasitica* proteazi ile üretilen peynirde verimin önemli derecede düştüğü, çalışmanın sonucunda; en uygun ve ekonomik süt pıhtılaştırıcı enzimin buzağı renneti olduğu belirtilmiştir [11]. *R. miehei* kaynaklı mikrobiyel rennet ve buzağı renneti ile ultrafiltre süttü üretilmiş Beyaz peynirlerden, buzağı rennetiyle üretilen peynirlerin duysal kalite açısından daha iyi olduğu belirtilmiştir [47]. Peynir üretiminde, rekombinant sığır kimozi, sığır renneti, mikrobiyel rennet ve rekombinant kuzu kimozi kullanan Rogelj ve ark. [23], rekombinant kuzu kimozi ile rekombinant sığır kimozi kadar yüksek kalitede peynir üretilebildiğini belirtmişlerdir. Sanjuan ve ark. [48], koyun süttünden hayvansal rennet ve bitkisel rennet kullanılarak üretilen Los Pedroches peynirinin 100 günlük olgunlaşma süresince nem, protein ve su aktivitesi değerlerinin

hayvansal rennet kullanılanda daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada, farklı pıhtılaştırıcı enzimler (buzağı renneti, rekombinant kimozi, *R. miehei* ve *C. parasitica* proteazları) kullanılarak Kaşar peyniri üretilmiş ve 90 gün olgunlaştırılmıştır. Buzağı renneti, rekombinant kimozi ve *R. miehei* proteazi kullanılarak üretilen peynirlerin randımanları birbirine yakın, *C. parasitica* proteazi ile üretilen peynirin randımanları ise düşük bulunmuştur. Farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımının peynirlerin pH, titrasyon asitliği, kurumadde, yağ, kurumadde yağ, tuz, pıhtı sıklığı, toplam serbest yağ asitliği ve tekstür profil analizlerini etkilemezken, protein, kurumadde protein, suda çözünen azot, %12 TCA'de çözünen azot, %5 PTA'de çözünen azot, kazein azot, proteoz-pepton azot, olgunlaşma oranı, toplam serbest aminoasit miktarı ve duysal özelliklerini etkilediği belirtilmiştir [49]. Şirdenden geleneksel olarak üretilen ve Erzincan Tulum (Şavak) peyniri üretiminde kullanılan sıvı peynir mayalarının, birçok yönden Peynir Mayası Standardı'na uymadığı tespit edilmiştir [28]. Bu sonuç üzerine; saflaştırmanın yapılmaması, maya kuvvetinin düşük olması ve hijyenik şartların uygun olmamasının etkili olduğu ileri sürülmüştür. Aynı şekilde, ülkemizde kullanılan ticari sıvı şirden mayaların kuvvetinin etikette belirtilenden daha düşük olduğu belirlenmiştir [50].

BITKİSEL KAYNAKLI PIHTILAŞTIRICILAR

Bazı ülkelerde, buzağı rennetinin pahalı ve az bulunur olması, bu enzim ile elde edilen ürünlerin vejeteryan beslenme alışkanlıklarına uygun olmaması, dini kısıtlamalar ve genetik değişiklik vb. tepkiler sonucunda hayvansal rennet sorgulanmaktadır. Bitkilerin toplanması pahalı ve işgücü gerektirdiği halde, alternatif kaynak olarak bitkisel pıhtılaştırıcıların süt teknolojisinde kullanımına ilgi giderek artmaktadır [51-53]. Bazı bitkilerde doğal olarak bulunan enzimlerden yararlanılarak süt pıhtılaştırılabilmektedir. Sütü pıhtılaştırıcı etkisi olduğu ve bazı ülkelerde sütü pıhtılaştırmada kullanılabildiği bildirilen bazı bitkiler Tablo 1'de verilmiştir. Bitkisel kaynaklı enzimler, bitkilerin kök, sap, tohum, çiçek, meyve ve yaprak gibi kısımlarının kullanılmasıyla veya farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilmektedirler [14, 53, 54]. Bunlara bitkisel kaynaklı peynir mayaları denilmektedir. Çoğu bitkisel enzimler kuvvetli proteolitik aktiviteye sahip olduklarından peynir randımanında düşüş, pıhtı niteliklerinde bozulma, tekstürde yumuşama ve acı tat oluşumu gibi kusurlara neden olabilmekte ve bu nedenler kullanımını sınırlamaktadır [8, 53, 55, 56]. Dolayısıyla bitki seçimi, kullanım miktarı ve mayalama süresi önemlidir. Bitkisel enzimlerin diğer enzimlerden farkı, optimum pH ve sıcaklık değerlerinin yüksek oluşu ve yüksek ısı işlem gören sütlere de etkili olarak pıhtılaştırmasıdır [53, 57]. Bitki proteazları aspartik proteaz grubundadır. Sistein ve serin proteaz grubundaki enzimler de uygun koşullarda sütü pıhtılaştırma özelliğine sahiptir.

Bitkisel pıhtılaştırıcılar İtalya, İspanya, Portekiz, Hindistan, İsrail ve Fas gibi birçok ülkede peynir ve yoğurt yapımında kullanılmaktadır [53]. *Benincasa cerifera*, *Calotropis procera*, *Dieffenbachia maculata*,

Solanum dobium'un meyve kısımları, *Centaurea calcitrapa* ve *Cynara cardunculus* çiçekleri [58], İncir (*Ficus carica*, fisin), yaban enginarı-kenger otu (*Cynara cardunculus* L., kardozin), ananas (*Ananas sativa*) ve hintyağı tohumu (*Ricinus communis*) gibi bitkilerden elde edilen protezların sütü pıhtılaştırabildiği saptanmıştır. Ancak inek sütünden peynir yapımında kullanımları, aşırı proteolitik olduklarından, genel olarak başarısızdır. Bu nedenle de bitkisel pıhtılaştırıcılar küçük mandıralar veya çiftliklerde usta yapımı peynirlerde tercih edilmekten öteye gidememiştir [10]. Halk arasında teleme denilen süt ürününün üretilmesinde yaygın kullanılan bazı bitkiler aşağıda özetlenmiştir.

İncir (*Ficus carica*)

İncir iki grup proteolitik enzim içerir: 1. Yüksek pıhtılaştırma aktivitesine sahip ancak düşük proteoliz özelliğine sahip, 2. Yüksek proteolitik etkili [51, 57]. İncir, ülkemizde teleme olarak bilinen süt ürününün yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Teleme, hayvancılıkla uğraşan halkın çoğunlukla keçi ve koyun sütlerinden, bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcı kullanılarak kendi tüketimleri için ürettikleri, yapısal özellikleri ile yoğurda benzeyen tatlı tatta geleneksel fermente bir süt ürünüdür [57, 59]. Teleme üretiminde, süt kaynatılıp yoğurt mayalama sıcaklığına kadar bekletilmekte ve bitkinin bazı kısımları veya ekstraktı ilave edilerek sürekli olarak karıştırılmaktadır. Bir süre sonra süt koyulaşmakta ve katı bir görünüm aldığında teleme elde edilmektedir [53]. Teleme yapımında keçi sütü tercih edilmektedir. Ülkemizde incirden teleme üretiminde; incirin yaprağı, dal uçları veya meyvesinden elde edilen özsu kullanılmaktadır [60]. Akar ve Fadiloğlu [61], incir sütünü iyon değiştirme kromatografi yöntemiyle saflaştırarak ve direkt olarak süte ilave ederek elde ettikleri telemenin pH değerlerini 6.83 ve 6.75, asitlik değerlerini %0.09 ve %0.108, protein miktarlarını %6.50 ve %3.90 olarak saptamışlardır. Direkt incir sütü ilavesiyle yapılan telemenin, daha acı bir tatta, yapısı ve kıvamının daha zayıf ve serum ayrılmasının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir [53, 61].

Altın Çilek (*Physalis peruviana*)

Altın çilek halk arasında İnka eriği, yer çileği, yer kirazı, kış kirazı olarak da adlandırılır. Hayvansal ürünlerin bir kısmına dini nedenlerle insan beslenmesinde yer vermeyen Hindistan'da, bu bitki ile pıhtılaştırılan peynirler tüketilmektedir. Bu peynirlerin özelliği proteolitik enzimlerin fazla olması nedeniyle çabuk acılaştırmasıdır. Otsu ve çok yıllık bir bitki olan altın çilek sıcak bölgelerde yetişir ve boyu 0.6-0.9 metreye ulaşabilir. Sarı ve kırmızı renkleri arasında sert bir kabuğu vardır. Kabuk ayrıldıktan sonra içinde küçük, yuvarlak yaklaşık 3 cm çapında ve turuncu renkte meyvesi bulunur. Meyvenin iç kısmında da sarı küçük renkte çekirdekler vardır. Meyve hasat edildiğinde acı bir tada sahipken bir süre sonra meyve olgunlaşır ve daha tatlılaşır [62]. Meyve bir tülbent içine alınarak sıkılmakta ve elde edilen meyvenin suyu ılık süte üç-beş damla damlatılmakta, karıştırılarak teleme elde edilmektedir [53].

Teleme (Töreme) Otu (*Euphorbia maculata*)

Teleme otu, *Spotted spurge* veya *Prostrate spurge* olarak da isimlendirilir. *Euphorbiaceae* (Sütleğengiller) familyasından yıllık bir bitkidir. Güneşli yerlerde ve kuru topraklarda yetişir. Genellikle bahçelerde ve çimlerde ot gibi yayılmış şekilde görülür. Sert zeminlerde veya duvarlardaki çatlaklarda büyüme özelliğine de sahiptir [64]. Teleme üretiminde teleme otunun dal uçlarından elde edilen özsu ılık süt içine daldırılmakta ve sürekli karıştırılmaktadır. Karışım yoğurt gibi katı bir görünüm aldığında teleme oluşumu tamamlanmaktadır [53].

Solanum dubium

Solanaceae (Patlıcangiller) ailesinden *Solanum innacum* gibi bazı bitkiler sütü pıhtılaştırma enzim kaynağı olarak denenmiştir. *Solanum dubium* Fresen, merkez, kuzey ve batı Sudan'da yetiştirilen bir bitkidir [7]. Odunsu dik bir kök ile ortalama 30 cm yüksekliğinde yeşil renkte bir bitkidir (Şekil 2). Meyveler kümeler halinde gruplanmış, pürüzsüz parlak yüzeyli çilekler şeklinde, çapı 1 cm olan küresel görünümündedir. Olgunlaşmamış meyveler yeşildir. Olgun meyveleri sararana kadar neredeyse kapalı dikenli bir çanak içindedir, çekirdekleri koyu kahverengidir ve testa inceden çekirdeksizdir [7]. Sudanlı süt çiftçilerinin bir kısmı keçi ve koyun sütünden beyaz yumuşak peynir yapmak için *S. dubium* çileklerini kullanmaktadır. Sütün pıhtılaştırması yaklaşık 2 saat sürmekte ve kesilmiş sütün suyunun uzaklaştırılması için peynir preslenmektedir. Hafif acı tada sahip, kırılmalı ve ufalanmalı bir dokuya sahip peynir elde edilmektedir. Peynirdeki acılığın muhtemelen, bazı alkaloidlerin varlığı veya çiftçilerin ham tohumları kullanmaları nedeniyle işlem sırasındaki kirlilikten dolayı enzimlerin belirsiz proteolitik aktivitesinin bir sonucu olduğu değerlendirilmiştir. Saflaştırılmış enzim kullanılarak ve optimum özüt konsantrasyonu ile acılığı azaltmanın mümkün olabileceği belirtilmiştir [65]. Ancak, enzim kimyasal özellikleriyle ilgili detaylı çalışmalara henüz rastlanmamış ve kısmen saflaştırılmış enzimlerin özellikleri üzerinde çalışmalara başlanılmıştır [7]. Tablo 2'de, *S. dubium* çekirdeği enziminin süt pıhtılaştırma ve proteolitik aktivitesi diğer koagülantlarla karşılaştırılmıştır. Tablodan, *S. dubium* enziminin, diğer bitkisel enzimler ve rennete göre yüksek pıhtılaştırma ve proteolitik aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Kısmen saflaştırılmış enzimin, ham özüt ve kontrol numunesi ile karşılaştırıldığında, yağsız sütü çöktürdüğü, sıcaklığın 20°C'den 70°C'ye çıkartılmasıyla enzim aktivitesinin de arttığı belirtilmiştir. 70°C'deki aktivitenin, 40°C ve 20°C'lerdeki aktiviteden sırasıyla 5 ve 10 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Sıcaklığın 80°C civarına ulaşması halinde ise aktivite hızla düşmüştür [7].

Manzano ve ark. [66], kivi meyvesi, kavun ve zencefil özünün sütü pıhtılaştırma aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisini incelemişlerdir. Kavun özleri geniş sıcaklık aralığında (45-75°C) yüksek pıhtılaştırma aktivitesi gösterirken, kivi meyvesi ve zencefil özünün dar bir sıcaklık aralığında (sırasıyla en fazla 40°C ve 63°C) yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kivi proteazı kimozin benzeri özellikler göstermiş olup peynir üretiminde süt pıhtılaştırıcı olarak en iyi potansiyele

sahiptir. Bitki özleri karşılaştırıldığında; kivi özlerinin, ticari kimoze benzer etkilere sahip olduğu ve en yüksek potansiyeli gösterdiği ortaya konulmuştur. Ayrıca, kivi ve zencefil özleri kullanılarak elde edilen taze peynirin tekstürel özelliklerinin kimozin kullanılarak elde edilen peynir ile benzer, kavun özleri kullanılarak üretilen peynir ile farklı olduğu belirlenmiştir. Araştırmada, bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcılar ve kimozin arasında görülen farklılıkların peynirlerin yapısı ve lezzeti üzerindeki olası etkileri ve bitki lezzetlerinin ilavesi ile yeni peynir çeşitlerinin üretimine imkan sağlayabileceği de belirtilmiştir [66]. Başka bir çalışmada [67], ham turunc çiçeği özlerindeki proteolitik enzimlerin geniş bir sıcaklık aralığında (35-70°C) sütü pıhtılaştırma aktivitesi gösterdiğini, ham özlerin proteaz aktivitesinin,

ticari rennete benzer şekilde, pıhtılaşma süresi içerisinde sütü yeterli derecede pıhtılaştırdığını tespit etmişlerdir. Proteazlar geniş bir pH (2.5-12) aralığında aktivite göstermiştir ve bu durum muhtemelen birkaç proteaz tipinin varlığından kaynaklanmıştır. Ham özüt içindeki mevcut proteazların farklı substratları hidroliz etme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, turunc çiçeklerinin de peynir yapımında süt pıhtılaştırıcı olarak potansiyel proteaz kaynağı olabileceği belirtilmiştir. Sarıkaya [68], Erzurum'un kırsal bölgelerinde bol miktarda yetişen yabancı çuha çiçeğinden (*Primula veris*) (Şekil 3) saflaştırılan ve karakterize edilen proteaz enziminin peynir üretiminde pıhtılaştırıcı enzim olarak kullanılabilirliğini belirlemiştir.

Tablo 1. Sütü pıhtılaştırılan bazı bitkiler [14, 53, 63]

Latince adı	İngilizce adı	Türkçe adı
<i>Achillea millefolium</i>	Yarrow	Civanperçemi
<i>Ananas sativus</i>	Ananas	Ananas
<i>Articum minus</i>	Burdock	Dulavratotu
<i>Carica papaya</i>	Papaya	Papaya
<i>Centaurea spp.</i>	Knapweeds	Mavikantaron, Peygamber çiçeği
<i>Cicer arietinum</i>	Chickpea	Nohut
<i>Cirsium and Carlina spp.</i>	Thistle	Devedikeni
<i>Cynara cardunculus</i>	Cardoon	Yabancı enginar
<i>Datura stramonium</i>	Datura, Jimson weed	Boru çiçeği, Şeytan elması
<i>Dipsacus sylvestris</i>	Teasel	Çobantarağı, Tarakotu
<i>Dolichos lubia</i>	Hyacinth bean	Sümbül fasulyesi
<i>Euphorbia lathyris</i>	Caper spurge	Sütleşen
<i>Euphorbia maculata</i>	Spotted spurge	Teleme (töreme) otu
<i>Ficus carica</i>	Fig	İncir
<i>Galium verum</i>	Lady's bedstraw	Yoğurt otu
<i>Gundelia tournefortii</i>	Tumble thistle	Kenger otu
<i>Heracleum sphondylium</i>	Hogweed	Hakiki yoğurt otu
<i>Lens esculenta</i>	Lentil	Mercimek
<i>Lupinus leguminosae</i>	Lupine	Acı bakla
<i>Malva sylvestris</i>	Mallow	Ebegümece
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Bean	Fasulye
<i>Physalis peruviana</i>	Goldenberry	Altın çilek
<i>Pinguicula vulgaris</i>	Butterwort	Yağ otu, mor çiçekli bataklık bitkisi
<i>Pisum sativum</i>	Pea	Bezelye
<i>Ranunculus spp.</i>	Buttercup	Düğün çiçeği
<i>Ricinus communis</i>	Castor oil seed	Hintyağı tohumu
<i>Senecio Jacobaea</i>	Ragwort	Kanaryaotu
<i>Solanum dulcamara</i>	Bittersweet	Yaban yasemini
<i>Urtica dioica</i>	Nettle	Isırgan otu
<i>Withania coagulans</i>	Withania berry	-

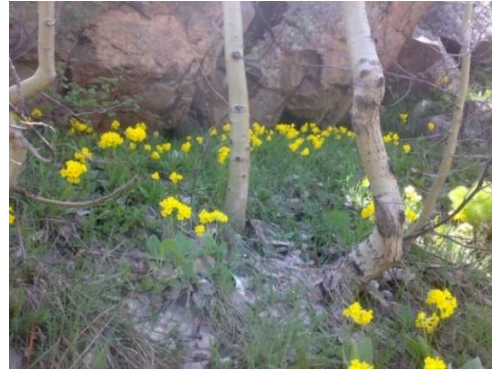


Şekil 2. *Solanum dubium*: tüm bitki (sol), meyveler (sarı ve yeşil) ve çekirdekler (siyah kümeler) [7].

Tablo 2. *S. dubium* çekirdeği enzimi ve diğer bazı pıhtılaştırıcıların proteolitik aktivitelerinin karşılaştırılması [7].

Enzim	Pıhtılaştırma aktivitesi (ünite/mL)	Proteolitik aktivite (OD* 660 nm)	Oran (ünite/OD* 660 nm)
Rennet	249.6	0.05	4992
Mucor rennet	551	0.11	4650
<i>E. parastica</i> enzimi	750	0.29	2590
<i>S. dubium</i> enzimi	880	0.35	2490
Papain	216	0.59	367

*: OD=optik yoğunluk

Şekil 3. Yabani çuha (*Primula veris*) çiçeği (Fotoğraf: R. Çakmakçı)

MİKROBİYAL PIHTILAŞTIRICILAR

Mikrobiyal enzimler 1960 yılının sonlarına doğru peynir üretiminde kullanılmaya başlanmıştır [18]. Mikrobiyal rennet, ucuz olması nedeniyle dünyada buzağı kimozinin yerine en fazla kullanılan peynir mayasıdır. Bu enzimlerin kullanımı ilk yıllarda peynirlerde erime, acı tat gibi bazı problemler oluşturmuştur [18, 69]. Mikrobiyal rennetle yapılan peynirlerin lezzetinde problemler olması tekrar buzağı kimozinin önemini ortaya çıkarmıştır. Mikrobiyal peynir mayaları iki grup altında incelenebilir:

- Mikroorganizmalardan direkt olarak elde edilen proteolitik enzimlerden oluşan mikrobiyal peynir mayaları,
- Rennin enzimi üretiminde görevli genetik materyalin belirli GRAS mikroorganizmalara (*Escherichia coli*, *Kluyveromyces lactis*, *Bacillus subtilis*, *Lactococcus lactis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* vb.) aktarılması sonucu, bu mikroorganizmaların ürettiği rennin enzimine özdeş enzimlerden oluşan mikrobiyal peynir mayaları [25, 70].

Birinci grupta yer alanlar esas olarak *C. parasitica*, *R. miehei* ve *R. pusillus* ve ayrıca *A. oryzae* ve *E. parastica*'dan elde edilen proteolitik enzimleri içeren mikrobiyal rennetlerdir. Bunlar fungal rennet olarak bilinir. Mikrobiyal enzimler arasında en iyi sonuçlar fungal kaynaklı proteolitik enzimlerden alınmış ve peynir üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu grup içerisinde yer alan ve *Bacillus* türlerinden elde edilen bakteriyel rennetlerin ise yüksek proteolitik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle peynir mayası olarak kullanımları çok sınırlı kalmıştır. Bu tip ürünlerin piyasada tutunamaması, üretimlerinin durdurulmasına

neden olmuştur [1, 2, 8, 71]. Ayrıca *B. subtilis* natto Takahashi ile kimoziye benzer özellikte ürün alınabilmektedir. Mikrobiyal kaynaklı pıhtılaştırıcılar, şirden kimoziye ile üretilen ürünlere yakın özelliklerde ürün vermeleri nedeniyle ticarete yaygın şekilde kullanılacak kaynak oluşturmaktadırlar [1, 2]. Buzağı rennetine alternatif enzim kaynakları araştırma çalışmaları sonucunda; *Pleurotus sajor-caju* (white rot fungus), *Mucor bacilliformis*, *Thermoascus aurantiacus*, *Thermomucor indicae-seudaticae* N31, *Metschnikowia reukaufii*, *Myxococcus xanthus*, *Enterococcus faecalis*, *Nocardiosis sp.*, *B. subtilis*, *Bacillus licheniformis* gibi mikroorganizmaların yeni enzim kaynakları olabileceği görülmüştür [22].

Mikrobiyal rennetlerin proteolitik aktivitelerinin; *Bacillus polymyxa* > *C. parasitica* > *R. miehei* > *R. pusillus* olarak sıralanabileceği [22], Mikrobiyal enzimler, buzağı rennetinden daha yüksek oranda spesifik olmayan proteolitik aktiviteye sahiptirler. *C. parasitica*'dan elde edilen proteaz ise en yüksek değere sahiptir [11, 47]. *C. parasitica* kaynaklı mikrobiyal enzim ve buzağı renneti kullanarak koyun ve inek sütünden yapılan Beyaz ve Kaşar peynirlerin kimyasal özelliklerinde önemli bir fark bulunmadığı, ancak mikrobiyal enzim kullanılarak üretilen peynirlerin daha yüksek duyuşsal puan aldıkları saptanmıştır [72]. *R. miehei* kaynaklı mikrobiyal enzim ve şirden mayası kullanılarak üretilen Beyaz ve Kaşar peynirlerinin, çoğu kimyasal özellik üzerine etkilerinin farklı olmadığını, tek farklılığın suda eriyen azot oranları ve olgunluk durumlarında ortaya çıktığı belirtilmiştir [73]. Feta peyniri üretiminde buzağı rennetinin yerine kullanılacak renneti belirlemek için yapılan bir çalışmada; buzağı renneti ile ticari olarak üretilen Noury rennet (*M. pusillus* Lindt), Rennilase (*M. miehei*) ve Suparen (*E. parastica*) olarak bilinen üç mikrobiyal rennet kullanılmıştır. Peynirlerin randıman, kurumadde, tuz ve protein içerikleri benzer bulunurken,

proteoliz düzeylerinin farklı olduğu tespit edilmiştir. Peynirde en yüksek proteoliz düzeyinin buzağı renneti ile üretilen peynirde olduğu, bunu sırasıyla Rennilase, Noury rennet ve Suparen'in izlediği tespit edilmiştir [74]. Pıhtılaştırma süresi üzerine pH'nın etkisini inceleyen Budtz [75], sığır pepsini, buzağı renneti, *C. parasitica*, *R. pusillus* ve *R. miehei* enzimlerini kullanarak sütü pıhtılaştırmış ve buzağı rennetine yakın pıhtılaştırma zamanını *R. miehei* enzimiyle elde etmiştir. Ayrıca, *R. miehei* enzimiyle peyniraltı suyuna geçen protein miktarının kimozinden daha fazla olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmiştir. Johnston ve ark. [76], *R. miehei* ve buzağı renneti kullanarak ürettikleri Cheddar peynirlerinde duysal özellikler arasında önemli bir farklılık bulunmadığını, ancak, *R. miehei* enziminin β -kazein üzerinde yüksek bir proteolitik etki gösterdiğini dolayısıyla da peynirlerin daha kısa sürede olgunlaştığını tespit etmişlerdir. Eraz [77], *R. miehei*'den ve şirdenden elde edilen pıhtılaştırıcı enzimler ile üretilen Beyaz peynir telemelerinin kurumadde, yağ, titrasyon asitliği, pH, toplam azot ve protein olmayan azot değerleri açısından istatistiksel olarak fark bulunmadığını bildirmiştir. Yun ve ark. [78], *E. parasitica*, *M. miehei* ve hayvansal kaynaklı kimozin olmak üzere 3 farklı pıhtılaştırıcı ile ürettikleri Mozzarella peynirlerinde pH, nem, yağ, protein, tuz ve Ca parametrelerinde önemli bir farklılık olmadığını belirlemiştir. Başka bir çalışmada, hayvansal (%90 kimozin ve %10 pepsin) ve mikrobiyal enzim (*R. miehei*) kullanılarak ultrafiltrasyon ve geleneksel yöntemle salamura Beyaz peynir üretilmiştir. 60 günlük olgunlaştırma süresince peynirlerin suda çözünen azot, protein olmayan azot ve tirozin miktarları az bir artış gösterirken, bu artış mikrobiyal enzimle üretilen peynirlerde daha fazla olmuştur. Duysal olarak ise hayvansal enzimle üretilen peynirler daha fazla beğenilmiştir [47]. Kim ve Kim [79], Cheddar peynirinin olgunlaşması üzerine *M. miehei* enzimiyle üretilen peynirin, buzağı kimozini ile üretilen peynire göre peynir suyuna geçen yağ ve protein oranının daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Şahan ve Konar [63], mikrobiyal kaynaklı enzimlerin (*M. miehei*, *M. pusillus* ve *E. parasitica*) abomasum kaynaklı peynir mayasına göre daha yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduklarını ve peynirin tat ve tekstüründe bozulmalara neden olduğunu belirlemiştir. Buzağı renneti ve mikrobiyal rennetler (*A. niger* proteazı ve *R. miehei* proteazı) kullanılarak üretilen ve 90 gün olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde; buzağı renneti ile üretilen peynirlerin daha sert, daha yapışkan ve daha esnek olduğu, en yüksek lipid oksidasyonunun buzağı renneti ile yapılan peynirde tespit edildiği, en yüksek proteoliz düzeyinin *A. niger* proteazı ile üretilen peynirde görüldüğü belirlenmiş ve bu sonuca göre 90 gün sonra tüketilen Tulum peyniri için bu proteazın daha uygun bir pıhtılaştırıcı olduğu ifade edilmiştir [80]. Lemes ve ark. [81], *Bacillus* spp. P45'ten süt pıhtılaştırma yeteneğine sahip bir proteaz elde ederek enzimin chia ve kinoa unu ile zenginleştirilmiş krem peynir geliştirilmesinde uygulanabilirliğini araştırmıştır. Enzimin süt pıhtılaştırma gücü ticari kimozine benzer bulunmuştur. Geliştirilen peynir yüksek su tutma kapasitesi (%99.0) ve dolayısıyla düşük sinerezis göstermiştir. Yeni proteaz, yüksek koagülasyon aktivitesi ve süt proteinlerini hidroliz

edebilme yeteneği göstermiştir. Ürün, yüksek düzeyde su tutması ve yüksek oranda lif içermesi ile dengeli, sağlığa yararlı bir lif kaynağı olarak tüketilebileceğini desteklemektedir. Ayrıca, saflaştırılmış enzim, fonksiyonel katkı maddeleri içeren yeni süt ürünlerinin geliştirilmesi gibi yenilikçi biyoteknolojik prosesler için alternatif koagülant olduğunu göstermektedir [81].

İkinci grupta yer alan mikrobiyal peynir mayaları rekombinant kimozin olarak bilinmektedir. Rekombinant kimozin esas olarak funguslardan üretilir, fakat bakterilerden de üretilebilir. En yaygın kullanılan mikroorganizmalar *A. niger*, *Kluyveromices lactis* ve *E. coli*'dir. Bu üç türün genetik ve metabolik yolları, özellikle *A. niger* ve *E. coli*'yi kimozin üretimi gibi rekombinasyon denemelerinde başarılı yapmaktadır. Kimozin üretiminde en yaygın kullanılan *A. niger*, *Aspergillus niger* var. *awamori*'dir. Rekombinant kimozin, ayrıca fermente üretilen kimozin olarak da bilinir, genetik olarak değiştirilen buzağı kimozini geni taşıyan mikroorganizmalardan elde edilen enzim preparatlarıdır [67]. Doğal rennet üretiminde sıkıntı yaşanırken, rekombinant kimozin üretimindeki gelişmeler ve Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA)'nin 1997'de GRAS (Generally Recognized as Safe-Genellikle Güvenli Kabul Edilen Katkılar) bileşen olarak kullanımına izin vermesi, kısmen de olsa ihtiyacı karşılanmasını sağlamıştır. Hayvansal kodlu kimozinler küresel pazarın %70'den fazlasını, mikroorganizmalarda rekombinant protein olarak %80'i fermente kimozin ve en yaygın olarak *Aspergillus* ve mayada üretilen proteinler oluşturmaktadır [3].

Dünyada, peynir üretimi için yılda 100 milyon dolar değerinde kimozin kullanılmaktadır. Bu geniş kullanım nedeniyle büyük ölçekte rekombinant kimozin üretimi yoluna gidilmiş ve inek kimozini *E. coli*'de klonlanmıştır. Bu rekombinant kimozin FDA'nın 1990'da insan tüketimi için onayladığı ilk genetik mühendisliği ürünü olmuştur [82]. Rekombinant kimozin; rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak elde edilen ilk enzimdir. 1984 -1985 yılları arasında Danimarka'da Chr. Hansen A/S Bio Ingredients şirketi, kimozin enzimini kodlayan genleri buzağı midisinden izole etmişlerdir. Genetik modifikasyonla *K. lactis*'e ve *Aspergillus* spp. cinsi küflere aktarmışlar ve bu mikroorganizmaları kullanarak kimozin üretimini gerçekleştirmişlerdir [83]. Bu şekilde üretilen kimozin, artık birçok ülkede peynir üretiminde yaygın olarak kullanılmakta ve istenen sonucu vermektedir [84-86]. Rekombinant kimozinin, tüm özellikler açısından buzağı kimozinine benzemesinden ve saflık derecesinin yüksek olmasından dolayı olgunlaşma süresinin kusursuz gerçekleştiği belirlenmiştir [2, 21, 22]. Değişik araştırmacılar tarafından *B. subtilis*, *Bacillus cereus*, *B. polymyxa*, *C. parasitica*, *R. miehei*, *R. pusillus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus versicolor* ve *Irpex lactis*'i de içine alan mikroorganizmaların proteinazları ekstrakte edilerek sütü pıhtılaştırma özellikleri incelenmiştir [22]. Bunlar içinde fungal kaynaklı *R. pusillus*, *R. miehei*, *C. parasitica*, *A. oryzae* ve *Irpex lactis*'den elde edilen proteazlar peynir üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [25]. Rekombinant kimozin *E. coli*,

S. cerevisiae, *K. lactis*, *Aspergillus nidulans*, *A. niger* ve *Trichoderma reesei*'ye prokimozin geninin klonlanması ve daha sonra fermentasyon yoluyla üretilmesiyle elde edilmektedir [21, 22].

Buzağı rennetinin süt pıhtılaştırma aktivitesinin %5-50'si pepsinden kaynaklanabilirken, mikrobiyal rekombinant kimozin preparatları pepsin içermez. Böylelikle bu iki enzimle yapılan peynirlerin proteolizleri arasında küçük farklılıklar görülür [10]. Rekombinant kimozinin avantajları şöyle sıralanabilir: Artan peynir mayası ihtiyacı buzağı kesmeden karşılanabilir, çok daha büyük miktarlarda üretim yapılabilir, standart kalite ve maksimum verim sağlanır, enzimin saflığı yüksek olduğu ve pepsin içermediği için peynirin olgunlaşma süreci kusursuz gerçekleşebilir, kalitesiz şirden kullanımından dolayı kaynaklanan peynir kusurlarına rastlanmaz [10]. Ancak bunlarla ilgili de başka mahzurların olabileceği düşünülmeli, daha fazla araştırma yapılmalıdır.

Standart olarak kabul edilen hayvansal kaynaklı enzim buzağı renneti ile rekombinant kimozinin karşılaştırıldığı çalışmalara bakılacak olursa; koyun sütünden Beyaz peynir üretiminde peynir mayası olarak ticari buzağı renneti (A), rekombinant kimozin (*A. niger* var. *awamori*'den elde edilen) (B) ve mikrobiyal rennet (*R. miehei* elde edilen) (C) kullanılmıştır. Olgunlaşma süresince çeşidin ve depolama periyodunun; peynirlerin duyuşsal karakteristikleri, titrasyon asitliği ve kurumadde değerleri üzerine önemli etkisi olduğu saptanmıştır. Rekombinant kimozin ile üretilen B peynirinin bütün kalite özellikleri ticari buzağı renneti ve mikrobiyal rennetle üretilen peynirlere oldukça benzer bulunmuştur. B peyniri en düşük proteolitik aktiviteye sahip olurken, diğer peynirlere göre en yüksek duyuşsal puanları aldığı da görülmüştür. Aynı araştırma sonucunda Beyaz peynir üretiminde rekombinant kimozinin; ticari buzağı rennetine ve mikrobiyal rennete alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanılabilmesi rapor edilmiştir [87]. Green ve ark. [88], Cheddar peyniri üretiminde *E. coli* kaynaklı rekombinant kimozin ve buzağı renneti kullandıkları araştırma sonucunda; her iki enzimle üretilen peynirlerde peyniraltı suyuna geçen protein ve yağ oranları arasında farkın bulunmadığını belirlemişlerdir. Poliakrilamid jel elektroforez ve %2.5 trikloroasetik asit (TCA)'de çözünür azot sonuçları gibi peynirlerde proteoliz düzeylerini gösteren özellikler ve duyuşsal açıdan farklılık olmadığını bulmuşlardır. Saldamlı ve Kaytanlı [44], fromase, maxiren, rennilase ve buzağı renneti kullanarak ürettikleri Beyaz peynirlerde olgunlaşmanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde duyuşsal özellikler açısından önemli farklılıklar bulunduğunu ve rekombinant kimozin ile üretilenlerin en az buzağı renneti kadar beğenildiğini belirtmişlerdir. Broome ve ark. [89], rekombinant kimozin, *C. parasitica* proteazı (thermolase) ve *R. miehei* proteazları (fromase ve marzyme) kullanarak ürettikleri Cheddar peynirlerinde, rekombinant kimozinin α 1-kazeine karşı, *C. parasitica* proteazının (thermolase) ise β -kazeine karşı daha proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Hicks ve ark. [90], *E. coli*'den gen teknolojisi ile elde edilen rekombinant kimozin ve buzağı renneti kullanarak ürettikleri Cheddar ve Colby peynirinde, peynirler arasında bir farklılık saptanmadığını ifade etmişlerdir.

Dave ve ark. [91, 92], starter kültür olarak tek kültür (*Streptococcus thermophilus*) ve karışık kültür (*S. thermophilus* ve *Lactobacillus helveticus*); pıhtılaştırıcı enzim olarak rekombinat kimozin ve *C. paracitica* proteazı kullanarak ürettikleri Mozzarella peynirlerini 4°C'de 30 gün olgunlaştırmışlardır. Peynirlerde olgunlaşma süresince rekombinant kimozinin α 1-kazeini, *C. paracitica* proteazının ise β -kazeini daha fazla hidrolize ettiğini belirlemişlerdir. Bines ve ark. [93], *K. lactis*'den gen teknolojisi ile elde edilen rekombinant kimozin ve buzağı renneti ile üretilen Cheddar peynirlerinde 12 aylık depolama süresince kimyasal ve duyuşsal özellikler açısından belirgin bir farklılık görülmediğini ve olgunlaşma süresince protein parçalanmasının her iki peynirde hemen hemen aynı seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Çepoğlu [94], ticari buzağı renneti, *A. niger* var. *awamori*'den elde edilen rekombinant kimozin ve *R. miehei* proteazı kullanarak üretilen 4°C'de 60 gün olgunlaştırdığı Beyaz peynirlerde, farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımının peynirlerin kimyasal, duyuşsal ve proteoliz özelliklerini etkilediğini belirlemiştir. Kim ve ark. [95], rekombinant kimozin, *C. paracitica* proteazı ve bunların kombinasyonlarını (rekombinant kimozin: *C. paracitica* proteazı (100:0, 0:100, 67:33 ve 33:67) kullanarak ürettikleri Cheddar peynirlerinde, pıhtılaştırıcı enzim çeşidinin peynirlerin proteoliz düzeylerini etkilediğini, yüksek proteolizin ve erimenin *C. paracitica* proteazı ile üretilen peynirlerde görüldüğünü belirlemişlerdir. Abdel-Kader [96], mikrobiyal rennet (suparen) ve rekombinant kimozin (maxiren) kullanılarak inek sütünden üretilen Domiati peynirlerinden, mikrobiyal rennetle yapılan peynirlerde protein hidrolizinin daha yüksek olduğunu, her iki pıhtılaştırıcı enzimin de peynirlerde acılaşmaya neden olmadığını bildirmiştir. Kandarakis ve ark. [97], *E. coli*'den elde edilen rekombinant kimozin ile buzağı renneti kullanılarak üretilen Feta peynirlerinin pıhtı sertliği ve sineresis miktarlarının aynı seviyede olduğunu, peynirlerin duyuşsal özelliklerinin olgunlaşma süresince farklılık görülmediğini belirtmişlerdir. *E. coli* K12 türevli rekombinant kimozin (chymax), *R. miehei*'den elde edilen mikrobiyal rennet (fromase) ve buzağı renneti kullanılarak Edam, Camembert ve Kortowski peynirlerinin üretildiği bir çalışmada, rekombinant kimozin ve buzağı renneti kullanılarak üretilen peynirlerde protein parçalanmasının önemli olmadığı, peynir randımanının ise mikrobiyal rennet kullanılarak üretilen peynirlerde daha düşük bulunduğu belirtilmiştir [98]. Yun ve ark. [78, 99], *C. paracitica*, *R. miehei* proteazları ve fermentasyon türevli rekombinant kimozin kullanılarak üretilen Mozzarella peynirlerinde; pıhtılaştırıcı enzimlerin, peynirlerin pH, nem, protein ve yağ içeriğini etkilememesine karşı, tuz, kurumadde, yağ, proteoliz düzeyleri ve erime özelliklerini etkilediğini bildirmişlerdir. *Pichia pastoris* süpernatant kültüründe rekombinant kimozin enzimini ilk kez üreten Vallejo ve ark. [12], bu mikroorganizmayı seçme nedenleri olarak mikroorganizmanın kendine yabancı rekombinant proteinlerin üretiminde ve sekresyonunda çok kullanışlı olmasını belirtmişlerdir. Ancak üretim aşamasında rekombinant *E. coli* ve *P. pastoris* suşlarının seçimi için zeosin antibiyotikini kullanmaları maliyeti artırmıştır. Sheehan ve ark. [100],

rekombinant kimoziin, *R. miehei* ve *R. pusillus* proteazları kullanarak ürettikleri yağı azaltılmış Mozzarella peynirinde farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımının, peynirin birincil proteoliz düzeylerini etkilediğini, en büyük etkiyi *R. pusillus* proteazının yaptığını belirlemiştir. El-Sohaimy ve ark. [101], buzağı abomasumundan saflaştırdıkları RNA'lerden RT-PCR yöntemiyle ürettikleri cDNA'yı kullanarak *E. coli*'de rekombinant kimoziin üretmeyi başarmışlardır. Bu kimoziin ile yaygın olarak kullanılan emsalleri karşılaştırıldığında, rekombinant kimoziinin diğerlerine göre %105 oranında daha fazla pıhtılaştırıcı aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Merheb-Dini ve ark. [102], *T. indicae-seudaticae* N31 ve ticari peynir mayası ile üretilen Prato peynirlerinde 60 günlük olgunlaştırma süresinde, peptid profilindeki bazı farklılıklara rağmen, peynir verimi ve diğer özelliklerde farklılık bulunmadığını tespit etmişler, bu nedenle de *T. indicae-seudaticae* N31'in kaliteli Prato peynirleri üretiminde kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

SONUÇ

Ülkemizde ve dünyada hızlı nüfus artışıyla birlikte artan gıda ihtiyacı, yüksek verimli üretim yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu bağlamda, peynir üretim ve tüketiminin de artması, yaygın ve geleneksel yöntemle peynir üretiminde kullanılan şirdenlere olan ihtiyacı da artırmıştır. Buzağı sayısının yetersizliği peynir üretimi yapan firmaları uzun zamandır büyük bir hammadde ihtiyacı ile karşı karşıya bırakmıştır. Buzağı kimoziinine alternatif olarak, bitkisel kaynaklardan elde edilen pıhtılaştırıcıların kullanılması ise bunların proteolitik aktivitelerinin yüksek olması nedeniyle peynir veriminin düşmesine yol açmıştır. Bu da endüstriyel üretim için bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcıların kullanımını sınırlamaktadır. Ancak, bitkisel enzimlerin maliyetlerinin düşük olması nedeniyle endüstride kullanımına yönelik araştırmaların artırılması önerilebilir. Bir diğer kimoziin kaynağı olan rekombinant kimoziin ise gen teknolojisindeki gelişmelerle artan kimoziin ihtiyacının da hızla karşılanabileceğini göstermektedir. Yapılan araştırmalar, rekombinant kimoziinin hayvanlardan elde edilen kimoziin ile eşdeğer olduğunu, gen aktarımı sayesinde mikroorganizmalar aracılığı ile kimoziini saf olarak elde etmenin mümkün olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan gen teknolojisinin taşıdığı potansiyel riskler peynir teknolojisi için de geçerlidir. Rekombinant kimoziin, bileşiminin standart ve özelliğinin spesifik olması nedeniyle endüstriyel peynir üretiminde bazı avantajlar sağlamakta, ancak, bazı bölgelerde tüketici tarafından kabul görmemektedir. Elde edilen sonuçlar, teknolojik ilerlemelere ve bilimsel araştırmalardan elde edilen bulgulara rağmen, buzağı kimoziinin peynir üretiminde en çok tercih edilen süt pıhtılaştırıcı olduğunu ve bilimsel çalışmalarda referans olarak kullanıldığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

[1] Shieh, C.J., Thi, L.A.P., Shih, I.L., 2009. Milk-clotting enzymes produced by culture of *Bacillus subtilis* natto. *Biochemical Engineering Journal* 43: 85-91.

- [2] Üçüncü, M., 2004. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi. Cilt 1. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, 543 s.
- [3] Wei, Z.Y., Zhang, Y.Y., Wang, Y.P., Fan, M.X., Zhong, X.F., Xu, N., Lin, F., Xing, S.C., 2016. Production of bioactive recombinant bovine chymosin in tobacco plants. *International Journal of Molecular Science* 17, 624.
- [4] Tejada, L., Abellán, A., Prados, F., Cayuela, J.M., 2008. Compositional characteristics of Murcia al Vino Goat's cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Journal of Dairy Technology* 61(2): 119-125.
- [5] Egito, A.S., Girardet, J.M., Laguna, L.E., Poirson, C., Molle, D., Miclo, L., Humbert, G., Gaillard, J.L., 2007. Milk-clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine k-casein. *International Dairy Journal* 17: 816-825.
- [6] Guiama, V.D., Libouga, D.G., Ngah, E., Beka, R.G., Ndi, K.C., Maloga, B., Bindzi, J.M., Donn, P., Mbofung, C.M., 2010. Milk-clotting potential of fruit extracts from *Solanum esculentum*, *Solanum macrocarpon* L. and *Solanum melongena*. *African Journal of Biotechnology* 9(12): 1797-1802.
- [7] Ahmed, I.A.M., Morishima, I., Babiker, E.E., Mori, N., 2009. Characterization of partially purified milk clotting enzyme from *Solanum dubium* Fresen seeds. *Food Chemistry* 116: 395-400.
- [8] Yetişemiyen, A., 2007. Süt Teknolojisi. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 142 s.
- [9] Broome, M.C., Limsowtin, G.Y.K., 1998. Milk coagulants. *Australian Journal of Dairy Technology* 53(3): 188.
- [10] Dervişoğlu, M., Aydemir, O., Yazıcı, F., 2007. Peynir yapımında kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler ve kazein fraksiyonları üzerine etkileri. *Gıda* 32(5): 241-249.
- [11] Üstünel, Z., Hicks, C.L., 1990. Effect of milk-clotting enzymes on cheese yield. *Journal of Dairy Science* 73(1): 8-16.
- [12] Vallejo, J.A., Ageitos, J.M., Poza, M., Villa, T.G., 2008. Cloning and expression of buffalo active chymosin in *Pichia pastoris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 10606-10610.
- [13] McMahon, D.J., Brown, R.J., 1984. Enzymic coagulation of milk casein miselles. *Journal of Dairy Science* 67: 745-748.
- [14] Metin, M., 1998. Süt Teknolojisi: Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniv. Müh. Fak. Yay. No: 33.
- [15] Stepaniak, L., 2004. Dairy enzymology. *International Journal of Dairy Technology* 57(2/3): 153-171.
- [16] Shamtsyan, M., Dmitriyeva, T., Kolesnikov, B., Denisova, N., 2014. Novel milk-clotting enzyme produced by *Coprinus lagopides* basidial mushroom. *Food Science and Technology* 58: 343-347.
- [17] Atacı, N., 2001. *Mucor miehei* Rennetin ve *Mucor miehei* Rennet-Dekstran Konjugatlarının Spektrofluorometrik Yöntemle İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.

- [18] Akın, N., 1996. Peynir yapımında kullanılan süt pıhtılaştırıcı enzimler ve bunların bazı özellikleri. *Gıda* 21(6): 435-442.
- [19] Şahan, N., Yaşar, K., 2002. Peynir üretiminde kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 17(3): 21-30.
- [20] Jacob, M., Jaros, D., Rohm., 2011. Recent advances in milk clotting enzymes. A review. *International Journal of Dairy Technology* 64(1): 14-33.
- [21] Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1997. Rennets: Their in milk coagulation and cheese ripening. In: *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk* (Ed: B.A. Law). 1- 40 pp.
- [22] Guinee, T.P., Wilkinson, M.G., 1992. Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology* 45(4): 94-104.
- [23] Rogelj, I., Perko, B., Francky, A., Penca, V., Pungercar, J., 2001. Recombinant lamb chymosin as an alternative coagulating enzyme in cheese production. *Journal of Dairy Science* 84(5): 1020-1026.
- [24] Foltmann, B., 1987. General ve molecular aspects of rennets. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Ed: P.F. Fox). Volume I. *Elsevier Applied Science*. London and New York, 33-62 pp.
- [25] Mohanty, A.K., Mukhopadhyay, U.K., Grover, S., Batish, V.K., 1999. Bovine chymosin: production by rDNA technology and application in cheese manufacture. *Biotechnology Advances* 17(2-3): 205-217.
- [26] Chitpinyol, S., Crabbe, M.J.C., 1998. Chymosin and aspartic proteinases: Review. *Food Chemistry* 61(4): 395-418.
- [27] Irigoyen, A., Izco, J.M., Ibanez, F.C., Torre, P. 2001. Influence of rennet milk-clotting activity on the proteolytic and sensory characteristics of an ovine cheese. *Food Chemistry* 72(2): 137-144.
- [28] Gürses, M., Çakmakçı, S., 2009. Şirdenden geleneksel olarak üretilen sıvı peynir mayalarının bazı kalite özellikleri. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, s: 881-884, 27-29 Mayıs, Van.
- [29] Hayaloglu, A.A., Cakmakci, S., Brechany, E.Y., Deegan, K.C., McSweeney, P.L.H., 2007. Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum Cheese ripened in goats skin or plastic bags. *Journal of Dairy Science* 90: 1102-1121.
- [30] Cakmakci, S., Dagdemir, E., Hayaloglu, A.A., Gurses, M., Gundogdu, E., 2008. Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24(3): 293-299.
- [31] Moschopoulou, E., Kandarakisa, I., Anifantakis, E. 2007. Characteristics of lamb and kid artisanal liquid rennet used for traditional Feta cheese manufacture. *Small Ruminant Research* 72: 237-241.
- [32] Zhang, F.X., Wang, B.N., 2007. Optimization of processing parameters for the ultrasonic extraction of goat kid rennet. *International Journal of Dairy Technology* 60: 286-291.
- [33] Addis, M., Piredda, G., Pirisi, A., 2008. The use of lamb rennet paste in traditional sheep milk cheese production. *Small Ruminant Research* 79: 2-10.
- [34] Bustamante, M., Chavarri, F., Santisteban, A., Ceballos, G., Hernandez, I., Miguelez, M.J., Aranburu, I., Barron, L.J.R., Virto, M., De Renobales, M., 2000. Coagulating and lipolytic activities of artisanal lamb rennet pastes. *Journal of Dairy Research* 67: 393-402.
- [35] Virto, M., Chavarri, F., Bustamante, M.A., Barron, L.J.R., Aramburu, M., Vicente, M.S., Perez-Elortondo, F.J., Albisu, M., de Renobales, M., 2003. Lamb rennet paste in ovine cheese manufacture. Lipolysis and flavour. *International Dairy Journal* 13: 391-399.
- [36] Irigoyen, A., Izco, J.M., Ibañez, F.C., Torre, P., 2002. Influence of calf or lamb rennet on the physicochemical, proteolytic, and sensory characteristics of an ewe's-milkcheese. *International Dairy Journal* 12: 27-34.
- [37] Pirisi, A., Pinna, G., Addis, M., Piredda, G., Mauriello, R., De Pascale S., Caira, S., Mamone, G., Ferranti, P., Addeo, F., Chianese, L., 2007. Relationship between the enzymatic composition of rennet paste and proteolytic, lipolytic pattern and texture of PDO Fiore Sardo ovine cheese. *International Dairy Journal* 17: 143-156.
- [38] Santillo, A., Quinto, M., Dentico, M., Muscio, A., Sevi, A., Albenzio, M., 2007. Rennet paste from lambs fed a milk substitute supplemented with *Lactobacillus acidophilus*: Effects on lipolysis in ovine cheese. *Journal of Dairy Science* 90: 3134-3142.
- [39] Santillo, A., Caroprese, M., Marino, R., Muscio, A., Sevi, A., Albenzio, M., 2007. Influence of lamb rennet paste on composition and proteolysis during ripening of Pecorino foggiano cheese. *International Dairy Journal* 17: 535-546.
- [40] Santillo, A., Albenzio, M., 2008. Influence of lamb rennet paste containing probiotic on proteolysis and rheological properties of Pecorino cheese. *Journal of Dairy Science* 91: 1733-1742.
- [41] Santillo, A., Albenzio, M., Quinto, M., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A., 2009. Probiotic in lamb rennet paste enhances rennet lipolytic activity and conjugated linoleic acid and linoleic acid content in pecorino cheese. *Journal of Dairy Science* 92: 1330-1337.
- [42] Wallence, K.L., Fox, P.F., 1997. Effect of adding free amino acids to Cheddar cheese curd on proteolysis, flavour and texture development. *International Dairy Journal* 7(2-3):157-167.
- [43] Yeşilyurt, S., 1992. *Mucor miehei*'den Elde Edilen Fromase ve Rennilase Peynir Mayalarının Beyaz Peynir Yapımında Kullanımı Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [44] Saldamlı, İ., Kaytanlı, M., 1998. Utilization of fromase, maxiren and rennilase as alternative coagulating enzymes to rennet in Turkish white cheese production. *Milchwissenschaft* 53(1): 22-25.
- [45] Bulca, S., Karaman, D.A., Bircan, C. 2009. UHT işleminin mikrofiltrasyon ve ultrafiltrasyon

- retentatlarının rennet oluşturma özellikleri üzerine etkileri. *Akademik Gıda* 3: 24-29.
- [46] Koçak, C., Bitlis, A., Gürsel, A., Avşar, Y.K., 1996. Effects of added fungal lipase on the ripening of Kashar cheese. *Milchwissenschaft* 51(1): 13-17.
- [47] Yetişmeyen, A., Çimer, A., Özer, M., Odabaşı, S., Deveci, Ö., 1998. Ultrafiltrasyon tekniği ile salamura Beyaz peynir üretiminde kalite üzerine değişik maya enzimlerinin etkisi. *Gıda* 23(1): 3-9.
- [48] Sanjuan, E., Millan, R., Saavedra, P., Carmona, M.A., Gomez, R., Fernandez- Salguero, J., 2002. Influence of animal and vegetable rennet on the physicochemical characteristics of Los Pedroches Cheese during ripening. *Food Chemistry* 78: 281-289.
- [49] Yaşar, K., 2007. Farklı Pıhtılaştırıcı Enzim Kullanımının ve Olgunlaşma Süresinin Kaşar Peynirinin Özellikleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [50] Çakmakçı, S., Boroğlu, E., 2004. Some quality characteristics of commercial liquid rennet samples. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 28: 501-505.
- [51] Fadiloğlu, S., 2001. Immobilization and characterization of ficin. *Nahrung/ Food* 45(2): 143-146.
- [52] Bornaz, S., Guizani, N., Fellah, N., Sahli, A., Slama, M.B., Attia, H., 2010. Effect of plant originated coagulants and chymosin on ovine milk coagulation. *International Journal of Food Properties* 13: 10-22.
- [53] Say, D., Güzeler, N., 2016. Süt pıhtılaştırılmasında kullanılan bazı bitkiler. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı*: 253-261.
- [54] Say, D., Soltani, M., Güzeler, N., 2012. Süt ürünlerinde kullanılan bitkiler. III. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu 10-12 Mayıs, 390-391s, Konya.
- [55] Sousa M.J., Malcata, F.X., 2002. Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. *Lait* 82: 151-170.
- [56] Çardak, A.D., 2014. Peynir üretiminde bitkisel proteaz kullanımı. 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, 517 s, Adana.
- [57] Akar, B., Öner, M. D., 1994. İncir sütünün saflaştırılması ve Antep peyniri yapımına uygulanması. *Gıda* 19(5): 329-331.
- [58] Sousa, M.J., Ardö, Y., McSweeney P.L.H., 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 11: 327-345.
- [59] Dayısoylu, K.S., Duman, A.D., Gezginç, Y., Akyol, İ., 2004. Kahramanmaraş Telemesi. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 23-24 Eylül 2004, 412-416 s, Van.
- [60] Saydam, İ.B., Güzeler, N., 2012. Bazı bitkisel pıhtılaştırıcıların sütü pıhtılaştırma kuvvetleri. III. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu 10-12 Mayıs 2012, 701-703 s, Konya.
- [61] Akar, B., Fadiloğlu, S., 1999. Teleme production by purified ficin. *Journal of Food Quality* 22: 671-680.
- [62] Anonymous, 2014a. <http://www.sifalibitkitedavisi.com/altin-cilek-faydalari.html> (Erişim tarihi:24.12.2014).
- [63] Şahan, N., Konar, A., 1990. Peynir üretiminde sütü pıhtılaştırmada kullanılan proteolitik enzimler. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 5(4): 129-140.
- [64] Anonymous, 2014b. http://en.wikibooks.org/wiki/Horticulture/Euphorbia_maculata (Erişim tarihi:30.12.2014).
- [65] Yousif, B.H., McMahon, J.D., Shammet, M.K., 1996. Milk-clotting enzyme from *Solanum dobium* plant. *International Dairy Journal* 6: 637-644.
- [66] Manzano, M.A.M., Gutierrez, T.C.P., Sanchez, M.E.L., Suarez, J.C.R., Llanez, M.J.T., Cordova, A.F.G., Cordoba, B.V., 2013a. Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts. *Food Chemistry* 141: 1902-1907.
- [67] Manzano, M.A.M., Hernandez, J.M.M., Suarez, J.C.R., Llanez, M.J.T., Cordova, A.F.G., Cordoba, B.V., 2013b. Sour orange *Citrus aurantium* L. flowers: a new vegetable source of milk-clotting proteases. *Food Science and Technology* 54: 325-330.
- [68] Sarıkaya, Ö.S.B., 2006. Yabani Çuha (*Primula veris*) Bitkisinin Çiçeklerinden Proteaz Enziminin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Peynir Üretiminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum.
- [69] Fox, P.F., Stepianiak, L., 1993. Enzymes in cheese technology. *International Dairy Journal* 3(4): 509-530.
- [70] Teuber, M., 1990. Production of chymosin (EC 3.4.23.4) by microorganisms and its use for cheesemaking. IDF Bulletin No 251. Brussels: International Dairy Federation.
- [71] Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G., Fox, P.F., 2002. Determination of key enzymes activities in commercial peptidase and lipase preparations from microbial or animal source. *Enzyme and Microbial Technology* 31(3): 310-320.
- [72] Şehidi, G., 1974. *Endothia parasitica*'dan Elde Edilen Pıhtılaştırıcı Enzimle (Suparen) İşlenmiş Bazı Yerli Peynirlerimizin Teknolojik Nitelikleri Üzerine Araştırma. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [73] Öztekin, L., 1981. *Rhizomucor miehei* Küf Mantarından Elde Edilen Mikrobiyal Maya "Hannilase"nin Beyaz Peynir ve Kaşar Peyniri Yapımında Kullanımı Üzerinde Araştırmalar. Doçentlik Tezi. Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- [74] Alichanidis, E., Anifantakis, E.M., Polychroniadou, A., Nanou, M., 1984. Suitability of some microbial coagulants for Feta cheese manufacture. *Journal of Dairy Research* 51(1): 141-147.
- [75] Budtz, P., 1989. Microbial rennets for cheese making. *Dairy Industries International* 54(5): 15-19.
- [76] Johnston, K.A., Dunlop, F.P., Coker, C.J., Wards, S.M., 1994. Comparisons between the electrophoretic pattern and textural assessment of aged Cheddar cheese made using various levels of aged calf rennet or microbial coagulant (Rennilase 46L). *International Dairy Journal* 4(4): 303-327.
- [77] Eraz, G., 1996. *Mucor miehei*'den ve Şirdenden Elde Edilen Pıhtılaştırıcı Enzimler Yardımıyla Üretilen Beyaz Peynir Telemesinin Nitelikleri

- Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara, 57s.
- [78] Yun, J.J., Barbano, D.M., Kindstedt, P.S., 1993a. Mozzarella Cheese: Impact of coagulant type on chemical composition and proteolysis. *Journal of Dairy Science* 76(12): 3648-3659.
- [79] Kim, K.S., Kim, Y.K., 1985. Studies on the ripening of Cheddar cheese made with *Mucor* rennet. *Korean Journal of Animal Sciences* 27(5): 323-327.
- [80] Şengül, M., Erkaya, T., Dervişoğlu, M., Aydemir, O., Gül, O., 2014. Compositional, biochemical and textural changes during ripening of Tulum cheese made with different coagulants. *International Journal of Dairy Technology* 67: 373-383.
- [81] Lemes, A.C., Pavon, Y., Lazzaroni, S., Rozycki, S., Brandelli, A., 2016. A new milk-clotting enzyme produced by *Bacillus* sp. P45 applied in cream cheese development. *Food Science and Technology* 66: 217-224.
- [82] Ulusu, Y., 2012. Endüstriyel Kullanım Amaçlı Kimozin Enziminin Alternatif Bir Sistemle Rekombinant Olarak Üretilmesi, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tokat.
- [83] Henriksen, C.M., Nilsson, D., Hansen, S., Johansen, E., 1999. Industrial applications of genetically modified microorganisms: gene Technology at Chr. Hansen A/S. *International Dairy Journal* 9: 17-23.
- [84] Feng, Z., Ren J., Zhang, H., Zhang, L., 2011. Disruption of PMR1 in *Kluyveromyces lactis* improves secretion of calf prochymosin. *Journal of Science of Food and Agriculture* 91: 100-103.
- [85] Dervişoğlu, M., Aydemir, O., Yazıcı, F., 2006. Peynir yapımında kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler ve kazein fraksiyonları üzerine etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, S. 887-890.
- [86] Mcsweeney, P.L.H. 2007. Conversion of milk to curd. In: Cheese Problems Solved, How Does Rennet Coagulate Milk, Ed. P.L.H. McSweeney, Woodhead Published Ltd., Cambridge, England.
- [87] Akin, M.B., Akin, M.S., Kırmacı, Z., 2008. Influence of coagulating enzyme types (commercial calf rennet, *Aspergillus niger* var. *awamori* as recombinant chymosin and *Rhizomucor miehei* as microbial rennet) on the chemical and sensory characteristics of white pickled cheese made from Ewe's milk. 5th IDF Symposium on Cheese Ripening. Bern Switzerland. 1-4.
- [88] Green, M.L., Angal, S., Lowe, P.A., Marston, A.O., 1985. Cheddar cheesemaking with recombinant calf chymosin synthesized in *Escherichia coli*. *Journal of Dairy Research* 52(2): 281-286.
- [89] Broome, M.C., Xu, X., Mayes, J.J., 2006. Proteolysis in Cheddar cheese made with alternative coagulants. *The Australian Journal of Dairy Technology* 61(2): 85- 87.
- [90] Hicks, C.L., O'leary, L., Bucy, J., 1988. Use of recombinant chymosin in the manufacture of Cheddar and Colby cheese. *Journal of Dairy Science* 71(5): 1127-1131.
- [91] Dave, R.I., Sharma, R., McMahon, D.J., 2003a. Melt and rheological properties of Mozzarella cheese as affected by starter culture and coagulating enzymes. *Lait* 83(1): 61-77.
- [92] Dave, R.I., Sharma, R., Muthukumarappan, K., 2003b. Effects of starter culture and coagulating enzymes on viscoelastic behavior and melt of Mozzarella cheese. *Journal of Food Science* 68(4): 1404-1410.
- [93] Bines, V.E., Young, P., Law, B.A., 1989. Comparison of Cheddar cheese made with a recombinant calf chymosin and with standard calf rennet. *Journal of Dairy Research* 56(4):657-664.
- [94] Çepoğlu, F. 2005. Beyaz Peynir Üretiminde Rekombinant Kimozin Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- [95] Kim, S.Y., Gunasekaran, S., Olson, N.F., 2004. Combined use of chymosin and protease from *Cryphonectria parasitica* for control of meltability and firmness of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 87(2): 274-283.
- [96] Abdel-Kader, Y.I., 2003. Changes in the nitrogen fractions of Domiati cheese made with microbial and recombinant rennets during ripening. *Egyptian Journal of Dairy Science* 31(1): 111-124.
- [97] Kandarakis, I., Moschopoulou, E., Anifatakis, E., 1999. Use of fermentation produced chymosin from *E. coli* in the manufacture of Feta cheese. *Milchwissenschaft* 54(1): 24-29.
- [98] Reps, A., Dajnowiec, F., Kolakowski, P., 1997. Chymax preparation in industrial cheese manufacture. *Milchwissenschaft* 52(1): 32-35.
- [99] Yun, J.J., Kiely, J.L., Kindstedt, P.S., Barbano, D.M., 1993b. Mozzarella cheese: Impact of coagulant type on functional properties. *Journal of Dairy Science* 76(12): 3667-3663.
- [100] Sheehan, J.J., O'sullivan, K., Guinee, T.P., 2004. Effect of coagulant type and storage temperature on the functionality of reduced-fat Mozzarella cheese. *Lait* 84(6): 551-566.
- [101] El-Sohaimy, S.A., Hafez, E.E., El-Saadani, M.A., 2010. Cloning and *in vitro*-transcription of cymosin gene in *E. coli*. *The Open Nutraceuticals Journal* 3: 63-68.
- [102] Merheb-Dini, C., Garcia, G.A.C., Penna, A.L.B., Gomes, E., da Silva, R., 2012. Use of a new milk-clotting protease from *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 as coagulant and changes during ripening of Prato cheese. *Food Chemistry* 30: 859-865.

İnsan Mikrobiyomu: Beslenme ve Sağlık Üzerindeki Etkileri

Sena Çetinbaş¹ , Fulya Kemeriz² , Gizem Göker³ , İlknur Biçer⁴ , Y. Sedat Velioğlu⁵  

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

Geliş Tarihi (Received): 14.10.2015, Kabul Tarihi (Accepted): 02.05.2017

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): velioglu@ankara.edu.tr (S. Velioğlu)*

☎ 0 312 203 33 00 / 3619 📠 0 312 317 87 11

ÖZ

Vücudumuzu paylaştığımız mikroorganizmaların varlığı eskiden beri bilinmektedir. İnsan vücudu hem kendi genomunu hem de birlikte yaşadığı mikroorganizma topluluğuna ait genomu barındıran bir yapıdır. Ancak yaşam şeklimizdeki değişiklikler ve özellikle de vücudumuza aldığımız yeni moleküler bileşikler bu mikroorganizmalar üzerinde çeşitli etkilere neden olmaktadır. Yapılan son çalışmalar bize bu mikroorganizma topluluklarının insan sağlığı üzerinde tahmin edilenden daha fazla etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu yapının ve kendi aralarındaki etkileşimin aydınlatılması, mikrobiyomun insan sağlığına olan etkisinin görülmesinde ve hatta hastalıkların tedavilerinin belirlenmesinde önemli katkılar sağlayacağı açıktır.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyom, Beslenme, Sağlık

Human Microbiome: Nutritional and Health Effects

ABSTRACT

The presence of microorganisms, which we share our bodies, has been known for years. The human body is a structure that hosts both its own genome and genome belonging to a group of microbes that live together. However, changes in our lifestyle and new molecular compounds we encounter cause various effects on microorganisms. Recent studies also indicate that these groups of microorganisms have more serious impact on human health than expected. Enlightening this structure and interaction between them will obviously make important contributions on microbiome's impact on human health and even in determining the treatment of diseases.

Keywords: Microbiome, Nutrition, Health

GİRİŞ

Vücudumuzu paylaştığımız yararlı, zararsız ve zararlı mikroorganizmaların tümü mikrobiyom olarak adlandırılmaktadır. Mikroorganizmalar, sağlıklı bir insanın vücut kitlesinin sadece %1-2'sini oluşturur; ancak insan vücudundaki mikrobiyel hücre sayısının insan hücresinin 10 katı, mikrobiyel genlerin ise toplam insan geninin 100 katı olduğu tahmin edilmektedir. Mikroorganizmaların sağlıklı bir vücudun yaşamına devam etmesinde önemli rolleri olduğu, bazen de enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıktıkları bilinmektedir [1]. İnsan vücudu ile ilişkili sağlıkta ve

hastalıkta rol oynayan mikroorganizmalar; ökaryotlar, arkaelar, bakteriler ve virüslerdir. Mikroorganizmaların farklı fonksiyonları ve karşılıklı etkileşimlerini inceleyerek konağın fizyolojisini ve sağlığını nasıl etkilediğini anlamayı amaçlayan araştırma alanı mikrobiyomik olarak adlandırılır [2]. Mikrobiyomik, mikrobiyom ve sağlık arasındaki korelasyon hakkında doğru ve derinlemesine bilgi toplamak için metagenomik ve klinik araştırmaların birlikte yapılması bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır [3].

MİKROBİYOM

Vücudumuzu paylaştığımız kommensal, simbiyotik ve patojenik olabilen mikroorganizmaların tümü mikrobiyom olarak adlandırılmaktadır. Mikrobiyom aktif bir topluluk olup hastalık ve sağlık açısından tamamlayıcı bir rol oynar. Ayrıca pediatrik popülasyon için obezite, mide-bağırsak sistemi, bağışıklık ve zihinsel sistemde nasıl rol aldıkları araştırmalarla desteklenmiştir [4]. İnsan Mikrobiyom Projesi (HMP), insan ve mikrobiyel bileşenlerin birleşmesi ile oluşan süper bir organizma olduğumuz gerçeğini yansıtmaktadır. İnsan Mikrobiyom Projesi genetik ve metabolik olarak mikrobiyel bileşenleri anlamak, mikrobiyomun insan fizyolojisine ve insanların hastalıklara yakınlıklarına etkisini anlamak için tasarlanmış olup medikal ve çevre mikrobiyolojisi arasındaki yapay engelleri yıkmayı amaçlayan küresel bir projedir. Projenin hedefleri; insan mikrobiyomunda, genotip, yaş, beslenme, hastalık, ilaç kullanımı ve çevresel faktörlere bağlı varyasyonları belirlemek, bunu yaparken metagenomik dizileme gibi yüksek kapasiteli yeni teknolojileri kullanarak standart veri kaynakları oluşturmaktır. Projenin temel amacı ise, insan mikrobiyomunu yakından takip edip müdahale ederek insan sağlığını geliştirmek için geniş olanaklar yaratmak olarak özetlenebilir [5]. Obezite, metabolik sendrom ve diyabet ABD’de yaklaşık 26 milyon çocuk ve erişkini etkileyen önemli halk sağlığı sorunlarıdır. ABD nüfusunun %8’inden fazlasında diyabet, 17.9 milyon kişide ise metabolik sendrom görülmektedir. Bu nedenle obezite yaygınlığında bağırsak mikrobiyomunun olası rolü üzerine ilgi hızla artmaktadır [6-9].

Mikrobiyel Flora (Mikrobiyom-Mikrobiyota) Yerleşim Bölgeleri

İnsan vücudundaki mikroorganizmaların yerleşim bölgelerinin genel olarak deri, ağız, boğaz, bağırsak, burun, ürogenital bölgeler, dış çevre ile çeşitli bağlantılar ile ilişkili olan yüzey, boşluk ve organların mukoz membranları olduğu bilinmektedir [10]. Normal flora üyeleri, vücudumuzun çeşitli bölgelerinde; yaş, cinsiyet, hormonal değişiklikler, beslenme özellikleri ve kişisel alışkanlıklara bağlı olarak farklılık göstermektedir [11, 12].

NORMAL MİKROFLORA

İnsan yaşamı boyunca vücutta taşınan flora duruma göre değişmeye devam eder. Bu organizmalar kişide geçici kolonize veya devamlı kolonize olabilir; ayrıca hastalık da oluşturabilir [13]. Normal mikrobiyel flora; kalıcı flora ve geçici flora olmak üzere iki grupta incelenebilir. Kalıcı flora; belirli bölgelerde genellikle değişmeyen, kısa süreli ortadan kaldırılsa bile yeniden oluşabilen, süreklilik gösteren mikroorganizma topluluğudur. Geçici flora ise kalıcı floranın yanında, çoğu hastalık oluşturmaz, bazen patojen olabilen, birkaç saatten birkaç haftaya değişebilen sürelerde kalan mikroorganizma topluluğudur. Kalıcı flora üyeleri ortadan kalktığında, geçici flora kolonize olur, çoğalır ve hastalık yapıcı özellik kazanabilirler. İnsan mikrobiyomunun büyük kısmı başta gastrointestinal sistem olmak üzere deri, genito-üriner sistem ve

solunum sisteminde kolonize olmuştur. Gastrointestinal sistem yaklaşık 200 m² gibi geniş bir yüzey alanına sahip olması ve mikroorganizmalar için zengin besin öğeleri içermesi nedeniyle kolonizasyon için en uygun ortamı sunmaktadır. Bu bölgelerde bulunan binlerce tür mikroorganizma yeni teknolojiler kullanılarak tanımlanabilir ve insan sağlığı üzerine etkileri belirlenebilir hale gelmiştir [14].

BAĞIRSAK BAKTERİLERİNE ANTİBİYOTİKLERİN ETKİSİ

Antibiyotikler enfeksiyon hastalıklarının tedavisinin temel taşıdır. Ancak, antibiyotiklere karşı bakteri direnci zamanla artmıştır ve artmaya devam etmektedir. Bağırsak mikrobiyomu hakkındaki bilgilerin artmasıyla antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyomları üzerinde iki farklı etki gösterdikleri anlaşılmıştır. Antibiyotikler, patojen bakterileri yok ederken yararlı bakterileri de yok edebilmektedir. Ayrıca, emilebilir antibiyotikler bağırsağı ilgilendirmeyen hastalıklar için uygulansa bile vücudumuzdaki dağılımları nedeniyle bağırsaktaki mikrobiyel florayı etkilemektedir. Bu olgu, bağırsak mikrobiyomunun bozulmasına ve ilgili hastalıkların artmasına neden olmaktadır. Bunlara ek olarak, antibiyotik tedavisi nedeniyle mikrobiyomların bozulması antibiyotik direncinin artmasına da neden olabilmektedir [15].

Araştırmacılar mikrobiyom içindeki taksonomik değişiklikleri, karbonhidrat metabolizmasında rol oynayan önemli anahtar genlerin çoğalmalarındaki değişimleri, kısa zincirli yağ asitleri düzeylerindeki artışları, lipit ve kolesterolün karaciğer metabolizmasının düzenlenmesindeki değişiklikleri gözlemlemişlerdir. Bu araştırmada antibiyotikle genç fareleri tedavi etmişlerdir. Bunun sonucunda bağırsak mikrobiyomunun kompozisyon ve kapasitesindeki değişimlerinin değerlendirilmesi ile antibiyotikle tedavi yönteminde farenin bağırsak florasının zarar gördüğü görülmüştür, genç farenin yağ dokusu ve hormon seviyesi bu metabolizma ile ilişkili olarak artmıştır [16].

Başka bir çalışmada ise antibiyotiğe dirençli genlerin insan patojenlerine olan etkisini incelemek için sağlıklı bireylerin mikrobiyel flora dirençleri incelenmiştir. Direnç genlerinin çoğu daha önce tespit edilmemiş kültür, bağımsız örnekleme yöntemiyle belirlenen ve bilinen direnç genlerinden farklı bulunmuştur. Ancak kültür aerobik sindirim izolatlarında tespit edilen direnç genlerinin yaklaşık yarısının (sindirim sistemi mikrobiyomu küçük bir alt kümesi) önemli patojenler tarafından bağlanan direnç genleri ile aynı olduğu belirlenmiştir. İnsan mikrobiyomu direnç genlerindeki bu büyük çeşitlilik insan patojenlerine karşı antibiyotik direncine katkıda bulunabilmektedir [17].

Antibiyotik tedavisi sonucunda bakteriyel ekolojide saptanan istenmeyen etkiler oluşmaktadır. Bu da “kollateral hasar” olarak tanımlanmaktadır. Uygunsuz antibiyotik kullanımı ile yakın ilişki gösteren kollateral hasar örnekleri hastane içinde ve toplumda antibiyotik kullanım politikaları belirlenirken mutlaka dikkate alınması gereken göstergelerdir. Daha iyi bir antibiyotik

yönetimi ile antibiyotiklere bağlı kollateral hasarı azaltmak ve antibiyotiklerin faydalarını arttırmak mümkün olacaktır [18].

BAĞIRSAK-BEYİN EKSENİ

Gastrointestinal sistem ve beyin arasındaki çift yönlü sinyal dengesinin sağlanması hayati bir önem taşımaktadır ve bu denge, nöral (merkezi ve enterik sinir sistemi ile birlikte), hormonal ve immünolojik düzeylere göre düzenlenmektedir. Stres yanıtı ve genel davranış değişiklikleri bu sistemlerin sonucunda kaygıyı meydana getirmektedir [19]. Yüksek komorbidite (temel hastalıkla birlikte birçok ek hastalığın aynı zamanda görülmesi) gibi strese bağlı psikiyatrik semptomlar ile hassas bağırsak bozukluğu (spastik kolon) ve yangılı bağırsak bozukluğu dahil gastrointestinal bozukluklar arasında ilişki olması bu eksenin öneminin kanıtıdır [20]. Enterik mikrobiyomların bağırsak beyin iletişimi üzerindeki aşamalarının enterik mikrobiyotayı fazlasıyla etkilediğini göstermektedir [19]. Bu tür iletişimi yöneten mekanizmalar, net olmayan ve beyinden bağırsağa doğru giden sinyal değişiminin etkisi üzerinde daha çok süreye odaklanmış çalışmalardır [21]. Yeni çalışmalarda, bağırsak mikrobiyomlarının beyin ve mikrobiyom üzerindeki etkisi araştırılmaktadır. Beyin fonksiyonu üzerinde bağırsak mikrobiyota rolünün ortaya koymak amacıyla prebiyotik maddeler, antibiyotik kaynaklı bozulan vücudun bozulan mikrobiyel dengesi ve patojenik enfeksiyonlarının etkisi gibi olgular değerlendirilmektedir [22]. Bağırsak mikrobiyomunun beyin ile iletişim kurabiliyor olmasından dolayı bireylerin davranışlarında etkili olabilmesi, vücudumuzun sağlığı ve hastalığı için önemli bir kavram olarak karşımıza çıkmaktadır [23].

PREBİYOTİKLER

Bağırsak florasının yokluğunun olumsuz etkilerine karşın besin yoluyla yararlı bakterilerin alınması bağırsaktaki normal dengeyi düzelterek sağlığın düzelmesinde rol oynayabilmektedir. Prebiyotik olarak adlandırılan, bakteri içermeyen ama yararlı bakterilerin çoğalmasına yardımcı olan gıda bileşenlerinin bağırsak florasının oluşumu üzerinde önemli etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bitkisel ağırlıklı diyetle beslenme daha olumlu bir bağırsak mikrobiyel profilinin oluşumunu teşvik etmektedir. Bu tür diyetlerde genelde bolca yer alan diyet lifi ve fermente substrat yani, sindirilmeyen veya sindirilmemiş karbonhidratlar bağırsaktaki mikrobiyel gelişim için besin maddesi olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda kronik hastalıkların tedavisinde ve yönetiminde bağırsak mikrobiyel içeriğinin modifiye edilmesi bir seçenek olarak yerini korumaktadır [24].

PROBİYOTİKLER

Probiyotik bakteriler, bağırsıklık sisteminin dengelenmesinde rol oynamaktadırlar. Ayrıca, vücut için zararlı olan mikroorganizmalarla yarışa girerek onların bağırsak epitellerinden dolaşım sistemine girmesini engellemeye yardımcı olurlar. Bağırsıklık sistemi

hastalıklarında gastrointestinal sistemin probiyotiklerle takviye edilmesi gerekmektedir.

Probiyotiklerin bağırsıklık sistemine etkileri şu şekilde sıralanabilir: doğrudan bağırsıklık yanıtını düzenlemek, bağırsak yüzeyindeki bariyer fonksiyonunu güçlendirmek ve hastalık yapıcı mikrobiyel ajanların büyümesini baskılamak ve böylece bağırsıklık dengesinin devamını sağlamak. Ayrıca bu mikroorganizmalar alerjik hastalıklara karşı hem koruyucu, hem de tedavi edici özellikler taşır. Örneğin "atopik dermatit" adı verilen, temasa bağlı alerjilerin, probiyotiklerin kullanımıyla başarıyla tedavi edildiği pek çok çalışmada gösterilmiştir. Probiyotiklerin grip, nezle, sinüzit, orta kulak iltihabı gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde başarılı olduğu ve bu hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca zatürre, bronşit gibi alt solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde probiyotikler kullanılmış ve oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır. Aynı zamanda probiyotiklerin, bu hastalıklara yakalanma ihtimalini azalttığı ve koruyucu etki gösterdiği ispatlanmıştır. Yapılan çalışmalarda otistik çocukların bağırsaklarındaki probiyotik yapının bozulmuş olduğu gözlenmiştir ve tedavide probiyotik takviyesi yapılmasının önem taşıdığı belirlenmiştir. Yüksek tansiyon ve şeker hastalığında da probiyotiklerin yapısının bozulduğu gözlenmiştir. Bu hastalarda probiyotikleri takviye etmekte önemli yarar bulunduğu ifade edilmektedir. Probiyotikler bağırsaklarda selüloz ve diğer sindirilemeyen gıda bileşenlerini parçalayarak gıdaların sindiriminde yardımcı olmaktadır ve sağlıklı bir metabolik aktivitenin oluşmasını sağlayarak beslenmeye ve büyümeye yardım etmektedirler. Probiyotikler yeni doğanlarda, antibiyotik kullanımında veya günlük yaşamın getirdiği koşullara bağlı olarak bozulan bağırsak mikroflorasının oluşmasına yardımcı olmaktadır. Probiyotikler aynı zamanda istenmeyen bakterilerin, mayaların ve küflerin çoğalmasını kontrol altında tutarak bağırsak mikroflorasının bozulmasını engellemektedirler Spesifik laktik asit bakteri suşları ile fermente edilen süt ürünlerinin tüketilmesiyle bağırsıklığı artıran peptitlerin üretiminde artış olduğu ve bunlardan bazılarının tümör oluşumunu engelleyici etkiye sahip oldukları belirtilmiştir. Probiyotik bakteriler bağırsak florasında yeterli sayıda bulduklarında, vitamin ve amino asit sentezledikleri belirtilmiştir. Bu bakterilerin ürettiği vitaminlerin en önemlileri, tiyamin (B1), riboflavin (B2), piridoksin (B6) ve naftokinon (K)'dur [25].

MİKROBİYOMUN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyomunun konak için çok önemli biyokimyasal olaylar gerçekleştirdiği ve çeşitli insan hastalıkları ile bağlantılı olduğu ileri sürülmüştür. Yeni nesil "OMICS" teknolojileri ile artık insan sağlığında bağırsak mikrobiyomunun önemi, ayrıntılı bir şekilde genetik ve fonksiyonel düzeyleri tanımlanabilmekte ve bireyler arasındaki mikrobiyomun değişkenliği incelenebilmektedir. Böylece, mikrobiyomun aktivitesini anlamak hem gelecekteki sağlık gelişimi için çok önemlidir, hem de ilaç geliştirme yöntemleri için yeni ufuklar açabilir. İnsan hastalığının tedavisi için insan

sağlığı ile ilgili bağırsak mikrobiyom aktivitesini anlamaya yönelik çalışmalar sürekli olarak yapılmaktadır [26]. Yapılan araştırmalarla gıda bileşenlerinin bağırsak hastalıkları, diyabet gibi hastalıklarla ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Batı diyetlerinde bulunan fosfatidilkolin, yağca zenginleştirilmiş L-karnitin, bazı yağ asitleri ve bunların ürünleri, kronik bağırsak hastalığı ve atardamarları etkileyen hastalıkların oluşmalarını desteklerler. Bunun aksine karbazoller veya triptofan açısından zenginleştirilmiş proteinler, hastalık oluşumunu azaltırlar. Eğer "mikrobiyom-bağırsıklık-diyet" etkileşimi tam olarak anlaşılabilirse, gıda kökenli yaklaşımlar geliştirilerek birçok hastalık tedavi edilebilecektir [27].

İnsanlarda Enfeksiyonlar

Bakteriler diğer canlılar ile karmaşık ilişkiler kurabilir. Bu ilişkiler simbiyoz olarak bilinir. Bu simbiyotik topluluklar parazitlik, mutualizm ve kommensalizm olarak ayrılabilir. Bu topluluklar sayesinde bu bakteriler hemen her yerde gelişebilirler. Örneğin ciltte gelişerek insanlarda vücut sıcaklığını artırıp terlemeye ve sonuçta vücut kokusuna neden olabilir. Bazı bakteri türleri diğer mikroorganizmaları öldürürler (Örneğin *Myxococcus xanthos*). Başka bir grup zararlı bakteriler ise besinlerin emilimini ya da sindirimi engelleyen türlerdir (*Vampirococcus* gibi). Mutualizm, farklı türlerden iki canlının karşılıklı yardımlaşması her iki tarafa da yarar sağlamasına dayalı olan bir ortak yaşam biçimidir. Bazı bakteriler kendi yaşam için gerekli olan mutualizm toplulukları oluştururlar. Örneğin; sadece hidrojen tüketen *Archaea* ile ilişkili diğer bakteriler, ortam hidrojen düzeyini sadece *Archea*'nın yaşayabileceği düzeyde tutar. Normal insan bağırsak florasında bulunabilen bine yakın sayıda bakteri türlerinin varlığı bazı vitaminlerin sentezini sağlayarak bağırsıklık sistemine katkıda bulunabilir. Diğer yandan laktik asit sentezi, ortamın asitliğini artırır. Bu, bağırsak florasında genellikle rekabetçi dışlama yoluyla potansiyel patojen bakterilerin gelişimini engeller. Bu yararlı bakteriler probiyotik takviyesi olarak satılmaktadır [28].

Alınan İlaçların Fonksiyonunu Yitirmesi

Bazı antidepresanların yarar yerine daha çok depresyona sebep olmasının bağırsak bakterilerinin çeşidi ile ilgisi olduğu ispatlanmıştır. Bunun üzerine antidepresanı kesip hastalara *Bifidobacterium longum* NCC3001 adlı bakteri içeren yoğurt verildiğinde sonuçların çok başarılı olduğu görülmüştür [29].

Bağırsıklık Sisteminin Zayıflaması

Bağırsaktaki bakterilerin çeşidi ve oranındaki bozukluklar diğer hastalık yapan bakterilerin vücuda hâkim olmasına sebep olabilir. Bunun yanı sıra insanların % 15-20'sinde görülen bir bakterinin (*Bacteroides fragilis*) Alzheimer'dan multipl skleroza (MS) kadar birçok hastalığın tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir [30].

Genetik Bozukluklar

Bağırsak flora bozukluğu olan küçük çocuklarda birtakım genetik bozukluklar ve öğrenme zorlukları gözlenmiştir. Bu sorunların bir kısmının tablet olarak alınan canlı bakterilerle düzeltilebildiği gösterilmiştir [29].

Şeker Hastalığı

Şeker hastalarının bağırsak florasının sağlıklı kişilerden farklı olduğu bilinmektedir. Şeker hastalarının bağırsak bakterilerinin düzenlenmesinin sağlık üzerine etkisiyle ilgili araştırmalar devam etmektedir. Bunun için en çok kullanılan bakteriler; *Bacteroides*, *Proteobacteria* ve *Firmicutes*'dir [29].

Obezite

Obezite hastalığı için yapılan çalışmalarda geleneksel olarak yetiştirilen farelerde genotobiyotik farelere göre yiyecek tüketimlerinin daha az olmasına rağmen %40 daha yüksek vücut yağ içeriği bulunduğu görülmüştür. Geleneksel olarak yetiştirilen genç ve farelerin bağırsak mikrobiyomu genotobiyotik farelere transfer edilmiş ve gıda tüketimi ve enerji harcamasında herhangi bir değişim olmamasına rağmen 2 hafta içinde vücut yağ içeriğinde %60 artış gözlenmiştir. Vücut yağındaki artış, insülin direncinde artışa ve kan glukoz konsantrasyonunun artmasına neden olmuştur. Bu çalışmalar, mikrobiyomun bağırsak ve karaciğer kaynaklı lipogenezden gelen monosakkaritlerin emilimini desteklediğini göstermektedir [31]. Yapılan bir çalışmada, 32 yaşında bir kadın *Clostridium difficile* nedeniyle hastalanmıştır. Bu kişide son yıllarda giderek yaygınlaşmakta olan dışkı nakli tedavisi denenmiş ve kendi kızından fekal transplantasyon yapılmış ve naklin sonucunda kadının iyileştiği görülmüştür. Ayrıca 32 yaşındaki kadının nakil öncesinde normal kiloda olduğu ve vücut kitle endeksinin (VKE) 26 seviyesinde (sağlıklı değer aralığında) olduğu saptanmıştır. Ancak dışkı alınan kızın kilo problemi olduğu bilinmektedir. Nakil sonrası 32 yaşındaki kadının hızla kilo almaya başladığı ve obeziteye doğru ilerlediği görülmüştür. İşte bu sonucu gören doktorlar, dışkı nakli sırasında kızından gelen doğal floranın obeziteye sebep olduğunu düşünmektedir [32]. Yapay tatlandırıcılar (örneğin sakarin) üzerinde yapılan çalışmalarda ise bu tatlandırıcıların metabolik bozuklukları kötüleştirdiği kanısına varılmıştır. Sakarinle beslenen fare, sadece glukozla beslenene kıyasla glukozu tolere edememiştir. Araştırmacılar glukozu tolere edemeyen farenin bağırsak içeriğini alıp diğer fareye nakletmiştir ve nakil uygulanan fare de glukozu sindiremez duruma gelmiştir. Bu sonuçlar yapay tatlandırıcıların mikrobiyomun sağlıksız hale gelmesine ve sindirime yardımcı etkisinin ortadan kalkmasına neden olduğunu göstermektedir ki bu da metabolik bozukluklara yol açarak obeziteye neden olmaktadır [33].

Otizm

Her ne kadar otizm üzerine yapılan binlerce araştırma değişik önerilerde bulunsada bazı araştırmacılar bebeğin gelişimi sırasında bağırsak bakteri florasının

bozulmasını, bağışıklık sisteminin bozulması ve bunun ardından beyin etkilenmesini otizmin nedenleri arasında göstermektedirler [23]. Araştırmacılar özellikle otizm mekanizmasında bağırsak mikrobiyotasının potansiyel rolü üzerine odaklanmıştır. *Clostridium bolteae*'nin otistik çocukların bağırsağında önemli ölçüde daha yaygın olduğu ve bağırsak florasının otizmin başlaması üzerinde etkili olup olmadığı araştırılmaktadır [26].

Kolorektal Kanser

Kolorektal kanser olan hastalarda son zamanlardaki araştırmalarda bulunan baskın bakteriler 16S rDNA DGGE analizi kullanılarak belirlenmiştir. Hastalarda *Clostridium leptum* çeşitliliği ve *Clostridium coccoides* alt grupları da bulunmuştur. Diğer mikroorganizmalardan daha az ancak sağlıklı bireylere göre önemli ölçüde fazla olarak *Desulfovibrio* türleri de bulunmuştur. Bu bakterilerin kolorektal kanseri artırdığı düşünülmektedir [26].

Crohn Hastalığı

Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gruplarında *Escherichia* türleri bol ve aktif olarak tespit edilmiştir. Diğer gruplar, *Actinobacteria*'lar ve *Firmicutes*'dir. *Pseudomonas* türleri de bağırsak hastalığı olmayan hastalara kıyasla Crohn hastalığı olan hastalarda daha çeşitlidir [26].

Astım

Yapılan çalışmalar, bebeklik dönemindeki alerji ve astım gelişiminde çevresel faktörlerin katkısını düşündürmüştür. Bağırsak mikrobiyotasını çevresel faktörler şekillendirmektedir. Bağırsak mikrobiyotası da bağırsak fonksiyonlarının gelişimini şekillendirir. Bu bağırsak fonksiyonlardaki farklılıklar da karşılaşılan virüs ve alerjenlere karşı yanıtın yoğunluk ve içeriğini etkiler [34,35]. Bu konuda farklı bir görüş ise solunum sisteminin mikrobiyel kolonizasyon için biraz daha fazla uygun bir yer olduğu yönündedir. Diğer bir görüş ise mikroorganizmaların alerjik duyarlılığı inhibe etmiş olma olasılığıdır. Yeni doğan bebeklerdeki çalışmalarda, yüksek oranlarda fakirliğin olduğu bölgelerde bu durumun arttığını gösteren bulgulara ulaşılmıştır [36]. Hijyen hipotezinin geçerli olup olmadığı konusunda halen devam eden bir çalışma bulunmaktadır [37]. Hayatının 3 yılından fazlasını çöp toplayarak geçiren çocuklar bakteriyel açıdan analiz edilerek bu çocuklarda yüksek oranda duyarlılık, ayrıca virüsle tetiklenen hırıltı görülmüştür. Hamam böceği, kedi, alerjen maddeler ve bakteriyel çeşitlilik çok az düzeylerde olsa bile söz konusu çocukların hayatlarının ilk yıllarında yüksek oranlarda alerjik duyarlılık ve bunun tekrarı gözlenmiştir. Buna karşın, bu alerjenlere ve yüksek bakteriyel çeşitliliğe daha fazla maruz kalanlarda hırıltı görülmüştür [38]. Son çalışmalarda, kommensal bakterilerin, gıdalardaki alerjenlere karşı koruma sağlıyor olabileceği üzerinde durulmaktadır [39].

Diyare

Son yıllarda, tekrarlayan *C. difficile* enterekoliti tedavisinde fekal mikrobiyel transplantasyon uygulaması araştırılmakta olup, bu tedavinin uygulandığı bir merkezde yapılan çalışmada 9 yıl içinde yapılan toplamda 75 fekal mikrobiyel transplantasyon tedavisinin %79'unun başarılı sonuçlandığı görülmüştür. Diyaresi devam eden 16 vakanın da 9'u tek doz antibiyotik (vankomisin) tedavisiyle iyileşmiştir. Sonuç olarak *Clostridium difficile*'nin sayısının azalması diyare hastalarının da iyileşmesinde etkili olmuştur [40, 41].

SONUÇ

İnsan vücudunda kendi hücrelerinin sayısından çok daha fazla sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Bunun sayısının 100 trilyona kadar olabileceği, ağırlığının yaklaşık 2 kg olduğu ve en az 300-1000 türe ait olduğu bilinmektedir [42-43]. Özellikle son yıllarda mikrobiyomun yapısındaki dengesizliklerin (disbiyosis) bazı hastalıklarla ilişkisi olabileceği ortaya konulmuştur [44]. Yeni doğmuş bebeklerin doğum sonrası mikrobiyomunun ileride karşılaşılabileceği hastalıklara ilişkisi olabileceği üzerinde de ciddiyle durulmaktadır [45]. Hatta konumuzla doğrudan ilgisi olmamakla birlikte bitki köklerinin yer aldığı toprağın mikrobiyel yapısı ile bitki verimliliği arasında önemli bir bağlantının olabileceği üzerinde de durulmaktadır [46]. Ülser hastalığının midede yaşayan bir bakteriden (*Helicobacter pylori*) kaynaklandığının Barry J. Marshall ve J. Robin Warren tarafından kanıtlanması ve çalışmaları ile 2005 yılında Nobel ödülü almaları bilim dünyasında yeni ufuklar açmış ve daha pek çok hastalığın nedenleri ile vücuttaki mikroorganizmalar arasında bir ilişkinin olabileceği konusundaki çalışmalara ivme kazandırmıştır. Örneğin, yapılan yeni çalışmalarda ülserin antibiyotiklerle tedavisinde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* içeren probiyotiklerin kullanımında hastalığın tedavi oranı kontrol grubuna göre çok daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin laktik asit üreten bakterilerin hastalık etmeni *H. pylori*'nin üreaz aktivitesini azaltmasından kaynaklandığı ortaya konulmuş ve tedavi protokollerine probiyotikler de eklenmeye başlanmıştır [47]. İnsan enzimlerinin oluşturduğu metabolitler anaerobik mikroorganizma metabolitlerinden farklıdır ve bu nedenle yapılan çalışmalarda diyetin mikrobiyomu nasıl etkilediği de hemen her zaman dikkatle incelenmektedir [48]. Belki de bugün bazı hastalıkları tedavi etmede kullanılan metotların yerini gelecekte kontrol edilebilir bir mikrobiyom alacaktır. Bütün bu verilerden yola çıkarak doktorlar bu durumu *mikroplarımız kadar sağlıklıyız* şeklinde ifade etmektedir. Sonuç olarak konukçu-mikroorganizma ilişkilerinin henüz en başında olduğumuzu söylemek yanlış olmayacaktır.




KAYNAKLAR

- [1] Ley, R.E., 2010. Obesity and the human microbiome. *Current Opinion in Gastroenterology* 26(1): 5-11.

- [2] Rajendhran. J., Gunasekaran. P., 2010. Human microbiomics. *Indian Journal of Microbiology* 50: 109-112.
- [3] Zarco, M.F., Vess, T.J., Ginsburg. G.S., 2012. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Diseases* 18: 109-120.
- [4] Taggart, H., Bergstrom, L., 2014. An overview of the microbiome and the effects of antibiotics. *Journal of Nurse Practice* 10: 445-450.
- [5] Hattori, M., Taylor, T.D., 2009. The human intestinal microbiome: A new frontier of human biology. *DNA Research* 16: 1-12.
- [6] Backhed, F., 2012. Host responses to the human microbiome. *Nutrition Reviews* 70: 14-17.
- [7] Cowie, C.C., Rust, K.F., Ford, E.S., Eberhardt, M.S., Byrdholt, D.D., Li, C., 2009. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the U.S. population in 1988-1994 and 2005-2006. *Diabetes Care* 32(2): 287-294.
- [8] D'Adamo, E., Santoro, N., Caprio, S., 2011. Metabolic syndrome in pediatrics: Old concepts revised, new concepts discussed. *Pediatr. Clin. North Am.* 58(5): 1241-1255.
- [9] Harris, K., Kassis, A., Major, G., Chou, C.J., 2012. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? *Journal of Obesity* 2012: Article ID879151.
- [10] Karaçay, B., 2010. İçimizdeki dünya: Mikrobiyom. *Bilim ve Teknik* 515: 36-43.
- [11] Bozdayı, G., 2014. Klinik mikrobiyolojik örnek alma yöntemleri sunusu. <http://slideplayer.biz.tr/> Erişim Tarihi: 12.10.2014
- [12] Zimmer, C., 2010. How microbes defend and define us. *New York Times*, Retrieved: 204-206. www.nytimes.com Erişim Tarihi: 10.10.2014
- [13] Koç, A.N., 2008. İnsan vücudunun normal florası sunusu, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, mikrobiyoloji ve klinik mikrobiyoloji anabilim dalı. tip.erciyes.edu.tr/ders_notu/m_doganay/ Erişim Tarihi: 13.10.2014
- [14] Rosenwalda, A.G., Gaurav, S.A., Ramana, M., Jennifer, R.C., Janet, S.R., 2012. The human microbiome project: An opportunity to engage undergraduates in research. *Procedia Computer Science* 9: 540-549.
- [15] Cammorata, G., Laniro, G., Bibbo, S., Gasbarriai, A., 2014. Gut microbiota modulation; probiotics, antibiotics or fecal microbiota transplantation? *International Journal of Emergency Medicine* 9: 365-373.
- [16] Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methé, B.A., Zavadil, J, Li, K., Gao, Z., Mahana, D., Raju, K., Teitler, I., Li, H., Alekseyenko, A.V., Blaser, M.J., 2012. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* 488(7413): 621-626.
- [17] Sommer, M.O.A., Dantas, G., George, M., 2011. Antibiotics and the resistant microbiome. *Current Opinion in Microbiology* 14(5): 556-563.
- [18] Goldstein, E.J.C., 2011. Beyond the target pathogen: Ecological effects of the hospital formulary. *Current Opinion in Infectious Diseases* 24(1): 21-31.
- [19] Rhee, S.H., Pothoulakis, C., Mayer, E.A., 2009. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 6(5): 306-314.
- [20] Camara, R.J., Ziegler, R., Begre, S., Schoepfer, A.M., VonKanel, R., 2009. The role of psychological stress in inflammatory bowel disease: quality assessment of methods of 18 prospective studies and suggestions for future research. *Digestion* 80(2): 129-139.
- [21] Bonaz, B., Sabate, J.M., 2009. Brain-gut axis dysfunction. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* 33(1): 48-58.
- [22] Collins, S.M., Bercik, P., 2009. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology* 136(6): 2003-2014.
- [23] Cryan, J.F., O'Mahony, S.M., 2011. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behaviour. *Journal of Neurogastroenterology and Motility* 23: 187-192.
- [24] Wong, J.M., 2014. Gut microbiota and cardiometabolic outcomes: Influence of dietary patterns and their associated components. *American Journal of Clinical Nutrition* 100: 369-377.
- [25] Vandenplas, Y., Veereman-Wauters, G., DeGreef, E., Peeters, S., Casteels, A., Mahler, T., Devreker, T., Hauser, B., 2011. Probiotics and prebiotics in prevention and treatment of diseases in infants and children. *Journal De Pediatria* 87(4): 292-300.
- [26] Kinross, J.M., Darzi, A.W., Nicholson, J.K., 2011. Gut microbiome-host interactions in health and disease. *Genome Medicine* 3: 14.
- [27] Tilg, H., Moschen, A.R., 2015. Food, immunity, and the microbiome. *Gastroenterology* 148: 1107-1119.
- [28] Anon, 2015. Ecological associations among microorganisms. *Boundless Microbiology*, <https://www.boundless.com/microbiology/> Erişim Tarihi: 28.01.2015
- [29] Cani, P.D., Everard, A., Duparc, T., 2013. Gut microbiota, *Enteroendocrine* functions and metabolism. *Current Opinion in Pharmacology* 13: 935-940.
- [30] Fung, T.C., Olson, C.A., Hsiao, E.Y., 2017. Interactions between the microbiota, immune and nervous system in health and disease. *Nature Neuroscience* 20: 145-155.
- [31] Greiner, T., Backhed, F., 2011. Effects of the gut microbiota on obesity and glucose homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 22: 117-123.
- [32] Leung, J., Burke, B., Ford, D., Garvin, G., Kom, C., Sulis, C., Bhadelia, N., 2013. Possible association between obesity and *Clostridium difficile*. *Emerging Infectious Diseases* 19: 1791-1796.
- [33] Abbott, A., 2014. Sugar substitutes linked to obesity. *Nature* 513(7518): 290.
- [34] Gollwitzer, E.S., Saglani, S., Trompette, A., Yadava, K., Sherburn, R., McCoy, K.D., 2014. Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nature Medicine* 20: 642-647.
- [35] Tomosada, Y., Chiba, E., Zelaya, H., Takahashi, T., Tsukida, K., Kitazawa, H., 2013. Nasally

- administered *Lactobacillus rhamnosus* strains differentially modulate respiratory antiviral immune responses and induce protection against respiratory syncytial virus infection. *BioMedical Central Immunology* 14: 40.
- [36] Ahluwalia, S.K., Peng, R.D., Breysse, P.N., Diette, G.B., Curtin-Brosnan, J., Aloe, C., 2013. Mouse allergen is the major allergen of public health relevance in Baltimore City. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 132: 830-835.
- [37] Gern, J.E., 2010. The urban environment and childhood asthma study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125: 545-549.
- [38] Lynch, S.V., Wood, R.A., Boushey, H., Bacharier, L.B., Bloomberg, G.R., Kattan, M., 2014. Effects of early-life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134: 593-601.
- [39] Stefka, A.T., Feehley, T., Tripathi, P., Qiu, J., McCoy, K., Mazmanian, S.K., 2014. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(36): 13145-13150.
- [40] Rubin, T.A., Gessert, C.E., Aas, J., Bakken, J.S., 2013. Fecal microbiome transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection: report on a case series. *Anaerobe* 19: 22-26.
- [41] Russell, G., Kaplan, J., Ferraro, M., Michelow, I.C., 2010. Fecal bacteriotherapy for relapsing *Clostridium difficile* infection in a child: a proposed treatment protocol. *Pediatrics* 126(1): 239-242.
- [42] Savage, D.C., 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annual Review of Microbiology* 31:107-133.
- [43] Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M.G., Nelson, K.E., Relman, D.A., 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 308: 635-1638.
- [44] Biedermann, L., Rogler, G., 2015. The intestinal microbiota: its role in health and disease. *European Journal of Pediatrics* 174: 151-167.
- [45] Collado, M.C., Rautava, S., Isolauri, E., Salminen, S., 2015. Gut microbiota: a source of novel tools to reduce the risk of human disease? *Pediatric Research* 77: 182-188.
- [46] Tkacz, A., Poole, P., 2015. Role of root microbiota in plant productivity. *Journal of Experimental Botany* 66: 2167-2175.
- [47] Yazbek, P.B., Trindade, A.B., Chin, C.M., Santos, J.L., 2015. Challenges to the treatment and new perspectives for the eradication of *Helicobacter pylori*. *Digestive Diseases and Sciences* 60: 2901-2912.
- [48] Duda-Chodak, A., Tarko, T., Satora, P., Sroka, P., 2015. Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. *European Journal of Nutrition* 54: 325-341.
-

Gıda Endüstrisinde Aroma Mikroenkapsülasyonu

Zeynep Atak¹ ✉ , Mehmet Koç² , Figen Kaymak-Ertekin³ ¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir²Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın³Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 02.10.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 09.12.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ezeynepatak@gmail.com (Z. Atak)

☎ 0 232 388 23 95 📠 0 232 342 75 92

ÖZ

Tüketici tercihlerini büyük ölçüde etkileyen ve ekonomik açıdan değerli olan aromalar, gıda endüstrisinde önemli bir yer tutmaktadır. Hassas ve uçucu olan bu değerli bileşenler, monomerler veya polimerler gibi kaplama materyallerinden oluşan kabuk ya da matrislerle enkapsüle edilebilmektedir. Oda sıcaklığında genellikle sıvı halde olan aroma bileşenlerinin enkapsülasyonu ile toz formda ürün elde edilirken, çevresel etkenlerden koruma ve raf ömründe artış gibi avantajlar sağlanabilmektedir. Aromaların enkapsülasyonunda püskürterek kurutma, püskürterek soğutma, ekstrüzyon, dondurarak kurutma, koaservasyon ve moleküler hapsedme gibi teknolojiler kullanılmaktadır. Bu derlemede, gıda endüstrisinde kullanılan aromaların çeşitli teknolojilerle enkapsülasyonu ile ilgili olarak yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikroenkapsülasyon, Aroma korunumu, Mikroenkapsülasyon yöntemleri, Toz parçacık, Kaplama maddesi

Aroma Microencapsulation in the Food Industry

ABSTRACT

Aroma, which has a great influence on consumer preferences and economic value, has an important place in the food industry. These volatile and sensitive valuable components can be encapsulated with shells or matrices of coating materials such as monomers or polymers. The encapsulation of aroma components, which are usually liquid at room temperatures, can provide advantages such as protection from environmental factors and increased shelf life when the product is in a powder form. Techniques such as spray drying, spray cooling, extrusion, freeze drying, coacervation and molecular inclusion are used in the encapsulation of aroma components. In this study, studies on the encapsulation of aroma components with various technologies used in the food industry are reviewed.

Keywords: Microencapsulation, Aroma retention, Microencapsulation techniques, Powdered particles, Coating materials

GİRİŞ

Enkapsülasyon, bir kabuk ya da matris oluşturularak değerli bileşenlerin korunmasını sağlayan bir yöntemdir. Enkapsülasyon sonucu oluşan kapsüller ile sıvı bileşenler katı forma dönüştürülmekte, reaktif bileşenler ayrılabilen, gıda maddeleri çevresel etkenlerden korunabilmekte, taşıma ve ambalajlamada kolaylık

sağlanabilmektedir [1] [2]. Gıda bileşenlerinin enkapsülasyonu için püskürterek kurutma (20-150µm), püskürterek soğutma, dondurarak kurutma (liyo-filizasyon), akışkan yatak kaplama (50-10000µm), koaservasyon (1-500µm), ekstrüzyon (700-6000µm), lipozom tutuklama, santrifüj süspansiyon ayırma (5-1000µm), kokristalizasyon vd. çeşitli yöntemler (Tablo 1) kullanılmaktadır [2,3].

Tablo 1. Mikroenkapsülasyon için kullanılan yöntemler [4]

Fiziksel Yöntemler	Kimyasal Yöntemler
Püskürterek kurutma	Faz ayrımı
Püskürterek soğutma	Çözücü ile evaporasyon
Döner disk	Koaservasyon
Akışkan yatak (kurutma, granülasyon, kaplama)	Arayüzey polimerasyonu
Ekstrüzyon	Lipozom
Koekstrüzyon	Koekstrüzyon
Moleküler enkapsülasyon	
Çoklu emülsiyonlar	

Enkapsülasyondan farklı olarak mikroenkapsülasyon, çekirdek materyalin bir veya birden fazla materyal (kaplama materyali) ile çevrelenmesi sonucu mikrometreden milimetreye değişen boyut aralığında mikrokapsül oluşumuna olanak vermektedir [5]. Çekirdeğin (aktif maddenin) fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak, kaplama bileşimi ve kullanılan mikroenkapsülasyon tekniğine göre farklı tipte enkapsüle partiküller elde edilebilmektedir. Bu partiküller, monomerler ve/veya polimerler gibi geniş aralıktaki kaplama materyallerinden üretilebilmektedir [2].

Kaplama Materyali Bileşenleri ve Fonksiyonları

Mikrokapsül özellikleri; bileşen kompozisyonu, salım mekanizması, parçacık boyutu, son ürünün fiziksel özellikleri ve talep edilen maliyete göre değiştirilebilmektedir. İstenilen kullanıma uygun olarak seçilen bu materyaller (Tablo 2) doğal, yarı sentetik veya sentetik maddeler olabilmektedir [6]. Yaygın olarak kullanılan ve ekonomik açıdan uygun olan kaplama materyalleri;

- tat maskeleyen (şeker, maltodekstrin, nişasta, selüloz türevleri ve gamlar gibi karbonhidratlar; hidrolize jelatin gibi proteinler; lipitler ve vaksar gibi çeşitli sıcak eriyikler; şelak gibi polimerler),
- enterik kaplama oluşturmak (nişasta ve selüloz türevleri gibi çeşitli polimerler ve sıcak eriyikler),
- kontrollü salım sağlamak (selüloz türevleri, çeşitli sıcak eriyikler ve polimerler),
- stabilite sağlamak (nişasta ve selüloz türevleri, sıcak eriyikler, arap zıncı, şelak),
- fermentasyon amacıyla mikroorganizmaları enkapsüle etmek (aljinatlar ve pektinler) amaçları ile çeşitlilik göstermektedir [7].

Çekirdek madde salımının doğru şekilde incelenebilmesi için, çalışılan kaplama materyali ile çekirdek materyalin birbirleriyle etkileşimlerinin de dikkate alınması gerekmektedir [9]. Bunun yanı sıra pH değişimi (enterik ve enterik olmayan kaplama), mekanik gerilim, sıcaklık, enzimatik aktivite, zaman, ozmotik kuvvet vd. birçok unsur, enkapsüle bileşenin kontrollü olarak salımı için kullanılabilen ve kontrollü salım özelliği değiştirilebilmektedir [2].

AROMA MİKROENKAPSÜLASYONU

Hassas, uçucu ve ekonomik açıdan oldukça değerli olan aroma maddeleri, gıdanın işlevselliği, kalitesi ve tüketici tarafından kabul edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır [1]. Oda sıcaklığında yoğunlukla sıvı halde olan aroma bileşenlerinin enkapsülasyonu ile toz formda ürün elde edilebilmektedir [10, 11]. Spesifik koşullar altında aroma salımını sağlayan ve raf ömrünü uzatan enkapsülasyon teknikleri ile ayrıca, işleme ve depolama süresince aroma bileşenlerinin buharlaşması, bozunması ve migrasyonu önemli ölçüde sınırlandırılmaktadır [12, 11]. Enkapsüle bileşenlerin salımı, seçilen bileşenler ve enkapsülasyon teknolojisinin yanı sıra; partikülün boyutu ve geometrisi, çekirdek materyalin matris içerisine difüzyonu ve matrisin dışarıya transferi, matrisin bozunması/çözünmesi gibi birbirine bağlı birçok durumla ilişkilendirilmektedir [1, 13]. Şekil 1'de aroma enkapsüllerinin yapısı görülmektedir.

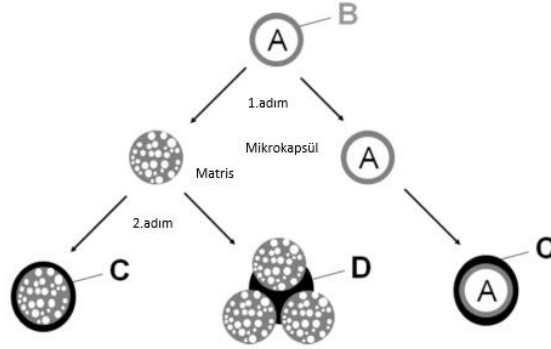
Aromaların enkapsülasyonunda püskürterek kurutma, püskürterek soğutma, ekstrüzyon, dondurarak kurutma, koaservasyon ve moleküler hapsedme gibi teknolojiler kullanılmakta ve ürünler genellikle mikroenkapsülasyon yöntemleri ile ticari hale getirilmektedir [1].

Gıda endüstrisinde enkapsülasyon için püskürterek kurutma, en büyük ticari üretim alanını oluşturmaktadır [6]. Yaygın olarak bulunan ve diğer yöntemlere göre daha düşük kurutma maliyetine sahip olan püskürtmeli kurutucular ile geniş çapta üretimler yapılması mümkün hale gelmektedir [14, 15]. Püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsülasyon gıda endüstrisinde bileşenlerin (aroma maddeleri, yağlar vd.) kaplanması ve sıvı ürünlerin toz formuna dönüştürülmesinde kullanılan en eski yöntemlerdendir. Yöntemin en önemli avantajı, hem hidrofilik hem de hidrofobik özellik gösteren yapılarla uygulanabilmesi olarak belirtilmektedir [16]. Aroma enkapsülasyonu çalışmalarının %85' lik bölümü püskürterek kurutma ile gerçekleştirilmiştir. İşlem süresince çözücüyü buharlaştırmak için kullanılan sıcak havanın 150-220°C aralığında tutulmasına karşın; belirtilen sıcaklık ve çalışılan aktif bileşenin temas süresinin kısa olması (1-5s) ve elde edilen son ürün sıcaklığının aromalar gibi gıda bileşenleri için 50-80°C aralığında bulunması nedeniyle termal bozunma riski sınırlandırılmaktadır [17].

Tablo 2. Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon için kullanılan kaplama maddeleri [8]

Kaplama Materyali	Enkapsülasyon Teknolojisi
Nişasta ve türevleri Maltodekstrinler Şuruplar Siklodekstrinler	Püskürterek kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, dondurarak kurutma, kokristalizasyon, moleküler hapsedme
Selüloz ve türevleri MC, HPMC, HPC, EMC, EC CMC*	Püskürterek kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, emülsifikasyon/çökeltme, koaservasyon
Bitki sıvıları GA, GT, GK, MG*	Püskürterek kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, koaservasyon, dondurarak kurutma
Bitki ekstraktları Guar, LBG*, tara Pektinler SSPS*	Ekstrüzyon, faz ayrılması, püskürterek kurutma, koaservasyon, dondurarak kurutma
Deniz ürünü ekstraktları Karragenan ve aljinat	Püskürterek kurutma, ekstrüzyon, koaservasyon, emülsifikasyon
Mikrobiyal/hayvansal ekstraktlar Ksantan, gellan, dektran, kitosan	Püskürterek kurutma, koaservasyon, emülsifikasyon
Proteinler Gluten, kazeinler Peynir altı suyu tozu proteinleri, Jelatin	Akışkan yatak kaplama, püskürterek kurutma, koaservasyon, emülsifikasyon, ekstrüzyon, dondurarak kurutma
Lipitler Yağ asitleri ve alkoller Gliseritler Vakslar Lipozomlar	Akışkan yatak kaplama, püskürterek soğutma, ekstrüzyon, santrifüj süspansiyon ayırma, emülsifikasyon, lipozom tutuklama
Diğerleri PVP*, şelak Parafin	Püskürterek kurutma, akışkan yatak kaplama, püskürterek soğutma

*MC: Metilselüloz, HPMC: Hidroksipropil metilselüloz, HPC: Hidroksipropil selüloz, EMC: Etil metilselüloz, CMC: Karboksimetil selüloz, GA: Gam arabik (Arap zamkı), GT: Kitre (Ağaç sakızı), GK: Karaya zamkı, MG: Mesquite ağacı zamkı, LBG: Keçiyoynuzu zamkı, SSPS: Çözünür soya polisakkarit, PVP: Polivinilpirolidon



Şekil 1. Aroma enkapsüllerinin yapısı
A: Çekirdek, B: Kabuk ya da matris, C: Kaplama, D: Bağlayıcı madde [10]

Püskürterek soğutma ile enkapsülasyon sırasında ise, çekirdek materyali ve kaplama materyali soğuk hava bulunan ortama beslenmektedir. Çalışılan sıcaklığın düşük olması dolaylı kaplama materyali, kaplanması amaçlanan materyal etrafında buharlaşma olmadan katılaşmaktadır. Püskürterek soğutma süresince evaporasyon işlemi olmadığından, püskürterek kurutma yöntemindeki gibi bir kütle transferi gerçekleşmemektedir [18]. Püskürterek soğutma yöntemi ile enkapsülasyon işlemi sıvı yağ ve türevleri kaplama materyali olarak ön plana çıkmaktadır.

Bunların haricinde, erime noktası 45-65°C aralığında olan mono ve diasilgliseroller ve 32-42°C aralığında olan hidrojenize bitkisel yağlar tercih edilebilmektedir [19, 11]. Genellikle kaplama maddesi olarak, polisakkaritler (nişasta ve türevleri, maltodekstrin, kitosan, pektin, gam), proteinler (peynir altı suyu izolatu, soya proteini izolatu, jelatin), fosfolipitler ve/veya kombinasyonları kullanılmaktadır [17, 20].

Aromaların enkapsülasyonunda uygulanan ekstrüzyon, göreceli olarak düşük sıcaklıkta gerçekleştirilen bir

tutulama yöntemidir. Çekirdek maddenin, erimiş karbonhidrat matrisi içerisinde bir dizi kalıp yoluyla dehidrate edilmesini içermektedir. Genellikle kullanılan basınç 100 psi değerinden küçük ve sıcaklık 115°C'tir. Yöntemde, kaplama materyali sıvılarla karşılaştıktan sonra katılaşmakta ve çekirdek materyali hapseden bir matris oluşturmaktadır [18].

Dondurarak kurutma genellikle aromalar, proteinler ve canlı mikroorganizmalar gibi ısıya duyarlı hassas biyolojik maddelerin korunması için kullanılan enkapsülasyon yöntemlerindedir [18, 4]. Dondurarak kurutma işlemi, materyal içerisindeki sıvının dondurulmasını ve dondurulmuş haldeyken vakum altında liyofilizasyonunu içermektedir [4]. Uzun süre dehidrasyon gerektiren (genellikle 20 saat) durumlar dışında, aromatik maddelerin enkapsülasyonu için uygun olan basit bir tekniktir. Liyofilizasyon sırasında uçucu bileşiklerin tutulabilmesi, sistemin kimyasal niteliğine bağlıdır [18].

Kimyasal mikroenkapsülasyon yöntemlerinden biri olan koaservasyon, birbirine karışmayan iki koloid sisteminde faz ayrılması olarak tanımlanmaktadır [4, 21]. Kaplama materyalinin çekirdek materyali homojen bir tabaka halinde çevrelemesi, sıvı fazdan ayrılmış polimerik çözelti ile sağlanmaktadır. İşlem sonrasında polimerik çözelti katılarak yapı oluşturulmaktadır [18].

Enkapsülasyonun başka bir yöntemi olan moleküler hapsedmede, β -siklodekstrin enkapsülasyon ortamı olarak kullanılmaktadır. β -siklodekstrin, nişastanın siklik bir türevi olup; molekülün dış kısmı hidrofilik iken, iç kısım hidrofobiktir. Apolar olan moleküller, bir hidrofobik etkileşim yoluyla apolar yapılı iç kovuğa sıkıştırabilirler [18]. Gıda uygulaması olarak, aroma bileşenlerinin siklodekstrinler içinde enkapsüle edilebildiği bilinmektedir. Ayrıca, hidrofobik vitaminler (A, E veya K) gibi diğer katkı maddelerinin de moleküler hapsedme yöntemi ile kapsüle edilebileceği belirtilmektedir [22].

GIDA AROMALARINDA MİKROENKAPSÜLASYON UYGULAMALARI

Gıdalarda aromatik maddelerin enkapsülasyonu ile ilgili çalışmalar Tablo 3'te özetlenmiştir. Aromatik pirincin temel bileşeni olan 2-asetil-1-pirolinin çekirdek materyal olarak seçildiği çalışmada, püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Farklı oranlarda gam arabik ve maltodekstrin karışımları (70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70 ve 0:100) ile oluşturulan mikrokapsüller için püskürterek kurutmadan önce ve sonra aroma konsantrasyonlarının önemli derecede farklı olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca depolama sonunda (72 gün) en iyi aroma korunumu (%27.7), 70:30 gam arabik:maltodekstrin karışımı ile elde edilen kapsüllerde belirlenmiştir. 72 günlük depolama sonrasında toz ürünlerdeki aroma miktarının 60:40, 50:50, 40:60, 30:70 ve 0:100 karışım oranları için sırasıyla % 33.4, 43.2, 35.7, 30.6 ve 32.6 azaldığı belirtilmiştir [23].

Yapılan bir çalışmada farklı maltodekstrin türlerinin ve farklı kurutma yöntemlerinin (püskürterek kurutma ve

dondurarak kurutma), durian aromasının fiziko-kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan maltodekstrin türlerinin her üçünün de (glukoz şurubu GSS, fieldose PHS-15 ve pasilli) çekirdek materyalin enkapsülasyonuna uygun olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte glukoz şurubu, orijinal aromanın korunmasında en uygun kaplama materyali seçilmiştir. Hem fizikokimyasal hem de duyuşal analiz sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, dondurarak kurutma yöntemiyle kurutulmuş tozların püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilenlere göre % nem içeriği, renk, yığın yoğunluğu ve mikroyapı özelliklerinin yanı sıra, duyuşal açıdan daha iyi oldukları belirtilmiştir [24].

Aromatik bir gıda maddesi olan sumak ekstraktının, kaplama materyali olarak sodyum klorür, sakkaroz, glikoz ve nişasta ile enkapsüle edildiği çalışmada püskürterek kurutma yöntemi kullanılmıştır. Kaplama materyali olarak sakkaroz ve glikozun karamelizasyon nedeniyle yapışmaya; nişastanın ise heterojen yapısı nedeniyle tıkanmaya neden olduğu belirlenmiş ve işlem için yalnızca sodyum klorürün uygun olduğu belirtilmiştir. Kaplama:çekirdek materyal oranı sabit tutularak (4:1g/g), çözelti konsantrasyonları (%5, 10, 15, 20 ve 25) incelenmiştir. Sonuç olarak yüksek oranda çözünür katı içeriğe sahip çözeltilerle çalışılabilir ve konsantrasyonun arttırılabileceği belirtilmiştir [25].

Sumak ekstraktı üzerine yapılan bir diğer çalışmada, kaplama materyali olarak peynir altı suyu tozu, süt tozu ve guar gam ile püskürterek kurutma gerçekleştirilmiştir. Kaplama:çekirdek materyal oranı sabit tutulmuş (4:1g/g) ve çözelti konsantrasyonları %5, 10, 15, 20 ve 25 olarak seçilmiştir. Çalışmada, sumak ekstraktı ve süt tozu karışımının, çözelti asitliği sonucu çökmesi nedeniyle süt tozunun çekirdek materyale; yüksek su tutma kapasitesi ve viskoziteye sahip olan guar gamının ise sisteme uygun olmadığı belirtilmiştir. Peynir altı suyu tozunun işleme en uygun kaplama materyali olduğu ve kullanılan kaplama materyalinin püskürterek kurutma işlemini önemli derecede etkilediği bulgulanmıştır [26].

Sumak ekstraktı üzerine yapılan diğer bir enkapsülasyon çalışmasında, püskürterek kurutma tekniğinde uygulanan farklı kurutma koşullarının ve kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrin miktarının etkisi incelenmiştir. Toplam çözünür kuru madde içeriği %3.5 olarak belirlenen sumak ekstraktına maltodekstrin (DE 10-12) eklenerek oluşturulan çözelti konsantrasyonları 10, 15, 20 ve 25% (w / w) olarak seçilmiştir. Hava giriş ve çıkış sıcaklıklarının (160/80, 180/90 VE 200/100°C) yükselmesi ile toz ürün kalitesinde düşüş saptanmıştır. Bu nedenle en düşük hava giriş/çıkış sıcaklıklarının (160/80°C) ve %10 (w/w)'luk çözelti konsantrasyonunun uygulandığı deneme, çalışmanın en uygun koşul ve oranı olarak belirtilmiştir [27].

Emülsiyon ve toz partikül boyutunun, stabilite üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada çekirdek materyal olarak d-limonen seçilmiştir. Püskürterek kurutma tekniği ile gerçekleştirilen denemelerde kaplama materyali olarak gam arabik, maltodekstrin ve modifiye nişasta

kullanılmıştır. Toz ürün boyutunun, atomizör hızının değiştirilmesiyle etkili şekilde kontrol edilebileceği belirtilmiştir. Depolama sonunda büyük boyutlu partiküllerin, küçük boyutlu partiküllere oranla daha stabil ve daha düşük salıma sahip olduğu ifade edilmiştir. Bununla birlikte, modifiye nişasta kullanılarak enkapsüle edilen d-limonen için daha stabil bir ürün olduğu bulgulanmıştır [28].

Homojenizasyon parametrelerinin püskürterek kurutma ile elde edilen limon aroması tozu üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada, maltodekstrin ve gam arabik kaplama materyali olarak kullanılmıştır. Emülsiyon hazırlama aşamasında yüksek kesme homojenizasyonu (10 dak./24000 rpm) ve iki aşamalı basınçlı homojenizasyon (30/10 ve 60/20 MPa) işlemlerinin, toz ürün fiziksel özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Emülsiyonlarda aroma artışının, yüksek kesme homojenizasyonu için 2.4 ila 4 µm çapında bir artışa neden olduğu; basınç homojenizasyonunun ise çap boyutunu değiştirmedeği bulgulanmıştır. Her iki durumda da artan miktarda aroma içeren tozlarda, gözeneklilikte bir artış, parçacık boyutunun ve toplam renk farklarının yayılım gösterdiği ve çözünürlükte azalma gözlemlendiği belirtilmiştir [29].

Limonenin dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsüle edildiği bir çalışmada ise, kaplama materyali olarak gam arabik, sakkaroz ve jelatin kullanılmıştır. Emülsiyonlar için yüksek basınçta homojenizasyon (25-100 MPa) işlemi denenmiş; 9:1 ve 8.5:1.5 olmak üzere iki farklı toplam katı madde:limonen oranında çalışılmıştır. Gam arabik-sakkaroz-jelatin karışımından (1:1:1 w/w/w) oluşan çözeltinin 100 MPa'lık basınçta limonen için en yüksek miktardaki tutulmayı (84%) sağladığı belirtilmiştir [30].

Farklı kaplama malzemeleri (maltodekstrin, soya proteini, gamarabik, polisorbato80) kullanılarak mandalina aromasının enkapsüle edildiği çalışmada püskürterek kurutma yöntemi uygulanmıştır [31]. Emülsiyon karakterizasyonunun ve hava giriş sıcaklığı, hava çıkış sıcaklığı, atomizasyon hızı gibi kurutma işletme koşullarının, enkapsüle ürün ve kurutucu performansı üzerine etkisi araştırılmıştır. Emülsiyon basamağı için %15.9 maltodekstrin, %15.9 gam arabik ve %0.2 polisorbato80 kullanılmıştır. Sonuçta, en uygun püskürterek kurutma işlem parametreleri olarak, d-limonen ve α-linalol için enkapsülasyon etkinliğinin yüksek olduğu (> %95) koşullar; sırasıyla 213°C ve 90°C hava giriş ve çıkış sıcaklıkları ve 35000 rpm'lik bir atomizer disk hızı belirlenmiştir.

Çekirdek materyalin l-mentol olduğu bir çalışmada, salım karakterinin incelenmesi amacıyla kaplama materyalleri olarak seçilen gam arabik ve modifiye nişasta (Capsul ve HI-CAP 100) ile püskürterek kurutma yapılmıştır. Başlangıçtaki emülsiyon katı madde konsantrasyonunun artmasıyla birlikte toz üründe aroma tutulmasının daha uzun sürdüğü ve modifiye nişasta HI-CAP ile daha yüksek oranda aroma belirtilmiştir. Ayrıca bağıl nem ve sıcaklık artışı ile serbest bırakılma oranının arttığı bulunmuştur [32].

Püskürterek soğutma gerçekleştirilen bir çalışmada, limonen, nikotin, metil salisilat, sinamik aldehit ve Neobee M5 maddeleri enkapsüle edilmiştir. Her bir deneme için, seçilen çekirdek materyal (10-40 g/100 g kütle oranlarında) ile susuz bir şeker alkolü olan eritritolden oluşan eriyik taşıyıcı ortam olarak kullanılmıştır. Oluşan toz ürünlerin yüksek hacim yoğunluğuna ve serbestçe akan bir karaktere sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca ısıtma işlemi sonucunda aktif maddelerin, eritritolün yaklaşık 120°C'da eriyene kadar uçucu hale gelmeden korunduğu bulgulanmıştır. Çoğu durumda enkapsülasyon etkinliğinin %90 üzerinde olduğu belirlenmiştir [33].

Yapılan bir çalışmada, β-pinen çekirdek materyal olarak seçilerek süt proteinleri ile kompleks koaservasyonu araştırılmıştır. Kaplama materyali olarak kazeinat, peynir altı suyu protein izolatu ve karboksimetilselüloz kullanılmıştır. Değerlendirilen ürün özelliklerinin çoğunda, işlem değişkenlerinden etkilenmesine rağmen β-pinenin süt proteinleri ve karboksimetilselüloz ile kompleks koaservasyonla kapsüllenmesinin mümkün olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çapraz bağlayıcıların kullanımı ile, süt proteinlerinin enkapsülasyon verimliliğinin artırabileceği belirtilmiştir [34].

Bir çeşit manolya türü olan ekstraktın (Michelia alba D.C.) çekirdek materyal olarak seçildiği çalışmada, püskürterek kurutma yöntemi kullanılmıştır. Kaplama materyali olarak bir çeşit modifiye nişasta olan oktanik süksinik anhidrat (OSA) seçilmiştir. Ekstrakt (5-15 g/100 g kuru nişasta) ve OSA nişastası (25-100 g/100 mL su) için yapılan optimizasyon sonunda formülasyon, 15.00 g ekstrakt/100 g kuru nişasta ve 96.32 g OSA nişastası/100 mL su olarak belirlenmiştir. Bu nokta için geri kazanım %40.65 ve enkapsülasyon etkinliği %68.91 değerleri ile en yüksek bulunmuştur. Ayrıca, ekstrakt içeriğindeki aromatik bileşenlerden linalol ve verbenonun, 2-metil bütanoik aside göre enkapsüllenen matriste daha uzun süre korunduğunu belirtilmiştir [35].

Rodriguez ve ark'nın [36] yaptıkları incelemede, vanilya ekstraktı ve nişasta türevleri (Capsul ve Hi Cap 100) ile çalışılmıştır. Enkapsülasyon etkinliğinin belirlendiği çalışmada, kaplama materyali tekstürü ve aroma korunumu arasında ilişki kurulmuştur. SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) görüntülerine göre dondurarak kurutma uygulanan örnekler arasında, kaplama materyalleri için önemli bir fark gözlenmemiştir. Buna karşın püskürterek kurutma yapılan örneklerde fark belirlenmiş; vanilya ekstraktı bulunan kapsüllerde ortalama partikül çapının, vanilya ekstrakt oranının artırılması ile (2.5 ve 5) azaldığı gözlemlenmiştir. Kaplama materyali olarak Capsul'ün, Hi Cap 100'e göre tekstür ve aroma korunumu bakımından daha iyi olduğu belirlenmiştir.

Vanilya ekstraktının kullanıldığı ve püskürterek kurutma yönteminin uygulandığı bir enkapsülasyon çalışmasında, kaplama materyali olarak maltodekstrin (DE 10) ve modifiye nişastanın (Flomax 8) karışım oranları (1:0, 1:1, 0:1, 1:2, 2:1), kaplama materyali konsantrasyonları (%10, 20, 30) ve vanilya ekstraktının kaplama materyaline oranları (3:2, 2:1, 3:1)

incelenmiştir. Kaplama materyali karışımlarında en yüksek verim 2:1 oranındaki maltodekstrin ve modifiye nişastada bulunurken; en yüksek vanilin içeriği ve geri kazanımında ise kaplama materyali konsantrasyonu %30 olarak belirlenmiştir [37, 38].

Püskürterek kurutma yöntemi ile vanilya ekstraktının enkapsüle edildiği diğer bir çalışmada, kaplama materyali olarak mısır nişastası kullanılmıştır. Karışım kuru madde oranı %50 değerinde tutularak ve karışım içerisinde %10, 20 ve 30 oranında vanilya ekstraktı kullanılarak denemeler gerçekleştirilmiştir. 170, 180 ve 190°C hava giriş sıcaklıklarında yapılan denemelerde optimum sıcaklık 180°C ve optimum vanilya ekstraktı oranı karışım içerisinde %10 olarak belirlenmiştir. Enkapsülasyon etkinliğinin ise % 66-81.93 aralığında değiştiği saptanmıştır [39]. Aynı kuru madde oranları, vanilya ekstraktı oranları ve hava giriş sıcaklıklarının uygulandığı bir diğer çalışmada, kaplama materyali (maltodekstrin ve mısır nişastası) oranları üzerine odaklanılmıştır. Çalışma sonucunda aroma korunumu için 1:3 kaplama materyali karışım oranının, 3:1 oranına göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. 170, 180 ve 190°C hava giriş sıcaklıklarında yapılan denemelerde, enkapsülasyon etkinliği ve kaliteli ürün açısından optimum sıcaklık 180°C ve optimum vanilya ekstraktı oranı karışım içerisinde %10 olarak belirlenmiştir [40]. Yine aynı kuru madde oranları, vanilya ekstraktı oranları ve hava giriş sıcaklıklarının incelendiği çalışmada, kaplama materyali olarak yalnızca maltodekstrin kullanılmıştır. Sonuç olarak optimum nokta olarak seçilen, karışım içerisinde %10 vanilya ekstraktı bulunan karışımın 190°C hava giriş sıcaklığında kurutulmasında enkapsülasyon etkinliği daha yüksek (%76.6) bulunmuştur [41].

Çekirdek materyal olarak vanilya ekstraktının seçildiği bir diğer çalışmada, kaplama materyali olarak farklı dekstroz eşdeğeri olan maltodekstrinler (DE 10 ve DE 20) kullanılmıştır. Yüksek verim elde etmek için konsantrasyon vanilya ekstraktı, mikroakışkanlaştırma basamağının ardından dondurarak kurutma ile enkapsüle edilmiştir. Sonuçlar, 70 MPa basınçta 2 kez yapılan mikroakışkanlaştırma çevrimi ve dondurarak kurutma işlemi sonrasında, 95:5 ve 90:10 oranlarındaki MD20: MD10 karışımının yüksek enkapsülasyon etkinliği (>95%) sağladığını göstermiştir [42].

Vanilinin çekirdek materyal olarak seçildiği bir çalışmada peynir altı suyu proteini izolatu, β -siklodekstrin ve bunların kombinasyonu ile enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Sentetik aroma maddesi olan ve

yüksek uçuculuğa sahip vanilin için, püskürterek ve dondurarak kurutma (SFD), püskürterek kurutma (SD) ve dondurarak kurutma (FD) yöntemleri ile kaplama materyallerinin ürün stabilitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Isıl olmayan ve iki basamaktan oluşan SFD yönteminde, her iki yöntem için (SD ve FD) belirlenen parametreler (sabit basınç, sıcaklık ve besleme hızı) ile püskürterek kurutma işleminin ardından konvansiyonel dondurarak kurutma işlemi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda en uygun kaplama materyali olarak belirtilen peynir altı suyu proteini izolatu kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde enkapsülasyon etkinliği, püskürterek kurutma (SD için %86.2) yönteminde diğerlerine kıyasla (SFD ve FD için sırasıyla %72 ve 76.8) daha yüksek olarak bulgulanmıştır. Termal stabilite ve rehidrasyon özelliklerine göre ise ısıl olmayan SFD ön plana çıkmaktadır [43].

Çekirdek materyal olarak seçilen vanilin, kontrollü salım amacıyla çoklu emülsiyon tekniği ile katman katman membran uygulamanın denendiği ve püskürterek kurutma yönteminin uygulandığı bir çalışmada, kaplama materyali olarak soya proteini izolatu, modifiye nişasta ve kitosan kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Kuru temelde farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin çözeltileri (ağırlıkça 5–15%), vanilin konsantrasyonları (ağırlıkça 0.1–0.4%) ve hava giriş sıcaklıklarında (180-200°C) yapılan çalışmalar sonucunda optimum nokta için enkapsülasyon etkinliği, %nem içeriği ve partikül boyutu göz önünde bulundurulmuştur. Sonuç olarak, kuru temelde % 8.5 maltodekstrin konsantrasyonu ve % 0.36 vanilin konsantrasyonu ile 184°C hava giriş sıcaklığı optimum nokta olarak bulunmuştur. Enkapsüle ürünün 37°C ve 80°C'ta su içerisindeki salımı incelenmiş; 3 katman uygulanan enkapsülasyon denemelerinde düşük nem içeriği avantajına karşın, sınırlı suda çözünübilirlik dezavantajı belirlenmiştir [44, 45].

Doğal ve sentetik kahve aromaları moleküler hapsetme yöntemi ile β -siklodekstrin kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Kompleksleştirme işlemi için kahve aroması, 55°C'taki β -siklodekstrin çözeltilisine eklenmiş ve 22°C'a kademeli olarak soğutulmuştur. Oluşturulan kristaller, su ile temas ettikten sonra ise komplekse bağlı aroma maddeleri hızla serbest bırakılmıştır. Çalışmada yağimsı, yağlı veya sıvı olmak üzere kahve aroma konsantratlarının mikrokristalin kararlı bir komplekse dönüşümünün, instant kahve ürünlerinin duyu özelliklerini ve kalitesini artırmak için katkı sağlayacağı belirtilmiştir [46].

Tablo 3. Gıda aroma bileşenleri ve ekstraktları üzerine gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları

Yöntem	Çekirdek Materyal	Kaplama Materyali	Parametreler	Kaynak
Püskürterek kurutma	2-asetil-1-pirolin (Pirinç aroması)	Gam arabik, maltodekstrin	Hava giriş sıcaklığı: 150°C Hava çıkış sıcaklığı: 80°C Besleme hızı: 475 mL/h Hava akış hızı: 63 m ³ /h	[23]
Püskürterek kurutma, dondurarak kurutma	Durian aroması	Maltodekstrin (glukoz şurubu GSS, fieldose PHS-15 ve pasilli)	Püskürterek kurutma: Hava giriş sıcaklığı: 150°C Hava çıkış sıcaklığı: 98°C Dondurarak kurutma: -80°C/36h	[24]
Püskürterek kurutma	Sumak ekstraktı	Sodyum klorür, sakkaroz, glikoz, nişasta	Hava giriş sıcaklığı: 200°C Hava çıkış sıcaklığı: 100°C Besleme hızı: 125mL/h	[25]
Püskürterek kurutma	Sumak ekstraktı	Peynir altı suyu tozu, süt tozu, guar gam	Hava giriş sıcaklığı: 200°C Hava çıkış sıcaklığı: 100°C Besleme hızı: 125mL/h	[26]
Püskürterek kurutma	Sumak ekstraktı	Maltodekstrin	Hava giriş sıcaklığı: 160,180,200°C Hava çıkış sıcaklığı: 80,90,100°C	[27]
Püskürterek kurutma	D-limonen	Gam arabik, maltodekstrin, modifiye nişasta	Hava giriş sıcaklığı: 200°C Hava çıkış sıcaklığı: 110°C Besleme hızı: 45mL/min	[28]
Püskürterek kurutma	Limon aroması	Maltodekstrin, gam arabik	Yüksek basınç ile homojenizasyon: 10dak/24000 rpm İki aşamalı homojenizasyon: 30/10, 60/20 MPa Hava giriş sıcaklığı: 160°C Hava çıkış sıcaklığı: 65°C	[29]
Dondurarak kurutma	Limonen	Gam arabik, sakkaroz, jelatin	Yüksek basınçta homojenizasyon: 25-100 MPa Dondurarak kurutma: -20°C/12h, -80°C/24h	[30]
Püskürterek kurutma	Mandalina aroması	Maltodekstrin, soya proteini, gam arabik, polisorbat80	Hava giriş sıcaklığı: 156-213°C Hava çıkış sıcaklığı: 90-100°C Atomizasyon hızı: 23000-35000rpm	[31]
Püskürterek kurutma	L-mentol	Gam arabik, modifiye nişasta (Capsul ve HI-CAP 100)	Hava giriş sıcaklığı: 180°C Hava çıkış sıcaklığı: 100°C Besleme hızı: 45 mL/min Hava akış hızı: 100 kg/h	[32]
Püskürterek soğutma	Limonen, nikotin, metil salisilat, sinamik aldehit ve Neobee M5	Susuz eritritol	Püskürtücü basıncı: 70-350 kPa	[33]
Kompleks koaservasyon	β-pinen	Kazeinat, peynir altı suyu protein izolatu, karboksimetilselüloz	Emülsiyon pH değeri: 2.8 Koaservasyon: 4°C/20h Dondurarak kurutma: 5-6h	[34]
Püskürterek kurutma	Michelia alba ekstraktı (linalol, verbenon, 2-metil bütanoik asit)	Oktanik süksinik anhidrat (OSA)	Hava giriş sıcaklığı: 150°C Hava çıkış sıcaklığı: 50°C	[35]

Püskürterek kurutma, dondurarak kurutma	Vanilya ekstraktı	Nişasta türevleri (Capsul ve Hi Cap 100)	Püskürterek kurutma: Hava giriş sıcaklığı: 170°C Hava çıkış sıcaklığı: 90°C Besleme hızı: 8 mL/min Dondurarak kurutma: -18°C/24h, 0.023-0.63 mbar	[36]
Püskürterek kurutma	Vanilya ekstraktı	Maltodekstrin, modifiye nişasta (Flomax 8)	Hava giriş sıcaklığı: 140–150°C Hava çıkış sıcaklığı: 70–80°C	[37] [38]
Püskürterek kurutma	Vanilya ekstraktı	Maltodekstrin, mısır nişastası	Hava giriş sıcaklığı: 170, 180, 190°C	[39] [40] [41]
Dondurarak kurutma	Vanilya ekstraktı	Maltodekstrin (DE 10, DE 20)	Dondurarak kurutma: -70°C/24 h, -40°C/0.3 mbar	[42]
Püskürterek kurutma, dondurarak kurutma	Vanilin	Peynir altı suyu proteini izolatu, β-siklodekstrin	Püskürterek kurutma: Hava giriş sıcaklığı: 110°C Hava çıkış sıcaklığı: 60°C Besleme hızı: 20 mL/min Dondurarak kurutma: -24°C/16h	[43]
Püskürterek kurutma	Vanilin	Soya proteini izolatu, modifiye nişasta, kitosan	Hava giriş sıcaklığı: 180-200°C	[44] [45]
Moleküler hapsedme	Kahve aroması	β-siklodekstrin	Emülsiyon: 55-22°C/4-5h Kristalizasyon: 4°C/16h	[46]

SONUÇ

Gıda endüstrisinde son yıllarda gelişen tüketici tercihleri ve yeni teknolojiler ile birlikte, ürünlerin raf ömrü uzun olabilmekte ve hammaddeden beklenen çeşitli özellikler daha iyi şekilde korunabilmektedir. Bununla birlikte, uzun raf ömrü ve gıdanın özelliklerinin korunabilmesi için, çevreye duyarlı şekilde üretilen maddelerin kullanıldığı ve buna yönelik sistemlerin geliştirildiği bilinmektedir. 20. yüzyılda ortaya çıkan ve sürekli yapılan çalışmalar sonucu gelişmeye devam eden mikroenkapsülasyon yöntemleri ile, ürün raf ömrünün yanı sıra duyuşsal ve besleyici özelliklerinde artış sağlanabilirken; gıda ürününün kullanım yeri, işlem koşullarına da bağlı olarak geniş bir tercih ve uygulama aralığı bulunmaktadır. Mikroenkapsülasyon teknolojileri ile ayrıca çekirdek materyalin reaktivitesi azaltılarak ısı, nem, hava ve ışık gibi dış ortam koşullarına karşı bozunması engellenmekte ve korunabilmekte, çekirdek materyalin dış ortama doğru transfer hızı azaltılmakta/engellenmektedir. Bu yöntemlerle ilgili yapılan yeni çalışmalarla birlikte potansiyel tüketici ihtiyaçları belirlenmekte ve endüstriyel ölçeğe taşınan sistemler ile ticari açıdan kolaylıkla karşılanabilmektedir. Öncelikli olarak, çekirdek materyalin ve kaplama materyali/materyallerinin özellikleri ve bu maddelerin birbirleri ile etkileşimleri araştırılarak; belirlenen özelliklere uygun mikroenkapsülasyon yöntemleri seçilebilmektedir. Sonuç olarak tüketici eğilimleri doğrultusunda, çalışılması hedeflenen yeni ürünler ve buna bağlı olarak yeni yöntem ve sistemlerin geliştirilmeye devam etmesi beklenmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, "Vanilya Ekstraktının Püskürterek Kurutma ve Püskürterek Soğutma Yöntemleri ile Enkapsülasyonu ve Model Gıda Sistemi İçerisinde Kullanımı" başlıklı yüksek lisans tezinin bir bölümünü kapsamaktadır ve Ege Üniversitesi 17-MÜH-026 numaralı Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) kapsamında maddi olarak desteklenmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Renu, R., Zehra, F., 2015. Microencapsulation of flavours. *International Journal of Basic and Applied Biology* 2(5): 333–338.
- [2] Poshadri, A., Kuna, A., 2010. Microencapsulation technology: A review. *The Journal of Research ANGRAU* 38(1): 86–102.
- [3] Fang, Z., Bhandari, B., 2010. Encapsulation of polyphenols - a review. *Trends in Food Science & Technology* 21: 510-523.
- [4] Sobel, R., Versic, R., Gaonkar, A.G., 2014. Introduction to Microencapsulation and Controlled Delivery in Foods. Microencapsulation in the Food Industry A Practical Implementation Guide, Edited by Gaonkar, A.G., Vasisht, N., Khare, A.R., Sobel, R., Elsevier, Chapter 1, 3-12p.
- [5] Koç, M., Sakin, M., Kaymak-Ertekin, F., 2010. Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 16(1): 77–86.
- [6] Barbosa-Canovás, G.V., Ortega-Rivas, E., Juliano,

- P., Yan, H., 2005. Encapsulation Processes. Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 199-218p.
- [7] Teunou, E., Poncelet, D., 2005. Fluid-Bed Coating. Encapsulated and Powdered Foods, Edited by Onwulata, C., Taylor & Francis Group, LLC, 197-212p.
- [8] El-Abbasi, A., El Fadeli, S., El-Bouzidi, L., Lahrouni, M., Nauman, K., 2015. Recent advances in microencapsulation of bioactive compounds. *Analytical and Processing Techniques* 41(April): 129-146.
- [9] Druaux, C., Voilley, A., 1997. Effect of food composition and microstructure on volatile flavour release. *Trends in Food Science & Technology* 8(November): 364-368.
- [10] Uhlemann, J., Reiß, I., 2010. Product design and process engineering using the example of flavors. *Chemical Engineering & Technology* 33(2): 199-212.
- [11] Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S., 2006. Review Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 1-21.
- [12] Reineccius, G.A., 1995. Controlled Release Techniques in the Food Industry. Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients, American Chemical Society, Chapter 2, 8-25.
- [13] Pothakamury, U.R., Barbosa-Canovas, G.V., 1995. Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends in Food Science & Technology* 6(December): 397-406.
- [14] Eichler, K., 2003. Trend in the European Encapsulation Market. *Food Marketing and Technology* 17: 42-44.
- [15] Moreau, D.L., Rosenberg, M., 1996. Oxidative stability of anhydrous milkfat microencapsulated in whey proteins. *Journal of Food Science* 61(1): 39-43.
- [16] Benita S., 1996. Microencapsulation Methods and Industrial Applications. Marcel Dekker, INC, USA.
- [17] Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40: 1107-1121.
- [18] Desai, K.G.H., Park, H.J., 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology* 23(7): 1361-1394.
- [19] Taylor, A.H., 1983, Encapsulation systems and their applications in the flavor industry. *Food Flavor Ingredient and Process Packaging* 4(Sept): 48-52.
- [20] Gibbs, B.F., Kermasha, S., Alli, I., Mulligan, C.N., 1999. Encapsulation in the food industry : a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 50(3): 213-224.
- [21] Buldur, P.M., 2012. Encapsulation of Food Flavors via Coacervation Method. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 53p.
- [22] Gouin, S., 2004. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology* 15(7-8): 330-34.
- [23] Apintanapong, M., Noomhorm, A., 2003. The use of spray drying to microencapsulate 2-acetyl-1-pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. *International Journal of Food Science and Technology* 38(2): 95-102.
- [24] Che Man, Y.B., Irwandi, J., Abdullah, W.J.W., 1999. Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavour. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79(8): 1075-1080.
- [25] Bayram, Ö.A., Bayram, M., Tekin, A.R., 2005. Spray drying of sumac flavour using sodium chloride, sucrose, glucose and starch as carriers. *Journal of Food Engineering* 69(2): 253-260.
- [26] Bayram, Ö.A., Bayram, M., Tekin, A.R., 2008. Whey powder as a carrier in spray drying of sumac concentrate. *Journal of Food Process Engineering* 31(1): 105-119.
- [27] Caliskan, G., Dirim, S.N., 2013. The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioproducts Processing* 91(4): 539-548.
- [28] Soottitantawat, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., Linko, P., 2005. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 107-114.
- [29] Janiszewska, E., Jedlińska, A., Witrowa-Rajchert, D., 2015. Effect of homogenization parameters on selected physical properties of lemon aroma powder. *Food and Bioproducts Processing* 94: 405-413.
- [30] Kaushik, V., Roos, Y.H., 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatin systems. *LWT - Food Science and Technology* 40(8): 1381-1391.
- [31] García-Cárdenas, J.A., Ciro-Velásquez, H.J., Largo-Ávila, E., 2015. Encapsulation of mandarin citrus flavor using spray drying technology and different wall materials. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 18(1): 251 - 260.
- [32] Soottitantawat, A., Takayama, K., Okamura, K., Muranaka, D., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., Linko, P., 2005. Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6(2): 163-170.
- [33] Sillick, M., Gregson, C.M., 2012. Spray chill encapsulation of flavors within anhydrous erythritol crystals. *LWT - Food Science and Technology* 48(1): 107-113.
- [34] Koupantsis, T., Pavlidou, E., Paraskevopoulou, A., 2014. Flavour encapsulation in milk proteins - CMC coacervate-type complexes. *Food Hydrocolloids* 37: 134-142.
- [35] Samakradhamrongthai, R., Thakeow, P., Kopermsub, P., Utama-ang, N., 2016. Microencapsulation of white champaca (*Michelia alba* D.C.) extract using octenyl succinic anhydride (OSA) starch for controlled release aroma. *Journal*

- of Microencapsulation* 33(8): 773–784.
- [36] Rodríguez, S.D., Wilderjans, T.F., Sosa, N., Bernik, D.L., 2013. Image texture analysis and gas sensor array studies applied to vanilla encapsulation by octenyl succinic anhydride starches. *Journal of Food Research* 2(2): 36–48.
- [37] Setyaningsih, D., Rahmalia, R., Sugiyono, D., 2010. Kajian mikroenkapsulasi ekstrak vanili. *J. Tek. Ind. Pert* 19(2): 64–70.
- [38] Rahmalia, R., 2008. Kajian Mikroenkapsulasi Ekstrak Vanili Dan Retensi Vanilin Selama Penyimpanan. Bogor Pertanian Enstitüsü, Bogor, 82p.
- [39] Sariga, S., Prince, M.V., 2015. Influence of flavour load and inlet air temperature on microencapsulation of vanilla extract. *Trends in Biosciences* 8(16): 4196–4201.
- [40] Sariga, S., Prince, M.V., Sudheer, K.P., Sean, Y.D., 2016. Influence of wall material blend, flavour load and inlet air temperature on microencapsulation of vanilla extract. *Advances in Life Sciences* 5(6): 2116–2120.
- [41] Sariga, S., Prince, M.V., 2016. Effect of flavour load and inlet air temperature on microencapsulation of vanilla extract with maltodextrin as wall material. *International Journal of Applied And Natural Sciences* 5(2): 21–26.
- [42] Ocampo-Salinas, I.O., Jiménez-Aparicio, A., Perea-Flores, M.J., Tapia-Ochoategui, A., Salgado-Cruz, M.P., Jiménez-Martínez, C., Téllez-Medina, D.I., Dávila-Ortiz, G., 2017. High-pressure homogenization and maltodextrins mixtures to microencapsulate vanilla (*Vanilla planifolia*) extract through freeze-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 16(1): 131–146.
- [43] Hundre, S.Y., Karthik, P., Anandharamakrishnan, C., 2015. Effect of whey protein isolate and β -cyclodextrin wall systems on stability of microencapsulated vanillin by spray-freeze drying method. *Food Chemistry* 174: 16–24.
- [44] Noshad, M., Mohebbi, M., Shahidi, F., Koocheki, A., 2015. Effect of layer-by-layer polyelectrolyte method on encapsulation of vanillin. *International Journal of Biological Macromolecules* 81: 803–808.
- [45] Noshad, M., Mohebbi, M., Koocheki, A., Shahidi, F., 2015. Microencapsulation of vanillin by spray drying using soy protein isolate-maltodextrin as wall material. *Flavour and Fragrance Journal* 30(5): 387–391.
- [46] Szente, L., Szejtli, J., 1986. Molecular encapsulation of natural and synthetic flavor with β -cyclodextrin. *Journal of Food Science* 51(4): 1024–1027.
-

Pestisit Analizlerinde Asetilkolinesteraz İnhibisyonuna Dayalı İletken Polimer Esaslı Biyosensörler

Songül Şen Gürsoy¹ , Oğuz Gürsoy² ¹Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Burdur²Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur

Geliş Tarihi (Received): 07.03.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 08.08.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ssen@mehmetakif.edu.tr (S. Şen Gürsoy)

☎ 0 248 213 30 30 📠 0 248 213 30 99

ÖZ

Dünyada yaygın olarak kullanılan pestisitler, tarımsal, endüstriyel, evsel ve savaş malzemeleri olarak kullanılan kimyasallardır. Pestisitler pek çok sağlık sorunu ile ilgili olmasına rağmen, bu kirleticilerin izlenmesi ve tanımlanmasında ciddi bir eksiklik bulunmaktadır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, kapiler elektroforez ve kütle spektrometresi gibi klasik kromatografik yöntemler gıdalardaki pestisit analizlerinde etkili yöntemlerdir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin karmaşık süreçler, zaman alıcı hazırlık adımları, pahalı ekipman ve uzman personel gereksinimleri açısından önemli sınırlamaları vardır. Biyosensörler, basitlik, yüksek hassasiyet, kısa analiz süresi ve düşük analiz maliyeti ve aynı zamanda gerçek zamanlı ölçümlere uygulanabilirliği nedeniyle pestisitlerin tayini için tercih edilen cihazlardır. Onbeş yıldan fazla bir süredir, gıda kontrolü ve güvenliği için pestisit kalıntılarını izlemek için enzim inhibisyonuna dayalı biyosensörler geliştirilmiştir. İletken polimerler bu pestisit biyosensörlerinin yapımında kullanılmaktadır. Bu çalışmada pestisit tayini için kullanılan biyosensörler ile ilgili bilgi verildikten sonra asetilkolin esteraz enziminin inhibisyonuna dayalı iletken polimer temelli biyosensörler ile ilgili çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, İletken Polimer, Biyosensör, Enzim, Gıda, Su

Acetylcholinesterase Inhibition Based Biosensors Developed by Using Conducting Polymers for Pesticide Analyses

ABSTRACT

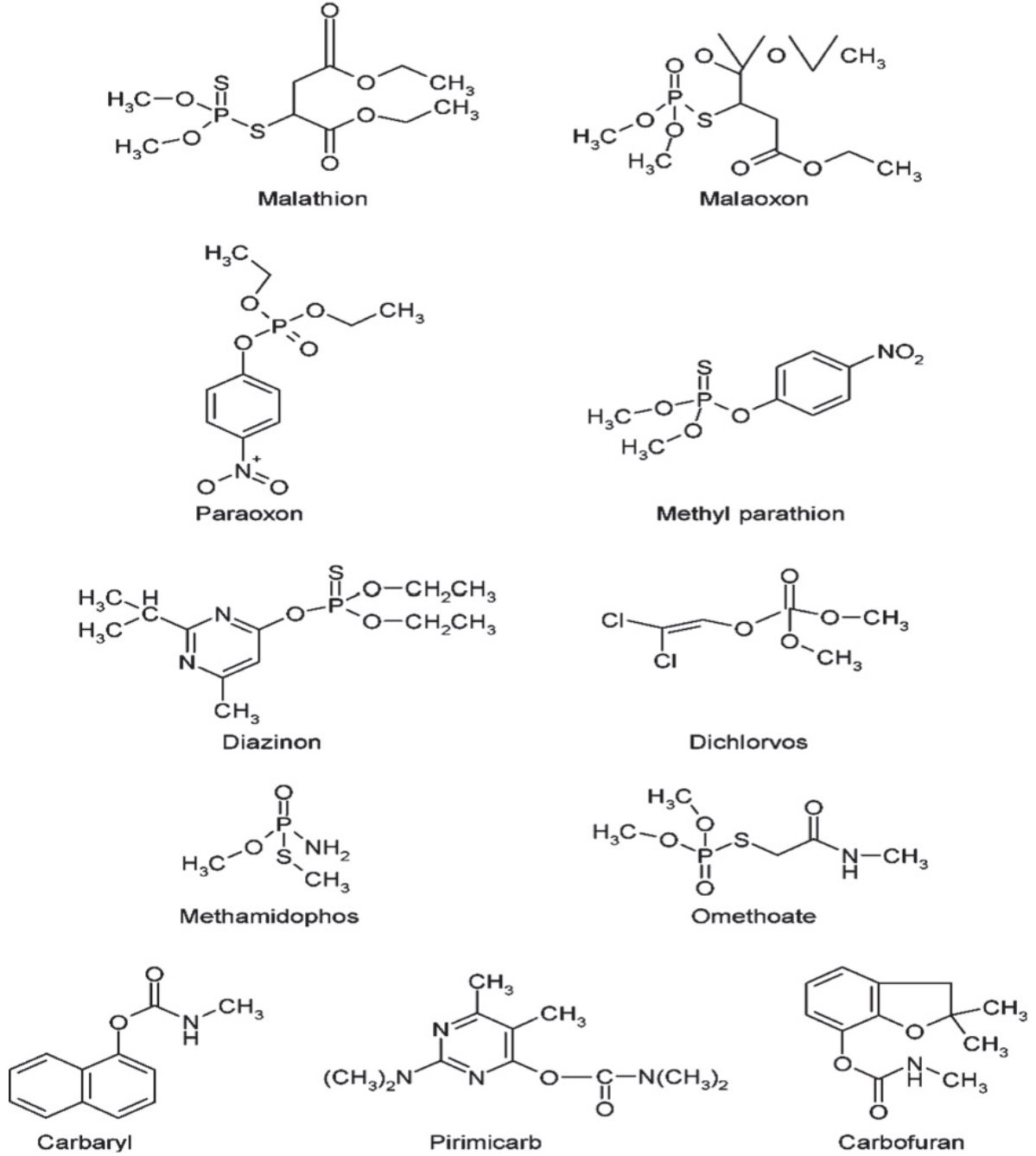
Pesticides commonly used worldwide are chemicals used as agricultural, industrial, domestic and war materials. Although pesticides are very strongly associated with many health problems, there is a serious lack of monitoring and identification of these pollutants. Conventional chromatographic methods such as high performance liquid chromatography, capillary electrophoresis and mass spectrometry are effective methods for pesticide analysis in foods. However, these methods have considerable limitations in terms of complex processes, time-consuming preparatory steps, expensive equipment and expert staff requirements. Biosensors are preferred devices for the determination of pesticides because of their simplicity, high sensitivity, short analysis time and low analysis cost, as well as their applicability to real time measurements. For more than fifteen years, biosensors based on enzyme inhibition have been developed to monitor pesticide residues for food control and safety. Conductive polymers have been used during constructions of these pesticide biosensors. In this study, studies on biosensors used for pesticide analyses were summarized and then researches on acetylcholinesterase inhibition based biosensors developed by using conducting polymers for pesticide analyses were reviewed.

Keywords: Pesticide, Conducting polymer, Biosensor, Enzyme, Food, Water

GİRİŞ

Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan pestisitler, tarım, endüstri, evsel ve savaş malzemesi olarak kullanılan kimyasallardır. Tarım ve endüstride kullanılmasındaki artıştan dolayı, pestisitler en önemli çevresel kirlenmeler arasında yer almaktadır. Bu bileşiklere uzun süreli maruz kalma nedeniyle çok ciddi çevre sorunları ortaya çıkmaktadır. Organofosforlu ve karbamatlı insektisitlerin yoğun olarak kullanımları, gıdaların ve yer altı sularının kirlenmesine neden

olmaktadır. Pestisitlerin (Şekil 1) hava, su, toprak ve organizmalarda dağılımları çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişikliklere yol açmaktadır. Aynı zamanda, pestisitler çok kolaylıkla oral, dermal ve solunum yoluyla adsorbe edilerek vücutta dokulara hızlıca dağılabilmektedirler. Organofosforlu ve karbamatlı pestisitlerin toksisitesi pestisit kimyasal yapısına göre değişiklik göstermektedir [1, 2]. Bu pestisitlerden bazılarının moleküler yapıları Şekil 1’de verilmektedir [3].



Şekil 1. Bazı organofosforlu ve karbamatlı pestisitlerin moleküler yapıları [3]

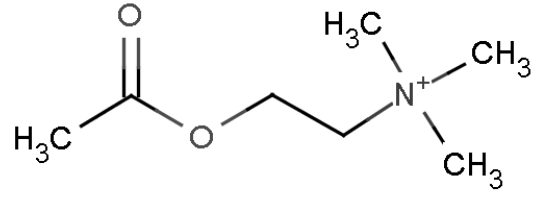
Pestisitler çevreye kasıtlı olarak salınırlar ve çeşitli prosesler sonucu da kirlilik yaratırlar. Pestisitlerin birçok sağlık problemi ile çok kuvvetli ilişkisi olmasına rağmen,

bu kirlenmelerin izlenmesinde ve tayininde ciddi eksiklik bulunmaktadır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, kapiler elektroforez ve kütle spektrometresi gibi

geleneksel kromatografik metotlar gıdalarda pestisit analizi için etkili yöntemlerdir. Ancak kompleks prosesleri, zaman alıcı ön hazırlık aşamaları, pahalı cihazlara ihtiyaç duyulması ve uzman personel gerektirmesi açısından oldukça fazla kısıtlamaları vardır. On beş yıldan fazla bir süredir gıda kontrol ve güvenliği açısından pestisit kalıntılarının izlenmesi için basit, hızlı ve ultra hassas cihazlar olan asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı biyosensörler geliştirilmektedir. Bu biyosensörler, numune hazırlamayı basitleştirerek veya ortadan kaldırarak işlem başına maliyette önemli düşüşle birlikte yerinde ve gerçek zamanlı yapılması gereken testleri daha kolay ve hızlı bir hale getirerek klasik analitik yöntemlerin yerini alma potansiyeline sahiptir. Ayrıca bu cihazlar kolaylıkla minyatürize edilebilirler ve kompleks matrislerde diğer bileşiklerin yapabileceği girişimlere karşı da duyarlıdır. Enzimatik biyosensörler, pestisitlerin, fosforlu ve karbamatlı sınıflarını izlemede asetilkolinesteraz (AChE) ve onun substratı asetilkolin (ACh) arasındaki enzimatik reaksiyonu inhibe ederek izlenmesine imkân sağlar. Bu bileşikler, enzimin aktif estearik bölgesine bağlanarak fosforilasyon ve karbomilasyon yoluyla AChE'nin katalitik üçlüsündeki (histidin, serin ve aspartik asit) serin kalıntısını bloke ederek biyokatalitik aktivitesini inhibe eder [4].

ASETİLKOLINESTERAZ (AChE)

Asetilkolin sinir ve kasların çakıştığı kavşaklarda, iç organ motor sistemlerindeki lenf bezlerinde ve merkezi sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde bulunan sinir hücresi iletilicisidir [5] (Şekil 2). Kolinerjik iletimin işlevi hakkında çok şey bilinmesine karşın, merkezi sinir sisteminde ACh'nin etkileri iyi anlaşılammıştır. Asetilkolin, nöronlarda kolinasetiltransferaz ile kolin ve asetilesteraz'dan sentezlenir. Yapılan çalışmalar asetilkolinin bireysel nöronların hızını etkilediğini göstermektedir. Asetilkolin, asetilkolinesteraz enzimi ile kolin ve asetik asite hızlıca hidroliz olur. AChE tipik olarak sinir, kas ve bazı kan ile ilgili hücrelerde sentezlenir. Enzim, uyarılabilen dokularda, hem sinir hem de kasların hücre dışında lokalize olmuştur. AChE inhibitörleri, Alzheimer hastalığı, glokom, düz kas zaafiyeti ve otonom sinir sistemi fonksiyonlarının çeşitli bozukluklarının tedavisinde kullanılır [6]. AChE'nin katalitik aktivitesi çok yüksek olmakla birlikte saniyede 25.000 ACh molekülünü kolin ve asetik asite dönüştürür. Oluşan kolin, yeni ACh molekülünü oluşturmak üzere tekrar sinir merkezlerine aktarılır [7].

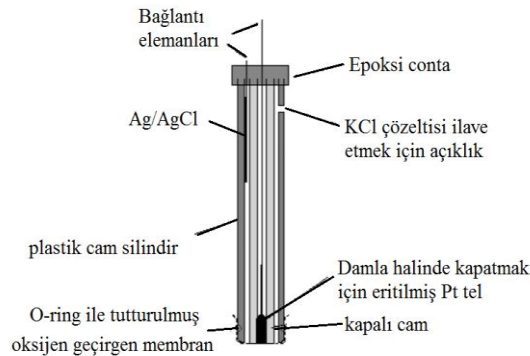


Şekil 2. Asetilkolinin moleküler yapısı

AChE aktif bölgesini katalitik olarak koordine olmuş üç önemli amino asitin (histidin, serin ve aspartik asit) karakterize ettiği hidrolaz ailesine ait bir enzimdir [8, 9]. Enzim katalizi, üçlünün anyonik bağlanma tarafının, ACh'nin pozitif yüklü amonyum grubunu çekmesiyle meydana gelir. Serin hidroksil grubu, üçlüdeki komşu histidin grubu tarafından deprotonasyonundan sonra estere saldırır [10]. Pestisitler gibi inhibitörler varlığında aktif bölgede bulunan nükleofilik serin hidroksil grubu, pestisitte bulunan fosfor atomuna kovalent bağla bağlanır. Benzer durum karbamatların karbonil karbonu ile de yaşanır [11, 12]. Dolayısıyla, organofosfat ve karbamatların tayini için asetilkolinesterazın inhibisyonu prensibi çok sık kullanılmaktadır [13-16].

ENZİM İNHİBİSYONU TEMELLİ BİYOSENSÖRLERİN GELİŞİMİ

Biyosensör, fizikokimyasal bir transduser (enerji aktarımı yapan sistem) içine entegre edilmiş biyolojik bir materyal veya biyolojik olarak türetilmiş bir algılama elemanı içeren kompakt bir analitik cihaz olarak tanımlanabilir. Bu şekilde geliştirilen bir cihazın amacı, bir veya birden fazla analitle orantılı olan sürekli bir elektronik sinyal üretmektir [17]. Biyosensör kavramı ilk kez Profesör Leland C. Clark Jr. tarafından 1956 yılında oksijen elektrodu ile tanımlanmıştır (Şekil 3) [18]. Clark bu çalışmayı temel alarak vücutta ölçülebilen analit aralığını arttırmak amacıyla, 1962'de New York Bilim Akademisi sempozyumunda membran içerisine sandviç edilen enzim iletim mekanizmaları ile elektrokimyasal sensörlerin (pH, polarografik, potansiyometrik veya iletkenlik) nasıl daha akıllı yapılabileceği konusundaki çalışmasını sunmuştur. Clark, oksijen elektroduna, diyaliz membran kullanarak glukoz oksidazı tutturarak hazırladığı sistem ile oksijen derişimindeki azalmanın glukoz derişimi ile orantılı olduğunu göstermiştir. Clark ve Lyons yayınladıkları bu makalede, birçok yazarın yanlışlıkla, Updike ve Hicks [19]'e atıfta bulunduğu "enzim elektrodu" terimini ilk kez kullanmışlardır [20].



Şekil 3. Clark oksijen elektrodunun sembolik gösterimi [18]

Literatürde, glukoz tayini için glukoz oksidaz enziminin kullanıldığı biyosensörler gibi, enzimlerin substratlarını tayin etmeye yönelik birçok çalışma mevcuttur. Son zamanlarda enzim inhibisyonu yoluyla bileşiklerin biyosensörlerle ile tayini konusunda yapılan çalışmaların da sayısı artmaya başlamıştır. Bu tip biyosensörlerin çalışma prensibi inhibitör varlığında ve yokluğunda enzim aktivitenin ölçülmesine dayanır. Klinik anlamda enzim inhibisyonu oldukça önem taşımaktadır. Çünkü biyolojik birçok reaksiyonun katalizlenmesi enzimler üzerinden gerçekleşmektedir. Kullanılan ilaçların uygun dozda alınmaması, pestisitlerde olduğu gibi toksik etki yaratmaktadır.

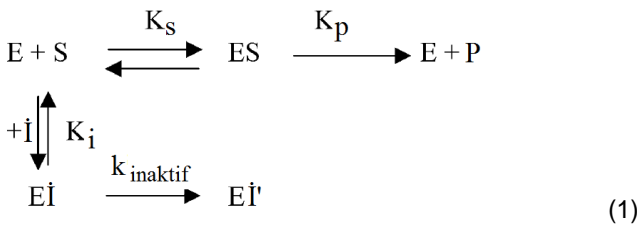
Enzim inhibisyonuna dayanan biyosensörler ile ilgili ilk çalışma, Guilbault ve arkadaşları tarafından yapılmış ve 1962'de Analytical Chemistry dergisinde yayınlanmıştır [21]. Bu çalışmada elde edilen ve biyolojik olarak hassas olan cihaz, kolinesteraz enzimi kullanılarak organofosforlu bileşiklerin tayini için kullanılmıştır. Bu tarihten sonra da enzim inhibisyonu temelli birçok çalışma literatüre girmiştir.

ENZİM İNHİBİSYONU

Enzim ve inhibitör arasındaki etkileşim genellikle kompleks bir yapıdadır. Yüksek hassasiyete sahip, inhibisyona dayalı bir enzim sensörü için enzim ve substrat derişimi ve inkübasyon süresi gibi bazı anahtar parametrelerin optimizasyonunun yapılması gerekmektedir. Bunun yanında enzim ve toksik bileşik arasındaki etkileşim sonucu olarak ortaya çıkan inhibisyonun tipi de önem arz etmektedir. İnhibisyon çeşitleri, geri dönüşümsüz (irreversible) ve tekrarlanabilir (reversible) inhibisyon olarak sınıflandırılabilir. Bu inhibisyon türlerinin mekanizmaları aşağıda tanımlanmaya çalışılmıştır.

Geri Dönüşümsüz (Irreversible) İnhibisyon

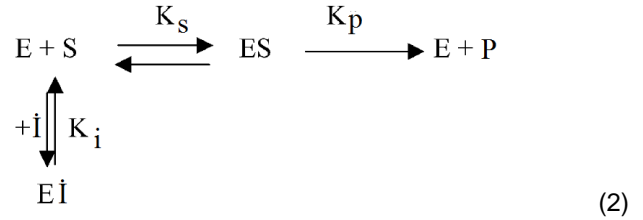
Geri dönüşümsüz inhibisyon inhibitör ve enzimin aktif merkezi arasında oluşan kovalent bağın varlığı ile belirlenebilir (1). Kovalent bağlanma sonucunda enzim inaktif hale gelmektedir [22]. Geri dönüşümsüz terimi, enzim-inhibitör kompleksinin ayrışmasının ancak enzimin yok edilmesiyle, hidrolizyle ya da oksidasyonu ile sonuçlandığını ifade etmektedir. Bu işlem genellikle aşağıdaki eşitlikte olduğu gibi kademeli olarak devam eder;



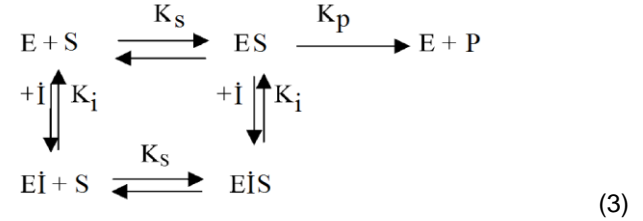
Tekrarlanabilir İnhibisyon

Tekrarlanabilir inhibisyonda, geri dönüşümsüz inhibisyonun aksine inhibe edilen enzim, tampon ya da suyla basit bir yıkama ile orijinal etkinliğini geri

kazanabilir. Bu tip inhibisyonlarda substrat konsantrasyonunun ya da inhibitöre oranla enzim konsantrasyonunun artırılması ile enzim inhibitör ilişkisi tersine çevrilebilmektedir. Literatürde çeşitli tekrarlanabilir inhibisyon türlerine rastlanmaktadır. Bunlardan ilki, inhibitörün (I) enzimin aktif bölgesine substratla (S) yarışarak bağlandığı yarışmalı (kompetitif) inhibisyon (2).

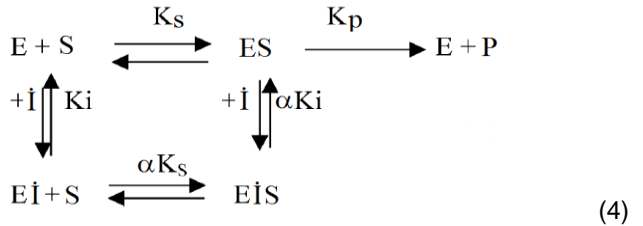


İkincisi, substratla yapısal benzerliği olmayan inhibitörün, substratla aynı bölgeye bağlanmadığı, ya serbest enzime ya da ES kompleksine bağlanarak reaksiyonu yavaşlattığı yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon (3). Yani substrat ve inhibitör birbirleri ile hiç yarışmazlar.

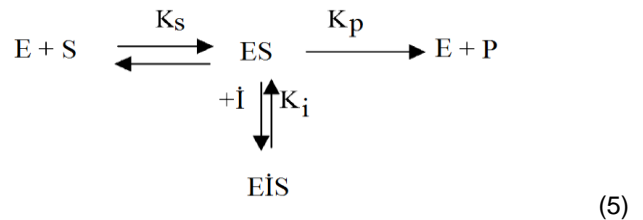


Yarışmalı ve yarışmasız inhibisyonlar enzim kinetiğini farklı şekillerde etkilerler [23]. Yarışmalı inhibisyon maksimum hızı (V_{max})'ı değiştirmez fakat Michaelis-Menten sabitini (K_M) yi artırır, bununla birlikte yarışmasız inhibisyonda K_M değişmez ancak V_{max} düşer.

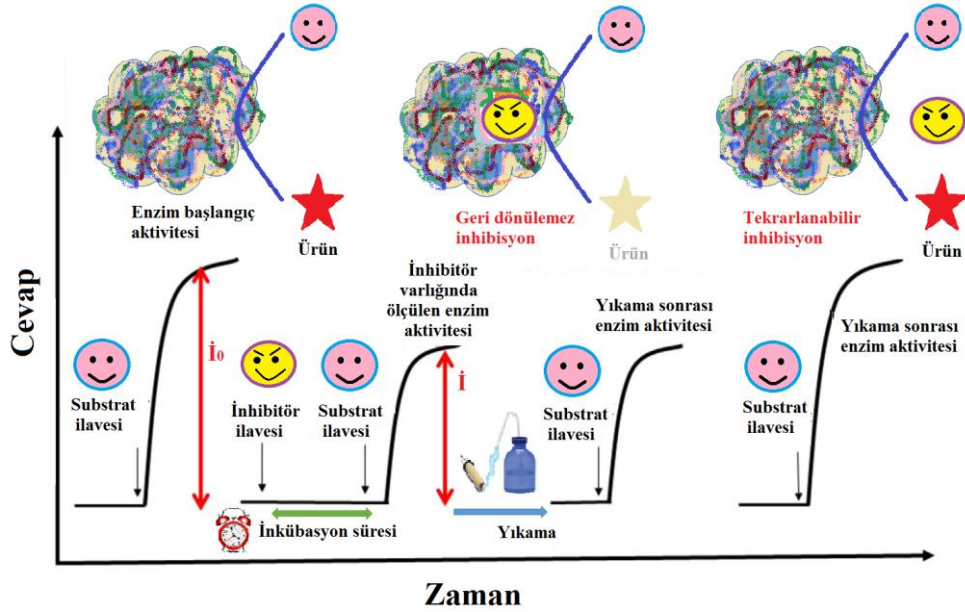
Karışık (mix) inhibisyon olması durumunda, inhibitör enzim ve enzim-substrat kompleksine farklı bir ilişki ile bağlanır (4).



Yarışmasız (unkompetitif) inhibisyonda ise inhibitör sadece enzim-substrat kompleksi olduğu zaman ES kompleksine bağlanarak ürün oluşumunu sonlandırır (5).



Şekil 4. yukarıda anlatılan geri dönüşümsüz ve tekrarlanabilir inhibisyon türlerini şematize ederek özetlemektedir [24].



Şekil 4. Enzim inhibisyonuna dayalı biyosensör kullanılarak geri dönüşümsüz ve tekrarlanabilir inhibitör tespiti için farklı protokoller (Amine ve ark. [24]'dan adapte edilmiştir)

İLETKEN POLİMERLER

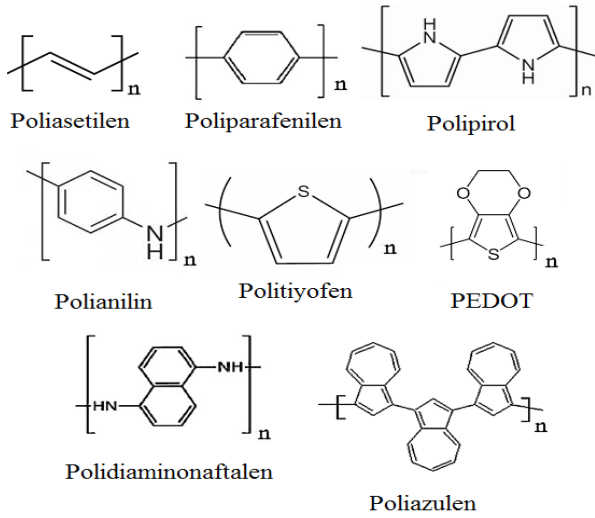
İletken polimerler, son yıllarda en sık çalışılan materyaller arasında yer almaktadır (Şekil 5). Şarj edilebilir piller, optik cihazlar, elektrolitik kapasitörler, güneş pilleri, sensör ve biyosensör çalışmaları bu materyallerin uygulama alanları arasında en iyi bilinenleridir [25-28]. Ayrıca, iletken polimerlerin elektrokimyasal olarak biriktirilmeleri kolay olduğu için elektrot yüzeyinde duyarlı bir tabakanın oluşmasını sağlamaktadırlar. Bu özellikleri, iletken polimerleri biyosensörlerde elektron iletim mekanizması (transducer) olarak kullanılmalarını tercih edilir hale getirmektedir. Moleküler olarak elektronik olan bu materyaller polimer tabakanın kalınlığı, elektriksel özellikler ve biyoaktif moleküllerin yapıya tutturulabilmesi gibi farklı parametrelerin kontrolünü mümkün kılmaktadır. Dahası, iletken polimer temelli biyosensörler biyoyumumluluk, hücre içi uygulanabilme, ilaç ya da metabolitlerinin salınımlarını kontrol altında tutabilme ve minyatürize edilebilir gibi özellikleri nedeniyle ideal bir biyosensör için ihtiyaç duyulan özellikleri karşılamaktadır. Bu amaçla en sık çalışılan iletken polimerler polianilin, politiyofen, polipirol (PPy) ve bunların türevleridir.

İletken polimerler konusundaki çalışmalar ilk kez College of London Hastanesinde profesör olan Dr H. Letheby'nin 1862'de iletken polimerlerin kimyasal reaksiyon davranışlarını analiz etmesiyle başlamıştır. Anilin sülfatın elektropolimerizasyonu konulu Journal of the Chemical Society dergisinde yayınlanan çalışma, anilin sülfatın elektropolimerizasyon ile platin elektrot üzerine mavimsi bir katı tabaka haline geldiğini göstermiştir [29]. Sonrasında, Natta ve arkadaşları 1958'de $Al(Et)_3/Ti(OPr)_4$ başlatıcısı kullanarak asetileni ilk kez polimerleştirmişlerdir. Elde edilen polimer yüksek kristallığe ve yüksek molekül ağırlığına sahiptir. Kullanılan bu yöntem ile elde edilen bileşiğin havaya karşı duyarlı olması, ufalanması ve çözünmez olmasından

dolayı çok fazla dikkat çekmemiştir [30]. Bu bileşik 1967'ye kadar bilimsel bir merak olarak kalmıştır. Tokyo Teknoloji Enstitüsü öğrencisi olan Hideki Shirakawa, deneysel bir hata sonucu poliasetileni gümüş renkli bir film olarak sentezlemiştir. Bu sentezde Ziegler Natta katalizörünün olması gerekenden 1000 kat daha fazla kullanıldığı farkedilmiştir. Shirakawa, MacDiarmid ve Heeger, 1977 yılında yaptıkları çalışmalarında Ziegler-Natta katalizörü kullanılarak metalik görüntüde olmasına rağmen yeterince iletken olmayan, gümüş renkli poliasetilen filmlerin klor, brom ve iyot buharlarıyla muamelesi sonucu mekanik özelliklerinin iyileştiğini ve ilk hallerinden 10^9 kat daha fazla iletken olabildiklerini görmüşlerdir [31]. Kullandıkları bu yöntemle dop edilmiş poliasetilenin iletkenliği 10^5 S/m'ye kadar çıkmıştır. Elde edilen bu iletkenlik değeri bilinen en iyi yalıtkan materyallerden biri olan teflonun iletkenliği (10^{-16} S/m)'den çok çok yüksektir ve metallerin iletkenlik değerine yakındır. Bu gelişmeler sonucunda "İletken Polimer" terimi ortaya atılmıştır [32]. Shirakawa, MacDiarmid ve Heeger ise iletken polimerler konusunda yaptıkları çalışmalardan dolayı 2000 yılında Kimya Nobel Ödülünü kazanmışlardır.

İLETKEN POLİMER TEMELLİ ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİSYONUNA DAYALI PESTİSİT BİYOSENSÖRLERİ

Gıda ve sulardaki düşük pestisit seviyelerinin sürekli olarak izlenmesi, insanlık açısından önemli bir faaliyet haline gelmiştir. Pestisit seviyelerinin izlenmesi sıklıkla yerinde ölçüm sağlayabilecek, gerçek zamanlı, çok hızlı ve çok düşük konsantrasyon düzeylerinde tepki verebilecek yeni analitik teknikler gerektirmektedir. Bu alandaki en umut verici araştırma alanlarından biri de enzim sensörleridir. Enzim sensörlerinde transducer olarak kullanılan iletken polimerler ise yukarıda anlatılan özelliklerin sağlanması açısından eşi bulunmaz materyallerdir.



Şekil 5. Sık çalışılan bazı iletken polimerlerin moleküler yapıları

Bu konu ile ilgili yapılan ilk çalışmalardan birinde, işlenmiş polianilin ile modifiye edilmiş, camı karbon ve düzlemsel epoksi grafit elektrotlara dayanan kolinesteraz (asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz) sensörleri geliştirilmiş ve pestisit tayininde kullanılmaya çalışılmıştır. Elektrot yüzeyini polianilinle modifiye etmenin pestisitlere karşı yüksek operasyonel kararlılık ve hassasiyeti sağladığı belirtilmiştir. Elde edilen tespit sınırları (komafos için 0.002 mgL^{-1} , triklorfon için 0.04 mgL^{-1} , aldikarb için 0.03 mgL^{-1} , metiokarb için 0.08 mgL^{-1}), hazırlanan elektrotların sulardaki eşik seviyerdeki kirlenmeleri bile tespit edebilmelerini mümkün kılmaktadır [33].

Somerset ve ark. [34], üzeri öncelikle kendi kendine kurulmuş tek tabaka merkaptobenzotiazol daha sonrada içerisinde asetilkolinesteraz tutuklanmış polianilinle modifiye edilen altın elektrodu organofosfatlı pestisit tayini için geliştirmiş ve değerlendirmişlerdir. Voltametrik sonuçlar, %2 (v/v) 0.05 M fosfat tampon ve 0.1 M KCl (pH 7.2) çözeltisi içeren organik bir çözücü içerisinde, anaerobik şartlar altında Au/MBT/PANI/ACHe/PVAc ince-film biyosensörünün asetiltiyokolin substratı ilavesi ile formal potansiyel değerinin anodik olarak kaydığını göstermiştir. Tespit sınırları ise aseton-salin fosfat tampon çözeltisinde diazinon için 0.147 ppb ve fention için 0.172 ppb, etanol-salin fosfat tampon çözeltisinde ise diazinon için 0.180 ppb ve fention için 194 ppb olarak belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, sebzelerde en sık kullanılan iki pestisit olan metilparatyon ve klorprifos tayini için elektrokimyasal bir biyosensör tanımlanmıştır. Altın üzerine tiyol sonlandırılmış tek iplikli oligonükleotid (ssDNA) ile kaplanmış tek duvarlı karbon nanotüplerin (SWCNT) kendi kendine kurulmuş tek tabakaları (SAMs), asetilkolinesteraz immobilizasyonu için nano boyutta polianilin hazırlamak üzere kullanılmıştır. Bu biyosensör için anahtar basamak, elektrot yüzeyi civarında pH'daki küçük değişikliklere neden olan AChE-asetilkolin enzimatik reaksiyonudur. Pestisitler enzim reaksiyonunun inhibe olması üzerinden tayin edilmektedir. Metilparatyon ve klorprifos tayini için

dinamik aralık 1.0×10^{-11} ve $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ ($0.6 < SD < 3.5$) arasında iyi bir tekrarlanabilirlik ve kararlılık göstermiştir. Hazırlanan biyosensör nehir suyuna metilparatyon ve klorprifos katkı yapılarak, bu pestisitlerin tayinini yapmak üzere kullanılmıştır. Metilparatyon ve klorprifos için $1.0 \times 10^{-12} \text{ M}$ olarak bulunan tespit sınırları Avrupa Çevresel Şubesi ve diğer çevre koruma örgütleri tarafından tavsiye edilen maksimum kirlilik seviyesinin de altındadır [35].

Chauhan ve ark. [36] altın (Au) elektrot üzerine çinkosülfür (ZnS) nanopartikülleri (ZnSNPs) ve poli(indol-5-karboksilik asit)'in elektrokimyasal olarak biriktirilmiş nanokompozitinin üzerine fare beyinden izole edilmiş asetilkolinesteraz immobilize edilerek hazırlanmış organofosforlu bileşiklerin tayini için yüksek hassasiyete sahip amperometrik yeni bir biyosensör dizayn etmişlerdir. Asetilkolin klorür varlığında, ZnSNPs düşük potansiyellerde elektron transfer reaksiyonlarını hızlandırır ve enzimatik olarak oluşan tiyokolinin elektrokimyasal oksidasyonunu katalizler. Böylece tespit hassasiyeti artmaktadır. Optimum koşullar altında (fosfat tamponu, pH 7.5 ve 30°C), asetilkolinesterazın malatyon ve klorprifos ile inhibisyonu bu pestisitlerin, sırasıyla, 0.1-50 nM ve 1.5-40 nM derişim aralıklarında orantılıdır. Geliştirilen biyosensör katkılanmış musluk suyu numunelerinde kabul edilebilir bir doğrulukla (%95-100) malatyon ve klorprifosu tayin edebilmiştir. Enzim elektrodun uzun bir depolama kararlılığı (4°C 'de depolandığında, 2 ay içerisinde başlangıç aktivitesinin %50'si kalır) vardır.

Konu ile ilgili göze çarpan çalışmalardan biri de Ekiz Kanik ve ark. [37] tarafından asetilkolinesteraz ve kolinesterazın iletken polimer poli (SNS-NH₂) filmler üzerine kovalent bağlanma tekniğiyle birlikte immobilize edilerek pestisit tayini için kullanıldıkları çalışmadır. Elektrokimyasal polimerizasyon, üç elektrotlu hücrede dönüşümlü voltametri tekniğiyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen asetilkolin biyosensörünün karakterizasyonu pH, enzim yüklemesi, lineer cevap aralığı ve raf ömrü optimize edilerek yapılmıştır. Lineer aralık 0.12-10 mM arası ve raf ömrü 4 hafta olarak belirlenmiştir. Hassasiyet $2.19 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ 'dir. Dizayn edilen biyosensör katkılanmış musluk suyunda paraokson etil tayini için test edilmiştir. Sonuçlar ticari kantitatif bir yöntem olan HPLC-DAD ile karşılaştırılmıştır. Her iki yöntemle elde edilen sonuçların lineer korelasyonu ($R^2 = 0.998$) olarak elde edilmiştir.

Aynı çalışma grubunun yeni bazı araştırmacılarla yapmış olduğu bir diğer çalışmada organofosforlu pestisitlerin tayini için çok duvarlı karbon nanotüp kullanarak sentezledikleri iletken polimer esaslı yeni bir amperometrik biyosensör geliştirilmiştir [38]. Asetilkolinesteraz, modifiye edilmiş grafit elektroda kovalent bağlanma ile immobilize edilmiştir. Karbonnanotüpler elektrokimyasal uygulama ile fonksiyonelleştirilmiştir. Poli(4-(2,5-di(tiyofen-2-yl)-1H-pirol-1-yl)benzenamin) (poli(SNS-NH₂)) iletken polimeri biyomolekül immobilizasyonu için matris özelliği incelenmek üzere elektropolimerizasyon yoluyla sentezlenmiştir. Seçilen bu yöntem, elektron transfer hızını daha düşük potansiyellerde (+100 mV, Ag referans

elektroduna karşı) arttırmış ve asetiltiyokolinin elektrokimyasal oksidasyonunu çok etkili bir biçimde katalizlemiştir. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM), X-ray fotoelektron spektroskopisi (XPS), temas açısı ölçümleri ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri, yüzey morfolojileri ve elektrokimyasal karakterizasyonlarında meydana gelen değişiklikleri izlemek üzere kullanılmıştır. Önerilen biyosensör hızlı cevap süresi (6s), geniş bir lineer aralık (0.05 mM and 8.00 mM) ve asetiltiyokolin için yüksek hassasiyetle ($24.16 \mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$) beraber düşük tespit sınırı (0.09 mM) vadedmektedir. AChE'in enzimatik aktivitesi üzerine paraokson, paratyon ve klorfenvinfosun etkisi tayin edilmiştir. Biyosensör daha sonra pestisit katkılanmış musluk suyunda pestisit tayini için test edilmiştir. Sonuçların, HPLC/DAD tekniği ile elde edilen sonuçlar ile uyumlu olduğu anlaşılmıştır.

Bir başka çalışmada [39] ise; çekirdek kabuk nanoyapılı, iğne benzeri polianilin ile kaplanmış oyuk karbon kürelerle (HCS@PANI) hazırlanmış kompozitler üzerine asetilkolinesterazın immobilize edilmesi yoluyla yeni bir elektrokimyasal biyosensör dizaynedilmiştir. Hazırlanan biyosensör asetilkolinesterazın

kemisorpsiyon/desorpsiyon prosesinin indikatör olarak kullanılmasını temel alarak malatyonun hızlı tayini için kullanılmıştır. Nanokompozit, yüksek spesifik yüzey alanı ve kimyasal işlevsellik göstermenin yanında güçlü elektrokimyasal aktiviteye de sahiptir. HCS@PANI nanokompoziti üzerine AChE'in adsorbe edildikten sonra AChE/HCS@PANI biyosensörünün asetiltiyokolin klorüre karşı elektrokimyasal katalizi malatyon varlığında inhibe edilmiştir. Malatyon tayini için geliştirilen biyosensör, $1.0 \text{ ngmL}^{-1} - 10 \mu\text{gmL}^{-1}$ malatyon lineer derişim aralığında 0.16 ngmL^{-1} ile düşük tespit sınırı göstermiştir. Bununla birlikte, geliştirilen biyosensörün yüksek seçicilik ve iyi tekrarlanabilirliğe sahip olduğu ve malatyon tayini için kullanılabilir olduğu gösterilmiştir. AChE immobilizasyonu ve asetiltiyokolin katalizi için hassas bir tabaka olan HCS@PANI nanokompoziti kullanılarak önerilen metodun, yüksek hassasiyete sahip pestisit tayinleri konusunda potansiyel olduğu gösterilmiştir.

Asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı pestisit tayini ile ilgili geliştirilen iletken polimer esaslı diğer bazı biyosensör çalışmalarına ait gerekli bazı bilgiler Tablo 1'de özetlenmektedir.

Tablo 1. Pestisit tayini için geliştirilen iletken polimer esaslı AChE inhibisyonuna dayalı biyosensörler

Elektrot Materyali	Analiz Tekniği	Immobilizasyon metodu	Tespit Sınırı	Lineer Aralık	Analit/İnhibitör	İnkübasyon Süresi (dakika)	Kararlılık (gün)	Kaynak
Karbon nanotübe enkapsüle edilmiş polipirol ve polianilin kopolimeri	Amperometrik	Adsorpsiyon	1.0 ng/mL	0.01-0.5µg/mL ve 1-25µg/mL	Malatyon	15	30	[40]
Polipirol	Amperometrik	Çapraz bağlama ve Tutuklama	1.1 ppb (paraokson) 0.12 ppb (karbofuran)	0.1-12.5ppb ve 12.5-150ppb karbofuran 0.025-2 ppb ve 5-60 ppb	Paraokson, Karbofuran	60	120	[41]
Altın-polipirol/camsı karbon elektrot (Au-PPy/GCE)	Dönüşümlü Voltametri	Adsorpsiyon	2 ngmL ⁻¹	0.005-0.12 ve 0.5-4.5 µg/mL	Metil paratyon	12	30	[42]
Camsı karbon/çok duvarlı karbon nanotüp/polianilin (GC/MWCNT/PANI)	Kronoamperometrik	Adsorpsiyon	1.4 µmol/L (karbaril) 0.95 µmol/L (metomil)	karbaril 9.9-49.6 µmol/L metomil 4.9 ve 29.2 µmol/L	Metomil, karbaril	10	60	[43]
Poli(3,4-etilendioksitiyofen) polistirensülfonat (PEDOT:PSS)	Dönüşümlü Voltametri	Fiziksel tutuklama	4.4×10^{-9} M	$3.3 \times 10^{-9} - 7.6 \times 10^{-7}$ M	Klorpirifos-okson	10	10	[44]

SONUÇ

Biyosensörlerin basit kullanım özellikleri, yüksek duyarlılık, kısa analiz süresi, düşük analiz maliyeti ve gerçek zamanlı ölçümlere uygulanma potansiyelleri gibi özellikleri nedeniyle gıda işleme endüstrisinin de içinde bulunduğu birçok alanda geniş uygulama alanları bulunmaktadır. Gıda endüstrisinde gıdalarda bulunabilecek kalıntı pestisit miktarlarının rutin olarak belirlenmesi insan sağlığı açısından son derece önemlidir. Pestisit tayini için kullanılan yöntemlerin bir bölümü zaman alıcı, nitelikli iş gücü gerektiren ve pahalı yöntemlerdir. Pestisit tayininde biyosensörlerin kullanımı önemli bir alternatif olarak görülmektedir. Pestisitlerin fosforlu ve karbamatlı sınıfları, enzimin aktif esterik bölgesine bağlanarak fosforilasyon ve karbomilasyon yoluyla AChE'in katalitik üçlüsündeki ((histidin, serin ve aspartik asit) serin kalıntısını bloke ederek biyokatalitik aktivitesini inhibe etmektedirler. Asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı pestisit biyosensörü geliştirilmesi ile ilgili çalışmalarda enzim immobilizasyonu için

adsorbsiyon, çapraz bağlama ve polimer matriks içerisine tutuklama gibi farklı yöntemler kullanılmıştır. Son yıllarda asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı iletken polimer esaslı pestisit biyosensörü geliştirilmesi ile ilgili çalışmalarda artış dikkati çekmektedir. Bu çalışmalarda asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı biyosensörler kullanılarak farklı pestisitlerin yüksek hassasiyetle tespit edilebildiği ve sonuçların referans metotlarla uyumlu olduğu gösterilmiştir. Yine de yapılan çalışma sayısı yeterli olarak görülmemektedir. İletken polimerlerin, bunların türevlerinin, kopolimerlerinin ve kompozitlerinin asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı biyosensörlerde transducer olarak kullanımları yaygınlaştırılmalıdır. Konu ile ilgili olarak yapılacak yeni çalışmalarla hızlı, kullanım kolaylığı olan, ekonomik, kararlı ve düşük tayin sınırlarına sahip ideal pestisit biyosensörlerinin geliştirilmesi gelecek vadedmesi açısından önemli görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Chapalamadugu, S., Chaudhry, G.R., 1992. Microbiological and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates. *Critical Reviews in Biotechnology* 12: 357–389.
- [2] Dikshith, T.S.S., 1991. Pesticides. In: Dikshith, T.S.S. (Ed.), *Toxicology of Pesticides in Animals*, CRC Press, Boston, pp. 1–39.
- [3] Pundir, C.K., Chauhan, N., 2012. Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review. *Analytical Chemistry* 429: 19-31.
- [4] Singh, D.K., Agarwal, R.A., 1983. Inhibition kinetics of certain organophosphorus and carbamate pesticides on acetylcholinesterase from the snail *Lymnaea acuminata*. *Toxicology Letters* 19: 313–319.
- [5] Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., LaMantia, A.-S., McNamara, J.O., Williams, S.M., 2001. *Neuroscience*. The 2nd Edition. Sinauer Associates, Sunderland (MA), USA.
- [6] Taylor, P., Camp, S., Radić, Z., 2009. *Encyclopedia of Neuroscience* (Squire, L.R., Editor-in-Chief). Academic Press, Elsevier Inc., pp. 5–7.
- [7] Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., White, L.E., 2008. *Neuroscience*. The 4th Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- [8] Krasinski, A., Radic, Z., Manetsch, R., Raushel, J., Taylor, P., Sharpless, K.B., Kolb, H.C., 2005. In situ selection of lead compounds by click chemistry: target-guided optimization of acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of American Chemical Society* 127: 6686–6692.
- [9] Manetsch, R., Krasinski, A., Radic, Z., Raushel, J., Taylor, P., Sharpless, K.B., Kolb, H.C., 2004. In situ click chemistry: enzyme inhibitors made to their own specifications. *Journal of American Chemical Society* 126: 12809–12818.
- [10] Woster, P.M., 2001. *Pharmaceutical Biochemistry*, HarperCollins, New York, USA.
- [11] Lin, G., Lee, Y.R., Liu, Y.C., Wu, Y.G., 2005. Ortho effect for inhibition mechanisms of butyrylcholinesterase by o-substitute phenyl L-butyl carbamates and comparison with acetylcholinesterase, cholesterol esterase, and phenol. *Chemical Research in Toxicology* 18: 1124–1131.
- [12] Schulze, H., Muench, S.B., Villatte, F., Schmid, R.D., Bachmann, T.T., 2005. Insecticide detection through protein engineering of *Nippostrongylus brasiliensis* acetylcholinesterase B. *Analytical Chemistry* 77: 5823–5830.
- [13] Andreescu, S., Avramescu, A., Bala, C., Magearu, V., Marty, J.-L., 2002. Detection of organophosphorus insecticides with immobilized acetylcholinesterase: comparative study between two enzyme sensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 374: 39–45.
- [14] Montesinos, T. Pérez-Munguia, S. Valdez, F. Marty, J.L., 2001. Disposable cholinesterase biosensor for the detection of pesticides in water miscible–organic solvents. *Analytica Chimica Acta* 431: 231–237.
- [15] Pogacnik, L., Franko, M., 2003. Detection of organophosphate and carbamate pesticides in vegetable samples by a photothermal biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 18: 1–9.
- [16] Prodromidis, M.I. Karayannis, M.I., 2002. Enzyme based amperometric biosensors for food analysis. *Electroanalysis* 14: 241–261.
- [17] Turner, A.P.F., Karube, I., Wilson, G.S., 1987. *Biosensors: Fundamentals and Applications*. Oxford University Press, Oxford, p. 770.
- [18] Clark, L.C.Jr., 1956. Monitor and control of blood tissue O₂ tensions. *Transactions American Society for Artificial Internal Organs* 2: 41–48.
- [19] Updike, S.J., Hicks, J.P., 1967. The enzyme electrode. *Nature* 214: 986–988.
- [20] Clark, L.C., Jr., Lyons, C., 1962. Electrode system for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences* 102: 29–45.
- [21] Guilbault, G.G., Kramer, D.N., Cannon, P.L.Jr., 1962. Electrochemical determination of organophosphorous compounds. *Analytical Chemistry* 34(11): 1437-1439.
- [22] Kitz, R., Wilson, I.B., 1962. Esters of methanesulfonic acid as irreversible inhibitors of acetylcholinesterase. *Journal of Biological Chemistry* 237: 3245–3249.
- [23] Segel, I.H., 1976. How to solve mathematical problems in general biochemistry? In *Biochemical Calculation*. 2nd Edition. Wiley, New York, pp. 208–223.
- [24] Amine, A., Arduini, F., Moscone, D., Paleschi, G., 2016. Recent advances in biosensors based on enzyme inhibition. *Biosensors and Bioelectronics* 76: 180-194.
- [25] Diaz, A.F., Kanazawa, K.K., Gardini, G.P., 1979. Electrochemical polymerization of pyrrole. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* 635-636.
- [26] Saraswathi, R., Gerard, M., Malhotra, B.D., 1999. Characteristics of aqueous polycarbazole batteries. *Journal of Applied Polymer Science* 74: 145-150.
- [27] Kawai, T., Kuwabara, T., Wang, S., Yoshino, K., 1990. Secondary battery characteristics of poly(3-alkylthiophene). *Japanese Journal of Applied Physics* 29: 602-605.
- [28] Weetall, H.H., Druzshko, A.B., de Lera, A., Alvarez, R., Robertson, B., 2000. Measurement of proton release and uptake by analogs of bacteriorhodopsin. *Bioelectrochemistry* 51: 27-23.
- [29] Letheby, H., 1862. On the production of a blue substance by the electrolysis of sulphate of aniline. *J. Chem. Soc.* 15: 161-163.
- [30] Natta, G., Mazzanti, G., Corradini P., 1958. *Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti Lincei* 25(8): 3.
- [31] Shirakawa, H., Louis, E.J., MacDiarmid, A.G., Chiang, C.K., Heeger, A.J., 1977. Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)_x. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* 578-580.

- [32] Heinze J., 1991. Electrochemistry of conducting polymers. *Synthetic Metals* 41-43: 2805-2823.
- [33] Ivanov, A.N., Lukachova, L.V., Evtugyn, G.A., Karyakina, E.E., Kiseleva, S.G., Budnikov, H.C., Orlov, A.V., Karpacheva, G.P., Karyakin, A.A., 2002. Polyaniline-modified cholinesterase sensor for pesticide determination. *Bioelectrochemistry* 55: 75–77.
- [34] Somerset, V.S., Klink, M.J., Baker, P.G.L., Iwuoha, E.I., 2007. Acetylcholinesterase-polyaniline biosensor investigation of organophosphate pesticides in selected organic solvents. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 42: 297–304.
- [35] Viswanathan, S., Radecka, H., Radecki, J., 2009. Electrochemical biosensor for pesticides based on acetylcholinesterase immobilized on polyaniline deposited on vertically assembled carbon nanotubes wrapped with ssDNA. *Biosensors and Bioelectronics* 24: 2772–2777.
- [36] Chauhan, N., Narang, J., Pundir, C.S., 2011. Immobilization of rat brain acetylcholinesterase on ZnS and poly(indole-5-carboxylic acid) modified Au electrode for detection of organophosphorus insecticides. *Biosensors and Bioelectronics* 29: 82–88.
- [37] Ekiz Kanik, F., Kolb, M., Timur, S., Bahadir, M., Toppare, L., 2013. An amperometric acetylcholine biosensor based on a conducting polymer. *International Journal of Biological Macromolecules* 59: 111–118.
- [38] Kesik, M., Ekiz Kanik, F., Turan, J., Kolb, M., Timur, S., Bahadir, M., Toppare, L., 2014. An acetylcholinesterase biosensor based on a conducting polymer using multiwalled carbon nanotubes for amperometric detection of organophosphorous pesticides. *Sensors and Actuators B* 205: 39–49.
- [39] He, L., Cui, B., Liu, J., Song, Y., Wang, M., Peng, D., Zhang, Z., 2017. Novel electrochemical biosensor based on core-shell nanostructured composite of hollow carbon spheres and polyaniline for sensitively detecting malathion. *Sensors and Actuators B: Chemical* <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.11.161>.
- [40] Du, D., Ye, X., Cai, J., Liu, J., Zhang, A., 2010. Acetylcholinesterase biosensor design based on carbon nanotube-encapsulated polypyrrole and polyaniline copolymer for amperometric detection of organophosphates. *Biosensors and Bioelectronics* 25: 2503–2508.
- [41] Dutta, R.R., Puzari, P., 2014. Amperometric biosensing of organophosphate and organocarbamate pesticides utilizing polypyrrole entrapped acetylcholinesterase electrode. *Biosensors and Bioelectronics* 52: 166–172.
- [42] Gong, J., Wang, L., Zhang, L., 2009. Electrochemical biosensing of methyl parathion pesticide based on acetylcholinesterase immobilized onto Au-polypyrrole interlaced network-like nanocomposite. *Biosensors and Bioelectronics* 24: 2285–2288.
- [43] Cesarino, I., Moraes, F.C., Lanza, M.R.V., Machado, S.A.S., 2012. Electrochemical detection of carbamate pesticides in fruit and vegetables with a biosensor based on acetylcholinesterase immobilised on a composite of polyaniline-carbon nanotubes. *Food Chemistry* 135: 873–879.
- [44] Istamboulie, G., Sikora, T., Jubete, E., Ochoteco, E., Marty, J.-L., Noguero, T., 2010. Screen-printed poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT): A new electrochemical mediator for acetylcholinesterase-based biosensors. *Talanta* 82: 957–961.

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Abdullah Çağlar , Oktay Tomar , Hülya Vatansever , Elif Ekmekçi 

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar

Geliş Tarihi (Received): 21.03.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 06.10.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): oktomar@aku.edu.tr (O. Tomar)

☎ 0 272 228 12 64 📠 0 272 228 14 22

ÖZ

Ülkemiz özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi antepfıstığı üretimi bakımından ekonomik bir değer oluşturmasının yanı sıra dünya sıralamasında önemli bir yere sahiptir. Sert kabuklu yemişlerden olan antepfıstığının sağlık üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Protein, yağ ve yağ asitleri, lif, vitamin ve mineral bakımından zengin besinsel içeriğe sahiptir. Fenolik bileşikler bakımından zengin bir kaynak olan antepfıstığı, yüksek antioksidan aktivitesiyle dikkat çekmektedir. Antepfıstığı tüketiminin hipertansiyon, kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar üzerinde yararlı etkilerinin bulunduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Bu derlemede antepfıstığının beslenme ve sağlık açısından yeri ve önemi üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antepfıstığı, Sağlık, Fenolik bileşikler, Antioksidan aktivite, Beslenme

Pistachio (*Pistacia vera* L.) and Its Effects on Human Health

ABSTRACT

Turkey, especially Southeastern Anatolian Region, has an important place in the world ranking as well as an economic value in terms of pistachio production. Pistachios, which are from nuts with hard shells, have positive effects on health. Pistachios have rich nutritional content in terms of protein, fat and fatty acids, fiber, vitamins and minerals. As a rich source of phenolic compounds, pistachios take attention with a high antioxidant activity. Various researchers have reported that pistachio consumption may have beneficial effects on hypertension, cancer, diabetes and cardiovascular diseases. In this present study, the place and the importance of pistachios in human nutrition and health are reviewed.

Keywords: Pistachio, Health, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Nutrition

GİRİŞ

“Yeşil altın”, “Meyvelerin kralı”, “Altın ağaç” ve “Kral meyvesi” olarak adlandırılan sert kabuklu bir meyve olan antepfıstığının (*Pistacia vera* L.) ilk olarak Etiler tarafından Güney Anadolu’da kültüre alındığı bilinmektedir [1-3]. Anadolu, Kuzey Suriye ve İran’da çok eski zamanlardan beri yetiştiriciliği yapılan antepfıstığını I. yüzyılda Suriye’den İtalya’ya Roma Kralı Vitallis’un getirdiği tahmin edilmektedir [4-6]. Oradan da İspanya, Akdeniz adaları, Güney Fransa ve Kuzey Afrika’ya götürüldüğü bildirilmektedir [4]. Antepfıstığının

(*Pistacia vera* L.) sistematikteki yerine bakıldığında; Alem: Plantae (Bitkiler Alemi), Bölüm: Phanerogamae (Tohumlu Bitkiler), Sınıf: Magnoliopsida (Manolyagiller), Takım: Sapindales, Familya: Anacardiaceae (Sakızağacgiller), Cins: *Pistacia*, Tür: *Pistacia vera* L. şeklinde sınıflandırılmaktadır [7]. *Pistacia* cinsine ait çok fazla tür tespit edilmekte ve hemen hemen tüm türlerine sert kabuklu fıstık denilse de tüketiciler tarafından yenilebilen tek tür *Pistacia vera* L.’dir [8, 9]. Dünyada Kuzey ve Güney yarım kürelerin 35-40° paralelinin uygun iklim alanlarında antepfıstığı yetişmektedir [10]. Antepfıstığının Yakın Doğu Gen Merkezi (Anadolu,

İran, Kafkasya ve Türkmenistan) ve Orta Asya Gen Merkezi (Hindistan'ın kuzeyi, Tacikistan, Pakistan ve Afganistan) olmak üzere iki gen merkezi vardır [11]. Türkiye, Yakın Doğu Gen Merkezi içerisinde ve Kuzey yarım kürede yer almaktadır [12]. Antepfıstığı diğer meyve türlerinin zor yetiştiği besin elementlerince fakir topraklarda ve sulama yapılmayan, kireçli, kayalık, taşlık arazilerde bile yetiştirilebilmesine rağmen kış ayları nispeten soğuk; yaz ayları ise sıcak, kurak ve uzun olan özel iklim koşulları istemektedir [4, 13-15]. Türkiye, antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) yetiştiriciliğinde uygun ekolojik şartlardan dolayı, verimli bir şekilde ürün alınabilen ülkeler arasındadır [16]. Antepfıstığı ülkemizin 56 ilinde yetiştirilebilmesinin yanı sıra özellikle Şanlıurfa,

Adıyaman, Gaziantep, Siirt ve Kahramanmaraş illerinde ekonomik olarak antepfıstığının yetiştiriciliği yapılmaktadır [17]. Türkiye'de antepfıstığı yetiştiriciliğinin %90'nının yapıldığı Güneydoğu Anadolu Bölgesi, antepfıstığının anacı olarak kullanılan buttum (*Pistacia khinjuk Stocks.*) ve melengiç (*Pistacia terebinthus* L.) ağaçlarının doğal olarak yetişmesi bakımından büyük önem arz etmektedir [18, 14]. 2015 yılına ait TÜİK verilerine göre 5 ülke dünya antepfıstığı üretiminin %97.85'ini gerçekleştirmektedir. Bu ülkeler arasında 480 bin ton antepfıstığı üretimi ile İran ilk sırada yer almaktadır. Ülkemiz ise, 144 bin ton üretim ile dünya üretiminin %14.08'ini gerçekleştirerek 3. sırada bulunmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Dünyada Antepfıstığı Üretimi ve Payı [17]

Ülkeler	Üretim Miktarı (Ton)	Payı (%)
İran	480.000	46.92
ABD	240.000	23.46
Türkiye	144.000	14.08
Çin	80.000	7.82
Suriye	57.000	5.57
Diğer Ülkeler	22.000	2.15
Genel Toplam	1.023.000	100

Türkiye'de üretim bölgelerine bağlı olarak, birçok antepfıstığı türü bulunmakta olup başlıca türleri; Uzun, Ohadi, Siirt, Halebi ve Kırmızı'dır. Bu türlerin dışında; Ketan Gömleği, Vahidi, Değirmi, Çakmak, Hacı Şerifi, Sultani, Beyaz Ben, Mümtaz, Sefidi de ülkemizde yetiştirilen antepfıstığı çeşitleri arasında bulunmaktadır [19].

ANTEPFISTIĞI

Antepfıstığı yenilebilir tohumlarından dolayı büyük bir ticari önem arz etmektedir. Çerez olarak tüketiminin yanında; pasta, çikolata, baklava, dondurma ve salam, sucuk, sosis gibi et ürünlerinin yapımında besin, renk ve lezzeti artırmak amacıyla kullanılan en çok tercih edilen ürünlerin başında gelmektedir [20, 21]. Siirt ve Ohadi çeşitleri şeklinin yuvarlak olması ve çıtlama oranının yüksek olması sebebiyle çerezlik olarak tüketilirken Kırmızı, Halebi ve Uzun çeşitleri ise yüksek aroma, tat ve koyu yeşil renge sahip olmasından dolayı şekerleme ve tatlı sanayinde hammadde olarak kullanılmaktadır [22].

Sert kabuklu meyvelerin sağlık açısından olumsuz etkilere neden olmaması için saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Bu nedenle sert kabuklu yemişlerin muhafaza edildiği yerin bağıl nemi %60'dan fazla olmamalı, tohumun nem oranı %5'i geçmemeli ve serin yerde saklanmalıdır. Sıcak ve nemli koşullarda saklandıklarında bazı küflerin oluşturdukları aflatoksinler başta karaciğer olmak üzere dokularda tümör veya hasarlara sebep olabilir [23]. Antepfıstığı, yer fıstığı, çam fıstığı, çeşitli cevizler, badem ve ürünleri en fazla aflatoksin görülen riskli gıdalar arasında yer almaktadır [24].

Antepfıstığı kabuklu olarak %65-70 bağıl nemde, 0-7.2°C sıcaklıklarda ve %4-6 nem içeriğinde 1 yıl; 0°C'de kabuksuz olarak ise en fazla 1 yıl kalitesini muhafaza

etmektedir. Kabuksuz ve kabuklu olarak %65-70 nisbi nemde -18°C'de 3 yıl muhafaza edilebilmektedir [25, 26].

ANTEPFISTIĞININ BESLENME AÇISINDAN ÖNEMİ

Sert kabuklu yemişler mineral ve vitaminler bakımından zengin, aynı zamanda enerji içeriği yüksek olması sebebiyle işçiler, zayıf bireyler ve sporcular için önerilen besinler arasındadır. Yenilebilen 100 g sert kabuklu yemişlerin sağladığı enerji değeri aynı miktarda tüketilen taze ve kurutulmuş meyvelerin enerjisinden daha yüksektir [23]. Zengin protein, yağ ve yağ asitleri, vitamin, mineral ve antioksidan içeriğinden dolayı yüksek besleyici değere sahip ve lezzetli sert kabuklu meyvelerden biri olan antepfıstığı fonksiyonel gıdalar arasında yer almaktadır [27, 28]. Zengin içeriğinden dolayı antepfıstığı yoğunlaştırılmış enerji hâpli olarak da isimlendirilmektedir [2].

Antepfıstığı; ceviz, fındık, badem ve çam fıstığı gibi sert kabuklu meyvelerle karşılaştırıldığında daha düşük bir yağ ve enerji içeriğine sahip olup daha yüksek lif (hem çözünür hem de çözünmez) içeriğine, K vitaminine, fitosterollere, gama-tokoferole ve ksantofil karotenoidlerine sahiptir [29,30]. Antepfıstığı; badem, ceviz, fındık gibi yağlı tohumlarla karşılaştırıldığında ise karbonhidrat, protein, B₁, B₆, E ve A vitaminleri, demir, potasyum, beta-karoten, toplam fitosterol ve lutein değerleri açısından birinci sırada yer almaktadır [31]. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'ndan (USDA) elde edilen verilere göre tuzlu, kavrulmuş 100 g antepfıstığındaki besin içeriği Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Tuzlu, Kavrulmuş Antepfıstığının Besin İçeriği [32]

Besin Öğeleri	Birim	100 g'daki değer
Su	g	1.79
Enerji	kcal	569
Protein	g	21.05
Toplam yağ	g	45.82
Karbonhidrat	g	27.55
Kül	g	3.79

Antepfıstığının Karbonhidrat İçeriği

Antepfıstığındaki karbonhidrat miktarı ağırlıkça yaklaşık %27.5 olup, diğer sert kabuklu yemişlerdeki gibidir [33]. Pala ve ark.'ın [34], inceledikleri antepfıstığı örneklerinde toplam karbonhidrat içeriği ortalama %15.72 olup %14.35-19.96 arasında değişmektedir. Bebis [35]'e göre, antepfıstığındaki toplam posa içeriği 10.6 g/100 g ve toplam posanın 4.2 g/100 g'ı suda çözünür formda, 6.4 g/100 g'ı ise suda çözünmez formdadır. Antepfıstığında zengin olan lif çözünmez formların ağırlıkça %10'unu ve çözünür formların %0.3'ünü oluşturmaktadır [30]. USDA'dan elde edilen verilere göre tuzlu, kavrulmuş 100 g antepfıstığındaki karbonhidrat içeriği Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Tuzlu, kavrulmuş 100 g antepfıstığındaki karbonhidrat içeriği [32]

Karbonhidratlar	g/100 g
Toplam karbonhidrat	27.55
Toplam diyet lif	10.3
Toplam şeker	7.74
Sükroz	7.09
Glikoz (Dekstroz)	0.25
Fruktoz	0.22
Laktoz	0.00
Maltoz	0.13
Nişasta	1.38

Antepfıstığının Mineral İçeriği

Antepfıstığı çocukların mineral ihtiyacını karşılaması bakımından bir ara öğün gıdası olarak kabul edilmektedir. Çocukların günde 15 g antepfıstığı tüketimiyle günlük potasyum gereksinimlerinin %9'unu, fosfor gereksinimlerinin %15'ini ve kalsiyum gereksinimlerinin %3'ünü karşılayabildikleri belirtilmiştir [28]. Antepfıstığı vücut için önemli rol oynayan K, Mg, Ca, Cu, Mn gibi mineraller açısından oldukça zengindir [36,37] (Tablo 4). Minerallerden magnezyum, kalsiyum, potasyum içeriği yüksek ve sodyum minerali az olan antepfıstığı eser miktarda selenyum ve folat içermektedir [38,28]. Antepfıstığının potasyum içeriği (1025 mg/100 g) fındık, ceviz ve bademden daha yüksek, çinko içeriği (2.2 mg/100 g) ise daha düşük bulunmuştur [39]. Demir (7.3 mg/100 g), fosfor (500 mg/100 g) ve potasyum (972 mg/100 g) bakımından antepfıstığının badem, fındık, pıkan ve cevizden; kalsiyum (131 mg/100 g) bakımından ise ceviz ve pıkanadan daha yüksek olduğu belirtilmiştir [28].

Pala ve ark. [34], yaptıkları çalışmalar sonucunda antepfıstığının mineral bakımından zengin bir besin

içeriğine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. İncelenen antepfıstıklarında ortalama Ca 122.2 mg/100 g, Zn 2.49 mg/100 g, Na 0.38 mg/100 g, Fe 4.02 mg/100 g, K 683.92 mg/100 g, Mn 1.28 mg/100 g, Cu 1.09 mg/100 g, Mg 113.8 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Antepfıstığı günlük kalsiyum ihtiyacının önemli bir miktarını karşılamaktadır. Ayrıca demirin en iyi bitkisel kaynakları arasında yer almaktadır [34]. Günde 15 g tüketilen antepfıstığının günlük demir gereksiniminin yaklaşık %14'ünü karşıladığı bildirilmiştir [28].

Yaklaşık 28 g tüketilen antepfıstığı günlük önerilen bakırın %42'sini, manganın %20'sini, molibdenin %19'unu, magnezyumun %11'ini, çinkonun %8'ini, selenyumun %4'ünü, kalsiyumun ise %3'ünü karşılamaktadır. Ayrıca antepfıstığı tüm sert kabuklu yemişler arasında en zengin potasyum kaynağı olup, yaklaşık 28 g antepfıstığı bir portakal kadar potasyum sağlamak ve yaklaşık 56 g antepfıstığı ise orta boy bir muzdan daha fazla potasyum içermektedir [40]. USDA'dan elde edilen verilere göre tuzlu, kavrulmuş 100 g antepfıstığındaki mineral içeriği Tablo 4' de verilmiştir.

Tablo 4. Tuzlu, kavrulmuş 100 g antepfıstığındaki mineral içeriği [32]

Mineraller	100 g'daki değer
Ca	107 mg
Fe	4.03 mg
Mg	109 mg
P	469 mg
K	1007 mg
Na	428 mg
Zn	2.34 mg
Cu	1.293 mg
Mn	1.243 mg
Se	10.0 µg

Antepfıstığının Vitamin İçeriği

Antepfıstığı çok zengin vitamin içeriğine sahiptir. Ancak antepfıstığında D vitamini belirlenmemiştir (Tablo 5). Antepfıstığı bağışıklık sistemini güçlendiren ve yorgunluğu hafifleten E vitamini bakımından iyi bir kaynaktır [21]. Koch [41], yaptığı çalışmada antepfıstığının E vitamini içeriğini 2 mg/100 g bulmuştur. Kornsteiner ve ark. [42]'nin sert kabuklu yemişlerin yağ ekstraktlarındaki tokoferol içeriğini inceledikleri çalışmada; en yüksek E vitamini içeriğini fındık yağında (33.1 mg/100 g) bulmuşlar ve bunu sırasıyla badem, yer fıstığı, antepfıstığı, çam fıstığı, ceviz, Brezilya cevizi, pıkan, kaju ve Avustralya fındığının takip ettiğini belirlemişlerdir. Antepfıstığının E vitamini içeriği, pıkan ve cevizden daha fazladır [28]. Tüketilen yaklaşık 28 g antepfıstığı, günlük E vitamini gereksiniminin %8'ini ve folik asidin %4'ünü karşılamaktadır [40]. Ballistreri ve ark. [43], E vitamini bakımından antepfıstığında en fazla γ-tokoferol tespit etmişlerdir. Ayrıca olgunluk ve kurutma aşaması sırasında toplam γ ile α tokoferollerin azaldığını ve γ-tokoferolün antioksidan aktivitesinin α-tokoferole göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çoğu sert kabuklu yemişte çok az miktarda bulunan ya da hiç bulunmayan askorbik asit (C vitamini) antepfıstığında ise yüksek oranda bulunmaktadır [39]. Ayrıca

antepfıstığının A vitamini içeriği bakımından iyi bir kaynak teşkil ettiği ve sığır etiyle kıyaslandığında 3 kat daha zengin olduğu belirtilmiştir [28, 41]. Dismore ve ark. [44], yaptıkları çalışmada antepfıstığında K vitaminini 13.2 µg/100 g olarak tespit etmişlerdir.

Pala ve ark. [34] yaptıkları çalışmada çeşitli türlerdeki antepfıstıklarında niasini ortalama olarak 1.50 mg/100 g, B₂ vitaminini 0.16 mg/100 g, B₁ vitaminini ise 1.28 mg/100 g tespit ederek antepfıstığının B grubu vitaminler açısından zengin olduğunu belirtmişlerdir. B₁ vitamini açısından sığır etiyle karşılaştırıldığında yaklaşık 11 kat daha zengin olan antepfıstığı 0.67-0.80 mg/100 g B₁ vitamini içermektedir [28]. Ülkemizdeki farklı fındık çeşitleri ile antepfıstığı B vitaminleri

açısından karşılaştırıldığında, antepfıstığının B₁ ve B₂ vitamin içeriği bakımından daha yüksek olduğu belirlenmiştir [34]. Sert kabuklu yemişler arasında en yüksek folat içeriği fındıkta 113 µg/100 g olarak bulunmuş ve antepfıstığında ise 51 µg/100 g folat olduğu tespit edilmiştir [39]. Tüketilen yaklaşık 28 g antepfıstığı günlük tavsiye edilen B₁ vitamininin %22'sini, B₂ vitamininin %4'ünü, B₃ vitamininin %12'sini, B₅ vitamininin %3'ünü ve B₆ vitamininin %37'sini karşılamaktadır [40]. Heber ve Bowerman [45], yaptıkları çalışmaya göre antepfıstığının 100 g tüketilmesi ile günlük B₆ vitamin ihtiyacının %85'inin karşılandığını belirtmişlerdir. Ayrıca antepfıstığı önemli miktarda lutein ve zeaksantin içeren tek sert kabuklu meyvedir [30].

Tablo 5. Tuzlu, Kavrulmuş Antepfıstığının Vitamin İçeriği [32]

Vitaminler	100 g'daki değer	Vitaminler	100 g'daki değer
C vitamini	3 mg	Retinol	0.00 µg
Tiamin (B ₁)	0.695 mg	A vitamini	266 IU
Riboflamin (B ₂)	0.234 mg	Beta karoten	159 µg
Niasin (B ₃)	1.373 mg	Lutein+Zeaksantin	1160 µg
Pantotenik asit (B ₅)	0.513 mg	Alfa tokoferol	2.17 mg
Pridoksin (B ₆)	1.122 mg	Beta tokoferol	0.13 mg
Toplam folat	51 µg	Gama tokoferol	23.42 mg
Toplam kolin	71.4 mg	Delta tokoferol	0.55 mg
Betain	0.8 mg	D vitamini	0.00 IU
B ₁₂ vitamini	0.00 µg	K vitamini (Filokinon)	13.2 µg

Antepfıstığının Lipit İçeriği

Yüksek oranda yağ içeren badem, yer fıstığı, antepfıstığı, pekan, ceviz, Brezilya fıstığı gibi sert kabuklu meyvelerin tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerine sahip olmaları sebebiyle faydalı etkileri bulunmaktadır [46]. Antepfıstığı da yüksek yağ içeriğine sahip olup doymamış yağ asitleri bakımından oldukça zengindir. Toplam doymamış yağ asitleri oranı ise %87, doymuş yağ asitleri oranı ise %13'tür (Tablo 6) [47]. Tekli doymamış yağ asitlerinin günlük kalorisinin yaklaşık %20'sini karşılayabileceği belirtilmektedir [28]. Oleik asit antepfıstığındaki en önemli doymamış yağ asitlerinden biridir. Antepfıstığındaki yağ asitlerinin %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır [31, 47-52]. Çoklu doymamış yağ asitlerinin günlük kalorisinin yaklaşık %10'unu sağlayabileceği bildirilmektedir [28]. İnsan sağlığı için önemli olan, vitamin F olarak adlandırılan ve esansiyel çoklu doymamış yağ asidi (omega-6) olan linoleik asit antepfıstığında önemli miktarda bulunmaktadır [28]. Sert kabuklu meyveler arasında stigmasterol, kampesterol ve beta-sitosterol içeren antepfıstığı en yüksek fitosterol içeriğine sahiptir [53]. Çam fıstığı, antepfıstığı, yer fıstığı, badem, ceviz, pıkan gibi sert kabuklu yemişlerde bulunan skualen antepfıstığında ortalama 91.4 mg/g olarak belirlenmiştir [54,55]. Ak ve Ünsal [56], antepfıstığındaki yağ oranının %53.8-56.4 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Pala ve ark. [34]'nin yaptıkları çalışmaya göre incelenen antepfıstığı türlerinin ortalama yağ içeriğini %58.94 bulmuşlar, ortalama oleik asit %67.30, linoleik asit %17.83, palmitik asit %9.65, stearik asit %2.94, palmitoleik asit %2.04 ve linolenik asit %0.26 olarak saptamışlardır.

Antepfıstığının Protein ve Aminoasit İçeriği

Potansiyel bir protein kaynağı olan antepfıstığının protein içeriği %19-23.5 arasında olup fındık, ceviz ve pıkana göre daha yüksek, kurubaklagillerin protein miktarına ise oldukça yakındır [38]. Antepfıstığı, badem, ceviz, kabak çekirdeği ve yer fıstığı gibi yağlı tohumların 100 g'ındaki protein içeriği kurubaklagil ve etin protein içeriğine yakın; tahıllardan ise yüksektir. Fakat protein kalitesi ise et ve yumurtadan düşüktür [29]. Protein açısından zengin olan sığır eti ile antepfıstığı karşılaştırıldığında, protein kalitesi bakımından insan vücudunda sığır etinin sindirilebilirliğinin %91-100 arasında olduğu antepfıstığının ise %69-90 arasında sindirilebilirliğe sahip olduğu belirtilmiştir [57]. Ortalama 28 g kavrulmuş antepfıstığı tüketimi ile günlük önerilen protein miktarının %13'ü karşılanmaktadır. Yüksek kaliteli bitkisel protein kaynağı olan antepfıstığı vejeteryan diyeti bakımından önemli nutrasötik bir gıdadır [28]. Antepfıstığındaki globulin fraksiyonu, toplam proteinin yaklaşık üçte ikisini (%66) oluşturan temel proteindir. Toplam proteinin yaklaşık %25'ini albuminler, %7.3'ünü glutelinler ve %2'sini prolaminler oluşturur [8]. Antepfıstığı yaygın olarak tüketilen badem, ceviz, pekan ve fındık gibi sert kabuklu meyvelerin çoğundan daha yüksek esansiyel aminoasit oranına sahiptir [33]. Antepfıstığında tüm esansiyel aminoasitler dengeli ve yeterli miktarlarda bulunmaktadır [21,28]. Ak ve Ünsal [56], antepfıstığında protein oranını %20-23.5 arasında tespit etmişlerdir. Pala ve ark.'nın [34] yaptıkları çalışmada, antepfıstığı türlerinin ortalama protein içeriğini %19.54 olarak tespit etmişlerdir. Buna ek olarak incelenen antepfıstığı türlerinin aminoasit bileşenleri içerisinde ortalama olarak sırasıyla en yüksek 5270 mg/100 g glutamik asit, 1677 mg/100 g arjinin,

1522 mg/100 g aspartik asit, 1288 mg/100 g lösin, 1051 mg/100 g fenilalanin, 1020 mg/100 g serin, 1011 mg/100 g valin saptanmıştır. Ayrıca lisin, histidin, treonin, prolin, glisin, alanin, sistin, metionin, izolösin, tirozin

aminoasitleri de belirlenmiştir. USDA'dan elde edilen verilere göre tuzlu, kavrulmuş 100 g antepfıstığındaki aminoasit içeriği Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 6. Tuzlu, Kavrulmuş Antepfıstığının Lipit İçeriği [32]

Lipitler	100 g'daki değer
Toplam Doymuş Yağ Asitleri	5.645 g
Miristik asit	0.012 g
Palmitik asit	4.994 g
Stearik asit	0.558 g
Araşhidik asit	0.033 g
Behenik asit	0.026 g
Lignoserik asit	0.011 g
Toplam Tekli Doymamış Yağ Asitleri	24.534 g
Miristoleik asit	0.005 g
Palmitoleik asit	0.464 g
Oleik asit	23.926 g
Gadoleik asit	0.106 g
Erusik asit	0.005 g
Toplam Çoklu Doymamış Yağ Asitleri	13.346 g
Linoleik asit	13.125 g
Linolenik asit	0.212 g
Toplam Trans-monoenoik Yağ Asitleri	0.000 g
Kolesterol	0 mg
Stigmasterol	2 mg
Kampesterol	10 mg
Beta-sitosterol	210 mg

Tablo 7. Tuzlu, Kavrulmuş Antepfıstığının Aminoasit İçeriği [32]

Aminoasitler	g/100 g	Aminoasitler	g/100 g
Triptofan	0.262	Valin	1.305
Treonin	0.714	Arginin	2.228
İzolösin	0.957	Histidin	0.535
Lösin	1.675	Alanin	1.016
Lisin	1.189	Aspartik asit	1.968
Metionin	0.375	Glutamik asit	4.490
Sistein	0.305	Glisin	1.054
Fenilalanin	1.140	Prolin	0.980
Tirozin	0.531	Serin	1.340
Hidroksiprolin	0.096		

Antepfıstığının Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Özelliği

Antepfıstığı, pekan ve ceviz; antioksidan olarak önemli olan antosiyaninler, flavonoidler, proantosiyandinler, flavonoller, izoflavonlar, flavanonlar, stilbenler, fenolik asitler ve hidrolize edilebilir tanenleri içeren fenolik bileşiklerin zengin kaynağıdır. Bu fenolik bileşikler kimyasalların zararlı etkilerini önleyici, kalbi koruyan ve damar koruyucu özelliklere sahiptir [58,59]. Antepfıstığı zengin fenolik bileşenlerin kaynağı olmasından dolayı eşsiz bir fonksiyonel gıda olarak düşünülebilir. Buna ilaveten yüksek antioksidan potansiyele sahip olan en iyi 50 gıda arasında yer almaktadır [60]. Gentile ve ark. [61], antepfıstığı ekstraktlarından polifenolik bileşikler olan trans-resveratrol, proantosiyandinler ve daidzein ile genistein gibi önemli miktarda izoflavonlar izole etmişlerdir. Ayrıca antepfıstıkları kavrulduktan sonra izoflavonlar hariç diğer biyoaktif moleküllerin miktarında belirgin bir şekilde azalma görülmüş ve toplam antioksidan aktivitenin yaklaşık %60 oranında azaldığını

tespit etmişlerdir. Seeram ve ark. [62], antepfıstığı tohum kabuğunda kuersetin, luteolin, eriodictyol, rutin, naringenin, apigenin, antosiyaninler, siyadin-3-galaktozid, siyanidin-3-glikozid fenoliklerini tanımlamışlardır. Buna ilaveten, çiğ antepfıstığının fenolik seviyesini ve antioksidan kapasitesini kavrulmuş antepfıstığına göre daha iyi koruduğunu belirtmişlerdir. Antepfıstığının 28.35 g'daki resveratrol miktarlarının 29.65 µg/28.35 g (Kırmızı), 45.57 µg/28.35 g (Ohadi), 40.71 µg/28.35 g (Halebi), 43.43 µg/28.35 g (Siirt) olduğu tespit edilmiş [28]. Antepfıstığı tohum kabuğundaki biyoaktif fenoliklerin kavurma sırasında zarar görmesinden dolayı kavurulmuş antepfıstığının tüketilmesinden doğan potansiyel sağlık yararlarını olumsuz yönde etkileyebildiğini bildirmişlerdir. *Pistacia vera* L. bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki yaprak, reçine ve tohumunun antioksidan özelliği olduğunu tespit etmişlerdir [63]. Antepfıstığındaki önemli fenolik bileşiklerin ortalama içeriği Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Antepfıstığındaki Önemli Fenolik Bileşiklerin Ortalama İçeriği [64]

Fenolikler	mg/100 g
Antosiyantinler	
Siyanidin-3-galaktozit	26.8±9.0
Siyanidin-3-glikozit	3.9±2.9
Toplam	30.7
Flavonoidler	
Proantosiyanidinler	268.1±8.31
Daidzein	2.9±1.1
Genistein	2.7±1.0
Kuersetin	1.4±0.1
Daidzin	1.2±0.1
Genistin	1.1±0.3
Eriodiktol	0.9±0.2
Luteolin	0.9±0.2
Naringenin	0.1±0.0
Toplam	279.3
Stilbenler	
Trans-resveratrol	0.1±0.1

İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ANTEPFİSTİĞİNİN ÖNEMİ

Sert kabuklu yemişlerin tokoferol, omega-3 bileşikleri, polifenolik ve fitokimyasalları içermesinden dolayı tüketimine olan ilgi günden güne artmaktadır [28]. Doğal fonksiyonel gıdalardan olan sert kabuklu yemişlerin, düzenli tüketiminin sağlığa olan faydaları hem gözlemsel çalışmalarla hem de klinik araştırmalar sonucunda belgelenmiştir [28,65]. Sert kabuklu meyveleri sıklıkla tüketenlerin nadiren tüketenlere oranla %19-29 daha az kardiyovasküler hastalıklara yakalandığı bildirilmektedir ve sıklıkla sert kabuklu yemiş tüketen kişilerde ölüm riskinin %17 azaldığı belirtilmiştir [66,67]. Yapılan çalışmalar günlük sert kabuklu yemiş tüketiminin lipit/lipoprotein profilini arttırdığını göstermektedir [68]. Aynı zamanda glisemik kontrol [69], inflamasyon [70] ve endotel fonksiyonda [71] yararlı olabileceği bildirilmektedir. Kadınlarda, sert kabuklu yemişlerin sıklıkla tüketilmesinin safra taşı oluşumunu azalttığı bildirilmiştir [72]. Kaynaklarda sert kabuklu yemişlerden olan antepfıstığının sarılık için halk ilacı olarak kullanıldığı görülmektedir [40].

Antepfıstığı incelendiğinde içerisindeki birtakım biyolojik aktiviteler sayesinde günlük gıdalara ilave olarak tedavi edici [73] ve hastalıklardan korumaya yardımcı [74] olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Antepfıstığında yüksek oranda bulunan arginin aminoasidinin arter genişletici özelliği ve damar esnekliğini koruması ile kan akışının artmasını desteklediği belirtilmektedir [28].

Antepfıstığının içerdiği bitkisel protein, antioksidan flavonoidler, doymamış yağ asitleri ve posa sebebiyle karbonhidrat toleransını iyileştirdiği, tokluk kan şekerinin yükselmesini ve diyabetik komplikasyonları önlediği yapılan araştırmalarda bildirilmiştir [75]. Kendall ve ark. [76], yemek sonrası glukoz seviyelerini incelediği çalışmada glisemik indeksi yüksek pirinç ve makarna gibi yaygın karbonhidrat içeren gıdalara antepfıstığını eklemiş ve tüketen kişilerin kan glukoz seviyesinin

önemli bir oranda azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, antepfıstığı daha uzun süre tokluk hissinin sürdürülmesine ve yemek sonrası kan glukoz konsantrasyonlarının düşürülmesine katkı sağlayan düşük glisemik indekse sahip bir besin maddesidir [77, 78]. Düşük glisemik indekse sahip olan antepfıstığı potansiyel olarak diyabet riskini azaltmaktadır [76, 77]. Tip 2 diyabete sahip yetişkinlerin diyetinde günlük enerjinin %20'sini antepfıstığından sağlayan grupla diyetinde antepfıstığı bulunmayan (kontrol) grup karşılaştırıldığında daha düşük toplam kolesterol, trigliserid ve fruktozamin tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Tip 2 diyabet hastalarında bile günlük antepfıstığı tüketiminin kardiyometabolik faydalarının olduğunu göstermektedir [79]. Kendall ve ark. [77], 20 kişi üzerinde gerçekleştirdiği çalışmasında her gruba uygun karbonhidrat içeren gıdalar verildiğinde beyaz ekmeğin tüketimi ardından yemek sonrası glukoz seviyesini en yüksek belirlemişler ve antepfıstığı tüketimi ardından yemek sonrası glukoz seviyesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada n-3, n-6, n-9 gibi omega yağ asitleri yönünden zengin gıdaların tüketiminin kan plazmalarında HDL artışından dolayı kolesterol seviyesinin azalmasında etkili olduğu belirtilmiştir [80]. Oleik asit besinsel açıdan ve damar tıkanıklığı ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde etkili rol oynamaktadır [81]. Ayrıca diyete dahil edilen doymamış yağ asitleri tüketiminin kansere karşı koruyucu etkilerinin olabileceği tespit edilmiştir [82]. Antepfıstığı dahil sert kabuklu meyveler önemli miktarda yağ içermelerine ve enerjisi yüksek gıdalar olmasına rağmen çeşitli epidemiyolojik çalışmalar sert kabuklu meyve tüketiminin ne kilo alımında ne de artan obezite riski ile ilişkili olmadığını göstermektedir [83-85].

Yapılan çalışmalar daha sık antepfıstığı tüketen kişilerin zayıf olduğunu ve nadiren antepfıstığı tüketenlerden daha düşük beden kütle indeksine sahip olduklarını göstermektedir [86]. Antepfıstığı koroner kalp hastalıkları riskini azalttığı bilinen tekli doymamış yağları yüksek oranda içermesi sebebiyle önemli bir doymamış yağ asitleri kaynağıdır [87]. Ayrıca doymamış yağ asitlerinin kötü kolesterolü (LDL) azalttığı bilinmektedir [47]. Günlük 100 g antepfıstığı tüketimi LDL kolesterolü %12 oranında düşürürken HDL kolesterolü aynı oranda yükselterek kalp-damar hastalıkları riskini azalttığı bildirilmiştir [73, 88, 89]. Yapılan bir beslenme çalışmasında, diyete antepfıstığı dahil edildiğinde toplam kolesterol, LDL kolesterol, yüksek yoğunluklu olmayan lipoprotein kolesterol ve plazma stearylkoenzim A desaturaz aktivitesinin doza bağımlı olarak azaldığı belirtilmiştir [90]. Yapılan bir başka çalışmada 4 hafta boyunca 32 normolipidemik sağlıklı genç erkeklere antepfıstığı verildiğinde endotel vazodilatasyonunda ve toplam antioksidan durumunda iyileşme ile birlikte kan glukozu, toplam kolesterol ve serum interlökin-6'da önemli düşüşler gözlenmiştir [89]. Antepfıstığı tüketiminin sağlıklı gönüllü bireylerde toplam kolesterolü ve LDL seviyelerini iyileştirerek oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir [91]. Kasliwal ve ark. [92], antepfıstığının düzenli tüketiminin sadece glisemik ve lipit parametrelerini iyileştirmekle kalmayıp aynı

zamanda damar sertliği ve endotel fonksiyonunda da iyileşmelere sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Antepfıstığındaki fitosterollerin prostat kanserinin gelişimini önlediği yapılan çalışmalarda bulunmuştur [93]. Ayrıca esansiyel özelliğe sahip olan fitosterollerin, kolesterolün bağırsaktaki emilimini engelleyerek kandaki LDL kolesterol ve toplam kolesterol seviyelerini azaltıcı etkinin sağlanabilmesi amacıyla diyetle günlük 1 g alınması gerektiği belirtilmiştir [94].

Sarı ve ark.'nın [89] yaptığı çalışmada antepfıstığı tüketiminin enflamasyon, lipit parametreleri, endotel fonksiyon ve oksidatif durum üzerine etkisini incelemesi sonucunda *Pistacia vera* L.'nin düşük yoğunluklu lipoproteini, triaçil gliserolü, glikozu ve toplam kolesterölü azalttığını belirtmişlerdir. İnsan sağlığının korunması açısından besinlerin lif içeriği önem taşımaktadır. Çünkü epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda lif alımının kilo kaybını [95], şeker hastalığını [96], kardiyovasküler hastalıkları [97] ve bazı kanser türlerini [96] önlemede etkili olduğu gösterilmiştir. Yaklaşık 28 g tüketilen kavrulmuş antepfıstığı günlük beslenmede tavsiye edilen diyet lifinin %12'sini karşılamaktadır [40]. Ayrıca antepfıstığı içerdiği diyet lifi ile diyet yapanların ve vejeteryanların beslenmesinde de önem taşımaktadır [28].

Ayrıca zengin vitamin ve mineral içeriğine sahip antepfıstığı tüketimi özellikle çocukların sağlıklı fiziksel ve zihinsel gelişimleri için önerilmektedir [21]. Antepfıstığı demirin en iyi bitkisel kaynaklarından birisi olmasından dolayı kansızlığı önlemede ve içerdiği yüksek kalsiyumdan kaynaklı günlük kalsiyum gereksiniminin karşılanmasında önemli rol oynayan bir besindir [45]. Antepfıstığı sodyum içeriğinin düşük; potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi mineral içeriğinin ise yüksek olmasından dolayı kan basıncının düzenlenmesinin yanı sıra kemik sağlığı ve gelişiminde önemli rol oynamaktadır [31]. Ayrıca antepfıstığındaki fosfor (P); protein, karbonhidrat ve yağların vücutta etkin olarak kullanımına ve yeni hücrelerin meydana gelmesine yardımcı olmaktadır [28]. Günlük ortalama 57 g antepfıstığı tüketiminin yaşlı bireylerde kan basıncını düşürebileceği bildirilmiştir [98]. Düzenli antepfıstığı tüketiminin kan basıncını düşürmesinden dolayı hipertansiyon hastaları için önerilebileceği ispatlanmıştır [21].

Antepfıstığı kardiyovasküler hastalıkların ve bazı kanser türlerinin önlenmesinde rol alan antioksidan etkisi tanımlanan Zn ve Se minerallerini önemli miktarda içermektedir [36, 37]. İnsan sağlığı için esansiyel olan selenyum kanseri önlemede etkilidir [99]. Ayrıca antepfıstığında iz miktarda bulunan folat doğum kusurlarının önlenmesinde, kardiyovasküler hastalıkların azaltılmasında, hücre oluşumu ve yenilenmesinde elzem bir mineraldir [28].

Antepfıstığı oksidatif stresin kontrolü ve kronik hastalık riskini azaltması üzerine önemli bir etkiye sahip olan yağda çözünen antioksidanların zengin bir kaynağıdır [33]. Antepfıstığı içerisinde bulunan E vitamininin antioksidan özelliği sayesinde Alzheimer hastalığının seyirini yavaşlattığı, bağışıklık sistemini güçlendirdiği,

hücre bakımı ve yenilenmesine katkıda bulunduğu, koroner kalp hastalığı ve kanserin önlenmesinde etkili olduğu rapor edilmiştir [100].

Gama-tokoferolün iyi bir kaynağı olan antepfıstığının akciğer kanseri riskini azaltabileceği bildirilmiştir [101]. Nisbeten yüksek miktarda gama-tokoferol içeren antepfıstığı iltihapla ilişkili hastalıklarda yararlı rol oynamaktadır [102]. Karotenoidlerin antioksidan özelliği vardır ve karotenoidler kardiyovasküler hastalık ve bazı kanser türleri risklerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir [103].

Sert kabuklu meyvelerden sadece antepfıstığında önemli miktarlarda bulunan lutein ve zeaksantin fototoksik hasardan temel dokuları korumak için antioksidan olan ve/veya mavi ışık filtresi olarak işlev gördükleri düşünülen retinada yoğunlaşmaktadır [104,30]. Lutein ve zeaksantin yaşa bağlı makula dejenerasyonunun fizyopatolojisinde önemli bir faktör olarak önerilmiştir [105].

Antepfıstığı tüketimi ile K vitamininin diyetle daha yüksek alımı kemik metabolizmasındaki rolünün [106-108] ötesinde Tip 2 diyabet [106], kanser [109,110] ve kardiyovasküler hastalıklar [110] gibi çeşitli kronik hastalıkların [110] riskini azaltmaktadır. Antepfıstığında bulunan vitamin A; kemik gelişimi, görme, üreme, büyüme, epitel dokuların sağlığı, bağışıklık sistemi ve kanseri korumada etkili rol oynamaktadır [28].

Fenolik bileşiklerin etkileri üzerine kapsamlı in-vivo ve in-vitro çalışmalarda; kanser, kardiyovasküler, inflamatuvar, yaşlanma bozuklukları ve insan patojenlerine karşı koruyucu faktör olarak yararlı sağlık faaliyetleri gösterilmektedir [111-113]. Mandalari ve ark. [114]'nın yaptıkları çalışmada, antepfıstığının içerisindeki polifenoller, ksantofiller ve tokoferollerin mideye hızlı bir şekilde erişilebilmesi ve ince bağırsakta en yüksek seviyede emilmesinden dolayı antepfıstığının tüketiminin sağlıkla ilişkisi arasında yararlı bir etkinin olduğunu tespit etmişlerdir. Fenolik bileşikler bakımından zengin olan antepfıstığının kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi serbest radikallerin aşırı üretimi ile ilişkili hastalıklara karşı koruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmiştir [115].

Antioksidan özelliğe sahip, kötü kolesterölü azaltan, kalp ve damar sağlığı bakımından faydalı etkileri olan, bazı kanser çeşitlerini önleyen ve kansere sebebiyet veren risk etkenlerini ortadan kaldıran resveratrolün antepfıstığında da bulunduğu saptanmıştır [28]. Antepfıstığı karotenoidler (β -karoten ve lutein), γ -tokoferol ve fenolik asitler, flavonoidler, lignanlar, antosiyaninler ve proantosiyanidinler gibi fenolik bileşikler de dahil olmak üzere kardiyovasküler sağlık için antioksidan destek sağlayabilen önemli fitokimyasalları içermektedir [59]. Ayrıca sağlıklı bir diyetle antepfıstığı tüketilmesinin doza bağımlı bir şekilde kardiyovasküler hastalık risk faktörünü etkilediği belirtilmiştir [90].

Besinsel olarak tüketilmesinin yanı sıra antepfıstığının apselerde, kanserli tümör tedavisinde, dolaşım

yetersizliğinde ve diğer sağlık sorunlarında da kullanıldığı rapor edilmiştir [20].

Orhan ve ark. [116] antepfıstığı bitkisinin farklı kısımlarından sulu ve etanolik özütler hazırlayarak yaptıkları çalışmada, *Pistacia vera* L. reçinesinde inflamatuvar etki ve ağrı kesici özellik tespit etmişler ancak bitkinin diğer kısımlarında bu etkiler anlamlı olarak gözlenmemiştir. Antepfıstığı reçinesinin mide ağrısı, astım ve hemoroid tedavisinde önemli bir rolünün olduğu raporlarda bildirilmiştir [116]. Almedhar ve ark. [117], *Pistacia vera* L. reçinesinin in-vitro sitotoksik aktivitesini araştırmışlar ve reçinenin sitotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Gentile ve ark. [61], Sicilya'da yetişen *Pistacia vera* L. tohum özütlerinin lipofilik ve hidrofilik özütleri arasında karşılaştırma yapmışlardır. Hidrofilik özütlerin antioksidan aktivitesi daha yüksek bulunmuş ve karaciğer lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Alma ve ark. [118], Türkiye'de yetiştirilen *Pistacia vera* L.'den elde edilen esansiyel yağların 13 bakteri ve 3 patojenik maya üzerinde antimikrobiyal çalışma yapmışlar ve uçucu yağın 9 bakteri ve tüm patojenik mayaları inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Pistacia türlerinin meyve ve yapraklarının esansiyel yağlarının antibakteriyel ve antifungal özellikleri de bulunmaktadır [119]. UV-B ile deri irritasyonu meydana getirilen insan deneklerinin derilerine *Pistacia vera* L. bitkisinin testa ve tohum özütlerinin lokal olarak uygulanması sonucunda *Pistacia vera* L.'nin kozmetik sanayinde etken bir madde olarak kullanılabileceği belirtilmiştir [120]. Ayrıca, antepfıstığı yağı da kozmetik sanayinde kullanılmaktadır [121].

Antepfıstığı, badem, kestane, fındık, çam fıstığı ve ceviz gibi kabuklu yemişler hem 2 ile 4 yaş arasındaki çocuklarda hem de yetişkinlerde alerji oluşturabilmektedir [122, 123]. En sık görülenleri kabuklu yemiş ve fıstık tüketimine bağlı olarak gelişen alerji türleri olup, bu durum bazı hallerde ölümcül alerjik reaksiyonlara da neden olabilmektedir. Çok az vakada antepfıstığına karşı hassasiyetin olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir [124, 125].

SONUÇ

Ülkemizde tüketilen antepfıstığı genel olarak; sütlü ve şerbetli tatlılara, çikolatalara ve işlenmiş gıdalara katılmaktadır. Antepfıstığı içeriğindeki lif, doymamış yağ, fenolik bileşikler, vitamin ve mineraller sayesinde bireylerin sağlıklı beslenmesinde ve beslenmeyle ilişkili hastalık riskini azaltmada önemli bir rol oynadığı bilimsel çalışmalarla da ortaya konulmuştur. Antepfıstığının; başta kalp-damar hastalıkları olmak üzere diyabet ve hipertansiyon gibi çeşitli kronik hastalıklar üzerinde olumlu etkilerinin olduğu yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir. Düzenli antepfıstığı tüketimi, insan sağlığının korunmasına ve günlük önerilen besin gereksiniminin sağlanmasına yardımcı olmaktadır. Fonksiyonel özellik gösteren antepfıstığının; özellikle belli gıdalarda lezzet artırıcı ve görsel sunumu iyileştirmek için kullanılmasının yanında; sağlıklı bir hayatın sürdürülebilmesi için de tüketilmesi

önerilmektedir. Ayrıca, antepfıstığının çokça tüketilen tohum dışındaki kısımlarının da fonksiyonel özelliklerinin araştırılarak, insan sağlığı üzerindeki muhtemel olumlu etkilerinin bilimsel olarak incelenmesi uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Maskan, M., Karatas, S., 1999. Storage stability of whole-split pistachio nuts (*Pistacia vera* L.) at various conditions. *Food Chemistry* 66: 227–233.
- [2] Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, H.S., Açar, I., Karadağ, S., Yüksek, Y., Yaman, A., 2001. Antepfıstığı yetiştiriciliği. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü. Yayın No: 13, 3–11p.
- [3] Kashaninejad, M., Tabil, L.G., Mortazavi, A., Kordi, A., 2003. Effect of drying methods on quality of pistachio nuts. *Drying Technology* 21(5): 821–838.
- [4] Özbek, S., 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 128, Ders Kitabı: 11, Sayfa 486.
- [5] Parfitt, E.D., 1995. Pistachio cultivars. California Pistachio Industry. Annual Report 1994-1995, 43-47p.
- [6] Aruso, T., 2001. The description of the pistachio trees. Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale Università Federico II, Napoli Italy, Abstract Artical.
- [7] Bilgen, A.M., 1973. Antepfıstığı. Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Yayını, Ankara, 123.
- [8] Shokraii, E.H., Esen, A., 1988. Composition, solubility and electrophoretic patterns of protein isolated from Kerman pistachio nuts (*Pistacia vera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36: 425-429.
- [9] Altuntaş, E., Mutlu, A., 2007. Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) kabuklu ve iç meyvesinin bazı fiziksel özelliklerinin belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi* 24(1): 19-25.
- [10] Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, S., 1995. Antepfıstığı yetiştirme tekniği. Antepfıstığı Araştırma.
- [11] Ulusaraç, A., 1993. Antepfıstığı çeşit kataloğu. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı, Yayın No: 4, Ankara.
- [12] Atlı, H.S., Arpacı, S., Ayanoğlu, H., 1998. Antepfıstığı yabancı türlerinin Türkiye'de yayılış alanları. IPGRI Meeting. Jordan.
- [13] Ayfer, M., 1990. Antepfıstığının dünü bugünü ve geleceği. Türkiye 1. Antepfıstığı Sempozyumu, Gaziantep, 14-23.
- [14] Bolu, F., 2002. Güneydoğu Anadolu Bölgesi antepfıstığı alanlarındaki böcek ve akar faunasının saptanması. *Türk Entomoloji Dergisi* 26(3): 197-208.
- [15] Anonim, 2010. Bahçecilik, Antepfıstığı Yetiştiriciliği. T.C. Millî Eğitim Bakanlığı, Mesleki ve Teknik Eğitim Materyali, Ankara.
- [16] Kaşka, N., 1995. Pistachio nut growing in Turkey. *Acta Horticulturae* 419: 161-164.
- [17] TÜİK, 2015. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim Tarihi: 01.11.2016).
- [18] Anonim, 1999. Tarımsal yapı ve üretim. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları No: 2457, Ankara.

- [19] Anonim, 2013. Türkiye Cumhuriyeti Ekonomi Bakanlığı Antepfıstığı Sektör Raporları. İhracat Genel Müdürlüğü. Tarım Ürünleri Daire Başkanlığı, Ankara
- [20] Tous, J., Ferguson, L., 1996. Mediterranean Fruits. In: Progress in new crops, Edited by J. Janick, ASHS Press, Arlington, VA, 416-430p.
- [21] Yahia, E.M., 2011. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Volume:4, Mangosteen to white sapote, In: Pistachio (*Pistacia vera* L.), Edited by M. Kashaninejad, Oxford Cambridge Philadelphia New Delhi, 218-246p.
- [22] Tunalıoğlu, R., Taşkaya, B., 2003. Antepfıstığı. TEAE BAKIŞ, *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Dergisi*, Sayı 2, Nüsha 5, Ankara.
- [23] Ayaz, A., 2012. Yağlı tohumların beslenmemizdeki yeri. Sağlık Bakanlığı, Yayın No: 727, 2. Baskı, Ankara.
- [24] Çelikleş, M., Dağlıoğlu, F., 2008. Kuru meyvelerde aflatoksin riski. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- [25] Ferguson, L., Kader, A., Thompson, J., 1995. Harvesting, transporting, processing and grading. In: Pistachio Production, Edited by L. Ferguson, Center for Fruit and Nut Crop Research and Information, University of California, Pomology Department, Center for Fruit and Nut Crop Research and Information, Davis CA, 110-114p.
- [26] Perry, E., 1998. Harvesting and storing your home Orchard's nut crop: almonds, walnuts, pecans, pistachios, and chesnuts. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 8005: 6-7.
- [27] Seferoğlu, S., Seferoğlu, H.G., Tekintaş, F.E., Balta, F., 2006. Biochemical composition influenced by different locations in Uzun pistachio cv. (*Pistacia vera* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 461-465.
- [28] Tokuşoğlu, Ö., 2007. Yeşil Altın: Antepfıstığı: Teknolojisi, Kimyası ve Kalite Kontrolü, Sönmez Ofset Matbaacılık, Nisan, 1. Baskı, Syf 86.
- [29] Tayar, M., Haşıl Korkmaz, N., Özkeleş, H.E., 2011. Beslenme İlkeleri. Dora Yayınları, 1. Baskı, Bursa, Syf 310-311.
- [30] USDA, 2013. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 26. Nutrient Data Laboratory Home Page. United States Department of Agriculture. <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl> (Erişim Tarihi: 13.11.2016).
- [31] Küçüköner, E., Yurt, B., 2003. Some chemical characteristics of *Pistacia vera* varieties produced in Turkey. *European Food Research and Technology* 217: 308-310.
- [32] USDA, 2016. USDA, Nutrient Database for Standard Reference. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3736?fgcd=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new=&measureby=> (Erişim Tarihi: 13.11.2016).
- [33] Bulló, M., Juanola-Falgarona, M., Hernandez-Alonso, P., Salas-Salvadó, J., 2015. Nutrition attributes and health effects of pistachio nuts. *British Journal of Nutrition* 113: 79-93.
- [34] Pala, M., Yıldız, M., Açıktur, F., Löker, M., 1994. Türkiye'de üretilen antepfıstığı çeşitlerinin bileşimi. *Gıda* 19(6): 405-409.
- [35] Bebis (Beslenme Bilgi Sistemi) Nutrition Data Base Software İstanbul, 2004. Data Base: The German Food Code and Nutrient Data Base (BLS II.3, 1999) with additions from USDA-sr and other sources.
- [36] Huang H.Y., Caballero, B., Chang, S., Alberg A.J., Semba, R.D., Schneyer, C.R., Wilson, R.F., Cheng, T.Y., Vassy, J., Prokopowicz, G., Barnes, G.J., Bass, E.B., 2006. The efficacy and safety of multivitamin and mineral supplement use to prevent cancer and chronic disease in adults: a systematic review for a National Institutes of Health state-of-the science conference. *Annals of Internal Medicine* 145(5): 372-385.
- [37] Herberg, S., Kesse-Guyot, E., Druesne-Pecollo, N., Touvier, M., Favier, A., Latino-Martel, P., Briançon, S., Galan, P., 2010. Incidence of cancers, ischemic cardiovascular diseases and mortality during 5-year follow-up after stopping antioxidant vitamins and minerals supplements: a postintervention follow-up in the SU.VI.MAX Study. *International Journal of Cancer* 127: 1875-1881.
- [38] Küçüköner, E., Yurt, B., 2000. Geçmişten günümüze antepfıstığı ve Türkiye'deki durumu. *Standard* 39(12): 38-44.
- [39] Shi, J., Ho, C.T., Shahidi, F., 2010. Functional Foods of the East. In: Antioxidant Functional Factors in Nuts, Edited by Y. Kabir & J.S. Sidhu, CRC Press, Boca Raton, London, New York, 343-397p.
- [40] Murray, M. I., Pizzorna J., Pizzorna L., 2005. The Condensed Encyclopedia of Healing Foods. Atria Books, New York, 468-475p.
- [41] Koch, M. U., 2011. Laugh with Health. Australia, 103p.
- [42] Kornsteiner, M., Wagner, K.H., Elmadfa, I., 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry* 98: 381-387.
- [43] Ballistreri, G., Arena, E., Fallico, B., 2009. Influence of ripeness and drying process on the polyphenols and tocopherols of *Pistacia vera* L.. *Molecules* 14(11): 4358-4369.
- [44] Dismore, M.L., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Peterson, J.W., Booth, S.L., 2003. Vitamin K content of nuts and fruits in the US diet. *Journal of the American Dietetic Association* 103(12): 1650-1652.
- [45] Heber, D., Bowerman, S., 2008. The pistachio, a surprising and colorful nut. *Nutrition Today* 43(1): 36-40.
- [46] Özer, E.A., Güven, A., 2008. Sert kabuklu meyvelerin sağlık üzerine etkileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- [47] Yıldız, M., Gurcan, S.T., Ozdemir, M., 1998. Oil composition of pistachio nuts (*Pistacia vera* L.) from Turkey. *Fett-Lipid* 100(3): 84-86.
- [48] Garcia, J.M., Agar, I.T., Streif, J., 1992. Analysis of fat content and fatty acid composition in individual

- seeds in pistachio varieties grown in Turkey. *Gartenbauwissenschaft* 57: 130-133.
- [49] Agar, I.T., Kaska, N., Kafkas, S., 1995. Characterization of lipids in *Pistacia* species grown in Turkey. *Acta Horticulturae* 419: 417-422.
- [50] Maskan, M., Karatas, S., 1998. Fatty acid oxidation of Pistachio nuts stored under various atmospheric conditions and different temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77: 334-340.
- [51] Satil, F., Azcan, N., Baser, K.H.S., 2003. Fatty acid composition of pistachio nuts in Turkey. *Chemistry of Natural and Compound* 39(4): 322-324.
- [52] Chahed, T., Bellila, A., Dhifi, W., Hamrouni, I., M'hamdi, B., Kchouk, M.E., Marzouk, B., 2008. Pistachio (*Pistacia vera* L.) seed oil composition: geographic situation and variety effects. *Grasas Y Aceites* 59(1): 51-56.
- [53] Ostlund, R.E., Racette, S.B., Stenson, W.F., 2002. Effects of trace components of dietary fat on cholesterol metabolism: phytosterols, oxysterols, and squalene. *Nutrition Reviews* 60: 349-359.
- [54] Maguire, L.S., O'Sullivan, S.M., Galvin, K., O'Connor, T.P., O'Brien, N.M., 2004. Fatty acid profile, tocopherol, squalene, and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and macadamia nut. *International Journal of Food Science and Nutrition* 55: 171-178.
- [55] Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T.P., Maguire, A.R., O'Brien, N.M., 2006. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 57: 219-228.
- [56] Ak, B. E., Unsal, A. S., 1993. The fruit composition and nutrient value of Pistachio nut. University of Harran, *Journal of the Faculty of Agriculture* 4(1): 68-78.
- [57] Baysal, A., 2012. Beslenme. 14. Baskı, Hatiboğlu Yayinevi, Ankara.
- [58] Bulló, M., Lamuela-Raventós, R., Salas-Salvadó, J., 2011b. Mediterranean diet and oxidation: nuts and olive oil as important sources of fat and antioxidants. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 11(14): 1797-1810.
- [59] Bolling, B.W., Chen, C.Y., McKay, D.L., Blumberg, J.B., 2011. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact 1 factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition Research Reviews* 24(2): 244-275.
- [60] Halvorsen, B.L., Carlsen, M.H., Phillips, K.M., Bøhn, S.K., Holte, K., Jacobs, DR. Jr., Blomhoff, R., 2006. Content of redox-active compounds (i.e. antioxidants) in foods consumed in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84(1): 95-135.
- [61] Gentile, C., Tesoriere, L., Butera, D., Fazzari, M., Monastero, M., Allegra, M., Livrea, M.A., 2007. Antioxidant activity of sicilian Pistachio (*P. vera* L. Var. Bronte) nut extract and its bioactive components. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 55: 643-648.
- [62] Seeram, N.P., Zhang, Y., Henning, S.M., Lee, R., Niu, Y., Lin, G., Heber, D., 2006. Pistachio skin phenolics are destroyed by bleaching resulting in reduced antioxidative capacities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(19): 7036-7040.
- [63] Hosseinzadeh, H., Tabassi, S.A.S., Moghadam, N.M., Rashedinia, M., Mehri, S., 2012. Antioxidant activity of *Pistacia vera* fruits, leaves and gum extracts. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 11(3): 879-887.
- [64] Tokuşoğlu, Ö., Hall III, C., 2011. Fruit and Cereal Bioactives. In: Nut bioactives: phytochemicals and lipid-based components of almonds, hazelnuts, peanuts, pistachios and walnuts, Edit by B. Fallico, G. Ballistreri, E. Arena and Ö. Tokuşoğlu. CRS Press. Taylor & Francis Group Boca, Raton, London, New York. 199p.
- [65] Ros, E., 2010. Health benefits of nut consumption. *Nutrients* 2: 652-682.
- [66] Luo, C., Zhang, Y., Ding, Y., Shan, Z., Chen, S., Yu, M., Hu, F.B., Liu, L., 2014. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition* 100(1): 256-269.
- [67] Zhou, D., Yu, H., He, F., Reilly, K.H., Zhang, J., Li, S., 2014. Nut consumption in relation to cardiovascular disease risk and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 100: 270-277.
- [68] Griel, A.E., Kris-Etherton, P.M., 2006. Tree nuts and the lipid profile: a review of clinical studies. *British Journal of Nutrition* 96(2): 68-78.
- [69] Blanco Mejia, S., Kendall, C.W., Vigiulouk, E., Augustin, L.S., Ha, V., Cozma, A.I., Mirrahimi, A., Maroleanu, A., Chivaroli, L., Leiter, L.A., de Souza, R.J., Jenkins, D.J., Sievenpiper, J.L., 2014. Effect of tree nuts on metabolic syndrome criteria: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Open* 4(7): e004660.
- [70] Ros, E., 2009. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 89: 1649-1656.
- [71] Barbour, J.A., Howe, P.R., Buckley, J.D., Bryan, J., Coates, A.M., 2014. Nut consumption for vascular health and cognitive function. *Nutrition Research Reviews* 27: 131-58.
- [72] Tsai, C.J., Leitzmann, M.F., Hu, F.B., Willett, W.C., Giovannucci, E.L., 2004. Frequent nut consumption and decreased risk of cholecystectomy in women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80: 76-81.
- [73] Kalkancı, N., Yaman, A., Bağcı, C., Tarakçioğlu, M., Davutoğlu, V., Aksoy, M., 2007. Antepfıstığının kan kolesterol seviyesi üzerine etkileri. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Yayın no: 33.
- [74] Surh, Y.J., 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Reviews Cancer* 3: 768-780.
- [75] Kepekçi, Y., Boğa, C., Yılmaz, M., 1991. Diabetes Mellitus'ta antep fıstığına karşı kan glikoz

- cevabının glisemik indeks ile araştırılması. *Beslenme ve Diyet Dergisi* 20: 221-34.
- [76] Kendall, C.W.C., Josse, A.R., Esfahani, A., Jenkins, D.J.A., 2011. The impact of pistachio intake alone or in combination with highcarbohydrate foods on post-prandial glycemia. *European Journal of Clinical Nutrition* 65 696–702.
- [77] Kendall, C.W.C., West, S.G., Augustin, L.S., Esfahani, A., Vidgen, E., Bashyam, B., Sauder, K.A., Cambell, J., Chiavaroli, L., Jenkins, A.L., Jenkins, D.J., 2014. Acute effects of pistachio consumption on glucose and insulin, satiety hormones and endothelial function in the metabolic syndrome. *European Journal of Clinical Nutrition* 68(3): 370–375.
- [78] Gulati, S., Misra, A., Pandey, R.M., Bhatt, S.P., Saluja, S., 2014. Effects of pistachio nuts on body composition, metabolic, inflammatory and oxidative stress parameters in Asian Indians with metabolic syndrome: a 24-wk, randomized control trial. *Nutrition* 30: 192–197.
- [79] Sauder, K.A., McCrea, C.E., Ulbrecht, J.S., Kris-Etherton, P.M., West, S.G., 2015. Effects of pistachios on the lipid/lipoprotein profile, glycemic control, inflammation, and endothelial function in type 2 diabetes: A randomized trial. *Metabolism Clinical and Experimental* 64(11): 1521– 1529.
- [80] Eseceli, H., Değirmencioğlu, A., Kahraman, R., 2006. Omega yağ asitlerinin insan sağlığı yönünden önemi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu. 403-406.
- [81] Kris-Etherton, P.M., Zhao, G., Binkoski, A.E., Coval, S.M and Etherton, T.D., 2001. The effects of nuts on coronary heart disease risk. *Nutrition Reviews* 59(4): 103-111.
- [82] Larsson, S.C., Kumlin, M., Ingelman-Sundberg, M., Wolk, A., 2004. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 935–945.
- [83] Bes-Rastrollo, M., Sabatè, J., Gómez-Gracia, E., Alonso, A., Martínez, J.A. and Martínez-González, M.A., 2007. Nut consumption and weight gain in a Mediterranean cohort: the SUN study. *Obesity (Silver Spring)* 15(1): 107–116.
- [84] Bes-Rastrollo, M., Wedick, N.M., Martinez-Gonzalez, M.A, Li, T.Y., Sampson, L. and Hu, F.B., 2009. Prospective study of nut consumption, long-term weight change, and obesity risk in women. *American Journal of Clinical Nutrition* 89: 1913– 1919.
- [85] Casas-Agustench, P., Bulló, M., Ros, E., Basora, J., Salas-Salvadó, J., Nureta- PREDIMED investigators, 2011. Crosssectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 21: 518–525.
- [86] Cotton, P.A., Subar, A.F., Friday, J.E., Cook, A., 2004. Dietary sources of nutrients among US adults, 1994 to 1996. *Journal of the American Dietetic Association* 104(6): 921–930.
- [87] Kris-Etherton, P.M., 1999. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 100: 1253–1258.
- [88] Edwards, K., Kwaw, I., Matud, J., Kurtz, I., 1999. Effect of pistachio nuts on serum lipid levels in patients with moderate hypercholesterolemia. *The Journal of American College of Nutrition* 18: 229-232.
- [89] Sari, I., Baltacı, Y., Bağcı, C., Davutoglu, V., Erel, O., Celik, H., Ozer, O., Aksoy, N., Aksoy, M., 2010. Effect of pistachio diet on lipid parameters, endothelial function, inflammation, and oxidative status: A prospective study. *Nutrition* 26: 399–404.
- [90] Gebauer, S.K., West, S.G., Kay, C.D., Alaupovic, P., Bagshaw, D., Kris-Etherton, P.M., 2008. Effects of pistachios on cardiovascular disease risk factors and potential mechanisms of action: a dose-response study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 88: 651–659.
- [91] Kocyigit, A., Koylu, A.A., Keles, H., 2006. Effects of pistachio nuts consumption on plasma lipid profile and oxidative status in healthy volunteers. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 16: 202–209.
- [92] Kasliwal, R., Bansal, M., Mehrotra, R., Yephtho, K.P., 2015. Effect of pistachio nut consumption on endothelial function and arterial stiffness. *Nutrition* 31: 678–685.
- [93] Kashaninejad, M., Tabil, L.G., 2011. Effect of microwave-chemical pre-treatment on compression characteristics of biomass grinds. *Biosystems engineering* 108(1): 36-45.
- [94] Gilbert, R., Thompson, M.D., Grundy, S.M., 2005. History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes. *The American Journal of Cardiology* 96: 3-9.
- [95] Ye, E.Q., Chacko, S.A., Chou, E.L., Kuqizaki, M., Liu, S., 2012. Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *Journal of Nutrition* 142: 1304–1313.
- [96] Kaczmarczyk, M.M., Miller, M.J., Freund, G.G., 2012. The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism* 61(8): 1058–1066.
- [97] Anderson, J.W., Hanna, T.J., Peng, X., Kryscio, R.J., 2000. Whole grain foods and heart disease risk. *The Journal of The American College of Nutrition* 19(3): 291–299.
- [98] Razavi, S., 2010. Pistachio production: Iran vs the World. In: XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds, Edited by G. Zakyntinos, Zaragoza: CIHEAM / FAO / AUA / TEI Kalamatas / NAGREF. 275-279p.
- [99] Alberg, A.J., Samet, J.M., 2003. Epidemiology of lung cancer. *Chest Journal* 123: 21-49.
- [100] Singh, U., Jialal, I., 2004. Anti-inflammatory effect of α -tokoferol. *Annals of the New York Academi of Sciences* 1031: 195-203.
- [101] Anonim, 2009. American Association for Cancer Research. "Pistachios may reduce lung cancer risk." ScienceDaily. 9 December. www.sciencedaily.com/releases/2009/12/091208191956.htm (Erişim Tarihi: 20.01.2017).
- [102] Dietrich, M., Traber, M.G., Jacques, P.F., Block, G., 2006. Does γ -tocopherol play a role in the

- primary prevention of heart disease and cancer? A Review. *The Journal of the American College of Nutrition* 25(4): 292–299.
- [103] Van het Hof, K.H., West, C.E., Weststrate, J.A., Hautvast, J.G., 2000. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *Journal of Nutrition* 130: 503–506.
- [104] Carpentier, S., Knaus, M., Suh, M., 2009. Associations between lutein, zeaxanthin, and age-related macular degeneration: an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49: 313–326.
- [105] SanGiovanni, J.P., Neuringer, M., 2012. The putative role of lutein and zeaxanthin as protective agents against age-related macular degeneration: promise of molecular genetics for guiding mechanistic and translational research in the field. *The American Journal of Clinical Nutrition* 96(5): 1223-1233.
- [106] Bulló, M., Estruch, R., Salas-Salvadó, J., 2011a. Dietary vitamin K intake is associated with bone quantitative ultrasound measurements but not with bone peripheral biochemical markers in elderly men and women. *Bone* 48(6): 1313–1318.
- [107] Ibarrola-Jurado, N., Salas-Salvadó, J., Martínez-González, M.A., Bulló, M., 2012. Dietary phyloquinone intake and risk of type 2 diabetes in elderly subjects at high risk of cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 96: 1113–1118.
- [108] Juanola-Falgarona, M., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Portillo, M.P., Casas, R., Miranda, J., Martínez-González, M.A., Bulló, M., 2013. Association between dietary phyloquinone intake and peripheral metabolic risk markers related to insulin resistance and diabetes in elderly subjects at high cardiovascular risk. *Cardiovascular Diabetology* 12: 7.
- [109] Nimptsch, K., Rohrmann, S., Kaaks, R., Linseisen, J., 2010. Dietary vitamin K intake in relation to cancer incidence and mortality: results from the Heidelberg cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Heidelberg). *The American Journal of Clinical Nutrition* 91: 1348–1358.
- [110] Juanola-Falgarona, M., Salas-Salvadó, J., Martínez-González, M.Á., Corella, D., Estruch, R., Ros, E., Fitó, M., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Lapedra, J., Basora, J., Lamuela-Raventós, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Muñoz, M. Á., Ruiz-Gutiérrez, V., Fernández-Ballart, J., Bulló, M., 2014. Dietary intake of vitamin K is inversely associated with mortality risk. *Journal of Nutrition* 144: 743–750.
- [111] Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Alakomi, H.L., Oksman-Caldentey, K.M., 2005. Bioactive berry compounds: novel tools against human pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology* 67: 8–18.
- [112] Lau, F.C., Shukitt-Hale, B., Joseph, J.A., 2006. The beneficial effects of fruit polyphenols on juice on cognitive and motor deficits in aging. *Nutrition* 22: 295–302.
- [113] Zafrá-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J.A., Bagchi, D., 2007. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular Nutrition and Food Research* 51: 675–83.
- [114] Mandalari, G., Bisignano, C., Filocamo, A., Chessa, S., Sarò, M., Torre, G., Faulks, R.M., Dugo, P., 2013. Bioaccessibility of pistachio polyphenols, xanthophylls, and tocopherols during simulated human digestion. *Nutrition* 29: 338–344.
- [115] Hassellund, S.S., Flaa, A., Kjeldsen, S.E., Seljeflot, I., Karlsen, A., Erlund, I., Rostrup, M., 2013. Effects of anthocyanins on cardiovascular risk factors and inflammation in pre-hypertensive men: a double-blind randomized placebo-controlled crossover study. *Journal of Human Hypertension* 27: 100–106.
- [116] Orhan, I., Kupeli, E., Aslan, M., Kartal, M., Yesilada, E., 2006. Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, (*Pistacia vera* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 105 (1-2): 235–240.
- [117] Almeddar, H., Abdallah, H., Osman, A. and Abdel-Sattar, E., 2012. In vitro cytotoxic screening of selected Saudi medicinal plants. *Journal of Natural Medicines* 66: 406–412.
- [118] Alma, M.H., Nitz, S., Kolmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F.T., Yilmaz, N., 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(12): 3911-3914.
- [119] Tsokou, A., Georgopoulou, K., Melliou, E., Magiatis, P., Tsitsa, E., 2007. Composition and enantiomeric analysis of the essential oil of the fruits and the leaves of *Pistacia vera* from Greece. *Molecules* 12: 1233–1239.
- [120] Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F.P., Saija, A., Trombetta, D., Tomaino, A., 2013. In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seed and skin extracts, *Fitoterapia* 85: 41-48.
- [121] Taghizadeh, M. and Razavi, M.A., 2009. Modeling time-independent rheological behavior of pistachio butter. *International Journal of Food Properties* 12: 331–340.
- [122] Burks, W., Helm, R., Stanley, S., Bannon, G.A., 2001. Food allergens. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 1: 243-248.
- [123] Crespo, J.F., Rodriguez, J., 2003. Food allergy in adulthood. *Allergy* 58: 98-113.
- [124] Parra, F.M., Cuevas, M., Lezaun, A., Alonso, M.D., Baristain, A.M., Losada, E., 1993. Pistachio nut hypersensitivity: identification of pistachio nut allergens. *Clinical and Experimental Allergy* 23: 996-1001.
- [125] Fernandez, C., Fiandor, A., Martinez-Garate, A., Martinez Quesada, J., 1995. Allergy to pistachio: cross reactivity between pistachio nut and other Anacardiaceae. *Clinical and Experimental Allergy* 25: 1254-1259.

Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

Akademik Gıda dergisi gıda bilimi ve teknoloji alanlarında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin www.academicfoodjournal.com web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için ogursoy@yahoo.com e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Çalışmanın özgünlüğü ve çalışma ile ilgili her türlü etik hususdan yazar(lar) sorumludur.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır.

Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

Hızlandırılmış Makale Basımı

Dergide "yayımlanmak üzere kabul edilen makalelerin", derginin takip eden ilk sayısında yayımlanmasını talep eden yazar(lar)ın yayıncı kuruluşa makale başına 750 TL ücret ödemesi gerekmektedir. Bu durum hızlandırılmış basım talebi olmayan makaleler için geçerli olmayıp, Akademik Gıda dergisinde makale basımı için yazar(lar)dan herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz, Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin siyah-beyaz ve yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) *.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayınlandığı dergi isimleri italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F., 2009. İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda* 9(1): 6-12.

Kitap

- [2] Kılıç, S., 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T., 1997. Probiotics and Intestinal Infections. In *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşlı, A., Kınık, Ö., 2004. Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak en geç bir ay içerisinde yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Bu süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, www.academicfoodjournal.com. Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at ogursoy@yahoo.com.

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- Authors are responsible from the originality of the study and all kinds of ethical issues related to their study.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

Accelerated publication of an article

Articles accepted for publication can be published in the first coming issue of the journal at the charge of €200 per manuscript if the authors request accelerated publication.

Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.
2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.
3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.
4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.
5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.
6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution (black and white), and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as *.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

Article

- [1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D., 2011. Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda* 9(2): 6-12.

Book

- [2] Kilic, S., 2001. Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

Book Chapter

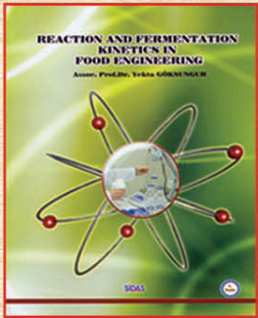
- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T., 1997. Probiotics and Intestinal Infections. In *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

Proceedings of the Congress-Symposium

- [4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O., 2004. Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office via e-mail within a month.

13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.



₺15



₺50



₺20



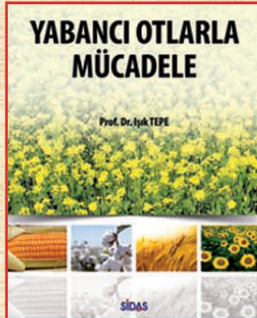
₺30



₺30



₺30



₺20



₺20



₺10



₺10



₺30



₺20



₺20



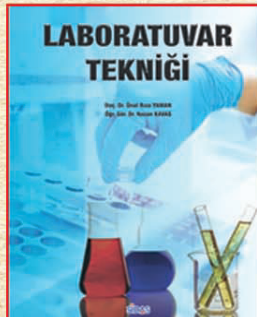
₺50



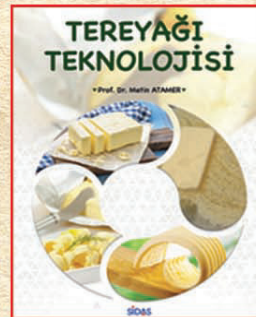
₺30



₺15



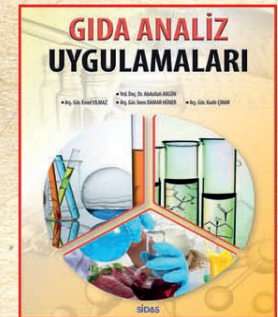
₺15



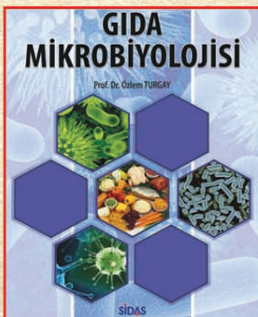
₺20



₺20



₺20



₺30



₺20



₺30

İsteme Adresi: Fevzipaşa Bulv. Çelik İş Merkezi No: 162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR

Tel: 0232 441 60 01

Fax: 0232 441 61 06

sidasmedya@gmail.com

www.gidakitaplari.com

Sektörel Yayıncılıkta Çağdaş Yaklaşım...



SİDAS MEDYA

Fevziyaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi No:162/302 Çankaya - İZMİR

Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06

www.foodsektor.com

info@foodsektor.com