

GIDA



THE JOURNAL OF FOOD

E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 43

SAYI / NUMBER : 2

YIL / YEAR : 2018

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Editörler / Editors	Danışma Kurulu / Advisory Board
<p>ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p> <p>Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p>Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org</p> <p>Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli</p> <p>Hazırlayan / Prepared Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 04 2018</p>	<p>Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytac Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünol, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atila <i>Ankara University, Turkey</i></p>

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Naciye Kutlu, N., Bicak, C., Ekinci, D., Kilic, E., Erdem, N., Isci, A., Sakiyan, O. *Application of response surface methodology to optimize microwave-assisted extraction of total phenolic compounds from Caucasian whortleberry (Vaccinium arctostaphylos) / Likapadan (Vaccinium arctostaphylos) toplam fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu* **264-272**

Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B., Çakmak, G. A. *Detection of Listeria spp. in raw milk and dairy products retailed in Ankara / Ankara'da satışa sunulan çiğ süt ve süt ürünlerinde Listeria spp. varlığının belirlenmesi* **273-282**

Tahmas Kahyaoğlu, D., Çakmakçı, S. *A comparative study on some properties and oxidation stability during storage of butter produced from different animals' milk / Farklı hayvan sütlerinden üretilen tereyağlarının depolama süresince oksidasyon stabilitesi ve bazı özellikleri üzerine karşılaştırmalı bir araştırma* **283-293**

Köse, Ş., Ocak, E. *Antimicrobial and antioxidant properties of sirmo (Allium vineale L.), mendi (Chaerophyllum macropodium boiss.) and siyabo (Ferula rigidula DC.) / Sirmo (Allium vineale L.), mendi (Chaerophyllum macropodium boiss.) ve siyabo (Ferula rigidula DC.)'nun antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri* **294-302**

Bozkir, H., Rayman Ergun, A., Taştan, Ö., Baysal, T. *Effect of microwave heating on the yield and quality of red bell pepper puree / Kırmızı biber püresinin verim ve kalitesine mikrodalga ısıtmanın etkisi* **303-312**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Sarı, K., Yaman, H., Coşkun, H., Akoğlu, A. *Geleneksel Mengen peynirinin mikrobiyal kalitesi, uçucu bileşen profili, tekstürel ve bazı kimyasal özellikleri / Microbial quality, volatile compounds profile, textural and some chemical properties of traditional Mengen cheese* **185-196**

Türker, İ., Koç, B., İşleroglu, H. *Püskürtmeli dondurarak kurutma işleminin maltodekstrinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi / Effect of spray-freeze drying process on physical properties of maltodextrin* **197-210**

Sürek, E., Ali Oğuz Büyükkileci, A. O. *Kritik altı su ile fındık atıklarından antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu / Extraction of antioxidant compounds from hazelnut wastes using subcritical water* **211-221**

Yüksel, F., Akdoğan, H. B., Çağlar, S. *Keten tohumu ile zenginleştirilmiş erişterin fizikokimyasal, duyuşal, pişme özellikleri ve yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi / Determination of physicochemical, sensory, cooking properties and fatty acid composition of noodles enriched with flaxseed* **222-230**

Yıldırım Çelik, S. *Çiğdem (Crocus biflorus) yumrularından proteaz enziminin saflaştırılması ve saflaştırılan enzimin kazeinin koagülasyonunda kullanılabilirliğinin araştırılması / Purification of protease enzyme from çiğdem (Crocus biflorus) tubers and investigation of usability of the purified protease enzyme in coagulation of casein* **231-239**

Arslan Burnaz, N., Hendek Ertop, M., Şeyda Merve Karataş, Ş. M. *Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ile ekmeğin fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi / Enrichment of phenolic content of bread by using of medicinal and aromatic plants* **240-249**

Uzkuç, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. *Lipaz enzimi ve destek kültür kullanımının keçi peynirinin olgunlaşması üzerine etkileri / Effects of lipase enzyme and adjunct culture on goat cheese ripening* **250-263**

Öztürk, F., Gündüz, H. *İzmir'de satışa sunulan su ürünlerinde koagülaz pozitif Staphylococcus aureus'un insidansı ve antibiyotik direnci / The incidence and antibiotic resistance of coagulase positive Staphylococcus aureus in seafoods marketed in Izmir* **313-320**

Gülcü, M., Dağlıoğlu, F. *Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol miktarı ve biyoaktif özelliklerde meydana gelen değişimler / Changes in resveratrol content and bioactive properties during production process of red grape juice* **321-332**

Tabar, B., Baştürk, A. *Farklı bitkisel ekstraktların ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri / Effects of different herbal extracts on oxidative stability of sunflower oil* **333-346**

Özlük Çilak, G., Halkman, A. K. *Çeşitli besiyerlerinin Bacillus cereus sporlanmasındaki etkisi üzerine bir araştırma / A research on the effect of various culture media for sporulation strenght of Bacillus cereus* **347-355**

Becerikli, F., Başoğlu, F. *Geleneksel ürünlerimizden olan köftürün bazı biyoaktif, fizikokimyasal ve kimyasal özellikleri / Some bioactive, physicochemical and chemical properties of koftur as a traditional food* **356-363**

Bildiri Özetleri (Türkçe) / Proceedings (Turkish)

Sarı, G., Mehmet Özkök, M. I. *Gıda ve tıp öğrenci kongresi; 7 Mayıs 2017* **364-369**

Editörden,

Merhaba,

Dergimizin 2018 yılı 43. cilt 2. sayısı ile yine birlikteyiz. Bu sayımızda 5 İngilizce araştırma, 12 Türkçe araştırma ve önceki sayılarımızdan farklı olarak bildiri özetlerini içeren 1 adet "Bildiri özetleri " olmak üzere toplam 18 makale bulunmaktadır.

Türkçe olarak hazırlanmış bu "Bildiri özetleri" makalesi, bir anlamda editör tarafından GIDA Dergisine sunulmuş bir makaledir. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü lisans öğrencileri ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi lisans öğrencileri, 07 Mayıs 2017 tarihinde ortaklaşa olarak bir program düzenlediler. Farklı üniversitelerin gıda mühendisliği, tıp ve beslenme bölümlerindeki lisans öğrencileri bu etkinlikte beraber oldular. Etkinliğin temel amacı, gıda konusunda farklı disiplinlerin bir araya gelmesini ve evrensel doğrulara beraberce yürünmesini sağlamak idi. Bu etkinlik amacına beklenen hedeften daha fazla ulaştı. GIDA Dergisi olarak; (Gıda + tıp) x (sözlü ve poster bildiri) x ilk 3 sıra olmak üzere, 12 bildiriye, öğrencileri destekleme amacıyla yayımlama kararı aldık.

Dergimize <http://dergipark.gov.tr/gida> adresinden doğrudan erişebilirsiniz.

Nevşehir Hacı Bektaş Üniversitesi'nde yapacağımız 3. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongremizin kayıtları devam etmektedir. 15 Ocak 2018 tarihi, bildiri özeti gönderilmesi için son tarih değildir. Bu tarihten sonra da bildiri özeti göndermek mümkündür. Nitekim bu tarihte yeni bildiri özetleri gelmektedir. Kongre web sayfasında da verildiği gibi, 15 Ocak 2018 tarihi erken kayıt ödemesi için son tarih idi. Bu tarihten sonra gönderilen bildiri özetleri erken kayıt ücreti ödeme şansını kaçırdı. Kongre programı uyarınca kabul edilen bildirimleri 01 Mart 2018 tarihinden itibaren sorumlu yazarlara bildirmeye başlayacağız ve 01 Nisan 2018 tarihine kadar erken kayıt ücreti tarifesi üzerinden ödeme yapmalarını isteyeceğiz.

Bildirilerin poster ya da sözlü sunum olarak kabul edilmesi ya da reddedilmesi, Kongre Bilimsel Kurulu'nda yer alan hakemlerimizin önceliğindedir, ancak farklı hakemlerden farklı görüşler gelirse kuşkusuz Kongre Düzenleme Kurulu devreye girecektir. Kabul edilen her bildiri için sorumlu yazara:

"-Bildiri özetiniz poster bildiri olarak kabul edildi, sözlü bildiri olmasında ısrarcı mısınız?"

Ya da

"-Bildiri özetiniz sözlü bildiri olarak kabul edildi, poster bildiri olmasında ısrarcı mısınız?"...şeklinde e-mail göndereceğiz ve ivedi olarak yanıt vermelerini isteyeceğiz.

Kongre Sözlü Bildiri Programı'nın yapılabilmesi, ancak ve ancak belirli bir tarihe kadar gönderilen ve bu şekilde kabul edilen bildirimler ile mümkündür. Buna göre 01 Mayıs 2018 tarihine kadar gönderilen bildiri özetleri, sözlü ya da poster olarak değerlendirmeye alınacak ancak bildiri özeti son gönderim tarihi olan 01 Temmuz 2018'den sonra gönderilecek tüm bildirimler poster bildiri olarak değerlendirilecektir. 01 Temmuz 2018 sonrası gönderilecek hiçbir bildiri kabul edilmeyecektir.

Sevgi ve saygılarımla,

Prof. Dr. A. Kadir Halkman
GIDA Dergisi Editörü

A Message from the Editor-in-Chief

Hello,

We are together again with the 2nd issue of the volume 43 of our journal in 2018. There are totally 18 articles, including 5 research articles in English, 12 research articles in Turkish, and unlike in the previous issues, 1 proceedings article in Turkish in this issue.

This Editorial article in Turkish is an article which is presented to the Food Journal by the editor in a sense. The undergraduate students of Food Engineering Department of Hacettepe University and the undergraduate students of Faculty of Medicine of Ankara University organized a joint program on May 7 in 2017. Undergraduate students from the departments of food engineering, medicine and nutrition of different universities were involved in this event. The main purpose of this activity was to ensure the different disciplines of food to bring together and walk together with universal truths. The purpose of this activity has reached more than the expected goal. As Food Journal; we decided to publish 12 proceedings which were the first 3 poster and oral proceedings winners from both food and medicine parts [(Food + medicine) x (oral and poster proceedings) x first 3 winners] to support the students.

You can access our journal directly at <http://dergipark.gov.tr/gida>.

The registration to the 3rd International Congress on Food Technology which will be held in Nevsehir Haci Bektas University, has still been continuing. The date of January 15, 2018 is not the deadline for abstract submission. After this date, it is possible to submit abstracts. As a matter of fact, new abstracts are coming on this date. As stated at the Congress web page, the date of January 15, 2018 was the deadline for abstract submission for early-bird registration. Submissions after this date missed the chance to pay early-bird registration fees. We will begin notifying the corresponding authors for their abstracts accepted under the Congress program from the date of March 01, 2018 and will require them to make an early-bird registration payment by the date of April 01, 2018.

The acceptance or rejection of the abstracts as poster or oral presentation is at the initiative of our reviewers in the Congress Scientific Committee, but if different comments come from different reviewers, the Congress Organizing Committee will surely come into commission. For the all accepted abstracts, we will send an e-mail to the corresponding author as:

"-Your abstract is accepted as a poster presentation are you insisting on its oral presentation?"

Or

"-Your abstract is accepted as a poster presentation, are you insisting on its oral presentation?"...and we will want them to reply as soon as possible.

The scheduling of the Congress Oral Presentation Program can only be made by means of abstracts which are submitted and accepted by a specific date. Accordingly, the abstracts submitted until the date of May 01, 2018 will be evaluated for oral or poster presentation, but all abstracts submitted after the date of July 01, 2018, which is the deadline for abstract submission, will be evaluated as poster presentation. No abstracts submitted after the date of July 01, 2018, will be accepted.

Best Regards,

Prof. A. Kadir Halkman
Editor of Journal of FOOD

GELENEKSEL MENGEN PEYNİRİNİN MİKROBİYAL KALİTESİ, UÇUCU BİLEŞEN PROFİLİ, TEKSTÜREL VE BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Kübra Sarı¹, Hülya Yaman^{*2}, Hayri Coşkun¹, Aylin Akoğlu²

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

²Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu Turizm İşletmeciliği ve Otelcilik Yüksekokulu, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / *Received*: 26.09.2017; Kabul / *Accepted*: 06.01.2018; Online baskı / *Published online*: 16.02.2018

Sarı, K., Yaman, H., Coşkun, H., Akoğlu, A. (2018). Geleneksel Mengen peynirinin mikrobiyel kalitesi, uçucu bileşen profili, tekstürel ve bazı kimyasal özellikleri. *GIDA* (2018) 43 (2): 185-196 doi: 10.153237/gida.GD17089

ÖZ

Bu çalışmada, geleneksel peynirlerimizden biri olan Mengen peynirinin kimyasal, biyokimyasal, tekstürel ve mikrobiyolojik özelliklerinin tanımlanması ve bazı uçucu bileşenlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kimyasal ve biyokimyasal analizlerde elde edilen ortalama sonuçlarda kuru madde %51.4±5.34, kül %3.57±0.73, protein %24±3.29, yağ %19.05±4.99, tuz %2.19±0.85, pH 5.72±0.44, asitlik %0.36±0.21, olgunlaşma indeksi değeri % 2.94±1.25, lipoliz değeri 0.87±0.73 meqKOH/100g-yağ olarak bulunmuştur. Mengen peyniri örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizlerin ortalama sonuçları toplam mezofilik aerobik bakteri 8.15±1.14 log KOB/g, laktik asit bakteri 7.19±1.42 log KOB/g, maya-küf 4.97±1.15 log KOB/g, koliform 6.09±1.36 log KOB/g, *E. coli* 3.79±1.87 log KOB/g, *S. aureus* 3.96±1.6 log KOB/g değerlerinde bulunmuş, *Listeria*, *Salmonella*, koagülaz pozitif *S. aureus*, *E. coli* O157 patojenlerine rastlanmamıştır. Tekstürel özelliklerin geniş bir profile sahip olduğu ve 130 uçucu bileşen bulunduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mengen peyniri, geleneksel peynir, çiğ süt peyniri

MICROBIAL QUALITY, VOLATILE COMPOUNDS PROFILE, TEXTURAL AND SOME CHEMICAL PROPERTIES OF TRADITIONAL MENGEN CHEESE

ABSTRACT

In this research, it was aimed to determine chemical, biochemical, textural, microbiological properties and some volatile compounds of traditional Mengen cheese. As results of chemical and biochemical analyses in Mengen cheese samples, dry matter was average 51.4±5.34%, ash 3.57±0.73%, protein 24±3.29%, fat 19.05±4.99%, salt 2.19±0.85%, pH 5.72±0.44, acidity 0.36±0.21%, ripening index % 2.94±1.25, lipolysis value (ADV) 0.87±0.73 meqKOH/100g-fat were found. Microbiologic analyses showed that Mengen cheese samples had average TMAB count as 8.15±1.14 log CFU/g, LAB 7.19±1.42 log CFU/g, yeast-mould 4.97±1.15 log CFU/g, coliform 6.09±1.36 log CFU/g, *E. coli* 3.79±1.87 log CFU/g, *S. aureus* 3.96±1.6 log CFU/g were found, *Listeria*, *Salmonella*, coagulase positive *S. aureus*, *E. coli* 0157 pathogen bacteria were not detected. It was determined that the textural properties were found in a wide range and 130 volatile compounds were obtained in the samples.

Keywords: Mengen cheese, traditional cheese, raw milk cheese

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*:

✉ hulyayaman@ibu.edu.tr

(+90) 537 709 62 02

☎ (+90) 374 253 49 45

GİRİŞ

Ülkelerin geleneksel ürün çeşitliliğinin bolluğu kültürel zenginliklerinin göstergelerindedir. Bu ürün çeşitliliğinin korunması ve endüstriye kazandırılması, hem kültürel hem de bölge ekonomisi açısından önem arz etmektedir. Aile işletmeleriyle kısıtlı kalmış ve kaybolmaya yüz tutmuş geleneksel ürünlerin geliştirilmesi, özelliklerinin belirlenip endüstriye uyarlanması kaçınılmaz bir zorunluluk haline gelmiştir. Mengen peyniri, Bolu ili Mengen yöresi ile sınırlı kalmış çiğ süttten üretilen geleneksel peynirlerimizden olup bölgede "köy peyniri" veya "köylü peyniri" olarak bilinmektedir. İnek sütü veya inek/koyun sütü karışımlarından üretilip, taze, olgunlaşmış veya kızartılarak tüketilebilmektedir. Mengen peyniri üretiminde süttün pıhtılaştırılması için buzağı şirdeninin kullanılması ile peynirin şişe takılıp ateşte veya tavada pişirilmesi bu peynirin ayırt edici özelliklerindedir (Sarı, 2016). Mengen peynirinin pıhtısının haşlanması ve lezzetinden dolayı kaşar peynirine benzetilmekte, ve benzer olarak yine pıhtısının haşlanması ve tavada pişirilmesiyle de Kıbrıs'ın hellim peynirine alternatif olarak görülebilmektedir. Mengen peynirinin üretimi Ünsal (1997) ve Kamber (2007) tarafından çeşitli kaynaklarda yer almış ancak koagülasyon sıcaklığı, peynir depolama koşulları ve raf ömrü bakımından farklılıklar görülmüştür.

Geleneksel Mengen peynir üretimine, şirdenin hazırlanmasıyla başlanmaktadır. Şirden temizlenip, tuzlanır ve kurutulur. Daha sonra yaklaşık 100-150 g tuz ve bir önceki üretimden kalan peynir altı suyu ile 5 litrelik kaba doldurulup, oda sıcaklığında (5 gün) bekletilir ve ardından süzülerek kullanılmak üzere buzdolabında (+4°C) bir hafta saklanır. Bu karışımdan yaklaşık 5 ml alınıp 100 ml suya eklenerek peynir mayası hazırlanır. Yaklaşık 10 L çiğ süt 35°C'ye ısıtılıp, hazırlanan maya ilave edilerek 1.5 saat pıhtılaşması için beklenir. Oluşan pıhtı büyük karelere (4cm x 4cm) kesilerek 1-2 dakika daha beklenir ve peynir altı suyunun ayrılmasını (syneresis) hızlandırmak için 50-60 gr daha tuz ilave edilip 10 dakika daha beklenir. Pıhtı 45-50°C'ye ulaşıncaya kadar ısıtılarak haşlamaya başlanır ve bu esnada pıhtı elle karıştırılarak toparlanıp peynir kitlesi haline

dönüştürülür. Sıcak peynir altı suyu içinden alınan peynir kütlesi altı delikli kaplara yerleştirilip, baskı için üzerine mermer taş koyularak bir gece bekletilir. Bu sürenin sonunda elde edilen ürünün dış yüzeyi kuru tuzlama yapılarak tüketime hazır hale getirilir (Sarı, 2016).

Mengen peynirinin yapılışı üzerine çeşitli kaynaklar bulunmakla beraber (Ünsal 1997; Kamber, 2007) kalitesi, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine çalışmalara rastlanamamıştır. Mengen peyniri çiğ süttten yapıldığından patojen bakteri açısından risk taşımaktadır. Bu nedenle ileriye dönük çalışmalara referans olabilmesi düşüncesiyle, Mengen peynirinin kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik, özelliklerinin ortaya konması çalışmanın ana amacını oluşturmaktadır. Bu çalışma, peynirin üretim teknolojisinin geliştirilmesi ve endüstriye kazandırılması noktasında ön çalışma niteliğinde olacaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Peynir örnekleri (50 adet) Mengen yöresinden yaz döneminde üç farklı periyotta (Haziran, Temmuz ve Ağustos) yerel pazarlardan satın alınmış ve örnekler izolasyonlu kaplara konularak Abant İzzet Baysal Üniversitesi laboratuvarına getirilmiş ve analiz edilinceye kadar 4°C'de tutulmuştur.

Yöntem

Kimyasal analizler

Örneklerin toplam kurumadde (ISO, 2004), kül (IDF, 1964), yağ (IDF, 2009), protein (IDF, 2014), tuz içeriği (IDF, 2006), titrasyon asitliği (IDF, 2012) değerleri Uluslararası Süt Federasyonu (IDF) standartlarına göre belirlenmiştir. Örneklerin su aktivite değerleri Aqualab 4TE (Decagon, USA) su aktivite cihazı ve pH değerleri (10 gr örnek üzerine 10 ml saf su) pH-720 pH metre (Inolab, Almanya) ile ölçülmüştür (Kurt vd., 1996). Renk ölçümleri ise Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japonya) ile L*, a* ve b* cinsinden D65 modunda gerçekleştirilmiştir.

Biyokimyasal analizler

Örneklerin suda çözünür azot (WSN) fraksiyonları ve olgunlaşma indeksi (% WSN / Total N) Durrieu vd (2006) 'e göre hazırlanmış ve WSN oranı Kjeldahl yöntemi (IDF, 2014) ile belirlenmiştir. Örneklerin asit derecesi değeri ise Case vd. (1985) göre meq KOH/100g-yağ cinsinden belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Peynir örneklerinin koliform bakteri (ISO, 2006), mezofilik aerobik bakteri (ISO, 1998), maya ve küf (IDF, 2004), laktik asit bakterileri (ISO, 1998), *S. aureus* (ISO, 1983), *E. coli* (ISO, 2001) sayımları ile koagülaz-pozitif *Staphylococcus* (ISO, 1999), *Salmonella* (ISO, 2002) ve *L. monocytogenes* (ISO, 2004) varlığı the International Organization for Standardization (ISO) ve IDF standartlarına göre belirlenmiştir.

Tekstürel analizler

Peynirlerin textürel profil özelliklerinin belirlenmesinde type100 probu ile TA.XT Plus Tekstür Analiz Cihazı (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, UK) kullanılmış ve test öncesi peynir örneklerinin oda sıcaklığına (20°C) gelmesi sağlanmıştır. Analiz öncesi ve sonrasında prob hızı 1.0 mm/s'de tutulmuş ve analiz 1.0 mm/s hızda gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde 4.00 mm çalışma mesafesi ve 5 g başlangıç kuvveti uygulanmıştır.

Uçucu bileşenlerin belirlenmesi

Mengen peyniri örneklerinin uçucu bileşen analizi Lubbers vd. (2004)'nin önerdiği katı faz mikro ekstraksiyon (Solid Phase Microextraction; SPME) yöntemi ile Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (Shimadzu GC-MS 2010) cihazı ile yapılmıştır. Peynir örneğinden 5 g alınarak 5 mL %10'luk NaCl çözeltisi içeren viallere aktarılmış ve -20°de bekletilmiştir. Analiz için viallere 75µm karboksilen-polidimetilsiloksan (CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) fiber yerleştirilerek 50° C'de 30 dakika boyunca bekletilmiş ve uçucu bileşenlerin desorpsiyonu split 1:10 modunda gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon esnasında enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250°C ve helyum taşıyıcı gaz akış hızı 1.0 ml/dk olarak belirlenmiştir. Uçucu bileşikler Rxi-5Ms

(0.25 mm ID, 0.25µmdf, 30mL) kolonla ayrılmış ve fırın 2 dakika süreyle 40°C'de tutulduktan sonra dakikada 4°C aralılarla 250°C'ye yükseltilmiş ve 15 dakika 250°C'de tutulmuştur. Uçucu bileşikler, aynı koşullar altında bir n-alkan serisi (C10-C24) kullanılarak her bileşiğin alıkonma indeksinin (RI) hesaplanmasıyla tanımlanmış bilinmeyen bileşiklerin kütle spektrumlarının Wiley 7 ve FFNSC 1.2 kütle spektrum kütüphanesindeki kütle spektrumlarının karşılaştırılması ile gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel analizler

Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS İstatistik Yazılımı (SPSS, 2009) kullanılarak yapılmış ve elde edilen değerler ortalama ve standart sapma şeklinde sunulmuştur. Periyotların karşılaştırılması için ANOVA varyans analizi kullanılmış ve gruplar arası farklar Tukey HSD testi ile belirlenmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Fizikokimyasal özellikler

Mengen peynir örneklerinin asitlik, pH, kül, tuz, protein, yağ ve kuru madde değerlerinin aylara göre değişimi Çizelge 1'de verilmiştir. Farklı dönemlerde üretilen peynirlerin kuru madde, protein, tuz ve titrasyon asitliği değerlerindeki değişimler önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Yaz boyunca, eklenen tuz miktarının artırılması peynir altı suyunun kolay ayrılmasını sağlayarak kurumadde değerinin yükselmesiyle sonuçlanmıştır ($P<0.05$). Ayrıca kurumaddedeki değişim çiğ süt bileşimi ve peynir üretim koşullarından da etkilenebilmektedir. Mengen peynirine benzeyen hellim peynirinin kuru madde ve protein içeriği sırasıyla %40.1- 58.4 ve %22.0-25.7 (Erbay vd., 2010, Papademas ve Robinson, 1998; Papademas ve Robinson, 2000; Milci vd., 2005; Kaminarides vd., 2000) iken kaşar peynirinde %64.00 (Öksüztepe vd., 2009) ve %25.39-25.71 (Say ve Güzeler, 2008) olduğu bilinmektedir. Mengen peynir üretiminde haşlama sıcaklığının düşük ve sürenin kısa tutulması, kuru madde ve protein kompozisyonunun diğer iki peynire göre düşük olmasına neden olabilir. Yaz döneminde mevsimsel sıcaklık artışının yanında süte pastörizasyon uygulanmadan peynir üretilmesi, çiğ sütteki starter olmayan laktik asit

bakterilerinin, laktik asit oluşturarak pH'yı düşürmesine sebep olmuştur. Son periyottaki yüksek laktik asit bakteri sayısı (Çizelge 3), pH değerlerindeki düşüşü destekler niteliktedir ($P<0.05$). Beklenen bir sonuç olarak, düşük pH'ya sahip peynir örneklerinde yüksek asitlik meydana gelmiştir ($P<0.05$). Kaşar peyniri pH ve titrasyon asitliği değerleri 5.29-5.39 (Öksüztepe vd., 2009)

ve %1.55-1.64 (Say ve Güzeler, 2008), hellim peynirinde ise sırasıyla, 5.9-6.3 ve %0.1-0.4 (Erbay vd., 2010, Papademas ve Robinson, 1998; Papademas ve Robinson, 2000; Milci vd., 2005; Kaminarides vd., 2000) aralığında rapor edilmiştir. Mengen peynirinde pH değerinin diğer peynirlere göre daha yüksek olması, üretimde fermantasyon basamağının uygulanmamasına bağlı olabilir.

Çizelge 1. Mengen peynirinin kimyasal bileşimi

Table 1. Chemical composition of Mengen cheese

Periyot Periods	Kurumadde (%) Dry solid (%)	Yağ (%) Fat (%)	Protein (%) Protein (%)	Tuz (%) Salt (%)	Kül (%) Ash (%)	pH pH	Asitlik (% L.A.) Acidity (% L.A.)
Haziran June	49.43±4.23 ^a	19.03±4.69 ^a	21.00±2.79 ^a	1.63±0.87 ^a	3.31±0.57 ^a	5.90±0.41 ^a	0.22±0.21 ^a
Temmuz July	51.74±4.96 ^{ab}	19.87±6.20 ^a	24.62±2.04 ^b	2.48±0.77 ^b	3.72±0.85 ^a	5.71±0.40 ^a	0.40±0.19 ^b
Ağustos August	52.63±3.58 ^b	18.45±4.34 ^a	25.79±2.89 ^b	2.40±0.81 ^b	3.66±0.72 ^a	5.42±0.37 ^b	0.44±0.19 ^b
Ortalama Mean	51.40±4.35	19.05±4.99	24.00±3.29	2.18±0.89	3.57±0.73	5.65±0.43	0.36±0.21

Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir. Farklı harf yazılı aynı satırdaki ortalamalar anlamlı farklıdır ($P<0.05$).

Values are expressed as mean ± standard deviation. Means in the same line with different letters differ significantly ($P<0.05$).

Biyokimyasal özellikler

Olgunlaşma indeksi, peynir teknolojisinde proteolitik aktiviteyi betimlemek için kullanılmaktadır. Diğer bir proteoliz göstergesi olan suda çözünen azot (WSN) oranı periyot boyunca artmış ve bu artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 2). WSN değerlerindeki bu artış, tuz (Papademas ve Robinson, 1998), pıhtılaştırıcı enzim ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin proteoliz üzerine destekleyici etkisinden kaynaklanabilmektedir (Guinee, 2004). Buzağı şirdeni, sadece kapa kazeine spesifik olan kimozin-pepsin enzim grubunu içermektedir. Bu

özelliklerinden dolayı diğer genel spektrumlu proteolitik mikrobiyel rennetlerin aksine proteolizi artırıcı etki göstermemiş ve sonuç olarak proteoliz değerleri düşük çıkmıştır. Kurt ve vd. (1993)'ne göre olgunlaşma katsayısı %33'den düşük olan peynirler az olgunlaşmış peynirler arasında yer almaktadır. Ayrıca, Türk Gıda Kodeksi Peyniri Tebliği (2015/6)'ne göre peynirin olgunlaşmış peynir olabilmesi için en az 45 gün süreyle olgunlaştırılması gerekmektedir. Bu değerler göz önüne alındığında, Mengen peyniri az olgunlaştırılmış peynir olarak sınıflandırılabilir.

Çizelge 2. Mengen peynirinin biyokimyasal özellikleri

Table 2. Biochemical properties of Mengen cheese

Periyot Period	WSN (%) WSN (%)	Olgunlaşma İndeksi Ripening Index	ADV ADV
Haziran June	0.10±0.03 ^a	3.00±0.88 ^a	0.69±0.32 ^a
Temmuz July	0.07±0.03 ^a	1.89±0.86 ^b	0.69±0.48 ^a
Ağustos August	0.15±0.04 ^b	3.68±1.05 ^c	1.13±0.99 ^a
Ortalama Mean	0.11±0.05	2.94±1.191	0.87±0.729

Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir. Farklı harf yazılı aynı satırdaki ortalamalar anlamlı farklıdır ($P<0.05$). WSN: suda çözünen azot (%); ADV: asit değeri (meq KOH g/yağ)

Values are expressed as mean ± standard deviation. Means in the same line with different letters differ significantly ($P<0.05$). WSN: water soluble nitrogen (%); ADV: Acid degree value (meq KOH g/fat)

Aromanın gelişmesinde önemli fonksiyon sahip olan lipolitik aktivite, serbest asit değeri (ADV, Acid Degree Value) belirlenmesiyle değerlendirilir. Mengen peynirinin ADV değeri, 0.69' dan 1.13 meq KOH/100g yağ değerine yükselmiş ancak bu artış önemli bulunmamıştır. Kaminarides ve vd. (2000) hellim peynirinin ADV değerlerini 0.94-1.31 meq KOH/100g yağ aralığında, kaşar peynirinde 1.75-2.15 meq KOH/100g yağ (Öksüztepe vd., 2009) aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Sütün lipoliz değeri 1.5 meq KOH /100 g yağın üzerine çıktığında lipolizin aşırı olduğu (Durrieu vd., 2006) varsayıldığında Mengen peynir örneklerinin peynirin lipoliz oranının düşük olduğu söylenebilir.

Mikrobiyolojik özellikler

Çiğ sütteki mikroorganizmalar, meme çevresi, kap yüzeyi ve sütün depolandığı ekipman ve ortamdaki bulaşmaktadır (Tunçtürk vd., 2010). Çiğ süttten

yapılan Mengen peynirinin su aktivite değerlerinin 0.97-0.98 civarında bulunması, mikroorganizmalar için ideal bir ortam yaratmış ve sonuçta mikrobiyel yükün yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Örneğin TMAB, laktik asit bakterileri, maya ve küf ve *E.coli* sayısında artış gözlenmiş ve bu değişimler önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Mevsimsel sıcaklık artışı, kontaminasyon ve ısl işlemin olmayışı Mengen peynirinde, mikrobiyel gelişmeyi desteklediği tahmin edilmektedir. Maya ve küf, ise gıdalarda istenmeyen tad-aroma kusurlarına ve gıda maddelerinde bozulmalara neden olmaktadır. Yiyeceklerde maya ve küfün yüksek miktarda bulunması kontaminasyonu işaret eder (Kaynar, 2010) ve üretim koşulları hakkında ipucu verir. Hellim peynirinde üretim koşullarından dolayı mikrobiyel yük düşük iken (Kaminarides vd., 2000), Kaşar peynirinde fermantasyon işleminden dolayı laktik asit ve maya-küf sayılarının daha fazla bulunduğu (Öksüztepe vd., 2009) bilinmektedir.

Çizelge 3. Mengen peynirinin mikrobiyolojik özellikleri

Table 3. Microbiological properties of Mengen cheese

	Haziran <i>June</i>	Temmuz <i>July</i>	Ağustos <i>August</i>	Ortalama <i>Mean</i>
TMAB <i>TMAB(log CFU/g)</i>	7.49±1.11 ^a	8.02±1.18 ^{ab}	8.73±0.85 ^b	8,15±1,142
Lb. <i>Lb. (log CFU/g)</i>	6.82±1.62 ^a	7.89±1.27 ^b	8,01±0.97 ^b	7,57±1,416
Lc. <i>Lc. (log CFU/g)</i>	6.23±1.62 ^a	7.43±1.27 ^b	7.73±0.97 ^b	7,19±1,416
Maya/Küf <i>Yeast/Mould (log CFU/g)</i>	3.81±1.15 ^a	5.21±0.75 ^b	5.67±0.61 ^b	4,97±1,145
Koliform <i>Coliform (log CFU/g)</i>	6.38±1.83 ^a	5.92±1.44 ^a	6±0.84 ^a	6,09±1,365
<i>E. coli (log CFU/g)</i>	2.71±1.09 ^a	4.13±2.21 ^b	4.35±1.78 ^b	3,79±1,865
<i>S. aureus (log CFU/g)</i>	4.03±0.76 ^a	5.05±1.52 ^b	3.09±1.64 ^a	3,96±1,595
<i>Listeria</i>	N.D.	N.D.	N.D.	
<i>Salmonella</i>	N.D.	N.D.	N.D.	
<i>E. coli O157</i>	N.D.	N.D.	N.D.	
Ko. p. <i>S. aureus Coa. p. S. aureus</i>	N.D.	N.D.	N.D.	
Su aktivitesi <i>Water activity (a_w)</i>	0.98±0.01 ^a	0.98±0.01 ^{ab}	0.97±0.02 ^b	0,98±0,014

Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir. Farklı harf yazılı aynı satırdaki ortalamalar anlamlı farklıdır ($P < 0.05$). TMAB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri, Ko. p: Koagülaz pozitif, Lb: *Lactobacillus*, Lc: *Lactococcus*
Values are expressed as mean ± standard deviation. Means in the same line with different letters differ significantly ($P < 0.05$).
TMAB: Total Mesophilic Aerob Bacteria, Coa. p.: coagulase positive, Lb: *Lactobacilli*, Lc: *Lactococci*

E. coli, %10'dan fazla tuz içeren ortamlarda bile gelişebilmekte ve peynirlerde erken şişme, yapı bozulmasına ve istenmeyen tat-aroma oluşumuna neden olmaktadır. Memede bulunmayan bu bakterinin kötü hijenik koşulların sonucunda çevreden çiğ süte ve peynire geçtiği tahmin

edilmektedir. Diğer yandan *S. aureus* çoğu süt ve süt ürünüde yetersiz pastörizasyon ve çevresel kontaminasyonun bir sonucu olarak gıda zehirlenmesi yapabilmektedir. *Salmonella* türleri ise çoğunlukla hayvansal ürünlerde görülür ve insanlarda ateş, septisemi ve gastroenterit

oluştururlar. Peynirde bulunabilen diğer patojen mikroorganizma *L. monocytogenes* çevre malzemeler ve işleme yüzeylerinden kontamine olduğu bilinmektedir (Rysha, 2004). Mengen peyniri örneklerinde *Listeria*, *Salmonella*, *E. coli* O157 ve koagülaz pozitif *S. aureus* bakterilerine rastlanmamıştır. Çiğ süttten üretilen peynirlerde patojen bakterilerin bulunmaması, bölgedeki çiğ süttün kalitesi hakkında bilgi vermektedir.

Tekstürel Özellikler

Mengen peyniri örneklerinin tekstür profil değerlerine bakıldığında genel olarak sert bir yapı gösterdiği görülmüştür. Peynirin pıhtısının haşlanması bir yandan peynir altı suyunun daha fazla uzaklaşmasını sağlarken bir yandan moleküler arası etkileşim artarak sıkı bir doku

oluşturmuştur. Ayrıca yaz dönemi boyunca sertlik değerlerindeki (Çizelge 4) artışlar önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Aynı değişim tuz miktarında da gözlenmiş ve tuz miktarının sertliği etkilediği düşünülmektedir. Tekstürel özelliklerdeki farklılıklar standart bir üretim teknolojisi olmadığı göstermektedir. Gıdaların kabulünde diğer bir kritik kalite parametresi renk özellikleridir (Şengül vd., 2011). Peynir örneklerinin renk değerleri farklı üretim periyotlarından etkilenmemiş ($P>0.05$) ve L değeri (açıklık-koyuluk) 85.53-86.06 arasında, b değeri (sarılık-mavilik) 18.96-20.28 arasında değiştiği gözlenmiş ve genel ifade ile açık sarı renkli olduğu söylenebilmektedir. Diğer iki peynirde tekstürel ve renk değerleri üzerine çalışmaya rastlanmamıştır.

Çizelge 4. Mengen peynirinin tekstürel özellikleri
Table 4. Textural profile and color properties of Mengen cheese

	Haziran June	Temmuz July	Ağustos August	Ortalama Mean
Sertlik <i>Hardness</i> (g)	4618.44±1539.56 ^a	6627.01±2466.29 ^b	5942.06±2753.69 ^{ab}	5750.46±2449.05
Dış Yapışkanlık <i>Adhesiveness</i> (g.s)	-73.92±81.79 ^a	-91.73±73.40 ^a	-97.53±92.18 ^a	-88.71±82.75
Elastikiyet <i>Springiness</i>	0.85±0.04 ^a	0.84±0.05 ^a	0.83±0.04 ^a	0.84±0.04
İç yapışkanlık <i>Cohesiveness</i>	0.65±0.09 ^a	0.57±0.13 ^b	0.56±0.11 ^b	0.59±0.11
Sakızimsılık <i>Gumminess</i> (g)	2960.51±868.68 ^a	3693.17±1391.29 ^a	3337.67±1693.21 ^a	3331.17±1400.89
Çiğnenabilirlik <i>Chewiness</i> (g)	2498.48±737.01 ^a	3104.87±1163.55 ^a	2763.2±1405.19 ^a	2786.28±1168.03
Esneklik <i>Resilience</i>	0.31±0.07 ^a	0.26±0.08 ^b	0.25±0.07 ^b	0.27±0.08
L* L*	86.06±3.40 ^a	84.61±2.54 ^a	85.53±3.78 ^a	85.41±3.32
a* a*	-2.76±0.75 ^a	-2.58±0.62 ^a	-2.8±0.84 ^a	-2.72±0.74
b* b*	18.96±1.49 ^a	19.5±2.97 ^a	20.28±2.65 ^a	19.65±2.49

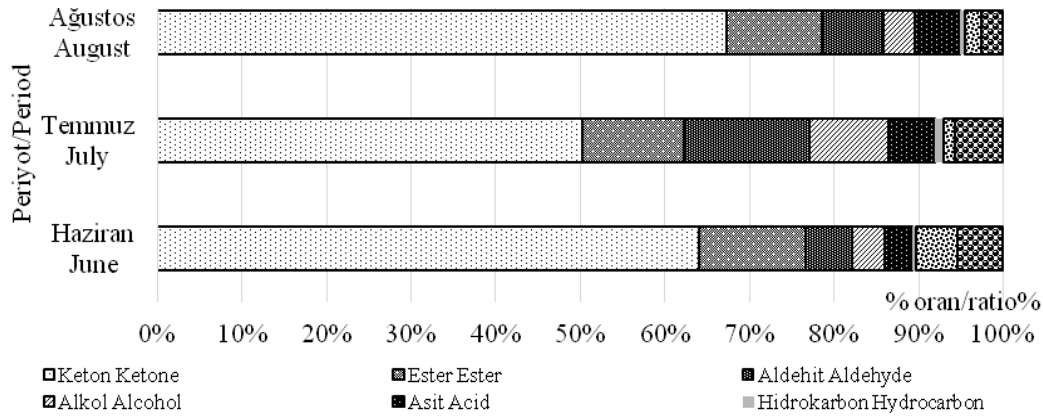
Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir. Farklı harf yazılı aynı satırdaki ortalamalar anlamlı farklıdır ($P<0.05$).

Values are expressed as mean ± standard deviation, Means in the same line with different letters differ significantly ($P<0.05$).

Uçucu Bileşen Profili

Genelde çiğ süttten yapılan peynirler karakteristik özellikler sergilemektedirler. Çiğ süt florası uçucu bileşenlerde çeşitlilik yaratırken peynirin tipik organoleptik özelliklerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Uçucu bileşenler, olgunlaşma ile protein, yağ, laktoz ve sitrat üzerindeki enzimatik reaksiyonlarla oluşmaktadır (Steele ve Ünlü, 1992). Mengen peyniri örneklerinde toplam 130 uçucu bileşen (17 keton, 25 aldehit, 30 ester, 18

alkol, 7 asit, 14 hidrokarbon, 7 terpen ve 12 diğer) tespit edilmiştir (Çizelge 5). Peynirlerden izole edilen kimyasal grupların aylara göre değişimine bakıldığında (Şekil 1) aldehit, alkol ve hidrokarbonların Temmuz ayında arttığı ve Ağustos ayında azaldığı görülmektedir. Ketonlar ise aksine Temmuz ayındaki en düşük seviyededir. Terpenler ve diğer bileşikler ise dönem boyunca azalma eğilimi göstermiştir.



Şekil 1. Mengen peynirinden izole edilen uçucu bileşenlerin temel kimyasal gruplarının değişimi

Figure 1. Variation of the main chemical groups of volatile compounds isolated from Mengen cheese

Karboksilik asitler peynir lezzetine katkıda bulunmakla beraber metil ketonlar, alkol esterleri ve laktonların öncüsü olarak bulunurlar ve lipid metabolizmaları tarafından oluşturulurlar (Leon vd., 2006). Butirik asit çoğunlukla lipoliz ile üretilir ve birçok amino asit metabolizmasına katılır (McSweeney ve Sousa, 2000). Kötü kokulu olan izobutirik asit ise valin ve lösin amino asit metabolizmasına katkıda bulunmaktadır (Carbonell vd., 2002). Mengen peyniri örneklerinde tespit edilen 7 karboksilik asit bileşiği (Çizelge 5) yaz dönemi boyunca artış göstermiştir ($P < 0.05$). Elde edilen sonuçlar, hellim peyniri (Carbonell vd., 2002) ve kaşar peyniri (Hayaloğlu, 2009) ile çığ süttten yapılan Torta del Casar peynirine (Delgado vd., 2010) benzerlik göstermektedir. Esterler, alkollerin kısa zincirli karboksilik asitlerle esterifikasyonu ile oluşmaktadır (Bosset vd., 1993). Meyvemsi aromaları, amin acısı ve yağ asitlerinin keskinliğini azaltmaya yardımcı olurlar (Delgado vd., 2010; Gallois, ve Langlois, 1990). İzobütiril-format, metil-bütirat, etil-izobütirat, etil-bütirat, etil-kapronat, etil-oktanoat, fenetil-asetat ve dietil-fitalat Mengen peynirinde en sık gözlenen ester bileşikleridir. Alkoller ise laktoz metabolizması, metil ketonların indirgenmesi ve doymamış yağ asitlerinin parçalanması ile meydana gelmektedir (Bontinis vd., 2012). Mengen peynir örneklerinde fenetil alkol, setil alkol, metil pentanol, metiyonol

ve izoamil alkol diğer alkollere göre daha yüksek seviyede bulunmuştur. Alkol bileşikleri, peynirin olgunlaşmamış olması nedeniyle düşük seviyede bulunmuştur.

Ketonlar esas olarak lipaz ile trigliseridlerin serbest yağ asitlerine dönüştürülmesinin sonucu olarak fungal veya bakteriyel enzimlerin etkisiyle oluşurlar. Ketonlar, alkollere indirgenemekte ve peynirlere keskin tat verebilmektedir (Leon vd., 2006; Bontinis vd., 2012). Propil metil keton (2-pentanon), dietil keton (pentanon), metil izobutil keton (2-pentanon), amil metil keton (2-heptanon) ve asetil propionil (2,3-pentadion) Mengen peynirinde tüm dönemlerdeki baskın keton bileşikleridir (Çizelge 5) ve kaşar peyniri ile benzerlik göstermektedir (Leon vd., 2006). Diasetil, laktoz sitrat veya piruvattan çığ süt bakterileri veya laktik asit bakterileri tarafından üretilirken, Diasetil'in oksidasyonu ile oluşan aseton meydana gelmektedir (Molimard ve Spinnler, 1996). Aldehitler, algı eşiği çok düşük, amino asitlerin katabolizması sırasında oluşan geçici bileşiklerdir. Peynirde birikmezler ve hızlı alkoller ve asitler haline dönüştürülürler (Bontinis vd., 2012; Di Cagno vd., 2003). Mengen peynirinde, kaşar peynirine benzer olarak (Bosset vd., 1993) valeraldehit ve pelargonaldehit diğer aldehitlerden daha yüksek düzeyde bulunmuştur.

Çizelge 5. Periyotla boyunca Mengen peynirinin uçucu bileşen profili (% değerleri)
 Table 5. Volatile compounds profile of Mengen cheese during periods (value %)

<i>Chemical groups (%)</i>	RI	Haziran <i>June</i>	Temmuz <i>July</i>	Ağustos <i>August</i>	<i>Chemical groups (%)</i>	RI	Haziran <i>June</i>	Temmuz <i>July</i>	Ağustos <i>August</i>
<i>Aldehydes (twenty five)</i>					<i>Ester (thirty)</i>				
Propylene glycol	<800	0.02	0.07	0.11	Isopropyl-acetate	<800	0.00	0.00	0.21
2-Pentaldehid	<800	0.13	0.58	0.02	Isobutyl-formate	<800	1.27	1.27	5
Valeraldehid	<800	2.53	0.09	0.1	Methyl-butyrate	<800	1.52	0.96	0.00
2-Methyl-Butyraldehid	<800	0	0	1.73	Ethyl-isobutyrate	<800	3.96	2.00	0.99
Capronaldehid	801	0.48	2.3	0.41	Isobutyl-acetate	<800	0.03	0.00	0.00
Enantaldehid	901	0.08	1.28	0.57	Ethyl-butyrate	803	1.51	0.68	0.32
Amyl methyl carbinol	911	0.02	0.07	1.34	Ethyl-lactate	811	0.00	0.29	1.07
2-Heptenal	954	0.02	0.09	0.02	Butyl-acetate	813	0.12	0.00	0.00
Capryaldehid	1001	0.06	0.42	0.22	Methylbutyl-acetate	874	0.11	0.5	0.1
2,4-Heptandienal	1007	0.02	0.25	0.02	Methyl-caproate	924	0.26	0.02	0.04
Phenylacetaldehid	1042	0.03	0.08	0.03	Ethyl-acetoacetate	941	0.00	0.11	0.00
2-Octenal	1056	0.02	0.11	0.02	Methanethiol butyrate	947	0.23	0.04	0.06
Pelargonaldehid	1103	1.68	3.66	2.29	Ethyl-capronate	999	1.08	1.61	1.72
2-Nonenal	1159	0.02	0.39	0.04	Heptyl-formate	1030	0.00	0.03	0.00
Capraldehid	1205	0.04	0.19	0.06	Methyl-caprylate	1124	0.07	0.00	0.00
2-Decenal	1262	0.07	1.34	0.04	Octyl-formate	1123	0.00	0.08	0.00
Hendecanal	1306	0.02	0.35	0.03	Isobutyl-hexanoate	1150	0.00	0.00	0.08
2,4-Decadienal	1315	0.02	0.49	0.02	Octyl-acetate	1151	0.00	0.03	0.00
8-Undecenal	1363	0.09	2.14	0.07	Ethyl-benzoate	1161	0.05	0.11	0.21
Lauric aldehid	1407	0	0.31	0.01	Ethyl-octanoate	1197	0.21	1.22	0.14
2,4-Undecadienal	1419	0.02	0.09	0.02	Isoamyl-caproate	1249	0.00	0.32	0.11
2-Dodecenal	1467	0.02	0.12	0.02	Phenethyl-acetate	1256	0.4	1.25	0.94
Tridecylaldehid	1510	0	0.22	0.01	Pentylallyl butyrate	1280	0.00	0.00	0.03
2-Tridecenal	1569	0.02	0.1	0.02	Menthyl acetate	1293	0.00	0.06	0.00
Tetradecanal	1612	0.02	0.32	0.02	Caprylyl-isobutyrate	1347	0.00	0.02	0.00
<i>Total aldehydes</i>		<i>5.43^a</i>	<i>15.06^b</i>	<i>7.24^c</i>	Ethyl-decanoate	1393	0.07	0.92	0.14
<i>Alcohols (eighteen)</i>					Diethyl-phthalate	1594	1.7	0.00	0.00
Isoamyl alcohol	<800	0.00	0.35	0.85	0.00	1725	0.00	0.24	0.00
Pentenol	<800	0.00	0.33	0.00	Methyl-palmitate	1925	0.02	0.09	0.03
Methyl-Pentanol	802	2.00	1.49	0.41	Isopropyl-palmitate	>2000	0.05	0.28	0.24
Hexanol	866	0.01	0.41	0.11	<i>Total esters</i>		<i>12.66^a</i>	<i>12.13^{ab}</i>	<i>11.43^b</i>
Heptanol	969	0.04	0.05	0.00	<i>Hydrocarbons (fourteen)</i>				
Methionol	976	0.00	0.00	0.87	Butane	801	0.00	0.13	0.06
Hexanol	1028	0.05	0.01	0.04	Heptenone	986	0.01	0.00	0.16
Benzyl alcohol	1034	0.00	0.04	0.00	Decane	999	0.03	0.00	0.00
Capryl alcohol	1071	0.00	1.5	0.03	Dodecane	1199	0.13	0.00	0.01
Phenethyl alcohol	1112	1.59	2.94	1.36	Copaene	1378	0.03	0.00	0.00
Terpineol	1190	0.00	0.19	0.00	Tetradecane	1398	0.08	0.01	0.01
Dihydrocitronellol	1191	0.00	0.08	0.00	Pentadecane	1499	0.02	0.18	0.00
Decyl alcohol	1273	0.00	0.04	0.00	Hexadecane	1599	0.00	0.04	0.00
Undecyl alcohol	1373	0.00	0.1	0.00	Heptadecane	1699	0.00	0.02	0.00
Lauryl alcohol	1474	0.00	0.14	0.00	Octadecane	1803	0.00	0.06	0.00
Tridecyl alcohol	1575	0.00	0.02	0.00	Nonadecane	1898	0.00	0.14	0.02
Myristic alcohol	1677	0.00	0.05	0.00	Eicosane	1998	0.04	0.25	0.08
Cetyl alcohol	1881	0.19	1.68	0.00	Heneicosane	2093	0.03	0.19	0.15
<i>Total alcohols</i>		<i>3.88^a</i>	<i>9.42^b</i>	<i>3.67^a</i>	Pentacosane	>2000	0.00	0.04	0.00
					<i>Total hydrocarbons</i>		<i>0.37^a</i>	<i>1.06^b</i>	<i>0.49^c</i>

Means in the same line with different letters differ significantly ($P < 0.05$), RI: retention index.

Geleneksel Mengen peynirinin karakterizasyonu

Çizelge 5. Devamı
Table 5. Continued

<i>Chemical groups</i>	RI	Haziran <i>June</i>	Temmuz <i>July</i>	Ağustos <i>August</i>	<i>Chemical groups</i>	RI	Haziran <i>June</i>	Temmuz <i>July</i>	Ağustos <i>August</i>
<i>Ketones (seventeen)</i>					<i>Miscellaneous (twelve)</i>				
Acetylpropionyl	<800	18.07	26.02	23.68	Mercaptan	<800	4.75	2.24	2.18
Propyl methyl ketone	<800	16.26	5.37	6.38	2-Methyl-Thiophen	987	0.04	0.32	0.00
Diethyl ketone	<800	14.64	4.88	20.23	Myrcene	990	0.03	0.00	0.00
Methyl isobutyl ketone	<800	2.35	0.13	0.20	Benzyl mercaptan	1078	0.00	0.04	0.00
Ethyl n-propyl ketone	<800	0.00	0.04	0.00	Hydroxymethylfurfural	1225	0.00	0.08	0.00
Acetoin	<800	7.61	6.64	11.36	Octalactone	1260	0.02	0.07	0.02
Butyrene	871	0.02	0.25	0.02	Decalactone	1451	0.10	0.80	0.25
Amyl methyl ketone	889	2.91	3.47	3.52	Undecalactone	1574	0.02	0.13	0.02
Cyclohexanone	943	0.00	0.00	0.03	Dodecalactone	1680	0.08	0.10	0.02
Hexyl methyl ketone	990	0.00	0.07	0.00	Phytone	1846	0.00	0.11	0.00
Heptyl methyl ketone	1090	1.08	1.75	1.44	Tetradecalactone	1923	0.16	0.74	0.02
Pyruvophenone	1159	0.02	0.07	0.05	Phytol	>2000	0.15	1.07	0.03
Heptylidene acetone	1248	0.02	0.17	0.03	<i>Total miscellaneous</i>		<i>5.35^a</i>	<i>5.7^a</i>	<i>2.54^b</i>
Diamyl ketone	1280	0.00	0.00	0.01	<i>Acids (seven)</i>				
Nonyl methyl ketone	1293	0.45	0.51	0.49	Propionic acid	<800	0.00	0.00	0.06
Methyl undecyl ketone	1496	0.43	0.53	0.18	Isobutyric acid	<800	0.03	0.04	3.08
Tridecyl methyl ketone	1698	0.34	1.02	0.00	Butyric acid	<800	0.00	0.00	0.12
<i>Total ketones</i>		<i>64.2^a</i>	<i>50.92^b</i>	<i>67.62^a</i>	Isocaproic acid	981	0.73	1.33	0.57
<i>Terpens (seven)</i>					Caproic acid	1173	1.28	1.67	0.73
Alpha-Pinene	931	0.16	0.03	0.00	Caprylic acid	1268	0.13	1.00	0.22
L-Limonene	1027	2.50	1.23	1.60	Nonanoic acid	1364	1.2	1.53	0.71
Para-Cymene	1022	2.06	0.03	0.37	<i>Total acids</i>		<i>3.37^a</i>	<i>5.57^b</i>	<i>5.49^b</i>
Terpinene	1057	0.02	0.00	0.00					
Terpinolene	1088	0.00	0.04	0.00					
Ionone	1418	0.04	0.04	0.00					
Beta-Caryophyllene	1422	0.19	0.05	0.04					
<i>Total terpens</i>		<i>4.97^a</i>	<i>1.42^b</i>	<i>2.01^c</i>					

Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir. Farklı harf yazılı aynı satırdaki ortalamalar anlamlı farklıdır ($P < 0.05$).

Means in the same line with different letters differ significantly ($P < 0.05$), RI: retention index.

Hidrokarbonlar ise peynir aromasına katkıda bulunmayan ve peynirlerde eser miktarlarda bulunan bileşiklerdir (Hayaloğlu, 2009; Gallois ve Langlois, 1990). Mengen peynirinde bulunan hidrokarbonlar da benzer olarak eser oranda bulunmaktadır. Terpenler ise olgunlaşma ile oluşmayan, bitkisel kökenli uçucu maddeler olup, hayvanın otlaması sonucu süt yoluyla ürüne geçerler (Di Cagno vd., 2003). Mengen peynirinde çoğunlukla L-limonen (yabani nane) ve çimen (kimyon, kekik yağı) bileşiklerine rastlanmıştır.

Diğer bileşikler grubuna, heterosiklik bileşikler, aromatik bileşikler, laktonlar ve diğer eser miktarda bileşik toplanmıştır. Merkaptan, Mengen peynirinde en sık rastlanan heterosiklik bileşendir ve peynir olgunlaşması esnasında, metiyonin

amino asidi veya metiyonin içeren peptitlerin parçalanmasıyla üretilir (Curioni ve Bosset, 2002). Laktonlar, hidroksil asitlerin esterifikasyonu ile oluşan bileşiklerdir ve meyveli aromaya neden olurlar (Engels vd., 1997). Laktonlar, süt yağının ısıtılması ve trigliseritlerin hidroliziyle de oluşmaktadır (Di Cagno vd., 2003). Daha çok küfle olgunlaştırılan peynirlerde rastlanılmaktadır (Bontinis vd., 2012). Mengen peynirinde yüksek ısı işlem yapılmaması nedeniyle, lakton miktarı az oranda belirlenmiştir.

SONUÇ

Çiğ süt ile üretilen Mengen peynirinin mikroorganizma sayılarının yüksek olduğu görülmektedir. Örneklerde koliform ve *E. coli* varlığı tüketici için ciddi bir sorundur. Kabul

edilen sınırların üstünde görülen mikroorganizma ve bakteri sayısı, insan sağlığını tehlikeye atabilir. Yine Mengen peynirinin tuz içeriğinin çok düşük olması ve ürünün kısa raf ömrü üzerinde büyük etkisi vardır. Mikrobiyel gelişimi indirmek ve raf ömrünü uzatmak için bazı önlemler alınmalıdır. Bunlar arasında peynir sütünün pastörizasyonu, şirdenin hijyenik kalitesinin artırılması, hijyenik üretim ve üretiminde kullanılan süt ve üretilen peynirin buzdolabı koşullarında vakum paketlerinde saklanması sayılabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No: 2014.09.04.746) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Bontinis, ThG., Mallatou, H., Pappa, E.C., Massouras, Th., Alichanidis, E. (2012). Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Ruminant Res*, 105, 193–201.

Bosset, J.O, Collomb, M., Sieber, R. (1993). The aroma composition of Swiss Gruyere cheese IV. The acidic volatile components and their changes in content during ripening. *Lebensm-Wiss Technol*, 26, 581–592.

Carbonell, M., Nunez, M., Fernandez-Garcia, E. (2002). Evolution of the volatile components of ewe raw milk La Serena cheese during ripening. Correlation with flavour characteristics. *Lait*, 82, 683–698.

Case, R.A., Bradley, R.L., Williams, R.R. (1985). Chemical and physical methods. In “Standard Methods for the Examination of Dairy Products”, ed by G.H Richardson. APHA Publishing. Washington, pp. 327-379.

Coşkun, H., Bayrak, A., Çakır, İ., Akoğlu, İ.T., Kıralan, M, İşleyen, F. (2008). Bolu ve çevresinde üretilen ve geleneksel bir süt ürünü olan Keş’in yapılışı. *Dünya Gıda Der*, 2, 42-47

Curioni, P.M.G., Bosset, J.O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *Int Dairy J*, 12, 959–984.

Delgado, F.J., González-Crespo, J., Cava, R., García-Parra, J., Ramírez, Ri. (2010). Characterisation by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. *Food Chem* 118, 182–189.

Di Cagno, R., Banks, J., Sheehan, L., Fox, P.F., Brechany, E.Y., Corsetti, A., Gobbetti, M. (2003). Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes’ milk cheeses. *Int Dairy J*, 13, 961–972.

Durrieu, C., Degraeve, P., Chappaz, S., Martial-Gros, A. (2006). Immunomodulating effects of water-soluble extracts of traditional French Alps cheeses on a human T-lymphocyte cell line. *Int Dairy J*, 16, 1505–1514

Engels, W.J.M., Dekker, R., De Jong, C., Neeter, R., Visser, S. (1997). A comparative study of volatile compounds in the water–soluble fraction of various types of ripened cheese. *Int Dairy J*, 7, 255–263.

Erbay, Z., Koca, N., Üçüncü, M. 2010. Hellim Peynirinin Bileşimi İle Renk Ve Dokusal Özellikleri Arasındaki İlişkiler. *Gıda*, 35, 347-353.

Gallois, A., Langlois, D. (1990). New results in the volatile odorous compounds of French cheeses. *Lait*, 70, 89–106.

Guinee, T.P. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *Int J Dairy Technol*, 57, 99-109.

Hayaoğlu, A.A. (2009). Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. *Int J Food Sci and Technol*, 44, 1388–1394

IDF (1964). Determination of the Ash Content of Processed Cheese Products. Brussels, Belgium.

IDF (2004). Milk and milk products-Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds-Colony-count technique at 25 degrees C. IDF 94. Brussels, Belgium.

IDF (2006). Cheese and processed cheese products - Determination of chloride content. Potentiometric titration method. IDF 088. Brussels, Belgium.

- IDF (2009). Milk and milk products-Determination of fat content. General guidance on the use of butyrometric methods. IDF 152.Brussels, Belgium.
- IDF (2012). Fermented milks-Determination of titratable acidity- Potentiometric method. IDF 150. Brussels, Belgium.
- IDF (2014). Milk and milk products-Determination of nitrogen content -Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. IDF 20-1. Brussels, Belgium.
- ISO (1983). Microbiology-General guidance for enumeration of *Staphylococcus aureus*-Colony count technique. ISO 6888. Geneva, Switzerland.
- ISO (1998). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria-Colony-count technique at 30 degrees C. ISO 15214.Geneva, Switzerland.
- ISO (1998). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria-Colony-count technique at 30 degrees C. ISO 15214. Geneva, Switzerland.
- ISO (1999). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. ISO 6888-1. Geneva, Switzerland.
- ISO (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. ISO 16654. Geneva, Switzerland.
- ISO (2002). Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. ISO 6579. Geneva, Switzerland.
- ISO (2004). Cheese and processed cheese-Determination of the total solids content (Reference method). ISO 5534.Geneva, Switzerland.
- ISO (2004). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*-Part 1: Detection method AMENDMENT 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data. ISO1290-1. Geneva, Switzerland.
- ISO (2006). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coliforms-Colony-count technique. ISO 4832. Geneva, Switzerland.
- Kamber, U. (2007). The Traditional Cheeses of Turkey: Marmara Region. *Food Reviews Int*, 24, 175-192.
- Kaminarides, S., Rogoti, E., Mallatou, H. (2000). Comparison of the characteristics of halloumi cheese made from ovine milk, caprine milk or mixtures of these milks. *Int J Dairy Technol*, 53, 100-105
- Kaynar, P. (2011). Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 41, 1-8.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1996). “Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi”, A.Ü. Ziraat Fak. Yay. No:18, Erzurum, 238s.
- Leon, K., Mery, D., Pedreschi, F., Leon, J. (2006). Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food Res Int*, 39, 1084-1091.
- Lubbers, S., Decourelle, N., Vallet, N., Guichard, E. (2004). Flavor Release and Rheology Behavior of Strawberry Fatfree Stirred Yogurt during Storage. *J Agric Food Chem*, 52, 3077–3082.
- McSweeney, P.L.H., Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: a review. *Lait*, 80, 293–324.
- Milci, S., Goncu, A., AlpKent, Z., Yaygin H. (2005). Chemical, microbiological and sensory characterization of Halloumi cheese produced from ovine, caprine and bovine milk. *Int Dairy J*, 15, 625–630
- Moio, L., Addeo, F. (1998). Grana Padano cheese aroma. *J of Dairy Res*, 65, 317–333.
- Molimard, P., Spinnler, H.E. (1996). Review: Compounds involved in the flavor of surface

mould-ripened cheeses: Origins and properties. *J Dairy Sci*, 79, 169–184.

Öksüztepe, G., Patır, B., Dikici, A., İlhak, İ. (2009). Elazığ'da Tüketime Sunulan Vakum Paketli Taze Kaşar Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi. *Fırat Ün. Sağlık Bil. Veteriner Derg.* 23, 89–94.

Papademas, P., Robinson, R.K. (1998). Halloumi cheese: the product and its characteristics. *Int J Dairy Technol*, 51, 98–103.

Papademas, P., Robinson, R.K. (2000). A comparison of the chemical, microbiological and sensory characteristics of bovine and ovine Halloumi cheese. *Int. Dairy J*, 10, 761-768

Rysha, A., Markow, K., Frece, J., Cvek, D., Delas, F. (2014). A survey of the microbiological quality of Sharri, a hard mountain cheese from Kosovo. *Int J of Dairy Technol*, 66, 277–282.

Sarı, K. (2016). Mengen Peynirinin Yapılışı, Kimyasal, Biyokimyasal, Tekstürel ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bolu, Türkiye, 74 s

Say, D., Güzeler, N. (2008). Taze Kaşar Peynirlerinin Randıman, Bileşim ve Duyusal Özellikleri Üzerine Haşlama Suyunun Tuz Konsantrasyonunun Etkisi. *Çukurova Ün Fen Bil Ens*, 19, 30-41

Şengül, M., Erkaya, T., Fırat, N. (2011). Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Süresince Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Atatürk Ün Ziraat Fak Derg*, 41, 149-156.

SPSS (2009). SPSS for Windows, Base System User's Guide, Release 18.0, Chicago, IL.

Steele, J.L., Ünlü, G. (1992) Impact of lactic acid bacteria on cheese flavor development. *Food Technol*, 46, 128-135.

Tunçtürk, Y., Ocak, E., Zorba, Ö. (2010). Farklı Homojenizasyon Basıncı Derecelerinin Kaşar Peynirinin Kimyasal, Biyokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özelliklerine Etkisi. *Yüz Yıl Tarım Bil Derg*, 20, 88-89.

Ünsal, A. (1997). Süt Uyuyunca-Türkiye'nin Peynirleri Yapı Kredi, Ankara, Türkiye, 248s.

PÜSKÜRTMELİ-DONDURARAK KURUTMA İŞLEMİNİN MALTODEKSTRİNİN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

İzzet Türker¹, Banu Koç², Hilal İşleroğlu^{1*}

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat, Türkiye

²Gaziantep Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Gaziantep, Türkiye

Geliş / Received: 10.11.2017; Kabul / Accepted: 19.01.2018; Online baskı / *Published online*: 16.02.2018

Türker, İ., Koç, B., İşleroğlu, H. (2018). Püskürtmeli-dondurarak kurutma işleminin maltodekstrinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (2): 197-210 doi: 10.153237/gida.GD17101

ÖZ

Bu çalışmada püskürtmeli-dondurarak kurutma (PDK) işleminin maltodekstrinin nem içeriği, su aktivitesi, renk, yığın ve partikül özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla maltodekstrin çözeltisi ultrasonik nozul (48 kHz) kullanılarak, sabit bir besleme debisi ile (8 ml/dak) sıvı azot üzerine püskürtülmüş ve dondurulan örnekler farklı plaka sıcaklığı (25-45°C) ve kurutma sürelerinde (6-16 saat) kurutulmuştur. PDK işleminde kurutma koşullarının toz ürünün fiziksel özellikleri üzerine etkisi istatistiksel olarak yanıt yüzey-kontur grafikleri ve ANOVA analizi ile saptanmıştır. Sonuç olarak, PDK işlem koşullarının nem içeriği, *b* değeri, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk ile akabilirlik üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. *L* ve *a* değerleri ile dağılıbilirlik üzerine sadece kurutma süresinin, partikül yoğunluğu ve porozite üzerine ise sadece plaka sıcaklığının etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, PDK işlemi ile küresel ve yüzeyinde düzgün dağılımlı porlar bulunan partiküller elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Püskürtmeli-dondurarak kurutma, maltodekstrin, yığın ve partikül özellikleri, morfoloji, kekleşme

EFFECT OF SPRAY-FREEZE DRYING PROCESS ON PHYSICAL PROPERTIES OF MALTODEXTRIN

ABSTRACT

In this study, to determine the effect of spray-freeze drying (SFD) on physical properties of maltodextrin such as moisture content, water activity, color, bulk and particle properties, maltodextrin solutions were sprayed into liquid nitrogen using ultrasonic nozzle (48 kHz) with a constant flow rate (8 ml/min) and the frozen samples were dried at different shelf temperatures (25-45°C) and different drying times (6-16 hours). The effects of SFD on physical properties of the powder were investigated statistically using response surface-contour graphs and ANOVA. As a result, the effects of SFD conditions on moisture, *b* value, bulk density, tapped density and flowability have been determined significant, statistically. Drying time was significant for the *L* and *a* values, and dispersibility; however, the effect of shelf temperature was significant for the particle density and porosity, statistically. Furthermore, the particles in spherical shape and having uniformly distributed pores on the surface were obtained.

Keywords: Spray-freeze drying, maltodextrin, bulk and particle properties, morphology, caking

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ hilal.isleroglu@gop.edu.tr,

☎ (+90) 356 252 1616/2888,

☎ (+90) 356 252 1729

GİRİŞ

Mikroenkapsülasyon teknolojisi kaplanacak maddenin dış etkenlere karşı korunmasını (nem, sıcaklık, hava ve ışık gibi), buharlaşarak kaybolmasının önlenmesini, fiziksel özelliklerinin daha iyi korunmasını, maddenin kaplanmasıyla taşınmasının kolaylaştırılmasını, doğru yerde ve doğru zamanda çalışmasının sağlanmasını, kaplanacak maddenin tat ve kokusunun maskelenmesini, başka bileşenlerle reaksiyona girmesinin önlenmesini, küçük miktarlarda kullanımı istendiğinde seyreltilebilmesini ve seyreltmenin homojen olmasını sağlayan bir işlemdir. Uygun mikroenkapsülasyon yönteminin seçimi kaplanacak olan materyalin ve kaplama materyallerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır (Koç vd., 2010). Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon işlemi genellikle üretim maliyetinin düşük olmasından ötürü geleneksel püskürtmeli kurutma yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Fakat sıcaklığa duyarlı gıda bileşenlerinin (protein ve enzimler, balık yağı, aroma maddeleri gibi) mikroenkapsülasyonunda düşük sıcaklıkların kullanıldığı dondurarak kurutma yöntemi daha çok tercih edilmektedir (Heinzelmann vd., 2000). Dondurarak kurutulan materyaller genellikle yüksek ürün kalitesine sahip olmalarına rağmen, uzun kurutma süreleri, kesikli sistemde çalışılması, düşük sıcaklık ve yüksek vakum uygulamaları işletme maliyetini artırmakta ve dondurarak kurutma tekniğinin kullanımını kısıtlamaktadır (Ratti, 2001; Lopez-Quiroga vd., 2012). Materyalin boyutlarını küçülterek hem donma hem de kurutma süresinin kısaltılması ve dolayısıyla maliyetinin düşürülmesi püskürtmeli-dondurarak kurutma işleminin temelini oluşturmuştur (Ishwarya vd., 2015).

Püskürtmeli-dondurarak kurutma (PDK) işlemi çözeltinin damlacıklar halinde atomize edilmesi, soğuk bir akışkan ile temas ettirilerek dondurulması, düşük sıcaklık ve basınç altında buzun süblimasyonunun gerçekleştirilmesi aşamalarından oluşan, püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma işlemlerini kombine eden özgün bir kurutma tekniğidir (Leuenberger, 2002; Filkova vd., 2006). Gıda ve eczacılık ürünlerinde PDK işleminin potansiyel uygulamaları farklı araştırmacılar tarafından çalışma konusu olmuştur

(Rogers vd., 2008; Anandharamakrishnan vd., 2010; Her vd., 2010; Schiffter vd., 2010; Karthik ve Anandharamakrishnan, 2013; Rahmati vd., 2013). Fakat yapılan çalışmalarda PDK işleminin toz ürünler için önemli kalite kriterleri olan fiziksel özellikler üzerine etkileri araştırılmamıştır. Toz ürünlerin fiziksel özellikleri tek bir partikülün özelliklerini ifade eden “partikül özellikleri” ve bütün bir toz ürünü ifade eden “yığın özellikleri” olarak incelenmektedir. Yığın özellikleri içerisinde toz ürünün yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluğu, akabilirlik, porozite, rekonstitüsyon (ıslanabilirlik, dağılılabirlik ve çözünebilirlik), higroskopik ve kekleşme özellikleri öne çıkmaktadır. Partikül özellikleri içerisinde toz ürünün partikül büyüklüğü ve şekli, partikül boyut dağılımı ve partikül yoğunluğu incelenmektedir (Koç vd., 2011).

Mikroenkapsülasyon işleminde yaygın bir şekilde kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrin, mısır nişastasının asidik veya enzimatik yöntemle, kısmi hidrolizi sonucunda elde edilen ve dekstroz eşdeğerliği (DE) 20 veya 20’den küçük olan bir maddedir (Madene vd., 2006). Düşük DE değerine sahip maltodekstrinler bazı gıdalarda (dondurma gibi) yağ ikamesi olarak kullanılmaktadır. Maltodekstrinler yüzey aktif bileşikler olup çözeltileri düşük viskoziteye sahiptir. Maltodekstrinler katı ve sıvı yağların, vitaminlerin, minerallerin ve renk maddelerinin mikroenkapsülasyonunda kullanıldığında Maillard reaksiyonunun hızını düşürmektedir. Mikroenkapsülasyon işleminde maltodekstrinler emülsifiye edici özelliklerinin az olması sebebiyle genellikle yardımcı kaplama materyali olarak kullanılmaktadır (McNamee vd., 1998; Pedersen vd., 1998; Christensen vd., 2001; Hogan vd., 2001). Maltodekstrinler mikroenkapsüle edilmiş yağlarda iyi bir oksidatif stabilite sağlamaktadırlar. Ayrıca, maltodekstrin dispersiyon yardımcısı, lezzet arttırıcı, kurutma işleminde hacim arttırıcı ajan olarak günümüzde çok yaygın bir şekilde de kullanılmaktadır (Bhandari vd., 1997).

Bu çalışmada, “Merkezi Tümlşik Tasarım” (Central Composite Rotatable Design) deneme planı izlenerek, yeni bir kurutma yöntemi olan PDK işlem koşullarının (kurutma süresi ve plaka

sıcaklığı) maltodekstrinin nem içeriği, su aktivitesi, renk (L , a ve b değerleri), yığın (yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk, rekonstitüsyon, porozite, akabilirlik, kekleşme) ve partikül (partikül yoğunluğu ve morfolojisi) özellikleri üzerine etkisi belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Denemelerde, gıdalarda kullanılabilir saflıkta olan maltodekstrin (MD, DE<20), (Qinhuangdao Starch Co Ltd.) kullanılmıştır. Kurutma işlemi için %20 (w/w, yaş temel) kuru madde oranında maltodekstrin çözeltisi hazırlanmıştır.

Püskürtmeli-dondurarak kurutma işlemi

Püskürtme işlemleri, 48 kHz frekansta çalışan bir adet ultrasonik nozul (SonoTek Inc., ABD) ile maltodekstrin çözeltisinin nozula beslenmesi için siringa pompa (Syringe Pump TI, Sonotek Inc., ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir kurutma denemesi için silindirik paslanmaz çelik kap içerisinde bulunan sıvı azot üzerine yaklaşık

50 ml maltodekstrin çözeltisi püskürtülmüş ve donmuş damlacıklar paslanmaz çelik tepsiye alınarak kurutma işleminin gerçekleştirileceği dondurarak kurutucuya (CHRIST, Alpha 1-4 LSC, Almanya) transfer edilmiştir. Kurutma işlemleri birinci ve ikinci kurutma periyodu olmak üzere iki kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. Birinci kurutma periyodunda kabin basıncı 1 mbar, ikinci kurutma periyodunda ise 0.01 mbar olarak ayarlanmıştır. Kurutma işlemlerinde birinci kurutma periyodu zamanı bağımsız değişken olarak alınırken, tüm koşullar için sabit olacak şekilde iki saat süren ikinci kurutma periyodu uygulanmıştır. PDK işlem koşullarından, birinci kurutma periyodu için süre 6-16 saat, ikinci kurutma periyodunda ise plaka sıcaklığı 25-45°C aralığında olacak şekilde bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. PDK işlemi, merkezi tümleşik tasarım deneme planı izlenerek gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1). Püskürtme aşamasında besleme debisi (8 ml/dak) ve nozul frekansı (48 kHz) sabit tutulmuştur.

Çizelge 1. Püskürtmeli-dondurarak kurutma işlemi için deneme planı

Table 1. Experimental design for the spray-freeze drying process

Deneme No <i>Experiment No</i>	Kurutma Süresi (saat) <i>Drying Time (hours)</i>	Plaka Sıcaklığı (°C) <i>Shelf Temperature (°C)</i>
1	7.46	27.9
2	14.54	27.9
3	7.46	42.1
4	14.54	42.1
5	6.00	35.0
6	16.00	35.0
7	11.00	25.0
8	11.00	45.0
9	11.00	35.0
10	11.00	35.0
11	11.00	35.0

Nem içeriği

Tüm toz örneklerde nem içeriği (%) infrared nem ölçüm cihazı kullanılarak (Shimadzu MOC-63U) belirlenmiştir.

Su aktivitesi (a_w)

Tüm toz örneklerde su aktivitesi (a_w), su aktivitesi ölçüm cihazı (AquaLab Model Series 3TE, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

Yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk

Toz örneklerin yığın yoğunluğu (ρ_b , kg/m³), 10 ml hacme sahip silindirik bir kap içerisine hava boşluğu kalmayacak şekilde ancak herhangi bir basınç uygulamaksızın doldurulmasıyla, kütle/hacim oranından hesaplanmıştır. Sıkıştırılmış yoğunluk (ρ_t , kg/m³) ise, 2 g toz örneğin 10 ml hacme sahip silindirik kabın içerisine doldurulup

sıkıştırılması ile kütle/hacim oranından belirlenmiştir (Bhandari vd., 1999).

Partikül yoğunluğu

Toz örneklerin partikül yoğunluğu (ρ_p , kg/m³), sıvı piknometresi yöntemi ile toluen kullanılarak gerçekleştirilmiş ve Eşitlik (1)'e göre hesaplanmıştır (Barbosa-Canovas vd., 2005).

$$\rho_p = \frac{(m_s - m_0)\rho}{(m_1 - m_0) - (m_{s1} - m_s)} \quad (1)$$

Burada; m_s : toz ürün ile dolu piknometre ağırlığı (g), m_0 : boş piknometre ağırlığı (g), ρ : toluenin yoğunluğu (0.865 g/ml), m_1 : toluen dolu piknometre ağırlığı (g), m_{s1} : toz ürün ve toluen dolu piknometre ağırlığı (g)'dir.

Partikül morfolojisi

Maltodekstrin örneklerinin partikül morfolojileri taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüleri kullanılarak belirlenmiştir. Örnekler ilk olarak 0.05 mbar vakum ve 40 mA akım koşullarında 200 saniye boyunca altın ile kaplanmıştır (Cressington Sputter Coater 108 Auto, Birleşik Krallık). Görüntüler 20 kV hızlandırma geriliminde ve 9.75×10^{-5} torr basınçta, Zeiss Evo LS 10 marka SEM cihazı kullanılarak alınmıştır.

Akabilirlik (CI ve HO)

Yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinden yararlanılarak Carr indeks (CI) değerleri Eşitlik (2) ve Hausner oranları (HO) Eşitlik (3) ile hesaplanmıştır (Carr, 1965; Hausner, 1967).

$$CI = [(q_t - q_b) / q_t] \times 100 \quad (2)$$

$$HO = q_t / q_b \quad (3)$$

Toz ürünlerin akabilirliği, Carr indeks (CI) değerlerine göre; CI değerinin 15'ten küçük olması durumunda çok iyi, 15-20 arasında iyi, 20-35 arasında zayıf, 35-45 arasında kötü, 45'ten büyük ise çok kötü olarak tanımlanmıştır (Carr, 1965). HO oranının 1.2'den küçük olduğu durumlarda toz ürünün akabilirliği yüksek, 1.2 ile 1.4 arasında orta, 1.4'ten büyük olduğunda ise düşük olarak tanımlanmıştır (Hausner, 1967).

Islanabilirlik

Toz örneğin ıslanabilirlik analizi için 250 ml'lik bir behere, 25°C'de 100 ml saf su hazırlanmıştır. Beher ve cam huniden oluşan bir düzenek oluşturulup, beherdeki sıvı yüzeyi ile huninin alt kısmı arasındaki mesafe 10 cm olacak şekilde ayarlanmıştır. Huninin içerisine bir cam test tüpü yerleştirilip, toz örnek (~0.1 g) test tüpünün çevresine konulmuştur. Son olarak toz örneğin tamamıyla ıslanma süresi (s) ölçülmüştür (Jinapong vd., 2008).

Dağılılırlik

Dağılılırlik analizi için 50 ml'lik behere 25°C'de 10 ml saf su konulup, üzerine toz örnek (~1 g) eklenmiştir. Bir kaşık yardımıyla, 15 s içerisinde saat yönünde ve aksi yönde 25 dairesel hareket yapıldıktan sonra karıştırmaya son verilmiştir. Rekonstitüe örnek 212 µm'lik elekten süzülüp ve süzüntüden 1 ml örnek alınıp, darası alınmış alüminyum kaba aktarılmıştır. Etüvde 105°C'de 4 saat süreyle bekletilmiş ve dağılılırlik değeri Eşitlik (4)'e göre hesaplanmıştır (Jinapong vd., 2008).

$$\text{Dağılılırlik (\%)} = \frac{(10+a) \times \%TS}{a \times \left(\frac{100-b}{100} \right)} \quad (4)$$

Burada, a: toz miktarı (g), b: tozun nem içeriği (%), % TS: elekten geçen rekonstitüe örneğin % kuru madde miktarıdır.

Çözünabilirlik

Çözünabilirlik analizi için 1 g toz örnek 25 ml saf su ile seyreltikten sonra 3000 rpm'de 5 dakika süre boyunca mekanik bir karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar ependorf tüplerine aktarılıp, 5 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrasında üstte kalan sıvı, metal petri kaplarına aktarılmış ve etüvde 105°C'de 4 saat süreyle kurutulmuştur. Çözünabilirlik (%) değeri kütle farkından hesaplanmıştır (Cano-Chauca vd., 2005).

Kekleşme

Toz örnekler 1 saat boyunca 102°C'de etüvde bekletilip daha sonra soğuması için 30 dakika desikatöre yerleştirilmiştir. Bir spatula yardımıyla, örnek filtre kağıdına aktarılmış ve ikisi tartılmıştır.

Sonrasında toz örnek bir fırça ile 500 µm'lik eleğe aktarılmış ve filtre kağıdı tek başına tartılmıştır. Elek üzerinde kalan kısım 5 dakika boyunca elenmiş ve en sonunda elek üzerinde kalan örnek miktarı tartılmıştır. Kekleşme derecesi (KD) Eşitlik (5)'e göre hesaplanmıştır (Jaya ve Das, 2004).

$$KD\% = [(100xb) / a] \quad (5)$$

Burada, a: kullanılan toz miktarı (g), b: elek üzerinde kalan toz miktarı (g)'dir.

Renk

Toz örneklerin rengi, Hunter *L*, *a* ve *b* değerleri ölçülerek (Minolta, CR-300) belirlenmiştir.

Porozite

Porozite (ϵ), yığın ve partikül yoğunluğu değerleri kullanılarak Eşitlik (6)'ya göre hesaplanmıştır (Jinapong vd., 2008).

$$\epsilon = [(Q_p - Q_b) / Q_p] \quad (6)$$

İstatistiksel Analiz

ANOVA analizi SPSS (SPSS 2013 for Windows) paket programı kullanılarak, kontur ve yüzey grafikleri ise Design Expert Version 7.0 (Statease Inc.) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Nem içeriği ve su aktivitesi değerleri toz ürünlerin işlenmesi ve depolanması sırasında önemli bir faktör olup, yüksek nem içeriği toz ürünün akabilirliğini etkilemektedir (Botrel vd., 2012). Farklı işlem koşullarında PDK ile elde edilen maltodekstrinin nem içeriği ve su aktivitesi değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Toz üründe minimum nem içeriği değeri (%2.13) birinci kurutma süresi 16 saat ve plaka sıcaklığı 35°C'de, maksimum nem içeriği değeri ise (%3.18) birinci kurutma süresi 11 saat ve plaka sıcaklığı 25°C'de elde edilmiştir. Bütün denemelerde, toz ürünün su aktivitesi değerleri 0.100'den düşük çıkmıştır. PDK yöntemi ile gerçekleştirilen kurutma sonucunda nem içeriği ve su aktivitesi değerleri klasik püskürtmeli kurutma ve sıcak hava ile kurutma yöntemlerine göre daha düşük

çıkılmaktadır ki bu beklenen bir durumdur. Genel bir kabul olarak oksidasyon, enzimatik olmayan esmerleşme ve mikrobiyal gelişme bakımından gıda stabilitesini sağlamak amacıyla toz ürünlerin su aktivitesi değeri 0.25'in altında olmalıdır (Kumar ve Mishra, 2004).

Toz üründe renk, *L*, *a* ve *b* değerleri ölçülerek belirlenmiştir (Çizelge 2). Elde edilen tüm ürünlerin *a* değerleri negatiftir. Bu durum ürünlerde herhangi bir yanmanın, kırmızılaşmanın olmadığını göstermektedir. Ayrıca her bir ürünün *L* değeri oldukça yüksektir. Bu durum ürünlerin beyaz ve parlak olduğunun göstergesidir. Çizelge 3'te verilen ANOVA analizine ve Şekil 1'de gösterilen yanıt yüzey-kontur grafiklerine göre, nem içeriği ve *b* değerlerinin PDK işlem değişkenlerinin her ikisinden de etkilendiği ve kurutma süresinin plaka sıcaklığı ile iç etkileşiminin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Toz ürünün *L* ve *a* değerleri üzerine, PDK işlem koşullarından sadece kurutma süresinin etkisinin anlamlı olduğu ($P < 0.05$), su aktivitesi değerlerinin ise işlem koşullarından etkilenmediği görülmüştür ($P > 0.05$).

Toz gıdaların yığın özellikleri (yığın ve sıkıştırılmış yoğunluğu, porozite ve akabilirlik) ürünün partikül çapı ve partikül boyut dağılımına bağlıdır (Barbosa-Canovas vd., 2005). Düşük yığın yoğunluğu paket hacmini arttırdığı için pek istenen bir durum değildir. Ayrıca düşük yığın yoğunluğuna sahip ürünler boşlukları arasında daha fazla hava barındırdığı için ürünün depolama stabilitesini azaltan oksidasyon riski daha yüksektir (Koç vd., 2011). PDK işlemi ile kurutulmuş maltodekstrinin yığın, sıkıştırılmış ve partikül yoğunlukları ve toz ürünün akabilirliğinin bir göstergesi olan Carr indeksi, yapışkanlık derecesini gösteren Hausner oranı (HO) ve porozite değerleri Çizelge 2'de ve bu değerlere ait ANOVA analizi Çizelge 3'te ve yanıt yüzey-kontur grafikleri Şekil 2'de verilmiştir. Toz örneklerin yığın yoğunluk değerlerinin ~71-90 kg/m³, sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin ~119-138 kg/m³ ve partikül yoğunluğu değerlerinin ~645-1368 kg/m³ arasında değiştiği görülmektedir. Yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk

arasındaki farkın çok yüksek olmaması, ürünün akabilirliğinin orta düzeyde olduğunu ve kekleşmenin düşük olduğunu göstermektedir (Çizelge 2). Bu durum ürünün partikül boyutunun küçük olması, porozite değerlerinin 0.80'den yüksek olması ve Hausner oranının 1.4'ten yüksek olması ile ilişkilendirilerek açıklanabilir. Yapışma derecesi yüksek olan ürünlerde akabilirlik sorunu ortaya çıkmaktadır. Toz ürünlerin akabilmesi için yığın içerisinde yer alan partiküllerin hareket edebilmesi ve mevcut kuvvetlerinin dışardan

uygulanan kuvvetten daha düşük olması gerekmektedir. ANOVA analizi ve yanıt yüzey-kontur grafikleri sonuçlarına göre, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı değerlerinin PDK işlem değişkenlerinin her ikisinden de etkilendiği ve kurutma süresinin, plaka sıcaklığı ile iç etkileşiminin önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Partikül yoğunluğu ve porozite değerleri ise sadece plaka sıcaklığından ve PDK işlem değişkenlerinin iç etkileşiminden etkilenmektedir ($P < 0.05$) (Şekil 2 ve Çizelge 3).

Çizelge 2. Farklı koşullarında PDK işlemi ile elde edilen maltodekstrinin fiziksel özellikleri
Table 2. Physical properties of maltodextrin obtained by SFD process at different conditions

Fiziksel Özellikler Physical Properties	Deneme No Experiment No										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nem (%)	2.94	2.44	2.33	2.81	2.77	2.20	3.18	2.73	2.67	2.78	2.62
Moisture (%)	(±0.13)	(±0.22)	(±0.09)	(±0.01)	(±0.11)	(±0.05)	(±0.13)	(±0.08)	(±0.04)	(±0.09)	(±0.16)
Su aktivitesi	0.067	0.065	0.064	0.069	0.042	0.039	0.047	0.037	0.095	0.040	0.037
Water activity	(±0.00)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.04)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.04)	(±0.01)	(±0.01)
L değeri	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	95.1	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
L value	(±0.0)	(±0.0)	(±0.0)	(±0.0)	(±0.0)	(±1.5)	(±0.0)	(±0.0)	(±0.0)	(±0.0)	(±0.0)
a değeri	-3.22	-3.62	-3.10	-3.40	-2.47	-0.92	-2.70	-3.59	-2.83	-4.84	-4.41
a value	(±0.17)	(±0.10)	(±0.04)	(±0.07)	(±0.19)	(±0.06)	(±0.07)	(±0.08)	(±0.39)	(±0.02)	(±0.16)
b değeri	4.15	3.48	3.19	3.50	3.84	1.92	0.71	0.93	0.77	1.01	1.13
b value	(±0.03)	(±0.03)	(±0.05)	(±0.02)	(±0.05)	(±0.08)	(±0.07)	(±0.05)	(±0.08)	(±0.01)	(±0.09)
YY (kg/m ³)	82.1	89.6	84.8	71.3	88.7	80.4	81.8	80.0	80.6	79.5	82.5
BD (kg/m ³)	(±1.4)	(±3.9)	(±0.8)	(±0.1)	(±0.7)	(±0.3)	(±0.7)	(±0.6)	(±0.8)	(±0.2)	(±2.3)
SY (kg/m ³)	127.8	128.0	132.1	119.3	124.2	118.9	137.3	124.4	133.4	129.5	138.0
TD (kg/m ³)	(±1.4)	(±6.2)	(±2.3)	(±2.4)	(±1.7)	(±1.2)	(±2.6)	(±1.8)	(±2.5)	(±1.6)	(±4.5)
PY (kg/m ³)	1235.7	1184.4	1050.5	1367.6	918.5	753.3	645.0	681.0	751.8	886.7	1027.4
PD (kg/m ³)	(±68.6)	(±31.9)	(±13.1)	(±25.4)	(±98.5)	(±35.4)	(±12.4)	(±29.2)	(±41.6)	(±36.3)	(±80.3)
CI (%)	35.7	30.0	35.8	40.2	28.6	32.3	40.4	35.6	39.6	38.6	40.2
CI (%)	(±0.4)	(±0.3)	(±0.5)	(±1.3)	(±0.4)	(±0.5)	(±0.6)	(±0.5)	(±0.5)	(±0.9)	(±0.3)
HO	1.56	1.43	1.56	1.67	1.40	1.48	1.68	1.55	1.66	1.63	1.67
HR	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.04)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.02)	(±0.01)	(±0.02)	(±0.02)	(±0.01)
Porozite	0.93	0.92	0.92	0.95	0.90	0.89	0.87	0.88	0.89	0.91	0.92
Porosity	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.00)	(±0.01)	(±0.01)	(±0.00)	(±0.01)
Dağılılırılık (%)	98.3	96.0	99.7	94.4	99.2	88.7	99.0	91.2	99.3	98.3	96.6
Dispersibility (%)	(±2.7)	(±10.7)	(±3.6)	(±0.8)	(±0.15)	(±9.8)	(±2.0)	(±1.0)	(±1.6)	(±5.2)	(±3.2)
Çözünürlülük (%)	95.7	95.5	96.1	95.9	95.3	95.6	96.0	96.4	96.1	95.8	96.4
Solubility (%)	(±0.0)	(±0.4)	(±0.4)	(±0.2)	(±0.9)	(±0.3)	(±1.1)	(±0.3)	(±0.4)	(±0.0)	(±0.5)
Islanabilirlik (s)	51.7	45.9	46.8	57.9	43.4	36.2	48.6	44.7	46.0	63.2	57.4
Wettability (s)	(±2.1)	(±0.8)	(±1.8)	(±1.6)	(±2.7)	(±6.2)	(±1.1)	(±2.4)	(±0.13)	(±1.4)	(±1.4)
Kekleşme (%)	5.86	7.05	5.14	6.10	4.56	3.32	6.41	4.72	0.67	2.81	7.59
Caking (%)	(±2.53)	(±0.21)	(±1.42)	(±0.76)	(±1.12)	(±2.50)	(±1.10)	(±1.99)	(±0.19)	(±1.76)	(±0.84)

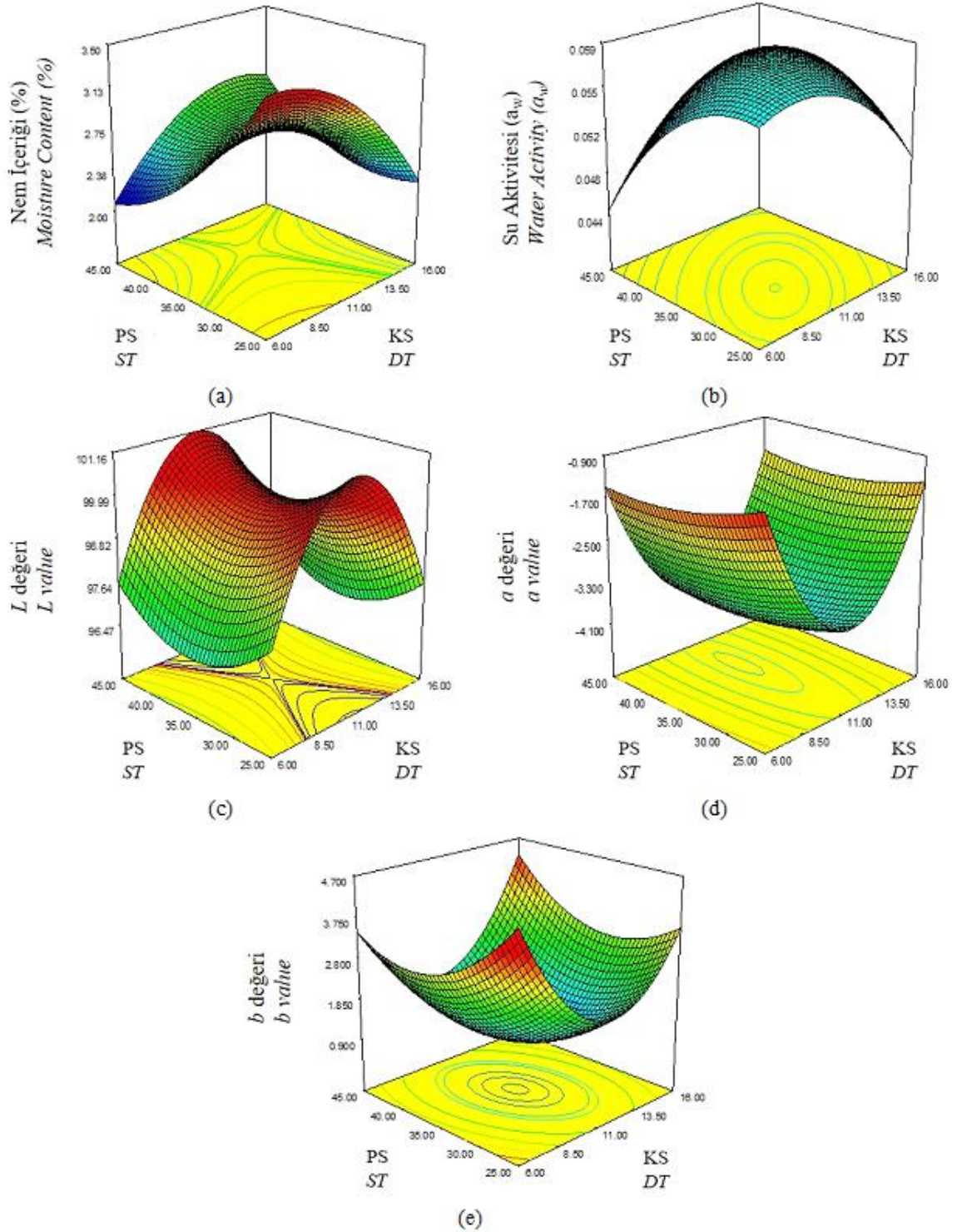
YY: Yığın Yoğunluk, SY: Sıkıştırılmış Yoğunluk, CI: Carr İndeksi, HO: Hausner Oranı
BD: Bulk Density, TD: Tapped Density, CI: Carr Index, HR: Hausner Ratio

Çizelge 3. Fiziksel özellikler üzerine işlem koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu
 Table 3. ANOVA table representing the effect of process conditions on physical properties

Varyasyon Kaynağı <i>Variation Source</i>		Model	KS	PS	KS*PS	Hata	Toplam
Fiziksel Özellikler <i>Physical Properties</i>		<i>Model</i>	<i>DT</i>	<i>ST</i>	<i>DT*ST</i>	<i>Error</i>	<i>Total</i>
	SD	9	3	3	1	12	21
Nem (%) <i>Moisture (%)</i>	KT (<i>SS</i>)	163.8	0.514	0.576	0.483	0.183	164.1
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		
Su aktivitesi <i>Water activity</i>	KT (<i>SS</i>)	0.071	0.001	0.001	0.001	0.008	0.078
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.798	0.767	0.820		
<i>L değeri</i> <i>L value</i>	KT (<i>SS</i>)	216288	52.90	0.0001	0.0001	1.716	216290
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	1.000	1.000		
<i>a değeri</i> <i>a value</i>	KT (<i>SS</i>)	227.70	22.70	2.60	0.01	4.80	231.90
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.118	0.873		
<i>b değeri</i> <i>b value</i>	KT (<i>SS</i>)	126.7	2.2	0.5	0.5	0.1	126.8
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		
YY (kg/m ³) <i>BD (kg/m³)</i>	KT (<i>SS</i>)	148238	120.6	124.7	218.6	34.6	148273
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		
SY (kg/m ³) <i>TD (kg/m³)</i>	KT (<i>SS</i>)	363747	460.0	195.5	85.48	167.1	363914
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.015	0.023		
PY (kg/m ³) <i>PD (kg/m³)</i>	KT (<i>SS</i>)	21126417	69579	123338	67896	104113	21230531
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.075	0.015	0.012		
CI (%) <i>CI (%)</i>	KT (<i>SS</i>)	29024	210.6	80.3	50.8	7.0	29031
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		
HO <i>HR</i>	KT (<i>SS</i>)	54.6	0.12	0.05	0.03	0.01	54.6
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		
Porozite <i>Porosity</i>	KT (<i>SS</i>)	18.23	0.001	0.002	0.001	0.001	18.23
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.227	0.006	0.015		
Dağılılabirlik (%) <i>Dispersibility (%)</i>	KT (<i>SS</i>)	54262	661.0	229.6	114.2	374.4	54636
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.003	0.092	0.043		
Çözünübilirlik (%) <i>Solubility (%)</i>	KT (<i>SS</i>)	20212	1.036	0.947	0.189	3.329	20213
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.302	0.337	0.406		
Islanabilirlik (s) <i>Wettability (s)</i>	KT (<i>SS</i>)	20474	180.6	83.0	4.3	284.0	20503
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.085	0.327	0.665		
Kekleşme (%) <i>Caking (%)</i>	KT (<i>SS</i>)	567.10	4.00	12.69	0.29	75.58	642.70
	<i>P- değeri</i> <i>(P-value)</i>	0.0001	0.874	0.554	0.945		

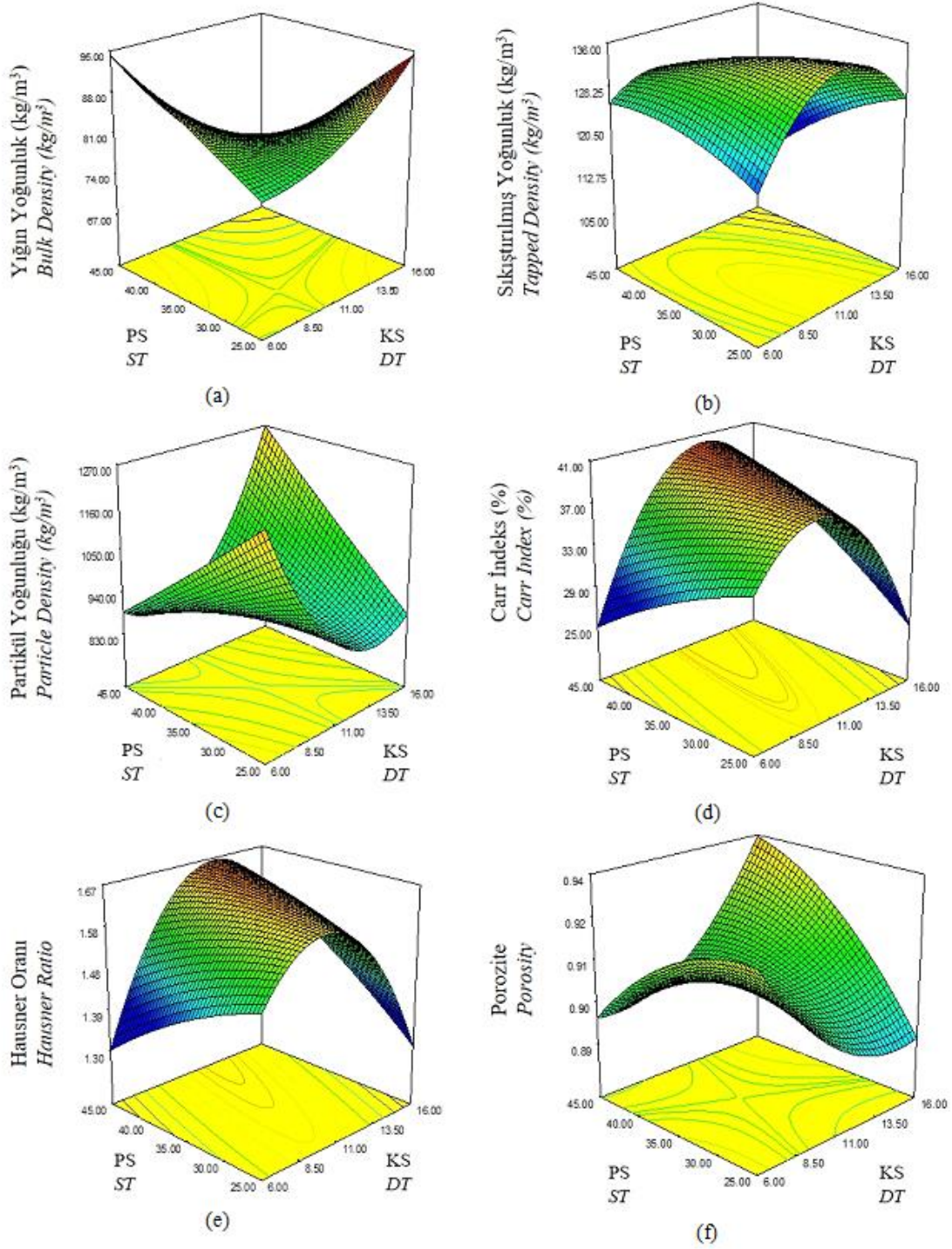
SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler toplamı, KS: Kurutma süresi, PS: Plaka sıcaklığı, YY: Yoğunluk, SY: Sıkıştırılmış Yoğunluk, CI: Carr İndeksi, HO: Hausner Oranı

SD: Degrees of freedom, SS: Sum of squares, DT: Drying time, ST: Shelf temperature, BD: Bulk Density, TD: Tapped Density, CI: Carr Index, HR: Hausner Ratio



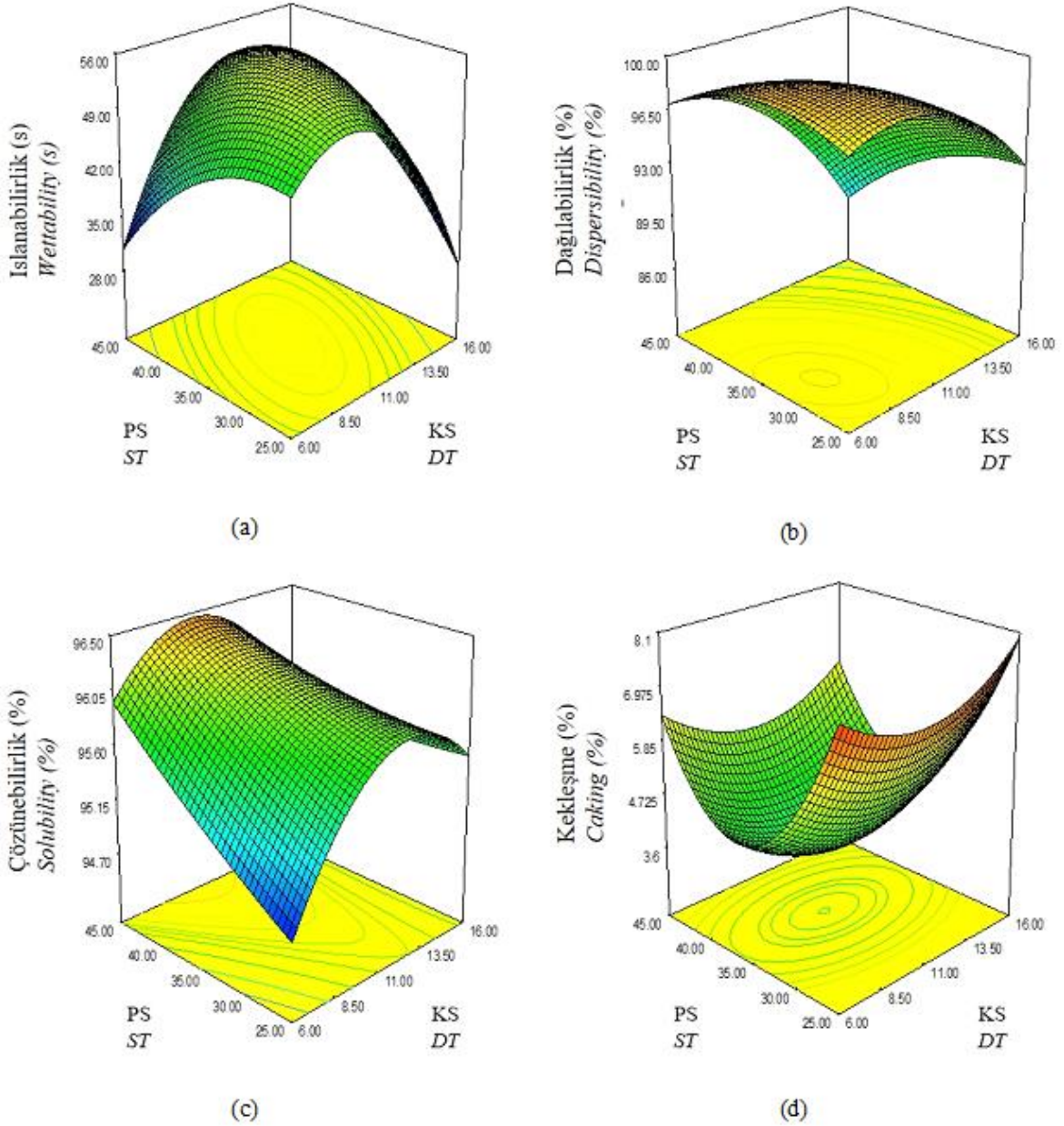
Şekil 1. PDK işlem koşullarının (a) nem içeriği, (b) su aktivitesi, (c) L değeri, (d) a değeri, (e) b değeri üzerine etkisi (KS: Kurutma süresi, PS: Plaka Sıcaklığı)

Figure 1. The effect of SFD process conditions on (a) moisture content, (b) water activity, (c) L value, (d) a value, (e) b value (DT: Drying time, ST: Shelf temperature)



Şekil 2. PDK işlem koşullarının (a) yığın yoğunluk, (b) sıkıştırılmış yoğunluk, (c) partikül yoğunluğu, (d) Carr indeksi, (e) Hausner oranı, (f) porozite değerleri üzerine etkisi (KS: Kurutma süresi, PS: Plaka Sıcaklığı)

Figure 2. The effect of SFD process conditions on (a) bulk density, (b) tapped density, (c) particle density, (d) Carr index, (e) Hausner ratio, (f) porosity (DT: Drying time, ST: Shelf temperature)



Şekil 3. PDK işlem koşullarının (a) ıslanabilirlik, (b) dağılırlılık, (c) çözünürlük, (d) kekleşme değerleri üzerine etkisi (KS: Kurutma süresi, PS: Plaka Sıcaklığı)

Figure 3. The effect of SFD process conditions on (a) wettability, (b) dispersibility, (c) solubility, (d) caking degree (DT: Drying time, ST: Shelf temperature)

Partikül yoğunluğu, toz ürünlerin rekonstitüsyon özelliklerini doğrudan etkileyeceği için oldukça önemli bir kriter olmakla birlikte özellikle partikül boyutu ve şekli ile beslemenin kuru madde içeriğinden etkilenmektedir. Kurutulmuş toz gıdaların birçok özelliği ürünün rekonstitüsyon

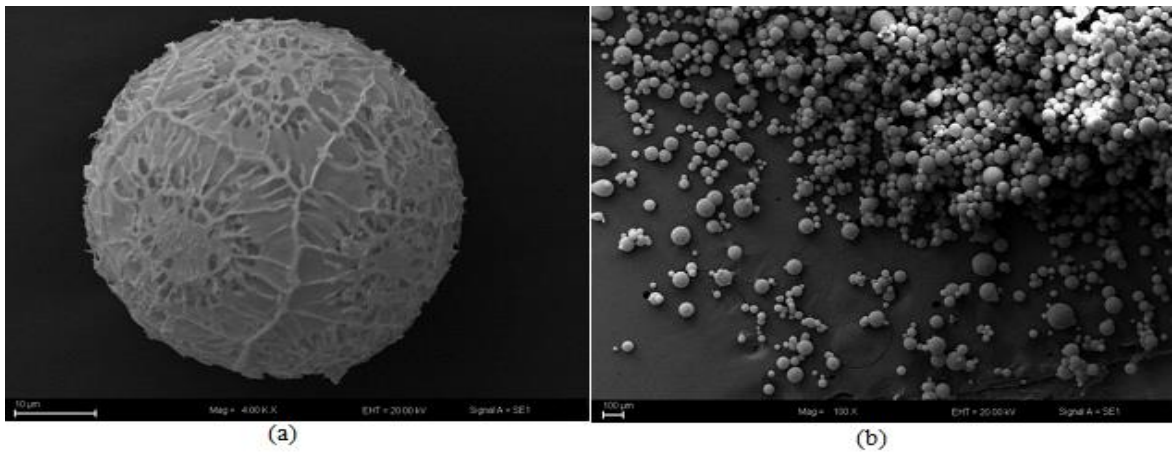
karakteristiğini etkilemektedir (Hogekamp ve Schubert, 2003). Genel olarak dağılırlılık ve ıslanabilirlik; partikülün boyutuna, yoğunluğuna, porozitesine ve yüzey alanına bağlıdır (Kim vd., 2002). Islanabilirlik, toz ürünün kapiler kuvvetlerin etkisi altında, sıvıyı emebilme

yeteneğinin ölçüsüdür. Tozların ıslanabilirliği, genellikle tozun yüzeyi ve penetre olan su arasındaki açıyla belirlenir. Bu sebeple tozun yüzey kompozisyonu, tozun ıslanabilme sürecinde önemli bir işleve sahiptir. Büyük yığınlar ıslanmayı zorlaştırır (Hui vd., 2006). Dağılılılık, aglomere ya da topaklanmış toz ürünün çözelti içerisinde düşük bir karıştırma uygulanmasıyla tüm çözelti içerisine dağılılılık yeteneğinin bir göstergesi olup, toz ürünün gıda sanayinde kullanılabilirliğini belirleyen bir faktördür (Kim vd., 2002). Dağılılı oranı, toz ürünü instant olarak tanımlayabilme açısından önemlidir (Fang vd., 2008). Toz ürünün sıvı ortamda dağılılılık olarak ifade edilen dağılılılık; ıslanan ve batmaya başlayan toz ürünün sıvı ortamda bireysel partiküllere ayrılması olarak tanımlanmaktadır. Toz gıdalar üzerine yapılan çalışmalarda, dağılılılığın partikül boyutuyla birlikte arttığı, ince parçacıkların yüzdesel oranıyla birlikte azaldığı görülmüştür ($\leq 90 \mu\text{m}$) (Vojdani, 1996). Genellikle $125 \mu\text{m}$ 'den daha küçük partiküllerin miktarının fazla olması, net bir şekilde kabın dibinde çamurumsu görüntü oluşturmakta ve toz ürünlerin sıvı ortamda topaklanmasına neden olmaktadır (Pisecky, 1997). Genel olarak PDK yöntemi ile elde edilen toz ürünlerin partikül boyutu küçük olmasına rağmen (Iswarya vd., 2015), yapılan çalışmada rekonstitüsyon özelliklerinin iyi olduğu saptanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 3'te verilen ANOVA analizi ve Şekil 3'te verilen yanıt yüzey-kontur grafikleri sonuçlarına

göre PDK işlem koşullarının ıslanabilirlik, çözünabilirlik ve kekleşme üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Sadece dağılılılık değerleri üzerine kurutma süresinin ve PDK işlem değişkenlerinin iç etkileşiminin etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Kekleşme bir çöküş durumu olarak kabul edilebilir. Partiküle yüzey teması için yeterli zaman verildiğinde kalıcı agregasyon meydana gelir; bu durum toz ürünlerin akış özelliklerinin yok olmasına sebep olmaktadır (Beristain vd., 2002). Ürünlerin kekleşme değerleri $\sim\%1-8$ arasında değişmektedir.

PDK ile üretilen ürünlerin mikro düzeydeki yapılarının belirlenmesi, dondurarak kurutma işlemi sırasında yapısal çökme olayının gerçekleşip gerçekleşmediğine dair bilgi vermekle birlikte toz ürünün akış özelliklerinin ve çözünbilme özelliğinin de görsel olarak tespit edilmesini sağlar (Ishwarya ve Anandharamakrishnan, 2015). PDK ile kurutulan maltodekstrin için elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde, partiküllerin oldukça düzgün küresel şekle sahip olduğu ve yüzeylerinde düzgün dağılılılı porların olduğu görülmüştür (Şekil 4-a). Düzgün dağılılılı porlar, püskürtme ve dondurma aşamasında oluşan düzgün yapıdaki buz kristallerinin kurutma aşamasında süblimasyonu ile açıklanabilir (Constantino vd., 2000). Ayrıca, elde edilen partiküllerin tekdüze bir partikül boyut dağılılılı gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4-b).



Şekil 4. PDK ile üretilen maltodekstrine ait SEM görüntüleri (a) 4000x, (b) 100x büyütme oranı
Figure 4. SEM images of the maltodextrin produced using SFD (a) 4000x, (b) 100x magnification

SONUÇ

Bu çalışmada, PDK işlemi ile kurtulmuş maltodekstrinin nem içeriği, su aktivitesi, renk (L , a ve b değerleri) ve fiziksel özellikleri (yığın, sıkıştırılmış yoğunluk ve partikül yoğunluğu, porozite, akabilirlik, kekleşme, ıslanabilirlik, dağılıbilirlik, çözünabilirlik) belirlenmiştir. Sonuçlar PDK yöntemi ile elde edilen toz ürünlerin nem içeriği ve su aktivitesi değerlerinin oldukça düşük olduğunu göstermiştir. Toz ürünün yığın, sıkıştırılmış ve partikül yoğunlukları sırasıyla $<90 \text{ kg/m}^3$, $<138 \text{ kg/m}^3$ ve $<1368 \text{ kg/m}^3$ olarak bulgulanmıştır. Bu değerler, PDK işlemi ile kurutulmuş maltodekstrinin akabilirliğinin orta düzeyde olduğunu ve kekleşmenin düşük olduğunu göstermektedir. PDK işlemi ile düzgün küresel formda partiküller elde edilerek bu yöntemin klasik dondurarak kurutma işlemine göre çok daha farklı partikül morfolojisine sahip ürün ile sonuçlandığı ortaya konmuştur. Yapılan varyans analizi ile elde edilen tozun nem içeriği, b değeri, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluğu, Carr indeksi, Hausner oranı değerlerinin tüm PDK işlem koşullarından etkilendiği, L , a ve dağılıbilirlik değerlerinin kurutma süresinden, partikül yoğunluğu ve porozite değerlerinin ise plaka sıcaklığından etkilendiği belirlenmiştir. Maltodekstrinin farklı PDK koşullarında kurutulduktan sonra fiziksel özelliklerinin belirlenmesinin maltodekstrinin mikroenkapsülasyon ve kaplama materyali olarak kullanıldığı çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen projenin (Proje No: 115 O 216) bir parçasından oluşmaktadır.

KAYNAKLAR

Anandharamkrishnan, C., Rielly, C.D., Stapley, A.G.F. (2010). Spray-freeze drying of whey proteins at sub-atmospheric pressures. *Dairy Sci Technol*, 90(2-3): 321-334.

Barbosa-Canovas, G.V. (ed.), Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H. (2005). *Food powders: Physical properties, processing, and functionality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 372p.

Beristain, C.I., Azuara, E., Vernon-Carter, E.J. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis juliflora*) as wall material. *J Food Sci*, 67(1): 206-211.

Bhandari, B.R., D'Arcy, B.R., Padukka, I. (1999). Encapsulation of lemon oil by paste method using β -cyclodextrin: Encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. *J Agric Food Chem*, 47: 5194-5197.

Bhandari, B.R., Datta, N., Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Dry Technol*, 15(2): 671-684.

Botrel, A.D., Borges, S.V., Fernandes, R.V.B., Viana, A.D., Costa, J.M.G., Marques, G.R. (2012). Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. *Int J Food Sci Technol*, 47(11): 2289-2296.

Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization. *Innov Food Sci Emerg*, 6: 420-428.

Carr, R.L. (1965). Evaluating flow properties of solids. *Chem Eng*, 72: 163-168.

Christensen, K.L., Pedersen, G.P., Kristensen, H.G. (2001). Preparation of redispersible dry emulsions by spray drying. *Int J Pharm*, 212(2): 187-194.

Constantino, H.R., Firouzabadian, L., Hogeland, K., Wu, C., Beganski, C., Carrasquillo, K.G., Tracy, M.A. (2000). Protein spray-freeze drying. Effect of atomization conditions on particle size and stability. *Pharm Res*, 17(11), 1374-1382.

Fang, Y., Selomulya, C., Chen, D. (2008). On measurement of food powder reconstitution properties. *Dry Technol*, 26: 13-14.

Filkova, I., Huang, L.X., Mujumdar, A.S. (2006). Industrial spray drying systems. In: *Handbook of Industrial Drying*, Edited by A.S. Mujumdar, Marcel Dekker, New York, pp. 215-254.

- Hausner, H.H. (1967). Friction conditions in a mass of metal powder. *Int J Powder Metallurgy*, 3: 7-13.
- Heinzelmann, K., Franke, K., Jensen, B., Haahr, A.M. (2000). Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze-drying techniques. *Eur J Lipid Sci Technol*, 102(2): 114-121.
- Her, J.Y., Song, C.S., Lee, S.J., Lee, K.G. (2010). Preparation of kanamycin powder by an optimized spray freeze-drying method. *Powder Technol*, 199: 159-164.
- Hogan, S.A., McNamee, B.F., O'Riordan, E.D., O'Sullivan, M. (2001). Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *Int Dairy J*, 11(3): 37-144.
- Hogekamp, S., Schubert, H. (2003). Rehydration of food powders. *Food Sci Technol Int*, 9(3): 223-235.
- Hui, Y.H. (ed.), Nip, W.K., Nollet, L.M., Paliyath, G., Simpson, B.K. (2006). *Food biochemistry and food processing*. Blackwell Publishing Professional, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA, 769p.
- Ishwarya S.P., Anandharamakrishnan, C., Stapley A.G.F. (2015). Spray-freeze drying - A novel process for the drying of foods and bioproducts. *Trends Food Sci Technol*, 41: 161-181.
- Ishwarya, S.P., Anandharamakrishnan, C. (2015). Spray-freeze-drying approach for soluble coffee processing and its effect on quality characteristics. *J Food Eng*, 149: 171-180.
- Jaya, S., Das, H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *J Food Eng*, 63: 125-134.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J Food Eng*, 84: 194-195.
- Karthik, P., Anandharamakrishnan, C. (2013). Microencapsulation of docosahexaenoic acid by spray-freeze drying method and comparison of its stability with spray-drying and freeze-drying methods. *Food Bioprocess Technol*, 6(10): 2780-2790.
- Kim, E. H.-J., Chen, X. D., Pearce, D. (2002). Surface characterization of four industrial spray-dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting property. *Colloid Surface B*, 26: 197-212.
- Koç, M., Koç, B., Ertekin-Kaymak, F. (2011). Toz gıdaların fiziksel karakterizasyon özellikleri. *Akademik Gıda*, 9(4): 60-70.
- Koç, M., Sakin, M., Ertekin, F.K. (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *PAJES*, 16(1): 77-86.
- Kumar, P., Mishra, H.N. (2004). Yogurt powder – A review of process technology, storage and utilization. *Food Bioprod Process*, 82(2): 133-142.
- Leuenberger, H. (2002). Spray-freeze drying – The process of choice for low water soluble drugs. *J Nanopart Res*, 4(1-2): 111-119.
- Lopez-Quiroga, E., Antelo, L.T., Alonso, A.A. (2012). Time-scale modeling and optimal control of freeze-drying. *J Food Eng*, 111(4): 655-666.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *Int J Food Sci Technol*, 41(1): 1-21.
- McNamee, B.F., O'Riordan, E.D., O'Sullivan, M. (1998). Emulsification and microencapsulation properties of gum arabic. *J Agric Food Chem*, 46(11): 4551-4555.
- Pedersen, G.P., Fäldt, P., Bergenståhl, B., Kristensen, H.G. (1998). Solid state characterisation of a dry emulsion: A potential drug delivery system. *Int J Pharm*, 171(2): 257-270.
- Pisecky, J.(ed.). (1997). *Handbook of Milk Powder Manufacture*. Niro A/S, Copenhagen Denmark.
- Rahmati, R.M., Vatanara, A., Parsian, A.R., Gilani, K., Khosravi, K.M., Darabi, M., Najafabadi, A.R. (2013). Effect of formulation ingredients on the physical characteristics of salmeterol xinafoate microparticles tailored by spray-freeze drying. *Adv Powder Technol*, 24: 36-42.
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *J Food Eng*, 49: 311-319.

Rogers, S., Wu, W.D., Saunders, J., Chen, X.D. (2008). Characteristics of milk powders produced by spray-freeze drying. *Dry Technol*, 26(4): 404-412.

Schiffter, H., Condliffe, J., Vonhoff, S. (2010). Spray-freeze drying of nanosuspensions: The manufacture of insulin particles for needle-free

ballistic powder delivery. *J Royal Soc Interface*, 7(4): 483-500.

Vojdani, F. (1996). Solubility. In: *Methods of testing protein functionality*, Edited by G.M Hall, Springer Science & Business Media, pp.11-60.



KRİTİK ALTI SU İLE FINDIK ATIKLARINDAN ANTİOKSİDAN BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU

Ece Sürek, Ali Oğuz Büyükkileci*

İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / *Received*: 23.11.2017; Kabul / *Accepted*: 20.01.2018; Online baskı / *Published online*: 20.02.2018

Sürek, E., Büyükkileci, A.O. (2018). Kritik altı su ile fındık atıklarından antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu. *GIDA* (2018) 43 (2): 211-221 doi: 10.15237/gida.GD17104

ÖZ

Türkiye fındık üretim ve ihracatında dünya lideridir. Fındığın tarımı ve işlenmesi sırasında büyük miktarda kabuk, zuruf ve dal gibi atıklar açığa çıkmaktadır. Bu atıkların çevre dostu bir teknoloji ile işlenmesi ve önemli ürünlerin üretilmesi katma değer sağlayabilir. Bu çalışmada, fındık atıklarının farklı sıcaklık (150-200°C) ve sürelerde (0-45 dk) kritik altı su ekstraksiyonu ile elde edilen likörlerinin toplam fenolik madde içeriği (TFİ) ve toplam antioksidan aktiviteleri (TAA) incelenmiştir. Genel olarak, kritik altı su ekstraksiyonu ile aseton ve metanol ekstraksiyonuna göre daha yüksek verim elde edilmiştir. Sıcaklık arttıkça fındık kabuğundan elde edilen TFİ ve TAA artmıştır. Süre artışı 180°C'de istatistiksel olarak önemli bir fark yaratmazken, 190°C'de TFİ süre arttıkça yükselmiştir ($P < 0.05$). Bu iki koşulun fındık kabuğu üzerine etkisi şiddet faktörünün logaritmik değeri ($\log R_0$) hesaplanarak tek bir parametrede de incelenmiştir. $\log R_0$ arttıkça TFİ (905.3-2115.7 mg GAE/100 g kabuk) ve TAA (8163.9-12261.5 mg TE/100 g kabuk) değerleri yükselmiştir.

Anahtar kelimeler: Fındık, atık, antioksidan aktivite, fenolik madde, kritik altı su ekstraksiyonu

EXTRACTION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS FROM HAZELNUT WASTES USING SUBCRITICAL WATER

ABSTRACT

Turkey is the world leader in hazelnut production and export. Large amount of wastes such as shell, husk and prunings are produced during the agriculture and processing of hazelnuts. Treatment of hazelnut wastes using an eco-friendly technology and production of valuable products can add value to those. In this study, total phenolic content (TPC) and total antioxidant activity (TAA) in the liquors of hazelnut wastes from subcritical water extraction at different temperature (150-200°C) and time (0-45 min.) values were analyzed. Generally, higher yields were obtained by subcritical water extraction compared to solvent extraction. As temperature increased, TPC and TAA obtained from shells increased. Increase in time did not have a statistically significant effect at 180°C; however, TPC increased significantly with time at 190°C ($P < 0.05$). The combined effect of temperature and time on hazelnut shells was examined in a single variable by calculating logarithmic value of severity factor ($\log R_0$). TPC (905.3-2115.7 mg GAE/100 g shell) and TAA (8163.9-12261.5 mg TE/100 g shell) increased with $\log R_0$.

Keywords: Hazelnut, wastes, antioxidant activity, phenolics, subcritical water extraction

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ oguzbuyukkileci@iyte.edu.tr

☎ (+90) 232 750 6293

☎ (+90) 232 750 6296

GİRİŞ

Türkiye fındık (*Corylus avellana* L.) üretim ve ihracatında dünyada birinci sıradadır. 2009-2014 yılları arası ortalama yıllık kabuklu fındık üretim miktarı 0.53 milyon tondur ve bu miktar dünya üretiminin %65'idir (FAOSTAT, 2017). Fındığın hasadı ve işlenmesi sırasında kabuk, zuruf ve budama sonrası dallar atık olarak açığa çıkmaktadır. Yıllık zuruf miktarının 0.20 milyon ton olduğu tahmin edilirken (Güney, 2013); 2003 verilerine göre, 0.65 milyon ton fındık üretimi sonucunda elde edilen kabuk ve budama atık miktarları sırasıyla 0.45 ve 1.7 milyon tondur (Alkaya vd., 2010). Bu atıklar genellikle evlerde yakıt olarak kullanılmakta veya tarlalarda yakılmaktadır (Çöpür vd., 2013; Güney, 2013). Tarımsal atıklardan çeşitli fitokimyasalların geri kazanılması veya bunların önemli biyo-ürünlere dönüştürülmesi ile bu atıklara katma değer kazandırılabilir. Fındıktan (Xu vd., 2012) ve fındığın kabuk, zar, zuruf ve ağaç yaprakları gibi bazı atıklarından (Shahidi vd., 2007) antioksidan özellik taşıyan çeşitli fenolik maddelerin elde edilebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Bitkilerden çeşitli biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu genellikle organik çözücüler kullanılarak katı-sıvı ekstraksiyonu ve buhar distilasyonu gibi geleneksel işlemlerle gerçekleştirilmektedir (Zakaria ve Kamal, 2016). Kullanılan bazı çözücülerin toksik olması veya büyük miktarlarda ve yüksek saflıkta tüketilmesi, geleneksel metotların zaman alması, pahalılığı, düşük seçiciliği ve yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin bozunma riski taşıması gibi sebepler, son zamanlarda yüksek kalite ve aktivitede ekstrakt elde edebilmek için kritik altı su ekstraksiyonu (basınçlı sıcak su ekstraksiyonu) ve süper ısıtılmış su ekstraksiyonu gibi çevre dostu teknolojilerin kullanımına olan ilgiyi arttırmıştır (Kim vd., 2009; Rodríguez-Meizoso vd., 2006; Zakaria ve Kamal, 2016).

Kritik altı su ekstraksiyonu sadece suyun kullanıldığı hidrotermal bir işlemdir. Yüksek basınç altında ve 100-374°C de su kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Kim vd., 2009). Kritik altı fazda suyun polaritesi ve dielektrik sabiti değiştiğinden farklı çözen özellikleri kazanır (Zakaria ve Kamal, 2016). Bu teknik, kütle iletim

oranını geliştirebilir ve ekstraktların biyolojik potansiyelini koruyabilir (Zakaria ve Kamal, 2016). Kritik altı su ekstraksiyonu ile sıcaklığa bağlı olarak farklı sınıftaki bileşenler ekstrakte edilebilir. Daha fazla polar olan bileşenler, düşük sıcaklıklarda, daha az polar olanlar daha yüksek sıcaklıklarda elde edilir (Ibañez vd., 2003). Kritik altı su ekstraksiyonu kullanılarak pirinç kepeği (Wataniyakul vd., 2012), patates kabuğu (Singh ve Saldana, 2011), tarçın (Khuwijitjaru vd., 2012), kekik (Rodríguez-Meizoso vd., 2006), turunçgiller (Kim vd., 2009), istiridye mantarı (Jo vd., 2013) gibi ürünlerden/maddelerden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ile ilgili bazı çalışmalar bulunmaktadır. Soğan kabuğu ve yeşil kahve çekirdeklerinin kritik altı su ekstraksiyonu ile ekstrakte edilen bileşenlerinin antioksidan aktivitelerinin diğer ekstraksiyon metotlarıyla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görülmüştür (Zakaria ve Kamal, 2016).

Kritik altı su aynı zamanda bitki biyokütlesini oluşturan selüloz-hemiselüloz-lignin yapısını bozmak için de kullanılır. Yüksek sıcaklık suyun otoiyonizasyonunu, hemiselüloz zincirindeki asetil gruplarının asetik asit olarak suya geçmesini, hemiselülozun lignin ve selülozdan ayrılmasını ve parçalanmasını (otohidroliz) sağlar. Geriye kalan katıdaki selüloz, selülozik enzimlerle hidroliz edilebilir hale gelir (Alvira vd., 2010; Hendriks ve Zeeman, 2009). Bu sebeple biyoetanol gibi biyo temelli kimyasalların üretimi öncesi uygulanabilecek ön işlemler arasındadır. Otohidroliz, prebiyotik özellik gösteren hemiselülozik oligosakkarit üretimi için de kullanılan bir yöntemdir. Örneğin, sıcaklık ve sürenin hassas olarak ayarlanması sayesinde bitkisel biyokütledeki ksilan, ksilooligosakkarit olarak elde edilebilmektedir (Carvalho vd., 2013). Bu sebeple lignoselülozik tarımsal atıklar prebiyotik elde etmek için çok uygun bir hammadde olarak görülebilir. Otohidroliz likörü, oligosakkaritler dışında monomerik ve polimerik karbonhidratlar; asetik asit, formik asit, furfural ve HMF gibi şeker bozunma ürünleri; fenolik bileşenler ve diğer ekstraktifleri içerir (Carvalho vd., 2004). Prebiyotik oligosakkarit üretimi sırasında yan ürün olarak açığa çıkan fenolik bileşenlerin geri kazanılarak değerlendirilmesi ile

aynı anda iki değerli ürün elde etmek mümkün hale gelebilir. Literatürde üzüm sapı (Amendola vd., 2012) ve zeytin budama atıklarından (Conde vd., 2009) otohüroliz yöntemi ile ayrılan likörün toplam fenolik madde içeriğini araştıran çalışmalar bulunmaktadır.

Önceki bir çalışmamızda fındık kabuğu, zuruflu ve budama atığı dallar kritik altı su ile muamele edilerek prebiyotik özellik gösterme potansiyeli olan ksilooligosakkarit üretimi hedeflenmiş ve fındık kabuğundan yüksek verimde ürün elde edilmiştir (Surek ve Buyukkileci, 2017). O çalışmada fındık atıkları çeşitli sıcaklık ve süre koşullarında otohürolize tabi tutulmuştur. Fındık atıklarının fenolik madde içerikleri (Shahidi vd., 2007) ve kritik altı suyun fenolik maddelerin geri kazanılmasındaki potansiyeli göz önüne alınarak, şimdiki çalışmamızda otohüroliz likörlerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Uygulamada kullanılan sıcaklık ve sürenin fenolik maddelerin kazanılmasındaki etkisi incelenmiş, metanol ve aseton ekstraktları ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Fındık zuruflu, sert kabukları ve fındık ağacının dalları, hasat ve işleme döneminde Gürsoy Tarımsal Ürünler Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Ordu, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Fındık atıkları etüvde (Termal, Türkiye) 60°C'de 24 saat kurutulduktan sonra tanecik boyutu 2 mm'den küçük olacak şekilde bitki öğütme değirmeninde öğütülmüş ve hava geçirmeyen paketlerde oda sıcaklığında saklanmıştır. Deneylerde kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya) ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

Yağın uzaklaştırılması

Öğütülmüş fındık atıklarının yağı Soxhlet ekstraksiyon metodu kullanılarak ayrılmıştır. Soxhlet düzeneği sırasıyla en altta 350 mL hekzan ile dolu 500 mL'lik cam balon, ortada filtre kağıdına sarılı 25 g fındık atığının bulunduğu 250 mL'lik ekstraktör ve en üstte geri soğutucu olacak şekilde yerleştirilmiştir. Yağın uzaklaştırılması işlemi 6 saatlik süre sonunda tamamlanmıştır.

Yağdan arınmış katılar 60°C'de bir gece boyunca etüvde kurutulmuştur.

Nem tayini

Öğütülmüş kuru fındık atıklarının ve Soxhlet ekstraksiyonu sonrası elde edilen yağı uzaklaştırılmış kuru fındık atıklarının nem içeriği NREL/TP-510-42621 (Sluiter vd., 2008) metoduna göre belirlenmiştir. Tek kullanımlık alüminyum kaplar 105°C'de 1 saat kurutulduktan sonra desikatörde soğuması için bekletilmiş ve içine 1 g öğütülmüş örnek koyulmuştur. 105°C'de en az 4.5 saat bekletildikten sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır. Sabit tartıma gelinceye kadar bu işleme devam edilmiştir.

Çözücü ekstraksiyonu

Ekstraksiyon işlemi Xu vd. (2012) tarafından anlatıldığı gibi yapılmıştır. Fındık atıklarından fenolik maddelerin ekstraksiyonu amacıyla, %80 metanol-su ve %80 aseton-su olarak iki farklı çözücü kullanılmıştır. Fındık atığı örneğinin (0.4 g) üzerine 5 mL ekstraksiyon çözültüsü ilave edilmiştir. Örnekler 15 dakika ultrasonik banyoda (Transsonic 780/H, Elma, Almanya) bekletildikten sonra 5000 rpm 4°C'de santrifüjlenmiştir (Universal 320R, Hettich, Almanya). Sıvı kısım (ekstrakt) ayrıldıktan sonra katı kısım üç defa daha aynı işleme tabi tutularak toplam 20 mL ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar analizler için kullanılabilece kadar -20°C'de saklanmıştır.

Kritik altı su ekstraksiyonu

Kritik altı su ekstraksiyonu, 600 mL'lik paslanmaz çelik yüksek basınç reaktörde (Berghof, Almanya) iki paralel halinde yapılmıştır. 35 g fındık atığı (kabuk, zuruflu veya dal) 350 mL distile su ile karıştırılmış (Xiao vd., 2013) ve bu karışım 300 devir/dk karıştırma hızında 190°C'ye ısıtılmış ve bu sıcaklıkta 15 dk bekletilmiştir (Surek ve Buyukkileci, 2017). Bu şartlarda reaktördeki basınç yaklaşık 1.0 MPa olmuştur. İşlem sonunda, reaktör soğutma serpantininde dolaşacak çeşme suyu yardımıyla 60°C'ye soğutulmuş ve kapağı açılmıştır. Elde edilen karışım önce tülbent yardımıyla sonra da vakum altında filtre kağıdından süzülükten sonra sıvı kısım -20°C'de analizler için saklanmıştır. Kritik altı su

ekstraksiyonunun fındık atıklarının toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesine etkisi belirlenmiş ve ayrıca fındık kabuğu için farklı sıcaklık (150-200°C) ve reaksiyon sürelerinin (0-45 dk., reaktörün ısıtılması ve soğutulması için geçen süre hariç) etkisi de araştırılmıştır. Bu iki koşulun etkisini tek bir parametrede incelemek amacıyla her bir işlem için aşağıda gösterildiği gibi (1) şiddet faktörünün logaritmik değeri ($\log R_o$) hesaplanmıştır (Overend vd., 1987).

$$R_o = \int_0^t \exp \left[\frac{T(t) - 100}{14.75} \right] dt \quad (1)$$

Burada t: zamanı (dk), T: sıcaklığı (°C) ifade ederken, 100°C referans sıcaklık, 14.75 deneysel bir sabittir.

Toplam fenolik madde içeriği analizi

Toplam fenolik madde (TFİ) içeriği Singleton ve Rossi (1965) tarafından kullanılan metotta bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Bu analizde, 500 µL fındık kabuğu ekstraktı, otohizoliz likörü veya standart çözeltisine sırasıyla deiyonize su ile 10 kat seyreltilmiş 0.2 N Folin Ciocalteu reaktifi çözeltisinden 2500 µL ve %7.5'lik (ağırlık/hacim) sodyum karbonat (Na₂CO₃) çözeltisinden 2000 µL ilave edilmiş ve elde edilen karışım vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karışımlar iki saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra absorbans değerleri 765 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (T80+, PG Instruments Ltd., Leicestershire, İngiltere) ilgili çözgenlerle hazırlanan körlere karşı okunmuştur. Standart kalibrasyon eğrisi, su, %80 metanol-su ve %80 aseton-su için 0.01-0.40 mg/mL aralığında gallik asit kullanılarak hazırlanmıştır. Toplam fenolik madde içeriği değerleri mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g kuru fındık atığı olarak ifade edilmiştir. Tüm analizler üç paralel halinde gerçekleştirilmiştir.

Toplam antioksidan aktivite analizi

Toplam antioksidan aktivite (TAA) Miller ve Rice-Evans (1997) tarafından anlatıldığı gibi 2,2'-azino- bis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) metodu ile belirlenmiştir. ABTS reaktifi çözeltisi 200 mg ABTS'nin 200 mL suda çözünmesi ile hazırlanmıştır. Potasyum persülfat

(K₂S₂O₈) çözeltisi için 38 mg potasyum persülfat 2 mL suda çözülmüştür. Hazırlanan bu çözeltiler karıştırılmış ve bir gece boyunca radikal oluşumu için karanlıkta bekletilmiştir. 0.05 M potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve 0.05 M dipotasyum hidrojen fosfat (K₂HPO₄) çözeltileri pH'sı 8 olacak şekilde karıştırılmış ve potasyum tampon çözeltisi (KPi) hazırlanmıştır. Tampon çözeltisi analiz için kullanılacak kadar ayrılmış ve bir gece bekletilen ABTS reaktif çözeltisinden son absorbans 0.9 ± 0.2 olacak şekilde damlatılarak ABTS reaktif karışımı elde edilmiştir. Fındık kabuğu ekstraktı, otohizoliz likörü veya standart çözeltisinin 100 µL'sine hazırlanan ABTS reaktif karışımından 1 mL ilave edilmiş ve 15 saniye vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. 45 s bekledikten sonra 734 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Carry 100 BIO, Varian, CA, ABD) suya karşı absorbans değerleri ölçülmüştür. Standart kalibrasyon eğrisi, %80 metanol-su ve %80 aseton-su için 0.01-0.10 mg/mL ve su için 0.04-0.40 mg/mL aralığında 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks) kullanılarak hazırlanmıştır. Toplam antioksidan aktivite değerleri mg Troloks eşdeğeri (TE)/100 g kuru fındık atığı olarak ifade edilmiştir. Tüm analizler üç paralel halinde gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 16.0 istatistik paketi yardımı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrasında Tukey Testi ile 0.05 önem derecesinde yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Fındık atıkları ilk önce çok kullanılan çözgenlerle (metanol ve aseton) ekstrakte edilmiştir. Böylece hem çalışmada kullanılan biyokütlerin önceki çalışmalardakilerle karşılaştırılması sağlanmış hem de bu sonuçlar kritik altı su ekstraksiyonunun verimliliğinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarının TFİ ve TAA sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Tüm atıklarda TFİ ve TAA'ya rastlanmış olsa da fındık zuru ekstraktlarında değerler genellikle diğerlerine göre daha yüksektir. Aseton fındık atıklarının ekstraksiyonu için metanolden daha etkili olmuştur. Bu çalışmada fındık atıklarının çözücü ekstraktlarının TFİ

değerleri 407.8 ve 1683.7 mg GAE/100 g kuru fındık atığı, TAA değerleri ise 1148 ve 5622 mg TE/100 g kuru fındık atığı arasında değişmektedir. Alasalvar vd. (2009) fındık içi fenoliklerinin TAA'sını araştırdıkları bir çalışmada %80 metanol-su ve %80 aseton-su karışımlarının fındığın fenolik bileşenlerin ekstrakte edilmesinde etkili çözücüler olduğunu bildirmişlerdir. Xu vd. (2012) %80 aseton-su ile ekstrakte edilmiş fındık kabuğu ekstraktlarının TFİ ve TAA değerlerini bu çalışmadaki değerlerle uyumlu olarak sırasıyla, 450-1450 mg tannik asit eşdeğeri/100 g fındık kabuğu ve 893.5-4247.4 mg TE/100 g fındık kabuğu bulmuşlardır. Shahidi vd. (2007) fındık kabuğu ve zurufunun %80 etanol-su ile ekstrakte edilmiş ekstraktlarının TFİ değerlerini sırasıyla 541.7 ve 457.0 mg kateşin/100 g yağı uzaklaştırılmış fındık kabuğu olarak tespit

etmişlerdir. Bu çalışmada, fındık kabuğunun metanollü ekstraktının TFİ değeri Shahidi vd. (2007)'e daha yakın iken, fındık zurufu ekstraktında o çalışmada elde edilenden daha fazla TFİ'ye rastlanmıştır (1208 mg GAE/100 g fındık kabuğu). Fındık kabuğu ve zurufunun ekstraktlarının TAA değerleri ise yine aynı çalışmada elde edilene kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Del Rio vd. (2011) ve Agourram vd. (2012) fındığın diğer bir atığı olan fındık zarının TFİ içeriğini bu çalışmada bulunan değerlerden daha yüksek olarak sırasıyla 4100-12700 mg polifenol/100 g fındık zarı ve 12460-16630 mg GAE/100 g fındık zarı olarak belirlemişlerdir. Bu çalışma ve literatürdeki diğer çalışmalar fındık atıklarının TFİ ve TAA değerlerinin, fındık atığının türüne, yetiştiği bölgeye ve ekstraksiyon metoduna göre değişebileceğini göstermektedir.

Çizelge 1. Farklı çözücülerle ekstrakte edilmiş fındık atıklarının toplam fenolik içeriği (TFİ) ve toplam antioksidan aktivitesi (TAA)

Table 1. Total phenolic content (TPC) and total antioxidant activity (TAA) of hazelnut wastes extracted with different solvents

Çözücü Solvent	TFİ TPC (mg GAE*/100 g kuru fındık atığı) (mg GAE*/100 g dry hazelnut waste)		
	Kabuk Shell	Zuruf Husk	Dal Prunings
80% Metanol-su Methanol-water	407.8 ± 32.9	1208 ± 24.9	950.6 ± 15.1
80% Aseton-su Acetone-water	666.6 ± 26.6	1683.7 ± 41.2	1354.9 ± 50.3
Çözücü Solvent	TAA TAA (mg TE**/100 g kuru fındık atığı) (mg TE**/100 g dry hazelnut waste)		
	Kabuk Shell	Zuruf Husk	Dal Prunings
80% Metanol-su Methanol-water	1148 ± 97.7	3305.8 ± 88.3	3467.7 ± 103.8
80% Aseton-su Acetone-water	2674.3 ± 7.2	5622 ± 164.2	5167.7 ± 191.5

(*GAE: Gallik asit eşdeğeri, **TE: Troloks eşdeğeri)
(*GAE: Gallic acid equivalent, **TE: Trolox equivalent)

Ksilooligosakkarit üretmek amacıyla fındık atıklarına otohüroliz işlemini uyguladığımız önceki çalışmamızda, kabuk, zuruf ve dallar 190°C'de 15 dk muamele edilmiştir (Surek ve Buyukkileci, 2017). Daha sonra uygulamanın

fındık kabukları üzerine etkisi geniş sıcaklık (150-200°C) ve süre (0-45 dk) aralığındaki çeşitli kombinasyonlarda incelenmiştir. Otohüroliz uygulamasında su, kritik altı koşullarda olduğundan fındık atıklarından fenolik

maddelerin ekstraksiyonunu sağlama potansiyeli taşır. Bu sebepten, otohizoliz uygulamasından elde edilen likör bu çalışmada değerlendirilmiş ve TFİ ve TAA miktarları belirlenmiştir. Uygulamanın antioksidan kapasitesi yüksek fenolik maddelerin kazanımında etkili olduğu görülmüştür (Çizelge 2). Fındık atıklarının aynı koşuldaki (190°C’de 15 dk) muamelesi ile elde edilen likörleri arasında en yüksek TFİ değeri fındık kabuğu için görülürken (1697.4 mg GAE/100 g kuru fındık atığı), fındık zuruğu diğerlerine göre daha yüksek TAA değeri

göstermiştir (13455.3 mg TE/100 g kuru fındık atığı). Metanol ve aseton ekstraktları ile karşılaştırıldığında uygulamanın özellikle fındık kabuğu üzerinde önemli bir etkisi göze çarpmaktadır. Kritik altı su, fındık kabuğundan metanol ve asetona göre sırasıyla 4.2 ve 2.5 kat TFİ; ve 10 ve 4.3 kat TAA sağlamıştır. Benzer şekilde, tarçın kabuğuna 200°C’de kritik altı su ekstraksiyonu uygulandığında da elde edilen fenolik bileşenlerin miktarının metanol ile elde edilene göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Khuwijitjaru vd., 2012).

Çizelge 2. Fındık atıklarının otohizoliz likörünün toplam fenolik içeriği (TFİ) ve toplam antioksidan aktivitesi (TAA)

Table 2. Total phenolic content (TPC) and total antioxidant activity (TAA) of autohydrolysis liquors of hazelnut wastes

Fındık Atığı <i>Hazelnut Waste</i>	İşlem Koşulları <i>Treatment Conditions</i>			TFİ TPC (mg GAE*/100 g kuru fındık atığı)	TAA TAA (mg TE**/100 g kuru fındık atığı)
	Sıcaklık (°C) <i>Temperature (°C)</i>	Zaman (dk) <i>Time (min)</i>	log R _o	(mg GAE*/100 g dry hazelnut waste)	(mg TE**/100 g dry hazelnut waste)
Zuruf <i>Husk</i>	190	15	4.02	1364.6 ± 267.0	13455.3 ± 1916.1
Dal <i>Prunings</i>	190	15	4.02	1394.4 ± 461.1	10310.5 ± 3449.1
	150	15	2.73	905.3 ± 67.6 ^d	8163.9 ± 28.0 ^c
	160	15	3.09	991.2 ± 106.5 ^d	8276.6 ± 98.8 ^{bc}
	170	15	3.36	1219 ± 42.1 ^{cd}	9179.7 ± 964.7 ^{abc}
	180	5	3.53	1277.7 ± 163.5 ^{cd}	10382.7 ± 1155.1 ^{abc}
	180	15	3.63	1280.4 ± 80.8 ^{cd}	10077.9 ± 440.1 ^{abc}
Kabuk <i>Shell</i>	180	30	3.91	1492 ± 83.3 ^c	10945.9 ± 553.9 ^{abc}
	180	45	4.03	1582.5 ± 75.6 ^{bc}	11220.3 ± 888.0 ^{abc}
	190	0	3.64	1278.6 ± 139.7 ^{cd}	9135.9 ± 1142.5 ^{abc}
	190	5	3.92	1365.2 ± 62.9 ^{cd}	10404.4 ± 243.2 ^{abc}
	190	15	4.02	1697.4 ± 220.2 ^{abc}	11472.0 ± 225.4 ^{ab}
	190	30	4.15	2022.7 ± 82.0 ^{ab}	12005.7 ± 1188.0 ^a
	200	0	3.93	1601.7 ± 15.2 ^{bc}	10700.9 ± 340.4 ^{abc}
	200	15	4.29	2115.7 ± 228.6 ^a	12261.5 ± 1453.9 ^a

(*GAE: Gallik asit eşdeğeri, **TE: Troloks eş değeri)

(*GAE: Gallic acid equivalent, **TE: Trolox equivalent)

(Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farklılıkları göstermektedir (P < 0.05).)

(Different letters on the same row represent statistical differences (P < 0.05))

Kritik altı su ekstraksiyonunda hem uygulama sıcaklığı hem de uygulama süresi önemlidir. Bu iki faktörün etkisini “şiddet faktörü” kavramı ile birleştirmek mümkündür. Bu çalışmada da bu yöntem izlenerek şiddet faktörleri hesaplanmış ve bunun ekstraktların fenolik madde ve antioksidan

aktivitelerinin üzerine etkisi incelenmiştir (Çizelge 2). Fındık kabuğuna farklı sıcaklık ve sürede işlem uygulanarak elde edilen likörler için, sıcaklık ve sürenin likörlerin TFİ ve TAA değerleri üzerinde etkili olduğu, şiddet faktörü arttıkça bu değerlerin arttığı görülmüştür. Şiddet faktörü 2.73’den 4.29’e

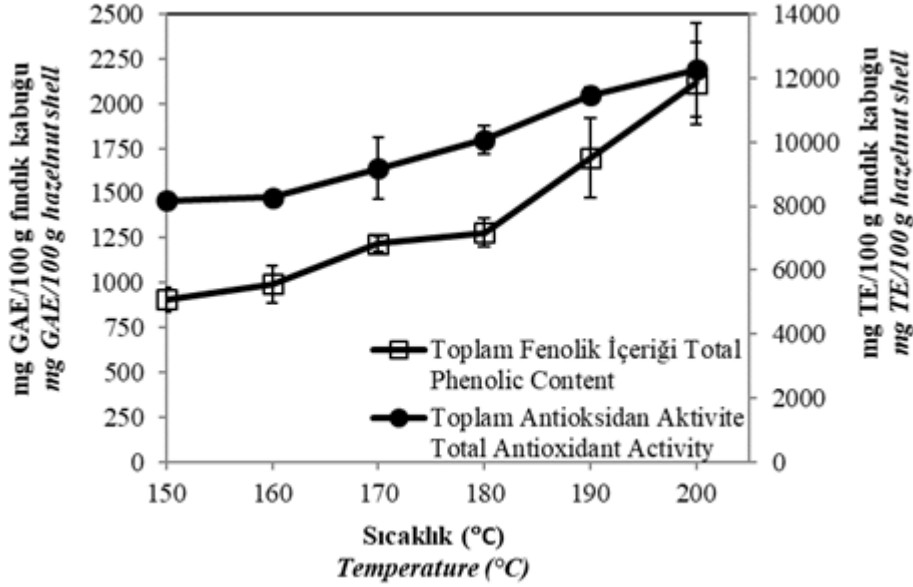
arttırıldıkça TFİ 0.82'den 1.91 mg GAE/mL'ye (905.3-2115.7 mg GAE/100 g fındık kabuğu) ve TAA 7.38'den 11.07 mg TE/mL'ye (8163.9-12261.5 mg TE/100 g fındık kabuğu) yükselmiştir. Otohizoliz, asitte çözünen ligninden türemiş bileşenleri ve ekstraktiflerden türemiş fraksiyonları içeren likörün elde edilmesini sağlayan bir teknolojidir (Conde vd., 2009). Dolayısıyla, TFİ'nin yüksek çıkmasının nedeni bu bileşenlerin açığa çıkışındaki artış olabilir. Farklı atıklardan elde edilen otohizoliz likörlerinin TFİ değerlerinin incelendiği diğer çalışmalarda da şiddet faktörünün etkili olduğu görülmüştür (Carvalho vd., 2009; Ho vd., 2014).

Kim vd. (2009) turunçgil meyve ezmesindeki fenoliklerin 25, 100, 150, 200 ve 250°C sıcaklıklarında 10, 30 ve 60 dk kritik altı su ile ekstraksiyonunu incelemişlerdir. Ekstraktların TFİ ve TAA değeri sıcaklık ve zaman arttıkça artmış ve bu çalışmaya benzer şekilde en yüksek değerlere en yüksek sıcaklık (200°C) ve en uzun sürede (60 dk) ulaşmıştır. Amendola vd. (2012) üzüm sapının 180°C'de 30 dk otohizolizi ile elde edilen likörünün TFİ değerini 2.54 g GAE/L olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, aynı koşullar altında fındık kabuğu için bu değer 1.35 g GAE/L olarak bulunmuştur. Conde vd. (2009), 170, 190, 210 ve 230°C'de 10 dk işlemi ile elde edilen likörlerin TFİ değerlerini sırasıyla 1460, 1760, 2030 ve 2290 mg GAE/100 g budama atıkları olarak belirlemişlerdir. Conde vd. (2009)'e benzer şekilde bu çalışmada fındık kabuğundan 170, 190 ve 200°C'de 15 dk işlemi sonrası elde edilen likörlerin TFİ'si sırasıyla 1219, 1697 ve 2115 mg GAE/100 g fındık kabuğu olarak bulunmuştur. Bu nedenle, ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların TFİ ve TAA değerlerinin kullanılan ham maddenin türüne ve fenolik madde içeriğine bağlı olarak değiştiği söylenebilir.

Yukarıda sıcaklık ve sürenin birlikte etkisi şiddet faktörü kullanılarak ortaya konmuş olsa da bu iki faktörün etkisini ayrı ayrı incelemek de mümkündür. Sıcaklığın fındık kabuğundan fenolik maddelerin ekstraksiyonuna etkisini incelemek amacıyla aynı uygulama süresinde (15

dk) ancak farklı sıcaklıklarda (150, 160, 170, 180 ve 190°C) gerçekleştirilmiş işlemler karşılaştırılmıştır (Şekil 1). Uygulama sıcaklığı arttıkça likörün TFİ ve TAA'sı artış göstermiştir. Bu iki değişken, sıcaklık 150°C'den 160°C'e arttırıldığında pek değişmezken; 180°C'den 200°C'ye arttırıldığında TFİ için önemli artış sağlamıştır ($P < 0.05$). Rodríguez-Meizoso vd. (2006) kekik yapraklarından antioksidanların ekstraksiyonu için farklı sıcaklıklarda (25, 50, 100, 150 ve 200°C) aynı süre için (30 dk) kritik altı su ekstraksiyonu uygulamış ve benzer şekilde, en yüksek sıcaklıkta (200°C) elde edilen ekstraktın en yüksek TAA değerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Conde vd. (2009) de zeytin budama atıklarının yüksek sıcaklıklardaki (210 ve 230°C) hidrotermal işleminin likördeki fenolik bileşenlerin açığa çıkışını arttırdığını belirtmişlerdir. Khuwijiitjaru vd. (2012), 200°C'nin 150°C'ye göre daha verimli ekstraksiyon sağlamanın nedenini yüksek sıcaklıklarda suyun dielektrik sabitinin metanol ve etanolüne yakın bir değere ulaşması ve suyun bu sıcaklıkta organik çözücülere benzer şekilde birçok bileşeni çözebilmesi olarak açıklamışlardır.

Uygulama süresinin fenolik maddelerin ekstraksiyonuna etkisini incelemek amacıyla 180°C'de 5, 15, 30 ve 45 dk ve 190°C'de 0, 5, 15 ve 30 dk sonrası elde edilen likörler karşılaştırılmıştır (Şekil 2a ve Şekil 2b). 180°C için süreyi 5 'den 45 dk'ya arttırmak TFİ ve TAA için önemli bir fark yaratmamıştır ($P > 0.05$) (Şekil 2a). Bu nedenle 180°C için kritik altı su ekstraksiyonunu 5 dk gerçekleştirmek fenoliklerin ekstrakte edilmesi için yeterli olacak ve enerji verimliliği sağlayacaktır. 190°C'de elde edilen değerler 180°C'ye göre daha yüksektir (Şekil 2b). TFİ analiz sonuçlarına göre 190°C için işlem süresi 0'dan 30 dk'ya arttırıldığında önemli bir artış sağlanırken ($P < 0.05$); TAA için süre 0'dan 30 dk'ya arttırıldığında artış görülmemiştir. Khuwijiitjaru vd. (2012), hem 150 °C hem de 200°C'de zamanın 30 dk'dan fazla olmasının TAA değerinde ek bir artış sağlamadığını görmüşlerdir.



Şekil 1. Fındık kabuğunun otohidroliz likörünün toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivitesinin farklı sıcaklık koşullarındaki değişimi (uygulama süresi:15 dk)

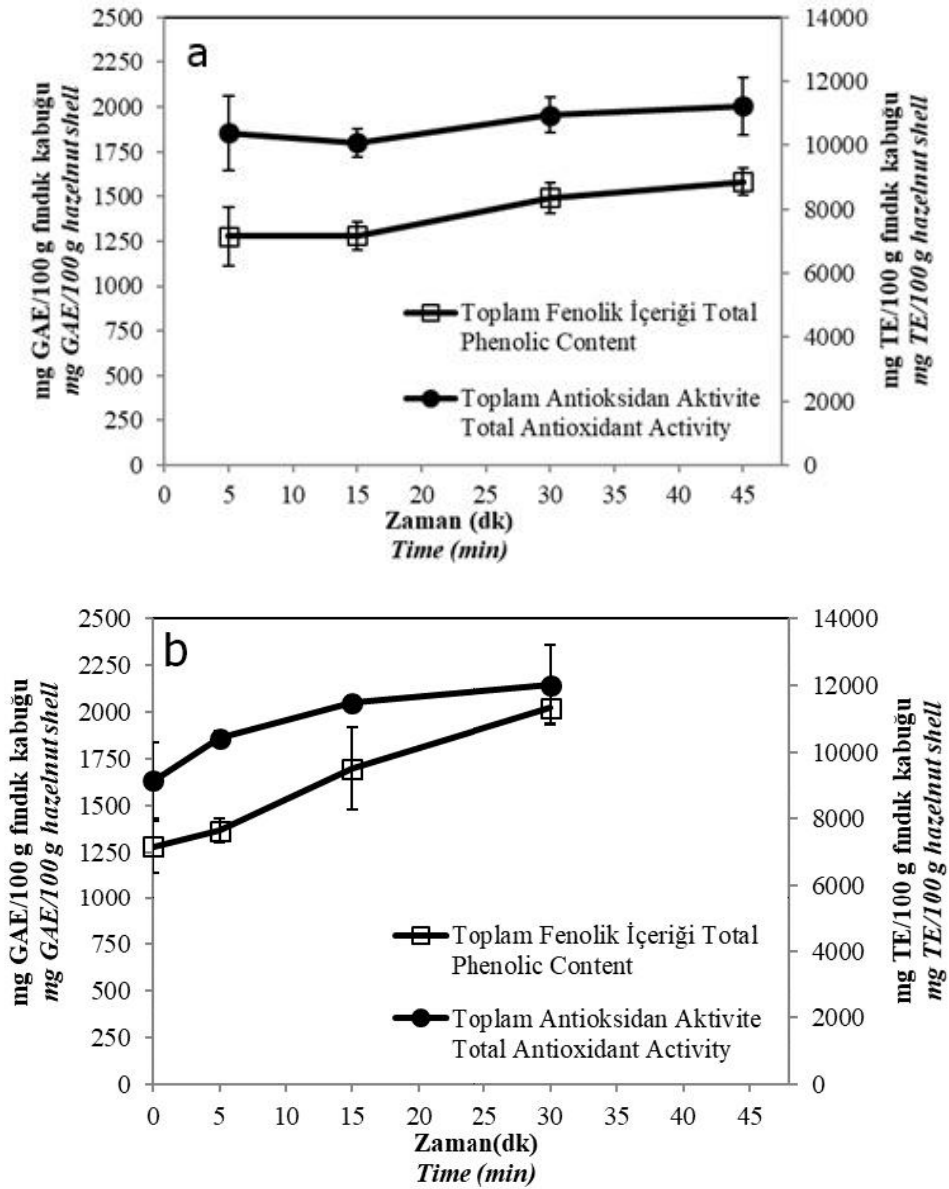
(GAE: Gallik asit eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri)

Figure 1. The change of total phenolic content and total antioxidant activity of autohydrolysis liquor of hazelnut shell under different temperature conditions (treatment time: 15 min)

(GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent)

Yaptığımız çalışmalar göstermiştir ki, fındık kabuğunun kritik altı su ile muamelesi sonucu hem fenolik maddeler geri kazanılabilmekte hem de ksilooligosakkarit üretilebilmektedir. Bu iki değerli ürün grubunun ortak olarak üretimini en yüksek seviyeye çıkaracak koşulların tespit edilmesi gerekir. Bunun için, uygulama koşullarının fenolliklere ve oligosakkaritlere etkisi karşılaştırılmıştır. Farklı sıcaklıklarda 15 dk uygulama süresi sonucu elde edilen likörlerin oligosakkarit konsantrasyonundaki değişim fenoliklerin ekstraksiyonundan daha farklı olmuştur (Sürek ve Büyükkileci, 2017). 150'den 180°C'ye çıkıldığında oligosakkarit konsantrasyonu artmış, en yüksek değerler 180 ve 190°C için elde edilmiş, 190'dan 200°C'e çıkıldığında ise azalma görülmüştür. Fenoliklerin konsantrasyonu genel olarak bir artış gösterirken, en yüksek artış 180'den 200°C'e çıkıldığında görülmüştür. Şiddet faktörü arttıkça oligosakkarit konsantrasyonu artmış, en yüksek değere 190°C 'de 5 dk ($\log R_v$: 3.92) ile ulaşmış ve sonra azalma göstermiştir. Bu

likörlerin TFI ve TAA değerleri ise oligosakkarit konsantrasyonundan farklı olarak genel olarak bir artış göstermiştir. 180°C'de işlem süresinin arttırılması oligosakkarit konsantrasyonu ve TFI için önemli bir artışa sebep olmazken, 190°C için sürenin 5'den 30 dk'ya arttırılması oligosakkaritlerde azalmaya neden olmuştur. Buna göre 180°C'de işlem süresinin etkili olmaması nedeniyle, oligosakkarit ve fenolik maddelerce zengin bir likör elde edebilmek için 5 dk yeterli olacaktır. 190°C için 30 dk'da en yüksek TFI ve TAA değerleri elde edilirken, en yüksek oligosakkarit konsantrasyonu 5 dk ile elde edilmiştir. Dolayısıyla, oligosakkarit ve fenolik konsantrasyonu yüksek bir likör elde etmek için 180 ve 190°C'nin uygulanması yeterli olacaktır. Aynı süre için 190°C daha yüksek TFI ve TAA değerleri gösterdiğinden tercih edilebilir; fakat 190°C'de sürenin arttırılması ile fenoliklerin ekstraksiyonu artacağı halde işlem süresinin 5 dk'dan fazla olması oligosakkarit konsantrasyonunu azaltacaktır.



Şekil 2. Fındık kabuğunun otohidroлиз likörünün toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivitesinin a) 180 ve b) 190°C için farklı işlem süresi koşullarındaki değişimi (GAE: Gallik asit eşdeğeri, TEAK: Trolox eşdeğeri)

Figure 2. The change of total phenolic content and total antioxidant activity of antihydrolysis liquor of hazelnut shell for a) 180 and b) 190°C at different time conditions (GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent)

Otohidroлиз uygulaması sonrasında açığa çıkan ve katma değeri yüksek ürünler olan fenolik bileşenler ve lignin uygulanacak ilave ayırma işlemi ile otohidroлиз liköründen geri kazanılabilir (Amendola vd., 2012). Örneğin, likörün etil asetat ile ekstraksiyonu ile yapay antioksidanlarla karşılaştırılabilir aktivitede ekstraktlar elde edilebilmektedir (Conde vd., 2009).

SONUÇ

Fındık atıklarından oligosakkarit üretmek amacıyla farklı sıcaklık ve sürelerde kritik altı su ekstraksiyonu ile elde edilen likörlerinin TFİ ve TAA analizi yapılmıştır. Kritik altı su ekstraksiyonunun fındık kabuğundan fenoliklerin kazanılmasında etkili bir yöntem olduğu görülmüştür. Üstelik çözücü (aseton ve metanol)

ile ekstraksiyona göre verimliliği daha yüksektir. Uygulamanın sıcaklığı ve süresi arttıkça verim artsa da orta şiddetlerde de yüksek miktarlarda TFİ ve TAA değerleri elde edilebilmektedir. Orta şiddette (180-190°C) fındık kabuğundan ksilooligosakkarit de elde edilebildiğinden bu koşullarda kritik altı su ile fındık kabuğundan yüksek oranda faydalanılacağı söylenebilir. Ülkemizde her yıl fazla miktarda açığa çıkan fındık atıklarının kritik altı su ekstraksiyonu gibi çevre dostu bir teknoloji ile yararlı bileşenlerin üretilmesi için değerlendirilmesi ekonomiye katma değer sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Bilimsel Araştırma Projesi (Proje No: 2015IYTE13) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (Proje No: 213O126) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Agourram, A., Ghirardello, D., Rantsiou, K., Zeppa, G., Belviso, S., Romane, A., Oufdou, K., Giordano, M. (2012). Phenolic content, antioxidant potential and antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. *Int J Food Prop*, 16(5): 1092-1104. doi:10.1080/10942912.2011.576446

Alasalvar, C., Karamac, M., Kosinska, A., Rybarczyk, A., Shahidi, F., Amarowicz, R. (2009). Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. *J Agric Food Chem*, 57(11), 4645-4650. doi:10.1021/jf900489d

Alkaya, E., Altay, T., Ata, A., Çakar, S. O., Durtas, P. (2010). Tarımsal atıklardan yüksek katma değerli biyoürün üretimi. *İleri Teknoloji Projeleri Destek Programı Raporu*, Türkiye Teknoloji Geliştirme Vakfı, Ankara, Türkiye, s. 35.

Alvira, P., Tomás-Pejoj, E., Ballesteros, M., Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresour Technol*, 101(13), 4851-4861. doi:10.1016/j.biortech.2009.11.093

Amendola, D., De Faveri, D. M., Egües, I., Serrano, L., Labidi, J., Spigno, G. (2012). Autohydrolysis and organosolv process for

recovery of hemicelluloses, phenolic compounds and lignin from grape stalks. *Bioresour Technol*, 107, 267-274. doi:10.1016/j.biortech.2011.12.108

Carvalho, F., Esteves, M. P., Parajó, J. C., Pereira, H., Gírio, F. M. (2004). Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresour Technol*, 91(1), 93-100. doi:10.1016/S0960-8524(03)00148-2

Carvalho, F., Silva-Fernandes, T., Duarte, L. C., Gírio, F. M. (2009). Wheat straw autohydrolysis: Process optimization and products characterization. *Appl Biochem Biotechnol*, 153(1-3), 84-93. doi:10.1007/s12010-008-8448-0

Carvalho, A. F. A., Neto, P. D. O., da Silva, D. F., Pastore, G. M. (2013). Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Res Int*, 51(1), 75-85. doi:10.1016/j.foodres.2012.11.021

Conde, E., Cara, C., Moure, A., Ruiz, E., Castro, E., Domínguez, H. (2009). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chem*, 114(3), 806-812. doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.017

Çöpür, Y., Tozluoglu, A., Özkan, M. (2013). Evaluating pretreatment techniques for converting hazelnut husks to bioethanol. *Bioresour Technol*, 129, 182-190. doi:10.1016/j.biortech.2012.11.058

Del Rio, D., Calani, L., Dall'Asta, M., Brighenti, F. (2011). Polyphenolic composition of hazelnut skin. *J Agric Food Chem*, 59(18), 9935-9941. doi:10.1021/jf202449z

FAOSTAT (2017). Production of hazelnuts with shell. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E> (Erişim tarihi: 01.06.2017)

Guney, M. S. (2013). Utilization of hazelnut husk as biomass. *Sustainable Energy Technol Assess*, 4, 72-77. doi:10.1016/j.seta.2013.09.004

Hendriks, A. T. W. M., Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, 100(1), 10-18. doi:10.1016/j.biortech.2008.05.027

- Ho, A. L., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Roseiro, L. B., Charalampopoulos, D., Rastall, R. A. (2014). Production and purification of xylooligosaccharides from oil palm empty fruit bunch fibre by a non-isothermal process. *Bioresour Technol*, 152, 526–529. doi:10.1016/j.biortech.2013.10.114
- Ibañez, E., Kubátová, A., Señoráns, F. J., Cavero, S., Reglero, G., Hawthorne, S. B. (2003). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants. *J Agric Food Chem*, 51(2), 375–382. doi:10.1021/jf025878j
- Jo, E.-K., Heo, D.-J., Kim, J.-H., Lee, Y.-H., Ju, Y.-C., Lee, S.-C. (2013). The effects of subcritical water treatment on antioxidant activity of golden oyster mushroom. *Food Bioprocess Technol*, 6(9), 2555–2561. doi:10.1007/s11947-012-0793-x
- Khuwijitjaru, P., Sayputikasikorn, N., Samuhasaneetoo, S., Penroj, P., Siriwongwilaichat, P., Adachi, S. (2012). Subcritical water extraction of flavoring and phenolic compounds from cinnamon bark (*Cinnamomum zeylanicum*). *J Oleo Sci*, 61(6), 349–355. doi:10.5650/jos.61.349
- Kim, J. W., Nagaoka, T., Ishida, Y., Hasegawa, T., Kitagawa, K., Lee, S. C. (2009). Subcritical water extraction of nutraceutical compounds from citrus pomaces. *Sep Sci Technol*, 44(11), 2598–2608. doi:10.1080/01496390903014375
- Miller, N. J., Rice-Evans, C. A. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS⁺ radical cation assay. *Free Radical Res*, 26(3), 195–199. doi:10.3109/10715769709097799
- Overend, R. P., Chornet, E., Gascoigne, J. A. (1987). Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments. *Phil Trans R Soc A*, 321(1561): 523-536.
- Rodríguez-Meizoso, I., Marin, F. R., Herrero, M., Señoráns, F. J., Reglero, G., Cifuentes, A., Ibañez, E. (2006). Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*, 41(5), 1560–1565. doi:10.1016/j.jpba.2006.01.018
- Shahidi, F., Alasalvar, C., Liyana-Pathirana, C. M. (2007). Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *J Agric Food Chem*, 55, 1212–1220. doi:10.1021/jf062472o
- Singh, P. P., Saldana, M. D. A. (2011). Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Res Int*, 44(8), 2452–2458. doi:10.1016/j.foodres.2011.02.006
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16(3), 144-158.
- Sluiter, A., Hames, B., Hyman, D., Payne, C., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Wolfe, J. (2008). Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. *National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, NREL Technical Report No. NREL/TP-510-42621*, 1-6.
- Surek, E., Buyukkileci, A. O. (2017). Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell. *Carbohydr Polym*, 174, 565–571. doi:10.1016/j.carbpol.2017.06.109
- Wataniyakul, P., Pavasant, P., Goto, M., Shotipruk, A. (2012). Microwave pretreatment of defatted rice bran for enhanced recovery of total phenolic compounds extracted by subcritical water. *Bioresour Technol*, 124, 18–22. doi:10.1016/j.biortech.2012.08.053
- Xiao, X., Bian, J., Peng, X. P., Xu, H., Xiao, B., Sun, R. C. (2013). Autohydrolysis of bamboo (*Dendrocalamus giganteus* Munro) culm for the production of xylo-oligosaccharides. *Bioresour Technol*, 138, 63-70. doi: 10.1016/j.biortech.2013.03.160
- Xu, Y., Sismour, E. N., Parry, J., Hanna, M. A., Li, H. (2012). Nutritional composition and antioxidant activity in hazelnut shells from US-grown cultivars. *Int J Food Sci Technol*, 47(5), 940–946. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02925.x
- Zakaria, S. M., Kamal, S. M. M. (2016). Subcritical water extraction of bioactive compounds from plants and algae: Applications in pharmaceutical and food ingredients. *Food Eng Rev*, 8(1), 23–34. doi:10.1007/s12393-015-9119-x

KETEN TOHUMU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ERİŞTELERİN FİZİKOKİMYASAL, DUYUSAL, PIŞME ÖZELLİKLERİ VE YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONUN BELİRLENMESİ

Ferhat Yüksel*, Havva Buse Akdoğan, Sümeyye Çağlar

Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gümüşhane,
Türkiye

Geliş / Received: 08.06.2017; / Kabul / Accepted: 17.01.2018; Online baskı / Published online 20.02.2018

Yüksel, F., Akdoğan, H.B., Çağlar, S. (2018). Keten tohumu ile zenginleştirilmiş eriştelelerin fizikokimyasal, duyuşal, pişme özellikleri ve yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (2): 222-230 doi: 10.15237/gida.GD17051

ÖZ

Bu çalışmanın amacı farklı konsantrasyonlarda (% 0-10-15-20) keten tohumu ile zenginleştirilmiş geleneksel ev tipi eriştelelerin yağ asidi bileşiminin yanında bazı fizikokimyasal, pişme ve duyuşal karakteristiklerini araştırmaktır. Zenginleştirilmiş erişte hamuruna şekil verilmesini takiben örnekler kurutulmuş ve analizleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerin nem içerikleri % 8.81-12.93 aralığında değişmiş ve keten tohumu ilavesiyle önemli bir azalma bulunmuştur ($P < 0.05$). % 20 keten tohumu ile zenginleştirilmiş erişte ve kontrol örneğinde belirlenen maksimum ve minimum α -linolenik yağ asidi içeriği sırasıyla % 53 ve % 2.3 tür. Keten tohumu içeren erişte örneklerin tat/koku ve genel beğeni testleri arasında önemli bir farklılık tespit edilmemişken ($P > 0.05$) kontrol örnek ve diğerleri (keten tohumu içeren) arasında önemli bir farklılık belirlenmiştir ($P < 0.05$). Örneklerin pişme süreleri keten tohumu artışı ile birlikte önemli oranda azalırken ($P < 0.05$) suya geçen madde miktarı anlamlı bir biçimde değişmemiştir ($P > 0.05$). Bu çalışma da keten tohumu kullanılarak daha sağlıklı bir erişte üretilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ev tipi erişte, keten tohumu, yağ asitleri, duyuşal ve pişme analizleri

DETERMINATION OF PHYSICO-CHEMICAL, SENSORY, COOKING PROPERTIES AND FATTY ACID COMPOSITION OF NOODLES ENRICHED WITH FLAXSEED

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate some physicochemical, cooking and sensory characteristics as well as fatty acid composition of traditional homemade noodles enriched with flaxseed at three different concentrations (0, 10, 15 and 20 % w/w). Following shaping of the enriched noodle doughs, the samples were dried and analyses were conducted. Moisture contents of the samples were in the range of 8.81-12.93 % and decreased significantly ($P < 0.05$) with the addition of flaxseed. Minimum and maximum α -linolenic acid levels were 53 % and 2.3 %, as determined in the control sample and the noodle enriched with 20% flaxseed, respectively. No significant difference was determined for the smell/taste and overall acceptability scores of the noodle samples containing flaxseed ($P > 0.05$) while there was significant difference between control sample and others (including flaxseed) ($P < 0.05$). Cooking times of the samples decreased significantly ($P < 0.05$) by flaxseed incorporation while the cooking loss of samples did not significantly change ($P > 0.05$). In this study, healthier noodle was produced using flaxseed.

Keywords: Homemade noodle, flaxseed, fatty acids, sensory and cooking properties

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ fyuksel@gumushane.edu.tr,

☎ (+90) 456 233 1000/1862

☎ (+90) 456 233 1075

GİRİŞ

Milattan önce 5000 yıllarında Çin de ortaya çıktığına inanılan erişte günümüzde hamur işlerinden üretilip tüketilen ürünler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Amerika da 2003-2008 yılları arasında marketlerdeki makarna ve erişte sayısı % 6.7 iken bunlar arasındaki kurutulmuş erişte/makarna sayısı % 76.9'dur (Chung vd., 2010). Genel olarak erişte; un, su ve tuz kullanılarak üretilen hamurların kurutulması ile elde edilmektedir. Erişteler yüksek miktarda karbonhidrat içerdiği için iyi bir enerji kaynağıdır. Bu yüzden bu ürünler çeşitli fonksiyonel kaynaklar ile zenginleştirilerek besleyicilik özellikleri artırılabilir. Bu sayede ekmekten sonra en fazla tüketilen ürünlerden biri olan erişte enerji olarak kullanımı yanı sıra insan sağlığına da olumlu katkılar sağlamış olurlar (Li vd., 2012; Choo ve Aziz, 2010; Izydorczyk vd., 2005). Erişte üzerine birçok araştırma yapılmıştır ve bunlar içerisinde fonksiyonelliği artırılmış erişte çalışmaları dikkat çekmektedir. Kabuğu soyulmuş arpa unlarının taze ve kurutulmuş tuzlu eriştelelerde kullanımının erişte örneklerindeki renk ve görünüş özelliklerini olumsuz etkilediği, parlaklığı azaltarak kırmızılığı artırdığı belirtilmiştir (Lagassé vd., 2006). Başka bir çalışmada erişte yulaf unları ile zenginleştirilmiş ve örneklerin protein, kül ve sertlik değerleri artarken pişme özellikleri önemli oranda etkilenmediği bulunmuştur (Mitra vd, 2012). En yüksek kalitedeki yeşil çay tozları ile üretilmiş eriştelelerin reolojik, termodinamik ve tazelik özellikleri araştırıldığı çalışmada ise erişte örneklerine ilave edilen yeşil çay tozları örneklerin elastik ve viskoz modülü artırdığı, jelatinizasyon özelliklerinde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir (Li vd., 2012). Kayısı çekirdeği unları ile zenginleştirilmiş erişte örneklerin protein, yağ ve kül içerikleri kontrole göre arttığı, duyuusal testlerde kontrol gurubun en yüksek skorları aldığı ve % 20 kayısı çekirdeği unu ile örneklerin duyuusal skorları önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir (Eyidemi ve Hayta, 2009).

Keten familyasına ait olan keten tohumunun Latince ismi *Linum usitatissimum* dur. Keten tohumu % 40-45 yağ (Yuksel vd., 2014), % 20-25 protein (Rabetafika vd., 2011), % 28 diyet lifi (Ramcharitar vd., 2005) içermektedir. İçerdiği

olduğu yağın çoklu doymamış yağ içeriği % 70-71 iken doymuş yağ içeriği ise % 18'dir. Çoklu doymamış yağ asitlerin yarısından fazlasının α -linolenik yağ asitlerinden oluştuğu belirtilmiştir (Ramcharitar vd., 2005; Alpaslan ve Hayta, 2006). Keten tohumu sahip olduğu yüksek beslenme özellikleri sayesinde obezite, kalp ve damar rahatsızlıkları, çeşitli kanserler ve pek çok hastalığa karşı koruyucudur ve keten tohumu katıldığı ürünlerin sağlığa olan olumlu yönlerini artırmaktadır. Son yıllarda gıda endüstrisi insan sağlığına pozitif etkileri olan diyet lif, omega, protein, karbonhidrat, aminoasitler, vitaminler, mineral maddelerce zenginleştirilmiş ürünler üretmeye çalışmaktadırlar. Özellikle doymuş yağ içeriği yüksek ürünler tüketen toplumumuzda görülen kalp ve damar rahatsızlıklarındaki artış omega yağ asitleri içeriği yüksek ürünlere olan ilgiyi artırmıştır. Günümüzde doktorlar hastalarına eczanelerden omega yağ asitleri içeren tabletleri tavsiye etmesi de hastalığın boyutlarını göz önüne sermektedir. Keten tohumu gibi doymamış yağ asitlerince zengin tohumların gıda ürünlerinde kullanılarak insanlara doğal yollardan omega yağ asitlerini tüketirebileceği düşünülmektedir (Yuksel vd., 2014; Burdurlu ve Karadeniz, 2003).

Bu çalışmamızda keten tohumu ile zenginleştirilmiş erişte üretimi gerçekleştirilmiştir. Buğday ununa keten tohumu (% 10, 15 ve 20) ilavesiyle hazırlanan erişte örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri (kuru madde, kül, yağ, a_w , protein, renk), yağ asitleri bileşimi, pişme ve duyuusal karakteristikleri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada Sinangil marka ekmeklik buğday unu (nem; % 12.93±2.11, yağ; %2.86±0.52, protein; %11.10±0.03, su aktivitesi; 0.56±0.02, kül; 1.81±0.02) ile Keten tohumu (*Linum usitatissimum*) bölgesel marketlerden temin edilmiştir. Keten tohumu kahve değirmeni (Bosch MKM 6000, Almanya) ile öğütülerek buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Hamur yapımında kullanılan tuz bölgesel marketlerden temin edilmiştir (Gümüşhane, Türkiye).

Erişte üretimi

Erişte üretiminde Eyidemir (2006)'ın metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Hamur elde etmek için gerekli su miktarı hem % 100 buğday unu eriştesinde (kontrol) hem de keten tohumu ilaveli eriştelere yapılan ön denemelerde hamur işleme özelliklerine bakılarak belirlenmiştir. Buna göre erişte üretiminde hamur elde etmek için gerekli su miktarı %50±2 olarak belirlenmiştir. Keten tohumu ağırlık bazında % 0 (1. Örnek), % 10 (2. Örnek), % 15 (3. Örnek) ve % 20 (4. Örnek) oranlarında buğday unu ile birlikte olan karışım unundan hazırlanmıştır (Çizelge 1). Formülasyon 100 kısım un /miks un, 1.5 kısım tuz ve ön denemelerde belirlenen miktarda su içerecek şekilde ayarlanmıştır. Erişte üretimi için yoğurucu (Korkmaz Mikser, Model A482, Türkiye) haznesine un konulup, hız 1'de 1 dakika flat beater yoğurma başlığı kullanılarak karıştırılmış ve süre

sonunda tuz çözeltisi ilave edilerek hız 1'de 1 dakika ve hız 2'de 4 dakika daha karıştırılmıştır. Elde edilen hamur 1 dakika da elle yoğrulduktan sonra yaklaşık 100 g'lık parçalara ayrılmış ve elle yuvarlanarak streç film içerisinde oda sıcaklığında 30 dakika dinlenmeye alınmıştır. Dinlendirilmiş hamur parçaları erişte ve makarna yapma makinesi (Çelik, Türkiye) ile 1.5 mm kalınlığa inceltiştir. Daha sonra elde edilen inceltiştirilmiş hamur levhası erişte makinesinin (Çelik, Türkiye) kesici silindirlerinden geçirilerek erişte şeritlerine (20 cm şerit halinde) kesilmiştir. Erişteler iki tarafın da eşit kurummasını sağlamak için 2 mm delik aralıklı levhalar üzerine dizilerek laboratuvar koşullarında (25 °C ve % 35 nispi nem) 18±2 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kurutulmuş eriştelere cam kavanozlara konarak buzdolabında +4 °C'de analizleri yapılmaya kadar muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. Erişte örneklerinin bazı fiziko-kimyasal analiz sonuçları

Table 1. Results of some physico-chemical analysis of noodles

Örnek Sample	Buğday Unu Wheat Flour (%)	Keten Tohumu Flaxseed (%)	Nem Moisture (%)	Yağ Oil (%)	Protein (%)	Su Aktivitesi Water Activity (a _w)	Kül Ash (%)
1	100	0	12.93±2.11 ^a	2.86±0.52 ^c	11.10±0.03 ^d	0.56±0.02 ^a	1.81±0.02 ^d
2	90	10	11.61±1.85 ^{ab}	8.02±0.38 ^b	11.93±0.01 ^c	0.56±0.01 ^a	2.14±0.03 ^c
3	85	15	8.82±0.22 ^b	11.29±0.89 ^a	12.59±0.17 ^b	0.51±0.03 ^{ab}	2.29±0.04 ^b
4	80	20	8.81±0.65 ^b	11.83±0.28 ^a	13.60±0.06 ^a	0.48±0.01 ^b	2.43±0.06 ^a

a-d: her bir sütundaki farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$)

a-d: differences in superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$) in a column.

Fizikokimyasal analizler

Unların nem, protein, yağ, a_w ve kül içerikleri AOAC (2000) deki metot'a göre gerçekleştirilmiştir. Örneklerin nem içerikleri 105 °C ayarlı etüvde sabit tartıma (>4 saat) gelene kadar kurutulması ile tespit edilmiştir. Sabit tartımları yapılmış örneklerin ön yakma işlemi tamamlandıktan sonra 550 °C de 5 saat kül fırnında (Protherm Furnace ECO, 110/9, Ankara, Türkiye) yakılarak örneklerin kül içerikleri belirlenmiştir. Unların protein analizleri kjeldahl azot tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin yağ içeriği soxhlet cihazı kullanılarak petrol eteri yardımıyla yapılan ekstraksiyon ile belirlenmiştir (nemi uzaklaştırılmış örnekten

5±0.5 g, 150 mL petrol eteri ilavesiyle 5 saat ekstraksiyon). Su aktivitesi değerleri ise otomatik su aktivitesi tayin cihazı (LabSwift-aw, Novasina AG, Lachen, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin renk özellikleri (L*, a*, b*) Lovibond marka renk ölçüm cihazı ile gerçekleştirilmiştir (The Tintometer Limited, İngiltere).

Erişte örneklerinin yağ asitleri profil analizi*Yağ asitlerinin metillendirilmesi ve belirlenmesi*

Erişte Örneklerinden ekstrakte edilen yağların yağ asidi kompozisyonu, İlyasoğlu (2014) tarafından yapılan uygulama metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, ekstrakte edilen 15 ml yağ örnekleri santrifüj tüplerine 100 mg olacak şekilde

tartılmıştır. Metillendirme işleminin gerçekleştirilebilmesi amacıyla yağ örneği içeren tüplere önce 100 µL 2 N KOH ve daha sonra da 3 mL hekzan ilave edilmiş ve ağız kapatılan santrifüj tüpleri önce 15 saniye süreyle vorteksdan geçirilerek iyice homojen bir karışım haline getirilmiş ve daha sonra 5000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüj edilmiştir. (Nüve, Ankara, Türkiye). Santrifüj işleminin ardından tüplerdeki karışımının üst fazından yaklaşık 1.5 mL alınarak viallere aktarılmış ve gaz kromatografisi ile yağ asidi kompozisyonu belirlemek için analize hazır hale getirilmiştir. Viallere alınan örneklerin yağ asidi kompozisyonu Alev İyonizasyon Detektörüne sahip bir Gaz Kromatografisi ile (Shimadzu GC-2010, GC-FID) belirlenmiştir. Kolon olarak Teknokroma TR-CN100 (0.25 mm × 0.20 µm × 60 m) kullanılmıştır. Fırının sıcaklığı şu şekilde ayarlanmıştır: kolonun ilk sıcaklığı 90 °C olarak ayarlanmış ve 5 dk süreyle kalması sağlanmıştır. Sonra her dakikada 10 °C'lik bir artış ile sıcaklık 240 °C ye çıkartılmış ve bu sıcaklıkta 20 dk süreyle kalması sağlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmış ve akış oranı 1 mL/dk olarak sabitlenmiştir. Split oranı ise 100:1 şeklinde olacak şekilde ayarlanmıştır. Analiz sonunda cihaz yazılımı kullanılarak yağ asitlerinin alıkonulma süreleri tespit edilmiştir. Enjeksiyon miktarı ise 1 µL olacak şekilde ayarlanmıştır. Önceden alıkonulma süreleri belirlenmiş olan yağ asitleri standartları ile karşılaştırma yapılarak analize alınan yağ örneklerinde hangi yağ asitlerinin olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar ise toplam yağ asidi kompozisyonu içinde % dağılım olarak verilmiştir. Gaz kromatografisi analizleri 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Eriştelerin pişme analizi

Pişme süresi

Keten tohumlu erişte örneklerin optimum pişme süresi için 25 g erişte örneği kullanılmıştır. 250 mL distile su kaynatıldıktan sonra erişeteler içerisine atılmış ve pişirmeye başlanmıştır. 30 saniye aralıklarla bir erişte örneği alınarak 2 cam levha arasında sıkıştırılmış ve ortasındaki beyaz noktalar kaybolunca işlem sonlandırılmış ve bu süreye kadarki kısım kaydedilerek pişme süreleri belirlenmiştir (Singh vd., 1989).

Suya geçen madde miktarı (Pişme kaybı)

Erişte örneklerinde suya geçen madde miktarı tayini Özkaya ve Kahveci (1984)'de belirtilen metoda göre gerçekleştirilmiştir. 25 g erişte bir beher içerisindeki kaynayan 250 mL distile su içine ilave edilip beherin ağız saat camı ile kapatılmıştır. Erişteler her 3 dk da bir karıştırılmıştır. Eriştelerin optimum pişme süreleri sonunda buhner hunisinden damlama kesilinceye kadar süzülüp tekrar pişirme kabına alınmıştır. Süzülmüş erişte örneklerin üzerine 90 mL su eklenmiş ve hafifçe karıştırılarak yıkanmıştır. Ardından Erişte örnekleri yeniden aynı huniden süzülmüştür. Toplanan pişirme ve yıkama suyu 500 mL lik bir balona aktarılıp üzerine 350 mL ye gelene kadar su ilave edilmiştir. Bu karışımdan daha önceden darası alınmış bir behere 50 mL alınmış ve su banyosunda suyu uçurulmuştur. Daha sonra 98 °C'deki etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Suya geçen madde miktarı Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Suya geçen madde miktarı} = (G \times 28 / 100 - W) \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

G: Kalıntı miktarı

W: Erişte rutubeti (%)

Hacim artışı

Pişirilerek süzülmuş erişeteler (25 gr) 5 dk beklendikten sonra 150 mL su olan 250 mL lik ölçü balonuna koyulmuştur. Ardından taşıdığı su miktarı belirlenmiştir. Aynı işlem pişirilmemiş erişteye (25 gr) de uygulanarak taşıdığı su miktarı % olarak saptanmıştır (Rabetafika, 2011). Makarna hacim artışı Eşitlik 2'ye göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Makarna hacim artışı} = ((V_2 - V_1) / V_1) \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2})$$

V₁: Eriştelerin pişme öncesi hacmi

V₂: Eriştelerin pişme sonrası hacmi

Su absorpsiyonu

Pişirilmiş ve buhner hunisinden süzülmuş erişetelerin ağırlıkları (G₁) ile aynı miktarda ki pişmemiş erişetelerin ağırlıkları (G₂) tespit edilmiştir (Eyidemi, 2009). Örneklerin su absorpsiyon değeri Eşitlik 3'e göre hesaplanmıştır: % Erişte su absorpsiyon değeri = ((G₂ - G₁) / G₁) × 100 (Eşitlik 3)

Duyusal analiz

Piçme kısmında anlatılan üretim koşullarına göre hazırlanmış erişteler Gümüşhane Üniversitesi öğrenci ve öğretim elemanları arasından seçilen 15 panelist tarafından duyuusal analizleri gerçekleştirilmiştir. Öncelikle panelist gruba ürün hakkında bilgi verilmiştir ve ardından analiz gerçekleştirilmiştir. Rastgele servis edilen erişte örnekleri sertlik, tat/koku, kümeleşme, yapışkanlık, renk ve genel beğeni bakımından duyuusal değerlendirmeleri uygulanmıştır. Değerlendirmede 1-7 aralığında skala kullanılmıştır (1 çok kötü; 7 çok iyi). Panelistlere örnekler arasında su içirilerek ağızlarını nötrlemeleri sağlanmıştır.

İstatistiksel analiz

Tüm istatistiksel analizler SAS istatistiksel paket programı genel lineer model prosedürü kullanılarak analiz edilmiştir (Sürüm 8.2, SAS 2002; SAS Institute inc., Carry, NC, ABD). Elde edilen verilerde sonuçlar üzerine faktörlerin etkisi varyans analizi ile tespit edilmiş, çoklu karşılaştırmalar ile grup ortalamaları karşılaştırılmıştır ($P < 0.05$).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Keten tohumu ile zenginleştirilmiş erişte örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Erişte örneklerindeki keten tohumu seviyesindeki artışın örneklerin nem içeriklerini azalttığı gözlemlenmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 1). 1. Örnekte (kontrol örneği) nem miktarı % 12.93 olarak tespit edilmişken 4. örnekteki (% 20 keten tohumlu örnek) nem içeriği % 8.81 olarak bulunmuştur. Erişte yapımında kullanılan un ve keten tohumunun nem içerikleri sırasıyla şu şekilde tespit edilmiştir; % 10.56 ve % 6.04. Bu sonuçlara göre keten tohumunu nem içeriğinin düşük olması erişte örneklerine katılan keten tohumu miktarının örneklerin nem içeriklerini düşürme sebebi olarak açıklanabilir. Keten tohumu ilavesinin örneklerin yağ içeriğini önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 1). Keten tohumu ilavesiyle birlikte örneklerin yağ içeriği artmıştır. Minimum yağ içeriği % 2.86 ile 1. örnekte tespit edilirken diğer örneklerdeki yağ miktarları sırasıyla şu şekildedir; 2. örnekte % 8.02, 3. örnekte % 11.29 ve 4. örnekte % 11.83. Keten tohumunun yağ içeriği

yüksek olduğu düşünüldüğünde kontrol grubu örneklerine göre keten tohumu artışı örneklerin yağ içeriğindeki artışı en iyi şekilde açıklamaktadır. Keten tohumlu buğday cipsi üzerine yapılan bir araştırmada keten tohumunun % 39 oranında ham yağ içerdiği tespit edilmiştir (Yüksel vd., 2014). Örneklerin protein içerikleri keten tohumu artışı ile birlikte istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 1). Birinci örnekteki protein içeriği % 11.10 iken 4. örnekteki protein içeriği % 11.83 olarak belirlenmiştir. Yağ içeriğinde olduğu gibi yüksek miktarda protein içeren keten tohumu katıldığı formülasyondaki örneklerin protein içeriklerini arttırdığı söylenebilir. Yapılan bir çalışmada keten tohumunun % 41 yağ, % 20 protein, % 7.7 nem ve % 3.4 kül içerdiği tespit edilmiştir (Ganorkar ve Jain, 2013). Yine başka bir çalışmada keten tohumunun gıda kaynağı olarak potansiyel kullanımı üzerine yapılan derleme makalesinde keten tohumunun % 20.3 protein, % 37.1 yağ, % 24.5 toplam diyet lifi ve % 28.9 karbonhidrat içerdiği belirtilmiştir (Kajla vd., 2015). Erişte kurutulmuş bir gıda olmasından dolayı su aktivitesi değerleri düşük bulunmuştur. Genel olarak keten tohumu ilavesi su aktivite değerlerini bir miktar düşürmüştür. Keten tohumu ile zenginleştirilmiş erişte örneklerin kül içerikleri keten tohumu artışı ile birlikte önemli oranda artmıştır ($P < 0.05$, Çizelge 1). Birinci örnekteki kül içeriği % 1.81 iken 4. örnekteki kül içeriği % 2.43 olarak tespit edilmiştir.

Erişte örneklerin renk (L^* , a^* , b^*) analiz sonuçları Çizelge 2 de verilmiştir. Keten tohumu ilavesi erişte örneklerinin açıklık/koyuluk (L^*) değerlerini önemli ölçüde düşürmüştür ($P < 0.05$, Çizelge 2). Keten tohumu siyah renkte olması örneklerin L^* değerlerini etkilediği söylenebilir. Kontrol örneğinde belirlenen L^* değeri 87.14 iken % 20 keten tohumu ilave edilmiş erişte örneklerinin L^* değeri 74.62 olarak belirlenmiştir. Keten tohumu unu kullanılarak fonksiyonel gıda niteliği kazandırılan sığır eti köftelerinin bazı özellikleri üzerine bir araştırma yapılmıştır. Araştırma sonucuna göre keten tohumu ilavesi örneklerin L^* değerlerini azaltmıştır (Bilek, 2009). Örneklerin kırmızı-yeşil (a^*) rengi ifade eden değerleri keten tohumu ilavesiyle önemli derecede

Keten tohumlu ev tipi erişte üretimi ve özelliklerin belirlenmesi

değişiklik göstermiştir ($P < 0.05$). Keten tohumlu erişte örneklerine ait a^* değerleri sırasıyla (1, 2, 3 ve 4. örnek için) şu şekilde tespit edilmiştir; 0.25,

2.41, 3.10 ve 3.55. Erişte örneklerin sarı-mavi (b^*) renklerini ifade eden değerleri ise keten tohumu ilavesinden etkilenmemiştir ($P > 0.05$).

Çizelge 2. Erişte örneklerinin renk analiz sonuçları
Table 2. Results of color analysis of noddles

Örnek <i>Sample</i>	L^*	a^*	b^*
1	87.14 ± 0.64^a	0.25 ± 0.08^d	13.35 ± 0.19^a
2	83.52 ± 0.52^b	1.95 ± 0.01^c	13.61 ± 0.06^a
3	77.21 ± 0.57^c	3.10 ± 0.20^b	13.17 ± 0.09^a
4	74.62 ± 1.87^d	3.55 ± 0.41^a	13.69 ± 0.57^a

a-d: her bir sütundaki farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$)
a-d: differences in superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$) in a column.

Erişte örneklerine ait yağ asidi kompozisyonu Çizelge 3'te verilmiştir. Kontrol grubu örneğinde keten tohumu olmadığı için yağ asidi kompozisyonu literatürdeki bilgiler ışığında değerlendirilmiştir. Buna göre buğday ununa ait yağ asidi kompozisyonu bu değerlendirme için ele alınmıştır. Yapılan bir çalışmada farklı öğütülmüş buğday unlarına ait kimyasal kompozisyonları incelenmiştir. Buna göre roller sistemde öğütülmüş buğdayların yağ asidi içerikleri şu şekilde tespit edilmiştir; % 27 palmitik asit, % 2.3 stearik asit, % 18.5 oleik asit, % 49.1 linoleik asit

ve % 2.3 linolenik asit (Prabhasankar ve Rao, 2001). Bu veriler ışığında erişte örneklerinde keten tohumu ilavesiyle tespit edilen yağ asidi içeriklerine göre palmitik ve linoleik asit miktarları azalırken, stearik, oleik ve linolenik asit miktarları ise artmıştır. Özellikle çalışmamızdaki amacımız olan doymamış yağ asidi içeriği önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 3). Literatürde belirtilen linolenik asit içeriği % 2.3 iken çalışmamızdaki 4. örnekte ise % 53 olarak bulunmuştur ve α -linolenik yağ asiti keten tohumu ile birlikte önemli ölçüde artmıştır.

Çizelge 3. Erişte örneklerinden ekstrakte edilen yağların yağ asidi kompozisyonu (majör yağ asitleri)
Table 3. Fatty acids compositions of oils from noddle samples (major fatty acids)

Örnek <i>Sample</i>	Palmitik Asit <i>Palmitic acid</i> (%)	Stearik Asit <i>Stearic acid</i> (%)	Oleik Asit <i>Oleic acid</i> (%)	Linoleik Asit <i>Linoleic acid</i> (%)	Linolenik Asit <i>Linolenic Acid</i> (%)
2	7.84 ± 0.02^a	4.00 ± 0.01^a	22.60 ± 0.02^a	18.41 ± 0.01^a	47.11 ± 0.01^c
3	6.51 ± 0.01^b	3.72 ± 0.01^c	21.03 ± 0.01^b	17.10 ± 0.01^b	51.63 ± 0.02^b
4	6.25 ± 0.01^c	3.78 ± 0.01^b	20.67 ± 0.01^c	16.31 ± 0.01^c	53.00 ± 0.01^a

a-c: her bir sütundaki farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$)
a-c: differences in superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$) in a column.

*1 Nolu örnek (Kontrol) çok az miktarda yağ içerdiği için yağ asitleri analizi yapılmamıştır. Sonuçlar literatürdeki buğday unun yağ asitleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

*Fatty acids analysis were not performed due to there is a little oil in 1st sample. The results were evaluated with using fatty acids of wheat flour in literature

Keten tohumu ile zenginleştirilmiş erişte örneklerine ait pişme analiz testi sonuçları Çizelge 4'de verilmiştir. Suya geçen madde miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$, Çizelge 4). Hacim artışı ve su absorpsiyon

oranlarında ise keten tohumu ilavesi ile önemli oranda artış belirlenmiştir ($P < 0.05$). Hacim artışında örneklere ait değerler sırasıyla şu şekilde tespit edilmiştir; 126.50, 176.00, 192.00 ve 202.50. Keten tohumunun kabuğundaki polisakkarit-

lerden dolayı yüksek oranda su bağlama kapasitesine sahip olduğu belirtilmektedir (Kajla vd., 2015; Wanasundara ve Shahidi, 1997). Ayrıca

içermiş olduğu yüksek orandaki protein miktarı da örneklerin hacim ve su absorpsiyonundaki artışta önemli rol oynadığı söylenebilir.

Çizelge 4. Erişte örneklerinin pişme analiz sonuçları
Table 4. Results of cooking analysis of noddle samples

Örnek Sample	Pişme Süresi (dk) Cooking Time (min)	Pişme Kaybı Cooking Loss (%)	Hacim Artışı Overrun (%)	Su Absorpsiyonu Water Absorbtion (%)
1	14.12±0.17a	7.96±0.29a	126.50±4.94c	122.50±3.53c
2	13.52±0.03b	7.56±0.09a	176.00±11.31b	132.50±7.78bc
3	13.15±0.21b	7.89±1.03a	192.00±11.31ab	146.00±4.24ab
4	12.42±0.17c	8.12±1.22a	202.50±3.53a	150.50±4.95a

a-d: her bir sütündeki farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$)
a-d: differences in superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$) in a column.

Erişte örneklerine ait duyuşsal sonuçlar Çizelge 5'de gösterilmiştir. Sertlik, kümeleşme ve yapışkanlık değerleri keten tohumu artışı ile beraber azalmıştır ($P < 0.05$, Çizelge 5). Tat/koku ve genel beğeni değerlerinde ise kontrol grubu örneğine göre diğer tüm örnekler düşük bulunmuştur ($P < 0.05$), fakat keten tohumunun % 10 dan % 20 ye kadar ilave edilmesi istatistiksel olarak bir fark oluşturmamıştır ($P > 0.05$). Kontrol örneğinin genel beğeni ve tat skoru sırasıyla şu şekildedir; 5.53 ve 5.20. Keten tohumu ilave edilmesiyle genel beğeni skorları şu şekilde belirlenmiştir % 10 keten tohumu için 4.53-%15 keten tohumu için 4.00 ve % 20 keten tohumu için ise % 3.87 dir. Genel olarak keten tohumu artışı panelistlerin vermiş olduğu duyuşsal skorların düşmesine yol açmıştır. Fındık ezmesine keten tohumu ve soya unu katarak ürün zenginleştirilmesi

üzerine yapılan bir çalışmada ürünlere % 5 keten ve soya ilavesinin duyuşsal testlerde en iyi skorları aldığı fakat % 15 keten ve soya ilavesinin duyuşsal skorları negatif etkilediği belirlenmiştir (Üçüncü, 2009). Ekmeklerde keten tohumu kullanımı üzerine yapılan bir başka araştırmada ise keten tohumu artışının örneklerin toplam duyuşsal değerlendirme skorlarında azalmalara neden olduğu bildirilmiştir (Anıl, 2002). Bu sonuçlar ve literatürdeki sonuçlar ülkemizde keten tohumunun az miktarda yetiştirilmesi ve tüketilmesinin ülke insanın keten tohumuna olan ön yargısı ile ilgili olduğu söylenebilir. Çünkü panelistler alışkın olduğu tadı kanıksamışlar ve farklı bir tadı beğenme konusunda sıkıntı yaşamışlardır. Keten tohumunun faydaları konusunda insanların bilinçlendirilmesi bu ürünün kullanımını artıracaktır.

Çizelge 5. Erişte örneklerinin duyuşsal analiz sonuçları
Table 5. Results of sensory analysis of noddle samples

Örnek Sample	Sertlik Hardness	Tat/ Koku Smell/Taste	Kümeleşme Aggregation	Yapışkanlık Adhesiveness	Renk Color	Genel Beğeni Overall Acceptability
1	5.20±0.77a	5.20±0.94a	5.33±0.89a	4.73±0.79ab	5.80±0.67a	5.53±0.74a
2	4.53±1.59ab	3.53±1.40b	3.86±1.18b	5.33±1.23a	5.26±1.27a	4.53±1.55b
3	4.20±1.82ab	3.66±1.17b	4.53±1.45ab	4.00±1.69b	5.26±1.16a	4.00±1.65b
4	3.93±1.38b	3.20±1.50b	4.13±1.24b	4.20±1.26b	4.26±1.71b	3.87±1.06b

a-b: her bir sütündeki farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$)
a-b: differences in superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$) in a column.

SONUÇ

Bu çalışmada keten tohumu ile ev tipi erişte üretiminin mümkün olup olmadığı araştırılmıştır. Keten tohumu ilavesiyle erişte örneklerin α -linolenik miktarı yaklaşık % 50 civarında artırılmıştır. Örneklerin pişme süreleri keten tohumu artışı ile azalmış, suya geçen madde miktarında ise herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Keten tohumlu erişte örneklerinin duyu analizlerinin değerlendirildiği analizde kontrol örneği sonuçlarının skorları en yüksek olarak bulunmuş fakat keten tohumu ilavesi skorları biraz azaltmıştır. Panalistlerin verdiği skorlara göre % 10 keten tohumu ilavesinin ev tipi erişte üretiminde duyu ve doymamış yağ içeriği bakımından yeterli olabileceği söylenebilir. Bu sonuçlara göre keten tohumu ilavesi ile doymamış yağ asit içeriği artırılmış fonksiyonel bir erişte üretimi gerçekleştirilerek alternatif bir erişte üretimi ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

Alpaslan, M., Hayta, M. (2006). The effects of flaxseed, soy and corn flours on the textural and sensory properties of a bakery product. *J Food Qual*, 29, 617–627.

Anıl, M. (2002). Besinsel lif kaynağı olarak keten tohumunun ekmekek yapımında kullanımı (Doktora Tezi) Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye, 119 s.

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis, 17th Ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.

Bilek, E.A. (2009). Keten tohumu unu kullanılarak fonksiyonel gıda niteliği kazandırılan sığır eti köftelerinin bazı özellikleri (Yüksek Lisans Tezi) Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye, 42 s.

Burdurlu, S., Karadeniz, F. (2003). Gıdalarda diyet lifinin önemi. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 15: 18-25.

Choo, C.L., Aziz, A.A.N. (2010). Effects of banana flour and b-glucan on the nutritional and sensory evaluation of noodles. *Food Chem*, 119: 34–40

Chung, C.E., Won, L.K., Sook, C.M. (2010). Noodle consumption patterns of American consumers: NHANES 2001-2002. *Nutr Res Pract*, 4(3): 243-251

Eyidemiir, E. (2006). Kayısı çekirdeği ilavesinin eriştenin bazı kalite kriterlerine etkisi (Yüksek Lisans Tezi) İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye, 101s.

Eyidemiir, E., Hayta, M. (2009). The effect of apricot kernel flour incorporation on the physicochemical and sensory properties of noodle. *Afr J Biotechnol*, 8 (1): 085-090.

Ganorkar, P.M., Jain, R.K. (2013). Flaxseed – a nutritional punch. *Int Food Res J*, 20(2): 519-525.

İlyasoğlu, H. (2014). Characterization of Rosehip (*Rosa canina* L.) Seed and Seed Oil. *Int J Food Prop*, 17(7): 1591-1598.

Izydorczyk, M.S., Lagasse, S.L., Hatcher, D.W., Dexter, J.E., Rosnagel, B.G. (2005). The enrichment of Asian noodles with fiber-rich fractions derived from roller milling of hull-less barley. *J Sci Food Agric*, 85: 2094–2104.

Kajla, P., Sharma, A., Sood, R.D. (2015). Flaxseed-a potential functional food source. *J Food Sci Technol*, 52(4): 1857–1871.

Lagassé, S.L., Hatcher, D.W., Dexter, J.E., Rosnagel, B.G., Izydorczyk, M.S. (2006). Quality characteristics of fresh and dried white salted noodles enriched with flour from hull-less barley genotypes of diverse amylose content. *Cereal Chem*. 83(2): 202–210.

Li, M., Zhang, J.-H., Zhu, K.-X., Peng, W., Zhang, S.-K., Wang, B., Zhu, Y.-J., Zhou, H.-M. (2012). Effect of superfine green tea powder on the thermodynamic, rheological and fresh noodle making properties of wheat flour. *Food Sci Technol* 46: 23-28.

Mitra, S., Kato, L., James, P.A., Solah, A.V. (2012). Evaluation of white salted noodles enriched with oat flour. *Cereal Chem*. 89(2):117-125.

Özkaya, H., Seçkin, R., Ercan, R. (1984). Bazı makarna çeşitlerinin kimyasal bileşimi ve pişme

kalitesi üzerine araştırma, *GIDA*, 9 (3), s. 133–161.

Prabhasankar, M.L., Rao, P.H. (2001). Effect of different milling methods on chemical composition of whole wheat flour. *Eur Food Res Technol*, 213: 465-469.

Rabetafika, H.N., Remoortel, V.V., Danthine, S., Paquot, M., Blecker, C. (2011). Flaxseed proteins: food uses and health benefits. *Int J Food Sci Technol*, 46: 221-228.

Ramcharitar, A., Badrie, N., Mattfeldt-beman, M., Matsuo, H., Ridley, C. (2005). Consumer acceptability of muffins with flaxseed (*Linum Usitatissimum*). *J Food Sci*, 70(7): 504-507.

Singh, N., Chauhan, G.S., Bains, G.S. (1989). Effect of Soy flour Supplementation on the

Quality of Cooked Noodles, *Int J Food Sci Technol*, 24: 111–114.

Üçüncü, Y. (2009). Fındık ezmesine keten tohumu ve soya unu katılarak zenginleştirilmiş ürün eldesi (Yüksek Lisans Tezi) İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye, 64 s.

Wanasundara, P.K.J.P.D., Shahidi, F. (1997). Removal of flaxseed mucilage by chemical and enzymatic treatments. *Food Chem*, 59: 47–55

Yüksel, F., Karaman, S., Kayacier, A. (2014). Enrichment of wheat chips with omega-3 fatty acid by flaxseed addition: Textural and some physicochemical properties. *Food Chem*, 145: 910-917.

ÇİĞDEM (*CROCUS BIFLORUS*) YUMRULARINDAN PROTEAZ ENZİMİNİN SAFLAŞTIRILMASI VE SAFLAŞTIRILAN ENZİMİN KAZEİNİN KOAGÜLASYONUNDA KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Safinur Yıldırım Çelik*

Bayburt Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Sınıf Eğitimi Bölümü, Bayburt, Türkiye

Geliş / Received: 10.10.2017; Kabul / Accepted: 03.01.2018; Online baskı / Published online: 20.02.2018

Yıldırım Çelik, S. (2018). Çiğdem (*Crocus biflorus*) yumrularından proteaz enziminin saflaştırılması ve saflaştırılan enzimin kazeinin koagülasyonunda kullanılabilirliğinin araştırılması. *GIDA* (2018) 43 (2): 231-239 doi: 10.15237/gida.GD17095

ÖZ

Son yıllarda, hayvanlardan insanlara geçen bazı hastalıklarda (SARS, deli dana, domuz ve kuş gribi) artış olduğu bilinmektedir. Tüketicilerde, hayvansal proteazların gıda maddesi yapımında kullanımı bu hastalıkların kendilerine bulaşacağına dair endişelere yol açmaktadır. Bu nedenlerden dolayı bitkisel kaynaklı ürünlere bir talep artışı olmuştur. Ticari olarak satılan enzimlerin ise sadece az bir kısmının bitkisel kaynaklı olması, araştırmacıları ticari olarak da kullanılabilecek yeni bitkisel proteaz kaynakları aramaya sevk etmiştir. Bu çalışmada, ilk kez çiğdem (*Crocus biflorus*) yumrularından proteaz enzimi saflaştırılmış ve bazı karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Enzim, amonyum sülfat çöktürmesi ve iyon değişim kromatografisi ile 86 kat saflaştırılmıştır. Proteaz enziminin optimum pH'sı 5.5 ve optimum sıcaklığı 50°C olarak bulunmuştur. V_{max} ve K_M değerleri ise sırasıyla 47 mg/L.dak ve 0.9 g/L olarak hesaplanmıştır. Enzimin molekül ağırlığı SDS-PAGE ile 35 kDa olarak hesaplanmıştır. Saflaştırılan enzimin, peynir yapımının ilk basamağı olan kazeinin koagülasyonu işlemlerinde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Çiğdem (*Crocus biflorus*), proteaz, koagülasyon, kazein

PURIFICATION OF PROTEASE ENZYME FROM ÇİĞDEM (*CROCUS BIFLORUS*) TUBERS AND INVESTIGATION OF USABILITY OF THE PURIFIED PROTEASE ENZYME IN COAGULATION OF CASEIN

ABSTRACT

It is known that in some diseases (SARS, mad cow, pig and bird flu) that have passed from animals to humans have increased in recent years. In consumers, the use of animal proteases in the production of food products leads to concerns about the spread of these diseases. For these reasons, it has been an increase in demand for the product obtained from plant sources. The fact that only a small proportion of commercially available enzymes are herbaceous, have encouraged researchers to search for new herbal protease sources that can be used commercially. In this study, for the first time protease enzyme was purified from the tubers of a *Crocus biflorus* and characterized. The protease enzyme was purified 86 fold by ammonium sulfate precipitation and ion exchange chromatography. Optimum pH and temperature was found as 5.5 and 50 °C. The values of V_{max} and K_M were calculated as 47 mg/mL.min and 0.9 g/L, respectively. The molecular weight of the enzyme was calculated to be 35 kDa by using SDS-PAGE. It was determined that the purified enzyme can be used in the process of casein coagulation, the first step of cheese making.

Keywords: Çiğdem (*Crocus biflorus*), protease, coagulation, casein

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author:

✉ scelik@bayburt.edu.tr

☎ Telefon: (+90) 458 333 2028

☎ (+90) 458 333 2043

GİRİŞ

Proteazlar (proteolitik enzimler, peptidazlar) proteinlerde bulunan peptit bağlarının parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir. Proteaz enzimleri, peptid bağlarını peptid zincirinin uç kısımlarına yakın bölgelerden parçalayan (ekzo-peptidazlar; E.C. 3.4.11-19) ve peptit zincirinin iç kısımdan parçalayan (endo-peptidazlar; E.C. 3.4.21-25) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Endopeptidazlar, enzimin aktif bölgesinde bizzat reaksiyona katılan aminoasitler ve kofaktöre göre 5 farklı grup altında toplanmaktadır. Reaksiyonu yürüten aminoasitlere göre proteazlar, serin proteaz (E.C. 3.4.21), sistein proteaz (E.C. 3.4.22), aspartik proteaz (E.C. 3.4.23), treonin proteaz (E.C. 3.4.25) ve kofaktör olarak metal kullandığı için metaloproteaz (E.C. 3.4.24) olarak isimlendirilmiştir (Antão ve Malcata, 2005; Beynon ve Bond, 2000; Demir vd., 2005; Dubey ve Jagannadham, 2003; Sumantha vd., 2005). Proteaz enzimleri proteinlerin parçalanması gibi hayati bir reaksiyonu katalizlediği için mikroorganizmalar, bitkiler dâhil hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır.

Proteaz enzimleri gıda, deterjan, ilaç ve deri endüstrilerinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu enzimler gıda sanayinde, protein hidrolizatlarının hazırlanmasında, peynir yapımında, ekmek, pizza ve bisküvi gibi unlu mamullerin hazırlanmasında, et yumuşatma işlemleri gibi çok farklı alanlarda kullanılmaktadır. Proteazlar dünya enzim pazarında sahip olduğu %60'lık bir pay ile ilk sıralarda bulunmaktadır (Cavalcanti vd., 2004). Ayrıca dünyada kullanılan ticari enzimler ile ilgili pazar araştırma raporuna göre proteazların 6 milyar dolarlık bir paya sahip olduğu ve ticari olarak satılan proteazların bitkilerden, hayvanlardan ve mikrobiyal kaynaklardan üretildiği ifade edilmektedir (Menon vd., 2002).

Son yıllarda hayvanlardan insanlara geçen bazı hastalıklardan (SARS, deli dana, kuş gribi vs.) dolayı hayvansal proteazların özellikle gıda maddesi yapımında kullanımının endişelere yol açması, bitkisel kaynaklarından elde edilen ürünlere artan bir sosyal talebin olması ve ticari olarak satılan enzimlerin az bir kısmının bitkisel

kaynaklı olması, araştırmacıları ticari olarak da kullanılabilecek yeni bitkisel proteaz kaynakları aramaya sevk etmiştir (Dubey ve Jagannadham, 2003; Roseiro vd., 2003).

Çok yıllık ve yumrulu bir bitki olan *Iridaceae*'nin (Süsengiller) Türkiye'nin birçok bölgesinde çok sayıda endemik türü bulunmaktadır. *Iridaceae*'in alt familyasından olan *Crocus* türleri (safran (*Crocus sativus*) hariç) Anadolu'da halk arasında çiğdem olarak bilinmektedir. Anadolu'da çiğdemlerin yumruları çiğ olarak veya pişirilerek yenilebilmektedir (Akyol vd., 2012).

Bu çalışmadaki amacımız, çiğdem bir türü olan ve Erzurum'da da yetişen *Crocus biflorus*'un yumrularından ilk kez proteaz enziminin saflaştırılması ve spesifik bazı özelliklerinin belirlenmesidir. Ayrıca kısmi olarak saflaştırılan enzimin, peynir yapımının ilk basamağı olan sütün çöktürülmesi ve kazeinin parçalanması deneylerinde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Proteaz enziminin saflaştırılması

Çiğdemler Nisan ayında Erzurum'a bağlı İkizdere mevkiinde toplanıp yıkanarak topraklarından temizlenmiş ve saflaştırma işlemleri yapılana kadar -20 °C'de saklanmıştır. Çiğdem yumrularında bulunan proteaz enzimi, amonyum sülfat çöktürmesi ve iyon değişim kromatografisi kullanılarak saflaştırılmıştır.

Bitkinin yumruları bıçakla küçük parçalara ayrılmış ve sıvı azotla dondurulduktan sonra toz haline gelene kadar havanda dövülmüştür. Bitkinin her bir gramına 3 mL saf su ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı yardımıyla 30 dakika karıştırılmıştır. Homojenizat, 10.000xg'de santrifüjlenerek süpernatant alınmış ve amonyum sülfat ile çöktürme işlemlerinde kullanılmıştır. Süpernatant 0'dan %100'e kadar sırasıyla %0-40, %40-70, %70-100 aralıkları ile amonyum sülfat çöktürmesi yapılmıştır. En yüksek proteaz aktivitesi %40-70'lik çökekte bulunmuştur. Çökelek 0,02 M asetat (pH: 6) tamponu ile çözülüp aynı tampona karşı diyaliz edilmiştir. Dengelenmiş CM-sefaroze kolonuna yüklenmiştir. 0'dan 0,5 M NaCl bir derişim gradienti oluşturularak elüsyonlar alınmıştır. Aktif eluatlar

toplanarak karakterizasyon işlemleri için saklanmıştır.

Proteaz enziminin aktivite tayini

Proteolitik aktivite, substrat olarak kazein kullanılıp enzimin parçaladığı proteinin (kazein) miktarı belirlenerek hesaplanmıştır (Fadyloğlu, 2001). Bir EU, bir dakikada enzim tarafından parçalanmış proteinin μg miktarı olarak belirlenmiştir. pH'sı 6 olan 100 mL, 0,1 M'lık fosfat tamponuna 1 g kazein ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılırken sıcaklık yavaş yavaş yükseltilmiştir. 80-85 °C sıcaklık aralığında 10 dakika boyunca karıştırılarak substrat çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan substrat çözeltisi 4 °C'de saklandığında 10 gün boyunca kullanılabilir. Bir mL kazein çözeltisine 500 μL saf enzim çözeltisi ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Bu reaksiyon karışımı 50 °C'de 60 dakika inkübe edilmiş ve 3 mL %3'lük TCA ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Parçalanmayan proteinlerin 30 dakika boyunca çökmesi sağlanmıştır. Ardından 50 °C'de bekletilen 1 mL substratın üzerine önce 3 mL TCA ve hemen sonra 500 μL enzim çözeltisi ilave edilerek hazırlanan numuneler, kör olarak kullanılmıştır. Çöken proteinler 10.000xg'de 30 dakikada santrifüj edilerek çöktürülmüş ve süpernatanttan ayrılmıştır. Süpernatantta çökmeden kalan enzim tarafından parçalanmış proteinlerin miktarı, Bradford yöntemiyle tayin edilip enzim aktivitesi hesaplanmıştır. Süpernatanttan 100 μL alınıp 1 mL comassie brilliant blue G boya çözeltisine ilave edilmiş ve 10 dakika sonra 595 nm de absorbanları okunmuştur. Aynı şartlar altında albümin ile standart grafik hazırlanmıştır. Standart grafik yardımıyla protein miktarı bulunarak EU hesaplanmıştır (Bradford, 1976).

Saflaştırılan enzimin özelliklerinin belirlenmesi

Bu amaç için %4-15 kesikli SDS PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez) kullanılarak (ThermoFisher Scientific; Owl™ Dual-Gel Vertical Electrophoresis Systems) saflaştırılan proteaz enziminin saflığı kontrol edilmiş ve molekül ağırlığı belirlenmiştir. Saflaştırılan enzimin optimum aktivite gösterdiği pH ve sıcaklık belirlenmiştir. Enzim 10^{-1} ve 10^{-2}

olmak üzere iki farklı derişimde Fe^{3+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , SDS ve β -merkaptolanolün enzim aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. V_{max} ve K_M değerleri Lineveaver-Burk grafiğinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca enzimin kazein dışındaki farklı doğal substratlar olan hemoglobin, albümin ve jelatin üzerindeki aktivitesi de araştırılmıştır.

Saflaştırılan proteaz enzimi ile kazeinin parçalanmasının incelenmesi

Saflaştırılan proteaz enziminin kazeini parçalaması SDS PAGE yapılarak kontrol edilmiştir. Bir mL substrata 0,5 mL enzim ilave edilip 50 °C'de 18 saat bekletilmiş ve 6., 12. ve 18. saatlerde 50'şer μL numune alınmıştır. Alınan numunelere, hiç beklenmeden 50 μL β -merkaptolanol içeren elektroforez numune tamponu ilave edilmiş ve numuneler, 10 dakika süreyle 95 °C'de kaynatılarak elektroforeze yüklenmeye hazır hale getirilmiştir. Kontrol numunesi için 1 mL substrat 50 °C'de 24 saat bekletilmiş ve 0,5 mL enzim ilave edildikten sonra diğer numunelerle aynı işleme tabi tutularak hazırlanmıştır. Her bir kuyuya 50'şer μL numune ve 10 μL ladder yüklenip 50 mA'de yaklaşık 40 dakika yürütülmüştür. Jel, boyama çözeltisi (0,1 g comassie brilliant blue R-250, %10 asetik asit, %40 metanol, %50 saf su) ile 2 saat boyunca boyandıktan sonra açma çözeltisi (%10 asetik asit, %40 metanol, %50 saf su) ile jelin zemin rengi açılıncaya kadar çalkalanmıştır.

Saflaştırılan enzimle rekonstitüe sütün çöktürülmesi

Çiğdem yumrularından kısmi olarak saflaştırılan proteaz enziminin rekonstitüe sütü çöktürüp çöktürmediği araştırılmıştır. Bu amaçla Berridge metodunun modifiye şekli uygulanmıştır (Berridge, 1945). 10 g süt tozu 100 mL saf su ile karıştırılarak %10'luk rekonstitüe süt hazırlanmıştır. Bu karışımın bir kısmına, karışımın derişimi 10 mM oluncaya kadar CaCl_2 ilave edilmiştir. Hazırlanan rekonstitüe sütün 5'er mL'sine 1 mL enzim çözeltisi ilave edilmiş ve 50 °C'de bekletilmiştir. Kontrol amaçlı olarak, CaCl_2 'lü ve CaCl_2 'süz 5'er mL rekonstitüe süte 1 mL tampon çözelti ilave edilip aynı şartlar altında bekletilmiştir. Enzimin sütü ne kadar sürede çöktürdüğü araştırılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA**Proteaz enziminin saflaştırılmasına ait sonuçlar**

Proteaz enziminin çiğdem yumrularından amonyum sülfat çöktürmesi ve CM-sefaroze iyon

değişim kromatografisi kullanılarak 86 kat saflaştırıldığı hesaplanmış ve bu hesaplamalar çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Çiğdem yumrularından proteaz enziminin saflaştırılması

Table 1. Purification of protease from çiğdem tubers

	Hacim Volume (mL)	Aktivite Activity (EU/mL)	Toplam Aktivite Total Activity (EU)	Toplam Aktivite (%)	Protein Protein (mg/mL)	Spesifik Aktivite Specific Activity (EU/mg)	Saflaştırma Katsayısı Purification Coefficient
Homojenat <i>Homogenate</i>	232	0.01	2.32	100	0.617	0.016	-
(NH ₄) ₂ SO ₄ (%80)	10	0.165	1.646	71	0.366	0.45	28
CM-sefaroze* <i>CM-sepharose</i>	10	0.14	1.41	61	0.102	1.37	86

*Karboksümetil sefaroze bir katyon değişim kolon kromatografisi materyalidir.

**Carboxymethyl sepharose is a cation exchange column chromatography material.*

Saflaştırılan enzimin özellikleri

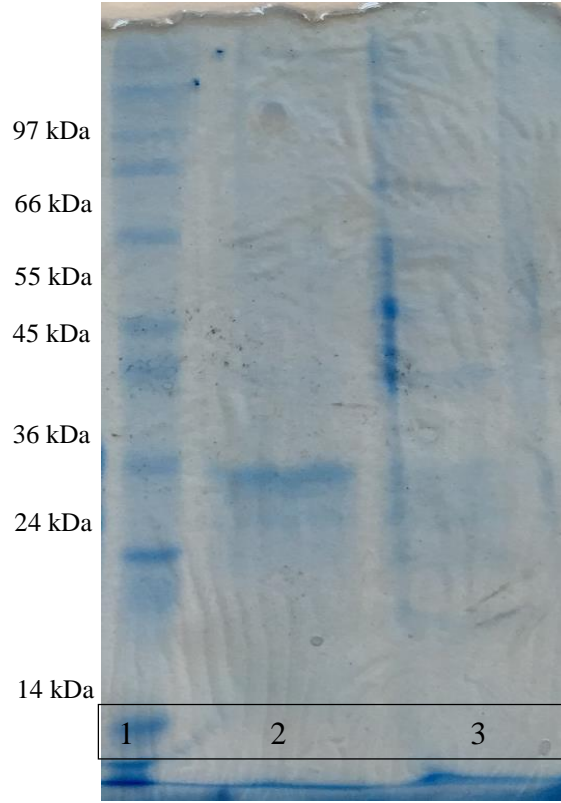
Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin V_{max} ve K_M değerleri sırasıyla 47 mg/L.dak ve 0,9 g/L olarak bulunmuştur.

Saflaştırılan proteaz enziminin molekül ağırlığının, SDS PAGE kullanılarak 35 kDa olduğu hesaplanmıştır. SDS PAGE jelinin fotoğrafı şekil 1’de sunulmuştur. Bir kauçuk ağacı olan *Stebulus asper*’den saflaştırılan proteaz enziminin molekül ağırlığının 64 kDa (Tripathi vd., 2011), *Capparis spinosa*’den saflaştırılan proteaz enziminin molekül ağırlığının 46 kDa (Demir vd., 2008), *Helianthus annuus*’den (ayçiçeği) saflaştırılmış proteaz enzimlerinin molekül ağırlıklarının ise 62 ve 120 kDa olduğu hesaplanmıştır (Nasr vd., 2016). Bu sonuçlardan da görüleceği gibi bitkilerden saflaştırılan proteaz enzimlerinin molekül ağırlıkları farklılık göstermektedir.

Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin optimum pH’sının 5,5 olduğu şekil 2’de ve optimum sıcaklığının ise 50 °C olduğu şekil 3’te verilen eğrilerde görülmektedir. Ayrıca enzimin 5-9 pH ve 10-70°C sıcaklık aralığında aktif olduğu belirlenmiştir. Bruno vd. (2010) *Bromelia hieronymi*’den saflaştırdıkları proteaz enziminin optimum sıcaklığını 30 °C ve optimum pH’sını 5, Tripathi vd. (2011) *Stebulus asper*’den saflaştırdıkları

proteaz enziminin optimum sıcaklığını 65 °C ve optimum pH’sını 2-4 ve Demir vd. (2008) *Capparis spinosa*’dan saflaştırdıkları proteaz enziminin optimum sıcaklığını 60 °C ve optimum pH’sını 6,5 olarak bulmuşlardır. Literatürdeki bu çalışmalarda saflaştırılan proteaz enzimleri, bu çalışmada elde edilen proteaz enzimi gibi asidik pH’larda maksimum aktivite göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada elde edilen enzimin maksimum aktivite gösterdiği sıcaklık, yukarıda verilen iki çalışmadan daha düşük olmasına rağmen belirtilen sıcaklık enzimler için yüksek bir değerdir. Sütün pH’sının asidik olması ve çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin de asidik pH’larda maksimum aktivite göstermesi, saflaştırılan bu enzimin süt ürünlerinin işlenmesi için uygun olabileceğini göstermektedir. Ayrıca enzimin, geniş sıcaklık ve pH aralığında aktivitesini koruması endüstriyel işlemlerin farklı alanlarında kullanılabileceğini de göstermektedir.

Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin başka substratlar üzerinde aktif olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla substrat olarak hemoglobin, jelatin ve albümin kullanılmıştır. Enzimin hemoglobini, albümini ve jelatini de parçaladığı bulunmuştur.

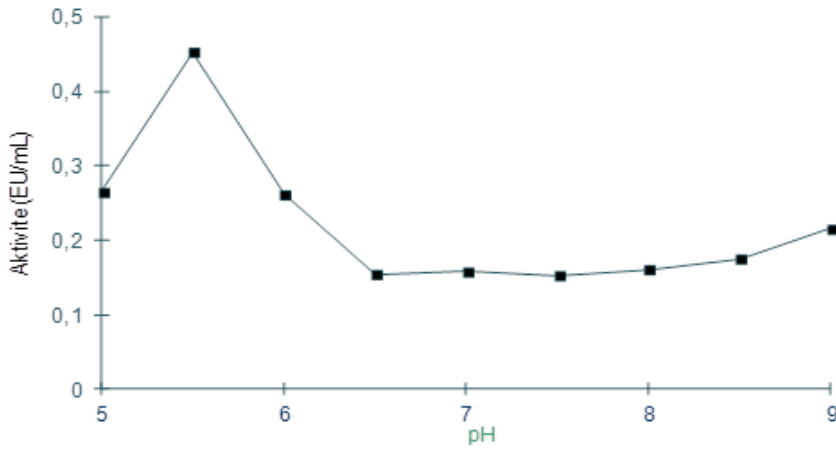


Şekil 1. Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin SDS PAGE* görüntüsü. (1. kuyu: marker, 2. kuyu: saf proteaz, 3. kuyu: Homojenat)

*Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi

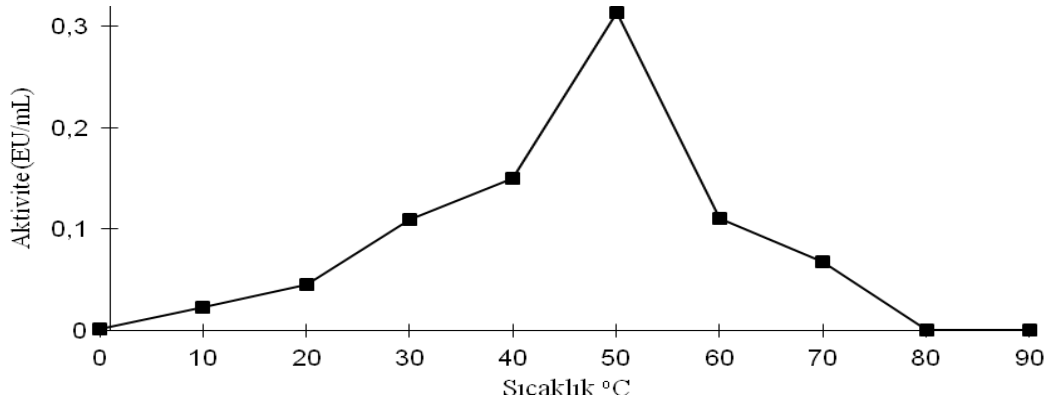
Figure 1. SDS PAGE* of purified protease from çiğdem tubers. (Lane 1: Ladder, Lane 2: Purified Protease, Lane 3: Homogenate)

* Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis



Şekil 2. Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin aktivitesi üzerine pH'nın etkisi

Figure 2. The effect of pH on activity of purified protease enzyme from çiğdem tubers



Şekil 3. Çığdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi
 Figure 3. The effect of temperature on activity of purified protease enzyme from çığdem tubers

Çığdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin aktivitesi üzerine 10^{-1} ve 10^{-2} M derişimlere sahip metal iyonlarının ve bazı kimyasalların etkisi çizelge 2 verilmiştir. Ca^{2+} ve Mg^{2+} 'nin her iki derişimde de enzimin aktivitesini arttırdığı bulunmuştur. Fe^{3+} ve SDS'nin 0,1 M derişimde enzimi tamamen inhibe ettikleri ve Fe^{3+} iyonlarının 0,01 M derişimde ise enzimin aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir. Saflaştırılan proteaz enziminin aktivitesini Zn^{2+} iyonlarının her iki derişimde de etkilemediği β -merkaptolanın ise 0,01 M derişimde enzimin aktivitesine etki etmezken 0,1 M derişimde aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir.

Saflaştırılan proteaz enzimi ile kazeinin parçalanmasına ait sonuçlar

Saflaştırılan proteaz enziminin kazeini 6, 12 ve 18 saat süreyle hidrolizinin SDS-PAGE görüntüsü şekil 4'te verilmiştir. Sığır kazeinin α , β ve κ olmak üzere üç türü bulunmaktadır. α kazein α -s1 22.0-23.7 kDa ve α -s2 25.2 kDa, β kazein 23.9-24.0 kDa ve κ kazein 19 kDa molekül ağırlığına sahip olduğu bilinmektedir (Modler, 1985). Kontrol amacıyla ekilen 4 numaralı kuyuda 20 ile 35 kDa arasında bulunan bantların, kazeinle ilgili literatürde verilen bilgilerle uyum içinde olduğu görülmüştür. Kazeinin 6. saatte sonlandırılan hidrolizinde 15 kDa civarında yeni bir bandın görünmeye başladığı ve 18. saatte daha da belirginleştiği tespit edilmiştir. Eş zamanlı olarak ta α ve β -kazein bantlarının küçüldüğü κ -kazein

bandının hemen hemen yok olduğu görülmüştür. Creamer vd. (1998) tarafından yapılan çalışmada, κ -kazein hidrofobik olan α ve β kazein misellerini sararak kazeinin çözünürlüğünü artırdığını, peynir yapımında κ -kazeinin hidrolizlenmesi ile hidrofobik kazein yapılarının ortaya çıktığını ve böylece sütün çökmesinin sağlandığını ifade etmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada, SDS PAGE jelinde en küçük moleküle sahip (κ kazein: 19 kDa) olan kazein bandının 18. saatte hemen hemen yok olduğunun görülmesi enzimin, sütün çöktürülmesi işlemlerinde kullanılabileceğini göstermektedir.

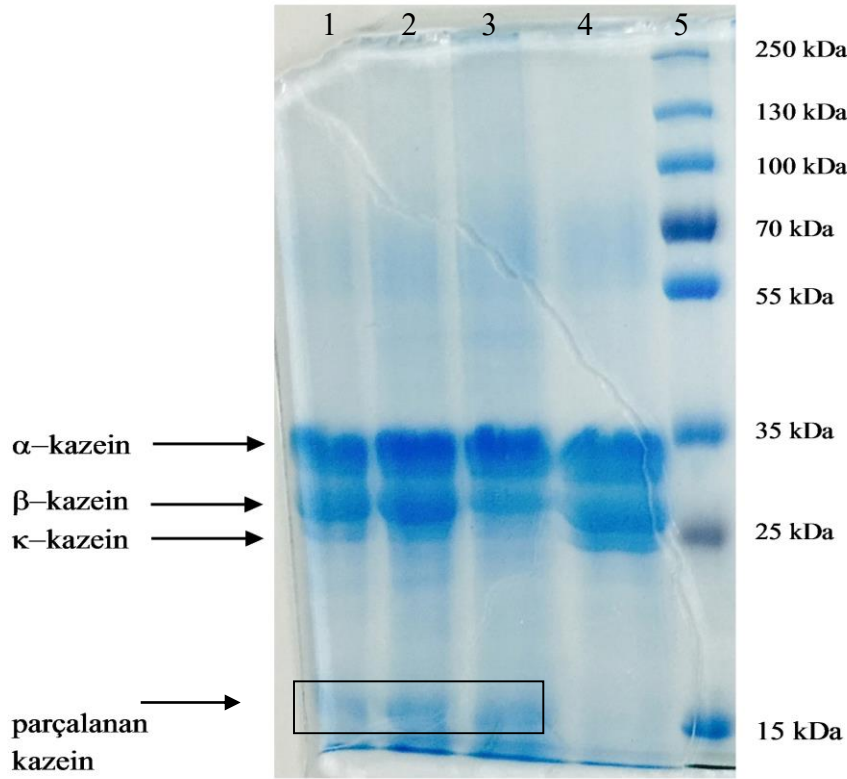
Saflaştırılan enzimle rekonstitüe sütün çöktürülmesine ait sonuçlar

Ayrıca amonyum sülfat çöktürmesi ile kısmi olarak saflaştırılan proteaz enziminin rekonstitüe sütün kaç saatte çöktürdüğü araştırılmıştır. Bu amaçla 10 mM $CaCl_2$ içeren %10'luk rekonstitüe sütün ve %10'luk rekonstitüe sütün olmak üzere iki farklı ortamda deneyler yürütülmüştür. Numuneler proteaz enziminin maksimum aktivite gösterdiği $50^\circ C$ 'de bekletilmiştir. $CaCl_2$ içeren deneyde enzimin 3. saatten itibaren rekonstitüe sütün çöktürmeye başladığı ve bir saat içinde rekonstitüe sütün tamamen çöktüğü görülmüştür. $CaCl_2$ içermeyen rekonstitüe sütün ise 6. saatten itibaren çökmeye başlamıştır. Rekonstitüe sütün enzim tarafından çöktürüldüğü tüplerin fotoğrafları şekil 5 verilmektedir.

Çizelge 2. Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin aktivitesi üzerine FeCl₃, CaCl₂, ZnCl₂, MgCl₂, SDS ve β-merkaptöetanolün etkisi

Table 2. The effect of FeCl₃, CaCl₂, ZnCl₂, MgCl₂, SDS ve β-mercaptoethanol on activity of purified protease from çiğdem tubers

	Derişim Concentration	Protease Aktivite (%) Protease Activity
Kontrol Control		100
CaCl ₂	10 ⁻¹ mM	149
	10 ⁻² mM	155
MgCl ₂	10 ⁻¹ mM	189
	10 ⁻² mM	196
FeCl ₃	10 ⁻¹ mM	0
	10 ⁻² mM	148
ZnCl ₂	10 ⁻¹ mM	103
	10 ⁻² mM	95
SDS	10 ⁻¹ mM	0
	10 ⁻² mM	85
β-merkaptöetanol	10 ⁻¹ mM	155
	10 ⁻² mM	95

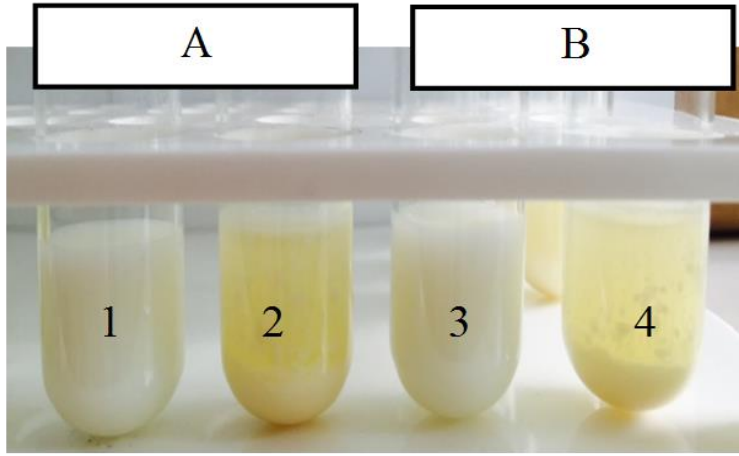


Şekil 4. Çiğdem yumrularından saflaştırılan proteaz enziminin kazeini hidrolizlemesinin SDS PAGE* görüntüsü. (1. kuyu: 6 saat hidroliz edilen numune, 2. kuyu: 12 saat hidroliz edilen numune, 3. kuyu: 18 saat hidroliz edilen numune, 4. kuyu: kontrol ve 5. kuyu: marker)

*Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi

Figure 4. SDS PAGE* pattern of hydrolysis of casein with protease enzyme from çiğdem tubers. (Lane 1: 6 hours hydrolyzed sample, lane 2: 12 hours hydrolyzed sample, lane 3: 18 hours hydrolyzed sample, lane 4: blank and lane 5: ladder)

*Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis



Şekil 5. Çığdem yumrularından saflaştırılan proteaz enzimi ile rekonstitüe sütün çöktürülmesi. (A (%10'luk rekonstitüe süt); 1: enzimli deneme, 2: kontrol. B (10 mM CaCl₂ içeren %10'luk rekonstitüe süt); 3: enzimli deneme, 4: kontrol)

Figure 5. Clotting reconstituted milk with protease from çığdem tubers. (A (10% reconstituted milk); 1: sample, 2: blank. B (10% reconstituted milk containing 10 mM CaCl₂); 3: sample, 4: blank)

SONUÇ

Çığdem yumrularından proteaz enzimi başarılı bir şekilde saflaştırılmıştır. Saflaştırılan proteaz enziminin optimum pH' sı 5,5 ve optimum sıcaklığı 50 °C olarak bulunmuştur. Enzimin V_{max} ve K_M değerleri sırasıyla 47 mg/L.dak ve 0,9 g/L ve molekül kütlesi 35 kDa olarak hesaplanmıştır. Çığdem yumrularından elde edilen enzimin, kazeini parçaladığı SDS PAGE yapılarak belirlenmiş ve ayrıca enzimin rekonstitüe sütü başarılı bir şekilde çöktürdüğü bulunmuştur. Bu sonuçlar, çığdem yumrularından elde edilen proteaz enziminin peynir yapımının ilk basamağı olan süt çöktürme işleminde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

Akyol, Y., Yetişen, K., Özdemir, C., Bozdağ, B., & Kocabaş, O. (2012). Türkiye'deki *Crocus biflorus* miller subsp. tauri (maw) mathew (Iridaceae) üzerine morfolojik ve anatomik bir çalışma. *Iğdır Univ J Inst Sci Tech*, 2: 15-20.

Antão, C. M., & Malcata, F. X. (2005). Plant serine proteases: biochemical, physiological and molecular features. *Plant Physiol Biochem*, 43(7): 637-50. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2005.05.001>

Barrett A. J. (2000) Proteolytic enzymes: nomenclature and classification, In: *Proteolytic Enzymes. Biochemical Education*. Beynon, R., Bond, J. S. (chief eds.), Volume 18, Oxford University Press, the USA, pp. 1-20. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(90\)90038-P](https://doi.org/10.1016/0307-4412(90)90038-P)

Berridge, N. J. (1945). The purification and crystallization of rennin. *Biochem J*, 39(2):179-86.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal Biochem*, 72: 248-254.

Bruno, M. A., Lazza, C. M., Errasti, M. E., López, L. M. I., Caffini, N. O., & Pardo, M. F. (2010). Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from *Bromelia hieronymi* fruits. *LWT - Food Sci Technol*, 43(4): 695-701. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.12.003>

Cavalcanti, M. T. H., Teixeira, M. F. S., Lima Filho, J. L., & Porto, A. L. F. (2004). Partial purification of new milk-clotting enzyme produced by *Nocardopsis* sp. *Bioresour Technol*, 93(1): 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.003>

- Creamer, L. K., Plowman, J. E., Liddell, M. J., Smith, M. H., & Hill, J. P. (1998). Micelle Stability: κ -Casein Structure and Function. *J Dairy Sci*, 81(11): 3004-3012. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75864-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75864-3)
- Demir, Y., Alayli, A., Yildirim, S., & Demir, N. (2005). Identification of protease from *Euphorbia amygdaloides* latex and its use in cheese production. *Prep Biochem Biotechnol*, 35(4): 291-299. <https://doi.org/10.1080/10826060500218107>
- Demir, Y., Güngör, A. A., Duran, E. D., & Demir, N. (2008). Cysteine protease (Capparin) from capsules of caper (*Capparis spinosa*). *Food Technol Biotechnol*, 46(3): 286-291.
- Fadıloğlu, S. (2001). Immobilization and characterization of ficin. *Nahrung - Food*, 45(2): 143-146. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20010401\)45:2<143::AID-FOOD143>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20010401)45:2<143::AID-FOOD143>3.0.CO;2-8)
- Kumar Dubey, V., & Jagannadham, M. V. (2003). Procerain, a stable cysteine protease from the latex of *Calotropis procera*. *Phytochemistry*, 62(7): 1057-1071. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00676-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00676-3)
- Menon, M., Vithayathil, P. J., Raju, S. M., & Ramadoss, C. S. (2002). Isolation and characterization of proteolytic enzymes from the latex of *Synadenium grantii* Hook, "f." *Plant Sci*, 163(1): 131-139. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00085-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00085-7)
- Modler, H. W. (1985). Functional Properties of Nonfat Dairy Ingredients - A Review. Modification of Products Containing Casein. *J Dairy Sci*, 68(9): 2195-2205. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81091-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81091-2)
- Nasr, A. I. A. M., Mohamed Ahmed, I. A., & Hamid, O. I. A. (2016). Characterization of partially purified milk-clotting enzyme from sunflower (*Helianthus annuus*) seeds. *Food Sci Nutr*, 4(5): 733-741. <https://doi.org/10.1002/fsn3.338>
- Roseiro, L. B., Barbosa, M., Ames, J. M., & Wilbey, R. A. (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants - The use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *Int J Dairy Technol*, 56(2): 76-85. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00080.x>
- Sumantha, A., Sandhya, C., Szakacs, G., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2005). Production and partial purification of a neutral metalloprotease by fungal mixed substrate fermentation. *Food Technol Biotechnol*, 43(4): 313-319.
- Tripathi, P., Tomar, R., & Jagannadham, M. V. (2011). Purification and biochemical characterisation of a novel protease streblin. *Food Chem*, 125(3): 1005-1012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.108>

TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLERİN KULLANIMI İLE EKMEĞİN FENOLİK MADDE İÇERİĞİNİN ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

Nesibe Arslan Burnaz^{1*}, Müge Hendek Ertop², Şeyda Merve Karataş³

¹ Gümüşhane Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Gümüşhane, Türkiye

² Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu, Türkiye

³ Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gümüşhane, Türkiye

Geliş / *Received*: 02.11.2017; Kabul / *Accepted*: 06.01.2018; Online baskı / *Published online*: 22.02.2018

Arslan Burnaz, N., Hendek Ertop, M., Karataş, Ş. M. (2018). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ile ekmeğin fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi. *GIDA* (2018) 43 (2): 240-249 doi: 10.15237/gida.GD17098

Arslan Burnaz, N., Hendek Ertop, M., Karataş, Ş. M. (2018). Enrichment of phenolic content of bread by using of medicinal and aromatic plants. GIDA (2018) 43 (2): 240-249 doi: 10.15237/gida. GD17098

ÖZ

Son yıllarda, tüketicilerin fonksiyonel gıdalara ilgisi artmaktadır. Bunun temel nedeni, fonksiyonel gıdaların içerdikleri fenolik bileşikler ve doğal antioksidanlarla insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin bulunmasıdır. Bu amaçla pek çok zenginleştirilmiş ürün formülasyonu geliştirilmektedir. Özellikle günlük diyetle her öğünde sofralarda yerini alan ekmeğin, zenginleştirilerek besin değerinin artırılmasına yönelik çalışmalar gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, geleneksel ekmeğe, tıbbi ve aromatik bitki ya da bitki tohumları eklenerek, ekmeğin fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi ve antioksidan bakımından işlevselliğinin artırılması amaçlanmıştır. Farklı formülasyonlarla yapılan ekmeğin numunelerinin toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemine göre bulunmuştur. Sonuçlar kontrol beyaz ekmeğe karşılaştırıldığında, ekmeğin yapımında özellikle tarçının toplam fenolik madde içeriğine katkısı oldukça fazla bulunmuş olup, fonksiyonel ekmeğin üretiminde kullanılması önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Fonksiyonel ekmeğin, fenolik madde, antioksidan, duyu analizi.

ENRICHMENT OF PHENOLIC CONTENT OF BREAD BY USING OF MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS

ABSTRACT

In recent years, consumers' interest in functional foods has been increasing. The main reason for this, is the functional foods, with phenolic compounds and natural antioxidants, have positive effects on human health. For this purpose, many enriched product formulations are being developed. Especially the studies on enriching to increase the nutritional value of bread which is consumed in daily diet at every meal, are gaining importance day by day. In this study, it was aimed to enrich the phenolic content and increase the antioxidant functionality of bread by adding medicinal and aromatic plants/plant seeds to traditional bread. The total phenolic contents (TPC) of bread samples made with different formulations were found based on Folin-Ciocalteu method. When results were compared with the control bread, the contribution to the TPC of the cinnamon, was found quite very high, and it can be suggested to use it in the production of functional bread.

Keywords: Functional bread, phenolic compound, antioxidant, sensory analysis.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ nsbburnaz@gmail.com,

☎ (+90) 456 233 10 00 / 3840,

☎ (+90) 456 233 11 79

GİRİŞ

Gıda üretimi alanında, gıda ürünlerinin çeşitlendirilmesi ve niteliklerinin geliştirilerek iyileştirilmesine yönelik çalışmalar, teknolojik gelişmelerle birlikte gün geçtikçe hız kazanmaktadır. Bununla birlikte tüketici talepleri de önemli ölçüde değişmektedir. Tüketicilerin, beslenme ve sağlığın doğrudan ilişkili olduğu bilincine varması, gıdalardan besleyici özelliklerin yanında ek fizyolojik faydalar beklemesine yol açmıştır (Siro vd., 2008; Kapsak vd., 2011). Bu gelişmeler, yeni bir yaklaşım olan “fonksiyonel gıda” kavramının ortaya çıkmasına öncülük etmiştir. Bu kavram, sağlığı olumlu yönde etkileyen ve/veya hastalık riskini azaltan besin ya da besin bileşenlerini kapsamakta olup eksikliği gidermek için kullanılabilir gıda takviyesi aracı olarak düşünülmemelidir (Jones, 2002; Wildman, 2016). Bir gıda maddesi, beslenme bakımından yeterli olmanın yanı sıra, insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerinde ilave faydalar sağlıyorsa “fonksiyonel” olarak kabul edilebilir (Roberfroid, 1999; Hasler, 2002).

Fonksiyonel gıdalar, diyetin desteklenmesi amacıyla gıdalarda zenginleştirme, uzaklaştırma ve takviye işlemleri uygulanarak elde edilebilir (Hasler, 2002; Biström ve Nordstöm, 2002). Zenginleştirme, gıda içerisinde bulunmayan bir besin ögesinin eksikliğini gidermek ya da doğal olarak bulunan besin ögesinin miktarının artırılması amacıyla gıdaya ilave edilmesidir (Chopra, 1974). Son yıllarda özellikle fenolik antioksidanlar gıda katkı maddesi olarak ya da sağlığa faydalı bileşenler olarak çeşitli gıda ürünlerine eklenmektedir (Patras vd., 2009; Peng, 2010). Literatürde çözünebilir lif (Dwyer, 1995; Vuksan vd., 2000), soya proteini (Sirtori ve Lovati, 2001), balık yağı (Donadio, 2000), probiyotik mikroorganizmalar içeren besinler (Isolauri vd., 2001; Wollowski vd., 2001) vb. besin öğelerinin tip II diyabet, koroner kalp, kardiyovasküler, gastrointestinal hastalıklar ve/veya bazı kanser türlerine yakalanma riskini azaltmada etkili olmasının yanında antioksidatif ve/veya antimikrobiyal özelliklere sahip, bağışıklık sistemi ve enerji metabolizmasına destek olduğu yönünde yapılmış çalışmalar mevcuttur (Jones, 2002; Arvanitoyannis, I. S. ve Van Houwelingen-

Koukaliaroglou, 2005). Literatürde gıda sektörüne kazandırılmış ürünlere rastlamak mümkündür. Piyasada kalsiyum/demir ilaveli sütler (devam sütleri) (Hegenauer vd., 1979; Fransson ve Lönnerdal 1982; Bosscher vd., 2001), iyotlu tuz (Zimmermann vd., 2003), vitaminli şeker, margarin ve sürülebilir yağlar (Dary ve Mora, 2002; Van Dam et.al., 2007; Zevenbergen vd., 2009; Calvo ve Whiting, 2013), fonksiyonel yoğurt (Fernandez-Garcia ve McGregor, 1997; Karaaslan vd., 2011; İlyasoğlu vd., 2015), mikrobesein öğeleri (demir, çinko, folik asit vb.) ilaveli ekmeğin, un (Cook vd., 1983; Darnton-Hill vd., 1999; Hertrampf ve Cortes, 2004; Moretti vd., 2014), vb. zenginleştirilmiş/ kuvvetlendirilmiş ürünler mevcuttur (Aslan ve Köksel 2003).

Tahıllar enerji kaynağı olarak yüksek nişasta içeriğinin yanı sıra, diyet lifi, besleyici protein ve esansiyel yağ asitleri bakımından zengindirler (Dewettinck vd., 2008). Dünyada ve ülkemizde en fazla üretilen ve tüketilen tahıl çeşidi buğdaydır. Buğday insan beslenmesinde geniş çapta ve çok çeşitli ürün elde edilmesinde kullanılmakta; özellikle ekmeğın hammaddesi olarak önem kazanmaktadır (Göçmen, 1991). Ülkemizde diğer gıdalara göre daha ucuz, doyurucu ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle ekmeğin, öğünlerin temel maddesi durumundadır. Ayrıca iyi bir enerji kaynağı ve günlük diyetin önemli bir parçası olması, ekmeğin üzerine yapılmış ve yapılmakta olan zenginleştirme çalışmalarını daha da önemli hale getirmektedir.

Literatürde son yıllarda özellikle fonksiyonel ekmeğin üretimi üzerine yapılmış çalışmaların sayısı artmıştır. Biberiye özleriyle zenginleştirilmiş tam buğday ekmeğinde raf ömrü (Jensen vd., 2011), keten tohumu ununun ekmeğın fiziko-kimyasal ve duyuşsal özelliklerine etkisi (Marpalle vd., 2014), kinoa yaprağı tozu ile zenginleştirilmiş ekmeğin (Gawlik-Dziki vd., 2015), karabuğday ile zenginleştirilmiş antihiperlipidemik etkili ekmeğin üretimi, (Stokić vd., 2016.), fermente edilmiş öğütme yan ürünleri kullanılarak düşük glikemik indeksli ekmeğin geliştirilmesi, (Pontonio vd., 2017), zenginleştirilmiş glutensiz ekmeğin üretimi, (Mert, 2013; Marti vd., 2017; Conte vd., 2018) üzerine yapılmış güncel araştırmalar mevcuttur.

Bu çalışmanın öncelikli amacı; geleneksel ekmeğin besin değerini arttırarak, bireylerin beslenme dengesine katkıda bulunmaktır. Doğal bileşikler olan polifenoller aroma, tat, renk, doku gibi birçok duyuşsal özelliğın oluşumunda ve biyolojik aktivite özellikleri açısından önemlidirler (Kolaylı vd., 2016) Dolayısıyla fenolik bileşiklerin çeşidi ve miktarı ekmeklerin antioksidan bakımından fonksiyonelliğini, duyuşsal özelliklerini ve kalitesini yansıtaçağından tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğine etki edeceklerdir. Dolayısıyla bu çalışmada, çeşitli tıbbi ve aromatik bitki ve bitki tohumlarıyla farklı ekmeş formülasyonları oluşturularak, geleneksel ekmeğın fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi ve antioksidan bakımından işlevselliğinin arttırılmasının yanı sıra, elde edilen ekmeklerin tüketiciler tarafından duyuşsal olarak kabul edilebilirliği incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Ekmek Yapımında Kullanılan Materyaller

Bu çalışmada, kullanılmak üzere Türk Gıda Kodeksi Ekmek Tebliğinde belirtilen tuz hariç kül miktarı 0.65-1.1 olarak belirtilen Tip 650 buğday unu, 50kg'lık çuval içerisinde, Cesur Un Sanayi A.Ş. (Trabzon) firmasından temin edilmiştir. Ekmek hamurlarının hazırlanmasında kullanılan iyotlu sofra tuzu ve instant aktif kuru maya (Dr. Oetker Gıda Sanayii A.Ş. /İzmir) aynı üretim partisinden olmak kaydıyla bir süpermarketten temin edilmiştir. Ekmek formülasyonlarının oluşturulmasında kullanılan sarı haşhaş, mavi haşhaş, çörek otu, kişniş, keten tohumu, mahlep, tarçın ve zerdeçal kendi ambalajında yine bir süpermarketten temin edilmiştir.

Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Analizlerde kullanılan kimyasallar analitik ya da HPLC saflıkta olup, ilgili firmalarca Merck (Darmstad, Germany) ve Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD)'den ithal edilmiştir.

Analizlerde Kullanılan Cihazlar

Ekmek yapımında çift hazneli ev tipi ekmeş yapma makinesi (Arçelik K-2715) kullanılmıştır. Ekmek örneklerinin ön hazırlığı ve ekstraksiyonu için homojenizatör (Daihan Scientific Co. Ltd., model WiseTis HG-15A), karıştırıcı (MS1 Mini-

shaker vorteks, IKA® Works, Inc., USA), hassas analitik terazi (Ohaus, Pioneer TM Balances, PA214C, Parsippany, NJ, USA), santrifüj (NF 1200R, Nüve, Türkiye), spektrofotometre (Microplate Spectrophotometer, Epoch BioTek Ins., USA), çoklu ısıtıcı manyetik karıştırıcı (Wisestir, SMSH-6, Daihan) gibi laboratuvar cihazları kullanılmıştır.

Yöntem

Ekmek Pişirme Denemeleri

Ekmek yapma makinesinde 11 no.lu özel program seçilerek yoğurma, kabartma, pişirme aşamaları ve süreleri üzerinde istenilen değişiklikler yapılmış ve Çizelge 1'deki program oluşturulmuştur. Makinede ekmeş örneklerinin yapımında uygulanan pişirme programı Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Ekmek üretiminde kullanılan program
Table 1. Program used in bread production

Program aşamaları <i>Program steps</i>	Süre (dakika) <i>Time (minutes)</i>
Yoğurma 1 <i>Knead 1</i>	14
Kabartma 1 <i>Rise 1</i>	32
Yoğurma 2 <i>Knead 2</i>	8
Kabartma 2 <i>Rise 2</i>	31
Kabartma 3 <i>Rise 3</i>	50
Pişirme <i>Bake</i>	62
Toplam süre <i>Total time</i>	197

Ekmek yapma makinesinde pişirme sıcaklığı (*bake temperature*) 180°C, pişirme sonrası sıcak tutma (*warm*) ise 0°C olarak ayarlanmıştır. Ekmek hamuru yapımında kullanılan su, tuz, maya ve tıbbi-aromatik bitki/bitki tohumları (sarı haşhaş tohumu, mavi haşhaş tohumu, çörekotu tohumu, keten tohumu, kişniş, mahlep, tarçın ve zerdeçal) miktarları Çizelge 2'deki formülasyonlara göre ilave edilmiştir.

Pişirme sonrası ekmeş yapma makinesinden çıkarılan ekmekler, yaklaşık 1 saat kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda ekmeklerin ağırlıkları ve hacimleri ölçülmüştür. Ekmek ağırlıkları analitik hassas terazide gram cinsinden ölçülmüştür. Ekmek

hacimleri ise kolza tohumlarıyla yer değiştirme prensibine dayalı olarak cm³ cinsinden ölçülmüştür. Ekmeklerde “spesifik hacim” bayatlamının gecikmesi açısından kalite parametresi olarak kullanılmaktadır (Demir vd.,

2009). Spesifik hacim, ekmeğin hacminin ağırlığa oranı olarak hesaplanmış, cm³/g birimi ile ifade edilmiştir (Koca ve Anıl, 1999; Doğan ve Yıldız, 2009).

Çizelge 2. Analizleri yapılmak üzere belirlenen ekmeğin formülasyon içerikleri

Table 2. Bread formulation contents determined for analysis

Katkılar (g) Additives (g)	*Ekmeğin formülasyonları (kodları) *Bread Formulations (Codes)								
	F-100	F-200	F-300	F-400	F-500	F-600	F-700	F-800	F-900
Buğday unu Wheat flour	300	300	300	300	300	300	300	300	300
Sarı Haşhaş Yellow Poppy	20	-	-	-	-	-	-	-	-
Mavi Haşhaş Blue Poppy	-	20	-	-	-	-	-	-	-
Çörek Otu Black Cumin	-	-	20	-	-	-	-	-	-
Kişniş Coriander	-	-	-	20	-	-	-	-	-
Keten Tohumu Flaxseed	-	-	-	-	20	-	-	-	-
Mahlep Mahaleb	-	-	-	-	-	3	-	-	-
Tarçın Cinnamon	-	-	-	-	-	-	3	-	-
Zerdeçal Turmeric	-	-	-	-	-	-	-	3	-
Tuz Salt	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87
Maya Yeast	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Su Water	180	180	180	180	180	180	180	180	180

* F-100:sarı haşhaşlı, F-200:mavi haşhaşlı, F-300:çörek otlu, F-400:kişnişli, F-500:keten tohumlu, F-600: mahlepli, F-700:tarçınlı, F-800:zerdeçalı, F-900:kontrol ekmeğin formülasyonları.

* F-100: yellow poppy, F-200: blue poppy, F-300: black cumin, F-400: coriander, F-500: flaxseed, F-600:mahaleb, F-700: cinnamon, F-800: turmeric, F-900: control bread formulations.

Ekmeğin Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstraksiyon aşamasında, pişirme sonrası yaklaşık 1 saat kadar bekletilmiş olan ekmeklerden beherler içerisinde 5'er gram tartılmıştır. Bu miktarlar 50 mL %80 metanol çözeltisi homojen bir karışım elde edilene kadar homojenizatörle parçalanmıştır. Sonrasında erlenlerin içine manyetik balık atılarak erlenlerin ağzı parafilmle, dış yüzeyleri alüminyum folyoyla kapatılmış ve

37°C'ye ayarlı çoklu ısıtıcı manyetik karıştırıcıda 750 devir (rpm)'de 2 saat boyunca karıştırılmışlardır. Son olarak da ekstraktlar 50 mL'lik santrifüj tüplerine aktarılmış, 5000 rpm'de ve 20°C'de 15 dk santrifüj edilerek siyah bantlı filtre kağıdından (Whatman No.1) süzülmüş, %80 metanol çözeltisi ile hacimler 50 mL'ye tamamlanmıştır.

Çalışmada çift hazneli ekmek yapma makinesi kullanılarak, numune ekmekler iki tekrar olacak şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar toplam fenolik madde analizinde kullanılmak üzere buzdolabında 24 saat 4°C'de depolanmıştır.

Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizi

Ekmek örneklerinden elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarları, Folin-Ciocalteu yöntemine göre gallik asit eşdeğeri cinsinden bulunarak, sonuçlar kontrol beyaz ekmekle karşılaştırılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Analiz için; deney tüplerine alınan 100 µL'lik her bir ekstrakt çözeltisine, 500 µL Folin-Ciocalteu (0.2 N) reaktif çözeltisi eklenmiş ve karanlıkta 5 dk bekletilmiştir. Sonrasında sırasıyla 400 µL sodyum karbonat (1 M) çözeltisi ve 4 mL saf su eklenerek vortekle karıştırılmış, oda sıcaklığında ve karanlıkta beklemeye bırakılmıştır. 1 saat sonra spektrofotometrede 765 nm'de absorpsiyonlar ölçülmüştür. Analizlerde örnekler altı paralel olacak şekilde hazırlanmış, absorpsiyon değerlerinin ortalamaları alınarak örnek ve reaktif kör değerleri toplamı bu ortalamadan çıkarılmış ve elde edilen verilerle grafik çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisi, 0 ila 0.200 mg/L aralığında metanolde çözünmüş gallik asit standardına ait verilerle hazırlanmıştır. Toplam fenolik madde miktarları, 100 g numune başına µg gallik asit olarak ifade edilmiştir (µg gallik asit eşdeğeri/100 g kuru numune, µgGAE/100g).

Duyusal Analiz

Zenginleştirme yoluyla elde edilen ekmeklerin endüstriyel bir boyut kazanması açısından tüketici tercihi önemlidir (Mialon vd., 2002). Bu kapsamda, tüketicilerin tat eğilimlerini ve beğenisini belirleyerek ürünleri kıyaslamak amacıyla elde edilen ekmeklerde duyu değerlendirmesi yapılmıştır. Duyusal analizde hazırlanan ekmek örneklerine farklı kodlar verilerek ekmeklerin renk, görünüş ve duyu özellikler bakımından tercih veya beğenme/beğenmeme durumlarının değerlendirilebilmesi için bir puantaj formu oluşturulmuştur (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2011). Değerlendirme formu oluşturulurken hedonik skaladan yararlanılmış ve

panelistlerden her bir ekmeği genel beğenme durumlarını 1-5 arası bir rakamla ifade etmeleri istenmiştir. Panelistler ekmekleri beğenme durumlarını; 1-Hiç beğenmedim, 2-Az beğendim, 3-Orta derecede beğendim, 4-Beğendim, 5-Çok beğendim, şeklinde numaralandırarak belirtmişlerdir. Çalışmada, Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü ile Sağlık Bilimleri Fakültesi öğretim elemanları panelist olarak toplam 35 kişi yer almıştır.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde SPSS (Statistical Package for Social Science) 20.0 paket programından yararlanılmıştır. Zenginleştirilmiş ekmeklerin fenolik madde içeriği analiz sonuçları kontrol beyaz ekmeğin sonuçları ile karşılaştırılırken Mann Whitney U testi ($P < 0.05$ ve $N=6$), duyu analizlerde elde edilen genel beğeni durumları, kontrol beyaz ekmeğin sonuçları ile karşılaştırılırken ise bağımsız örneklem T testi ($P < 0.05$ ve $N=35$) yöntemi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Ekmek Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Bayatlama, öncelikle raf ömrünü kısıtlayan, dolayısıyla ekmeğin kabul edilebilirliğini azaltan bir etkidir (Çolakoğlu, 2011). Ekmek kalite özelliklerinin belirlenmesinde ağırlık ve hacim ölçümleri yanında bayatlamanın gecikmesi açısından kalite parametresi olarak kullanılan spesifik hacimler (cm^3/g) de hesaplanarak Çizelge 3'te verilmiştir.

Katkı ve formülasyon türüne göre ekmek spesifik hacimleri 2.626 ile 3.455 cm^3/g arasında değişmiştir. Formülasyonlara ait her bir ekmek, kontrol beyaz ekmekle (3.263 cm^3/g) karşılaştırıldığında, sarı (3.421 cm^3/g) ve mavi (3.455 cm^3/g) haşhaşın ekmeklerde spesifik hacimde artışa neden olduğu bulunmuştur. En yüksek spesifik hacim mavi haşhaşlı ekmekte (3.455 cm^3/g), en düşük spesifik hacim keten tohumlu ekmekte (2.626 cm^3/g) görülmüştür.

Çizelge 3. Ekmek özellikleri
Table 3. Bread Properties

Ekmek Kodları* Bread Codes*	Ağırlık (g) Weight (g)	Hacim (cm ³) Volume (cm ³)	Spesifik Hacim (cm ³ /g) Specific Volume (cm ³ /g)
F-100	398.968	1365	3.421
F-200	390.729	1350	3.455
F-300	407.863	1172	2.874
F-400	400.757	1230	3.069
F-500	437.916	1150	2.626
F-600	418.306	1290	3.084
F-700	415.567	1280	3.080
F-800	411.895	1300	3.156
F-900	409.155	1335	3.263

* F-100:sarı haşhaşlı, F-200:mavi haşhaşlı, F-300:çörek otlu, F-400:kişnişli, F-500:keten tohumlu, F-600: mahlepli, F-700: tarçınlı, F-800:zerdeçalı, F-900:kontrol ekmek formülasyonları.

* F-100:yellow poppy, F-200:blue poppy, F-300:black cumin, F-400:coriander, F-500:flaxseed, F-600:mahaleb, F-700:cinnamon, F-800:turmeric, F-900:control bread formulations.

Ekmeklerde Toplam Fenolik Madde Miktarları

Ekmek ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden bulunarak, kuru madde üzerinden hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4'de verilmiştir.

Veriler doğrultusunda, aynı miktar (3g) mahlep, tarçın veya zerdeçal eklenerek yapılan ekmekler kontrol beyaz ekmekle karşılaştırıldığında; her birinin kontrol beyaz ekmeğin toplam fenolik

madde içeriğini dolayısıyla antioksidan aktivitesini arttırdığı saptanmıştır. Özellikle toplam fenolik madde içeriğinin artırılmasında tarçın ve zerdeçalın katkısı büyüktür. Benzer şekilde aynı miktar (20g) sarı/mavi haşhaş, çörekotu, keten tohumu veya kişniş eklenerek yapılan ekmekler kontrol beyaz ekmekle karşılaştırıldığında ise; sarı haşhaş, çörekotu, kişniş ve keten tohumunun kontrol beyaz ekmeğin toplam fenolik madde içeriğini, dolayısıyla antioksidan aktivitesini arttırdığı, mavi haşhaşın ise azalttığı saptanmıştır.

Çizelge 4. Ekmek çeşitlerinin toplam fenolik madde içeriğinin kontrol beyaz ekmek ile karşılaştırılması
Table 4. Comparison of total phenolic contents of bread types with control white bread

Ekmek çeşidi Bread type	Toplam fenolik madde (µg GAE/100g) Total phenolic compound (µg GAE/100g)
Kontrol beyaz ekmek Control white bread	1.263 ± 0.224 ^a
Sarı haşhaşlı ekmek Yellow poppy bread	2.457 ± 0.174 ^b
Mavi haşhaşlı ekmek Blue poppy bread	1.171 ± 0.139 ^a
Çörek otlu ekmek Black cumin bread	6.590 ± 0.174 ^c
Kişnişli ekmek Coriander bread	4.753 ± 0.273 ^d
Keten tohumlu ekmek Flaxseed bread	5.029 ± 0.280 ^d
Mahlepli ekmek Mahaleb bread	2.572 ± 0.246 ^b
Tarçınlı ekmek Cinnamon bread	11.068 ± 0.265 ^e
Zerdeçalı ekmek Turmeric bread	10.992 ± 0.3626 ^e

Aynı sütundaki birbirinden farklı üst simge harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğunu göstermektedir. (Mann-Whitney U testi, $P < 0.05$).

The different superscript letters in the same column indicate a statistically significant difference between the data (Mann-Whitney U test, $P < 0.05$).

Ekmelerde Duyusal Değerlendirme

Duyusal analizde, panelistlerin her bir ekmeği değerlendirmek için verdikleri puanların ortalamaları alınarak bulunmuştur. Sonuçlar dikkate alındığında, kişnişli ekmeğin (1.43/5= “hiç beğenmedim”) dışındaki ekmeklerin kabul edilebilir olduğu görülmüştür. Tarçınlı ekmeğin kabul edilebilirliği en yüksek (4.36/5) ve ortalama genel beğenisi “beğendim” olarak bulunmuştur. Panelistlerin diğer ekmeklerle ilgili genel beğenileri: sarı haşhaşlı ekmeğin “orta derecede beğendim” (3.43/5), mavi haşhaşlı ekmeğin “beğendim” (3.86/5), çörek otlu ekmeğin “beğendim” (3.57/5), keten tohumlu ekmeğin “orta derecede beğendim” (3.43/5), mahlepli ekmeğin “beğendim” (3.64/5), zerdeçalı ekmeğin “orta derecede beğendim” (3.42/5), kontrol beyaz ekmeğin “beğendim” (4.00/5) şeklindedir.

Literatürde mevcut bir çalışmada, farklı oranlarda zerdeçal tozu kullanılarak yapılmış ekmeklerde duyusal olarak zerdeçal tozu miktarı %2 oranında eklendiğinde genel beğeni durumu kontrol ekmekten yüksek olduğu halde %4, %6 ve %8 oranlarında eklendiğinde genel beğeni durumu oldukça düşüktür. Bu çalışmada ise zerdeçal tozu yaklaşık %1 oranında eklenmiş olmasına rağmen genel beğeni durumu kontrol ekmekten düşük çıkmıştır. Bu sonucun öncelikle panelistlerin damak zevkinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kullanılan zerdeçal tozunun farklı yerlerden temin edilmiş olması da etkilidir. Aynı çalışmada ekmeğin spesifik hacimleri kontrol ekmeğe oranla bu çalışmada olduğu gibi azalmıştır. Benzer çalışmalarda da fonksiyonel ekmeğin yapımında keten tohumu, çörekotu, zerdeçal, zencefil vb. tıbbi ve aromatik kullanım alanı olan baharatların eklenmesi, ekmeğin reolojik yapısında değişimlere, spesifik hacminde azalmaya neden olmakta ve ekmeğin kalitesini bir miktar düşürmektedir (Lim vd., 2011; Balestra vd., 2011; Marpalle vd., 2014; Osman vd., 2014). Bununla birlikte fonksiyonel açıdan artış sağlamakta, duyusal özelliklerde ise olumlu ya da olumsuz etki gösterebilmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada, geleneksel ekmeğe, tıbbi ve aromatik bitki ve tohumları eklenerek, ekmeğin

fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi ve antioksidan bakımından işlevselliğinin artırılması amaçlanmıştır. Duyusal analizlerde tarçınlı ekmeğin kabul edilebilirliği en yüksek ve ortalama genel beğenisi “beğendim” olarak bulunmuştur. Tüm sonuçlar irdelendiğinde, ekmeğin yapımında özellikle tarçının (çok az miktarda eklenmesine rağmen) toplam fenolik madde içeriğine katkısı oldukça fazla bulunmuş olup, fonksiyonel ekmeğin üretiminde kullanılması önerilebilir. Bunun tersine, ekmeklerde mavi haşhaş toplam fenolik madde içeriğinde azalmaya neden olmuştur. Bu durum, bitkiler içerisindeki bazı bileşenlerin ekmeğin yapımında kullanılan materyallerle antagonist etki oluşturarak ekmeklerde fenolik madde içeriğinde azalmaya neden olduğu şeklinde değerlendirilebilir.

Zenginleştirilmiş ekmekler toplam fenolik madde içerikleri açısından kontrol beyaz ekmeğe karşılaştırıldığında, Mann Whitney U testi sonuçları ekmekler arasında istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) farklılık olduğunu göstermiştir. Duyusal analizlerde standart sapmalar (STD) 0-0.506 arasında değişmekle birlikte, kontrol beyaz ekmeğe karşılaştırıldığında mahlepli ekmeğin dışındaki ekmeklerin genel beğeni durumunda istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) farklılık bulunmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 13.A0114.02.2).

KAYNAKLAR

Allen, L. H., De Benoist, B., Dary, O., Hurrell, R. (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*, World Health Organization Publication, France, 341 p.

Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y. (2011). *Gıdalarda Duyusal Değerlendirme*. 2.Baskı, Sidas Yayınları, İzmir, ISBN: 978-9944-5660-8-7, 148 s.

Aslan, D., Köksel, H. (2003). Gıda zenginleştirilmesi ve bazı yaklaşımlar. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*, 12(11), 418-420.

- Balestra, F., Cocci, E., Pinnavaia, G., Romani, S. (2011). Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. *LWT-Food Sci Tech*, 44(3): 700-705.
- Biström, M., Nordström, K. (2002). Identification of key success factors of functional dairy foods product development. *Trends Sci Tech*, 13(11): 372-379.
- Calvo, M. S., Whiting, S. J. (2013). Survey of current vitamin D food fortification practices in the United States and Canada. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 136: 211-213.
- Chopra, J. G. (1974). Enrichment and fortification of foods in Latin America. *Am J Public Health*, 64(1): 19-26.
- Conte, P., Del Caro, A., Balestra, F., Piga, A., Fadda, C. (2018). Bee Pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. *LWT-Food Sci Tech*, 90: 1-7.
- Cook, J. D., Reusser, M. E. (1983). Iron fortification: an update. *Am J Clin Nutr*, 38(4): 648-659.
- Çolakoğlu, A. S. (2011). Bazı katkıların ekmeğin bayatlama mekanizmasına etkilerinin termal yöntemlerle belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 163 s.
- Darnton-Hill, I., Mora, J. O., Weinstein, H., Wilbur, S., Nalubola, P. R. (1999). Iron and folate fortification in the Americas to prevent and control micronutrient malnutrition: an analysis. *Nutr Rev*, 57(1): 25-31.
- Dary, O., Mora, J. O. (2002). Food fortification to reduce vitamin A deficiency: International Vitamin A Consultative Group recommendations. *J Nutr*, 132(9): 2927-2933.
- Demir, M. K., Elgün, A., Argun, M. Ş. (2009). Sütçülük yan ürünlerinden peynir altı, yayık altı ve süzme yoğurt suları katkılarının bazı ekmeğin özelliklerine etkileri üzerine bir araştırma. *GIDA/J Food*, 34(2), 251-258.
- Dewettinck, K., Van Bockstaele, F., Kühne, B., Van de Walle, D., Courtens, T. M., Gellynck, X. (2008). Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *J Cereal Sci*, 48(2): 243-257.
- Doğan, İ. S., Yıldız, Ö. (2009). Ekmek makinelerinde kullanılan farklı bileşen seviyelerinin ekmeğin kalitesi üzerine etkisi. *GIDA/J Food*, 34(5): 295-301.
- Donadio, J.V. (2000). Use of fish oil to treat patients with immunoglobulin A nephropathy. *Am J Clin Nutr*, 71(1): 373-375.
- Dwyer, J. (1995). Overview: dietary approaches for reducing cardiovascular disease risks. *J Nutr*, 125(3): 656-665.
- Fernandez-Garcia, E., McGregor, J. U. (1997). Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. *Z Lebensmunters-Forsch A*, 204(6): 433-437.
- Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Świeca, M., Sęczyk, Ł., Różyło, R., Szymanowska, U. (2015). Bread enriched with Chenopodium quinoa leaves powder—The procedures for assessing the fortification efficiency. *LWT-Food Sci Tech*, 62(2): 1226-1234.
- Göçmen, D. (1991). Marmara Bölgesinde Üretilen Bazı Buğday Çesitlerinin Ekmeklik Kalitesi Üzerine Araştırmalar. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bursa, Türkiye, 83 s.
- Hasler, C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. *J Nutr*, 132(12): 3772-3781.
- Hertrampf, E., Cortes, F. (2004). Folic acid fortification of wheat flour: Chile. *Nutr Rev*, 62(suppl_1): S44-S48.
- Isolauri E., Sutas Y., Kankaanpää P., Arvilommi H., Salminen S. (2001). Probiotics: Effects of immunity. *Am J Clin Nutr*, 73: 444-450.
- İlyasoğlu, H., Yılmaz, F., Burnaz, N. A., Baltacı, C. (2015). Preliminary assessment of a yoghurt-like product manufactured from hazelnut slurry:

- Study using response surface methodology. *LWT-Food Sci Tech*, 62(1): 497-505.
- Jensen, S., Ostedal, H., Skibsted, L. H., Thybo, A. K. (2011). Antioxidants and shelf life of whole wheat bread. *J Cereal Sci*, 53(3): 291-297.
- Jones, P. J. (2002). Clinical nutrition: 7. Functional foods—more than just nutrition. *Can Med Assoc J*, 166(12): 1555-1563.
- Kapsak, W. R., Rahavi, E. B., Childs, N. M., White, C. (2011). Functional foods: consumer attitudes, perceptions, and behaviors in a growing market. *J Am Diet Assoc*, 111(6): 804-811.
- Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT-Food Sci Tech*, 44(4): 1065-1072.
- Koca, A. F., Anil, M. (1999). The effect of ascorbic acid and sodium stearoyl-2-lactylate on frozen dough stability. *Turk J Agric For*, 23(2): 249-256.
- Kolayli, S., Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Karaoglu, S. A. (2016). A comparative study of the antihyaluronidase, antiurease, antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of different unifloral degrees of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys. *J Enzym Inhib Med Ch*, 31(sup3): 96-104.
- Lim, H. S., Park, S. H., Ghafoor, K., Hwang, S. Y., Park, J. (2011). Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chem*, 124(4): 1577-1582.
- Marpalle, P., Sonawane, S. K., Arya, S. S. (2014). Effect of flaxseed flour addition on physicochemical and sensory properties of functional bread. *LWT-Food Sci Tech*, 58(2): 614-619.
- Marti, A., Marengo, M., Bonomi, F., Casiraghi, M. C., Franzetti, L., Pagani, M. A. Iametti, S. (2017). Molecular features of fermented teff flour relate to its suitability for the production of enriched gluten-free bread. *LWT-Food Sci Tech*, 78: 296-302.
- Mert, İ. D., 2013. Development of Gluten Free Bread Formulation of Baking in Infrared-Microwave Combination Oven. Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 425 s.
- Mialon, V. S., Clark, M. R., Leppard, P. I., Cox, D. N. (2002). The effect of dietary fibre information on consumer responses to breads and “English” muffins: a cross-cultural study. *Food Qual Prefer*, 13(1): 1-12.
- Moretti, D., Biebinger, R., Bruins, M. J., Hoeft, B., Kraemer, K. (2014). Bioavailability of iron, zinc, folic acid, and vitamin A from fortified maize. *Ann NY Acad Sci*, 1312(1): 54-65.
- Osman, M. A., Alamri, M. S., Mohamed, A. A., Hussain, S., Gassem, M. A., Rahman, I. A. (2014). Black cumin-fortified flat bread: formulation, processing, and quality. *Qual Assur Saf Crop*, 7(2): 233-238.
- Patras, A., Brunton, N., Da Pieve, S., Butler, F., Downey, G. (2009). Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Innov Food Sci Emerg*, 10(1): 16–22.
- Peng, X., Ma, J., Cheng, K. W., Jiang, Y., Chen, F., Wang, M. (2010). The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. *Food Chem*, 119(1): 49-53.
- Pontonio, E., Lorusso, A., Gobbetti, M., Rizzello, C. G. (2017). Use of fermented milling by-products as functional ingredient to develop a low-glycaemic index bread. *J Cereal Sci*, 77: 235-242.
- Roberfroid, M. B. (1999). What is beneficial for health? The concept of functional food. *Food Chem Toxicol*, 37(9): 1039-1041.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J Enol Viticult*, 16(3): 144-158.
- Siro, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51(3): 456-467.

- Sirtori, C. R., Lovati, M. R. (2001). Soy proteins and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*, 3(1): 47-53.
- Stokić, E., Mandić, A., Sakač, M., Mišan, A., Pestorić, M., Šimurina, O., Jambrec, D., Jovanov, P., Nedeljković, N., Milovanović, I., Sedej, I. (2015). Quality of buckwheat-enriched wheat bread and its antihyperlipidemic effect in statin treated patients. *LWT-Food Sci Tech*, 63(1): 556-561.
- Van Dam, R. M., Sijder, M. B., Dekker, J. M., Stehouwer, C. D., Bouter, L. M., Heine, R. J., Lips, P. (2007). Potentially modifiable determinants of vitamin D status in an older population in the Netherlands: the Hoorn Study. *Am J Clin Nutr*, 85(3): 755-761.
- Vuksan, V., Sievenpiper, J. L., Owen, R., Swilley, J. A., Spadafora, P., Jenkins, D. J., Xu, Z. (2000). Beneficial effects of viscous dietary fiber from Konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome: results of a controlled metabolic trial. *Diabetes care*, 23(1): 9-14.
- Wollowski, I., Rechkemmer, G., Pool-Zobel, B. L. (2001). Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr*, 73(2): 451-455.
- Zevenbergen, H., De Bree, A., Zeelenberg, M., Laitinen, K., Van Duijn, G., Flöter, E. (2009). Foods with a high fat quality are essential for healthy diets. *Ann Nutr Metab*, 54(Suppl. 1): 15-24.
- Zimmermann, M. B., Zeder, C., Chaouki, N., Saad, A., Torresani, T., Hurrell, R. F. (2003). Dual fortification of salt with iodine and microencapsulated iron: a randomized, double-blind, controlled trial in Moroccan schoolchildren. *Am J Clin Nutr*, 77(2): 425-432.

LİPAZ ENZİMİ VE DESTEK KÜLTÜR KULLANIMININ KEÇİ PEYNİRİNİN OLGUNLAŞMASI ÜZERİNE ETKİLERİ

Hasan Uzkuç¹, Onur Güneşer², Yonca Karagül Yüceer^{1*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 17020, Çanakkale, Türkiye

²Uşak Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 64200, Uşak, Türkiye

Geliş / Received: 13.11.2017; Kabul / Accepted: 23.01.2018; Online baskı / Published online: 22.02.2018

Uzkuç, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. (2018). Lipaz enzimi ve destek kültür kullanımının keçi peynirinin olgunlaşması üzerine etkileri. *GIDA* (2018) 43 (2): 250-263 doi: 10.15237/gida.GD17102

Uzkuç, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. (2018). *Effects of lipase enzyme and adjunct culture on goat cheese ripening. GIDA* (2018) 43 (2): 250-263 doi: 10.15237/gida.GD17102

ÖZ

Bu çalışmada lipaz enzimi ve destek kültür kullanımının keçi peynirinin bazı kimyasal ve duyuşal özellikleri ve olgunlaşma karakteristiklerine etkisi araştırılmıştır. Keçi sütüne Capalase® K, Italase® C enzimleri ve *Staphylococcus carnosus* destek kültürü ilave edilerek üretilen keçi peynirleri 5±1°C'de 90 gün süreyle olgunlaştırılmıştır. Peynirlerin titrasyon asitliği ve azot fraksiyonlarında depolamayla birlikte artış olduğu gözlenmiştir. Lipolizin göstergesi olan hidrolitik ransidite değerleri enzim kullanılarak üretilen peynirlerde yüksek bulunmuştur. Etil butirat, etil hekzanoat, dodekanoik asit ve etil dodekanoat tüm peynirlerin sadece 90. gün örneklerinde belirlenmiş, 3-metil bütanoik asit, pentanoik asit, heptanoik asit ve nonanoik asit ise sadece enzim kullanılarak üretilen peynirlerin 90. günlerinde saptanmıştır. Pişmiş, kremamsı, peyniraltı suyu, sülfür, ransit, toz/çimento ve keçi aromaları peynir örneklerinin karakteristik tanımlayıcı aroma terimleri olarak panelistler tarafından geliştirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Keçi peyniri, hızlı olgunlaştırma, uçucu bileşen

EFFECTS OF LIPASE ENZYME AND ADJUNCT CULTURE ON GOAT CHEESE RIPENING

ABSTRACT

The effects of using commercial lipase enzymes and adjunct culture on some chemical and sensory properties and ripening characteristics of goat cheese were investigated in this study. Goat cheeses produced by addition of Capalase® K, Italase® C enzymes and *Staphylococcus carnosus* adjunct culture to the goat milk ripened for 90 days at 5±1°C. Increase in titratable acidity and nitrogen fractions was observed in the cheeses during storage. Hydrolytic rancidity values as an indicator of lipolysis were higher in specifically enzyme used cheeses. Ethyl butyrate, ethyl hexanoate, dodecanoic acid and ethyl dodecanoate were only determined in the cheeses on 90. day of storage. 3-methyl butanoic acid, pentanoic acid, heptanoic acid and nonanoic acid were detected in only enzyme used samples on day 90. Cooked, creamy, whey, sulfur, rancid, dust/cement and goat aromas were characteristic descriptive aroma terms developed by panelists.

Keywords: Goat cheese, accelerated ripening, volatile compound

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yoncayuceer@comu.edu.tr

☎ (+90) 286 218 0018/2272,

☎ (+90) 286 218 0541

GİRİŞ

Peynirin olgunlaşması; taze peynirlerin çeşidine özgü koku, tat, renk, kıvam, göz, delik ve beğeni gibi özellikleri kazanabilmesi için farklı koşul ve sürelerde bekletilmeleriyle gerçekleştirilen ve fiziksel, mikrobiyolojik ve enzimatik etkileşimlerle ortaya çıkan karmaşık biyokimyasal olayların tamamı olarak tanımlanmaktadır (Üçüncü, 2002). Peynirin olgunlaşmasında, peynir mayası, sütün doğal enzimleri, starter bakteriler ve enzimleri ve starter olmayan bakteriler rol oynamaktadır (Fox, 1989).

Peynirin olgunlaşması sütün orijinal enzimleri ile bazı mikroorganizmaların oluşturdukları enzimlerin metabolik aktivitesi yoluyla katalize edilir. Olgunlaşma sürecinde karakteristik mikrofloranın gelişimi, kalıntı laktozun ve sitratın metabolize olması, proteoliz, lipoliz ve ikincil reaksiyonlar (yağ asidi katabolizması, aminoasit katabolizması ve laktatın metabolize olması) gerçekleşir. Olgunlaşmanın ilk evrelerinde kalıntı laktozdan laktat, asetat, butirat, propiyonat veya sitrat gibi bileşikler oluşurken, peynirdeki çeşitli kaynaklardan elde edilen lipazlarla kataliz edilen lipoliz reaksiyonlarında serbest yağ asitleri ve peynir aromasına etki eden alkoller, metil ketonlar ve laktonlar gibi uçucu bileşikler oluşmaktadır (McSweeney, 2004).

Peynirde olgunlaşma kalitesi olgunlaşma sürecinin belirli bir aşamasında en üst seviyeye ulaşmakta ve bu aşamada her peynir çeşidi kendine özgü tekstürel ve duyuşsal özellikleri kazanmaktadır. Bu sürecin uzunluğu peynir çeşidine göre farklılık göstermekte ve genel olarak daha yüksek nem içeriğine sahip olan peynirler daha kısa sürede olgunlaşırken yarı sert ve sert peynirler daha uzun olgunlaşma süresine ihtiyaç duymaktadırlar (Fox vd., 1996). Beyaz peynir yaklaşık üç ay, Kaşar peyniri ise altı ay sonra ideal olgunlaşma karakteristiklerine kavuşmaktadır (Tunçtürk, 2005). Ezine peyniri istenen karakteristik duyuşsal özelliklerini kazanması için teneke ambalajlarda en az sekiz ay olgunlaştırıldıktan sonra satışa sunulmaktadır (Karagul-Yuceer vd., 2009).

Klasik yöntemlerle peynirlerin olgunlaştırılması, yüksek miktarda işletme sermayesinin yanı sıra depolamanın inşaatı, makine giderleri, enerji ve işçilik

giderleri, faiz yükü ve firelerin toplam maliyetteki payının yükselmesi gibi nedenlerden dolayı oldukça pahalı, yavaş ve tamamıyla kontrol edilemeyen bir işlemdir (Fox, 1989; Tunçtürk, 2005). Söz konusu maliyetlerin azaltılması ve peynirleri hızlı olgunlaştırması amacıyla, olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi, enzim ilavesi, starter kültür kullanımında modifikasyonlar, peynir çeşidine özgü kültürlerle birlikte destek kültürlerin kullanılması, genetik modifiye kültürler veya yüksek basınç uygulamaları tercih edilmekte, özellikle ticari lipaz ve proteaz enzimleri ayrı ayrı veya birlikte başarı ile kullanılmaktadır (Fox, 1988; García vd., 1994; Law, 2001; McSweeney ve Sousa, 2000).

Bu çalışmada keçi sütünden ticari enzim ve destek kültür kullanımıyla peynir üretimi ve üretilen keçi peynirinin olgunlaşma süresinin hızlandırılarak bazı kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin belirlenmesi ve depolama süresince olgunlaşma karakteristiklerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Peynir üretimi

Peynirlerin üretimi Ekozey A.Ş. (Gökçeada, Çanakkale) üretim tesislerinde gerçekleştirilmiştir. Mutlu Keçiler Çiftliği'nden (İmbroz Ltd. Şti., Gökçeada, Çanakkale) sağlanan 320 L organik keçi sütü (çiğ keçi sütü özellikleri; 6.70 pH, %12.38 kurumadde, %3.85 yağ oranı ve %3.66 protein oranı) $65\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika süre ile ısı işleme tabi tutulduktan sonra, plakalı ısı değiştirici vasıtasıyla $34.5\pm 1^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuştur. Keçi sütünden kontrol grubu (K), Italase® C grubu (İ), Capalase® K grubu (C) ve destek kültür grubu (M) olmak üzere dört farklı peynir üretilmiş ve üretim iki tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. Peynirlerin olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla kullanılan enzimler Cargill (Minneapolis, ABD) firmasından temin edilmiş olan hayvansal kaynaklı Italase® C (buzağı şirdeni) ve Capalase® K (oğlak şirdeni), destek kültür olarak ise Danisco (Kopenhag, Danimarka) firmasından temin edilen MVS LYO 10 D isimli *Staphylococcus carnosus* bakterisini içeren ticari destek kültürdür.

Kontrol grubuna enzim veya kültür ilavesi yapılmaksızın, Italase® C grubuna 55 g/1000 L

Italase® C enzimi, Capalase® K grubuna 55 g/1000 L Capalase® K enzimi ve destek kültür grubuna *Staphylococcus carnosus* ilave edilerek üretim gerçekleştirilmiştir. Otuz dakikalık ön olgunlaştırma işleminden sonra keçi sütleri Rumeli Maya (İstanbul) firmasından sağlanan 1/16000 kuvvetindeki hayvansal kaynaklı enzim (kimoziin/pepsiin oranı 90:10) kullanılarak mayalanmıştır. Üretilen ham peynirler %12 tuz konsantrasyonu, 5.60 pH ve 27.5°C sıcaklığındaki salamurada 48 saat bekletildikten sonra vakum altında Cryovac BK3550 (180mmx230mm) vakum shrink peynir torbalarında ambalajlanarak 5±1°C'deki soğuk hava deposunda 90 gün süreyle olgunlaştırılmıştır.

Peynirin bileşimi

Peynirlerde asitlik ve kurumadde (%) (Metin, 2006), yağ (%) (NEN, 1969), tuz (%), toplam protein ve kül (%) (AOAC, 2000) belirlenmiştir.

Azot fraksiyonları ve hidrolitik ransidite

Suda Çözünür Azot Oranı (SÇA), 20 g peynir örneği 40°C'de 40 mL su içinde Ultra Turrax karıştırıcı (Janke Kunkel KG, IKA, WERK) kullanılarak 2 dakika homojenize edilmiş ve aynı sıcaklıkta 1 saat süreyle su banyosunda bekletildikten sonra +4°C'de 3000 g'de 30 dakika santrifüj (Eppendorf Marka, 5810 R Model santrifüj, Hamburg, Almanya) edilmiştir. Santrifüj sonrası, üst kısımdaki yağ tabakası bir spatül ile uzaklaştırılarak, sıvı kısım Whatman No:42 filtre kâğıdından süzümüştür (Kuchroo ve Fox, 1982). Filtrattan 10 mL alınarak, Mikro Kjeldahl metodu ile suda çözünen azot miktarı belirlenmiştir (IDF, 1993).

%12 trikloroasetik asitte (TCA) (IDF, 1993; Polychroniadou vd., 1999) ve %5 fosfotungustik asitte (PTA) çözünen miktarları (IDF, 1993; Jarrett vd., 1982) önerilen yöntemler kullanılarak saptanmıştır.

Saptanan suda çözünen azot miktarı, %12 TCA'da çözünen azot miktarı ve %5 PTA'da çözünen azot miktarı toplam azot miktarı ile oranlanarak olgunlaşma dereceleri hesaplanmıştır (Alais, 1984). Peynirlerde hidrolitik ransidite titrimetrik yöntemle belirlenmiştir (Renner, 1986).

Uçucu Bileşen Analizleri

Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktar belirlenmesi için katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS 6890N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır. Polar olmayan özellikteki HP-5MS kolonu (30 m x 0.250 mm id x 0.25 µm film kalınlığı) kullanılmıştır (J&W Scientific, Folsom, CA, ABD). Analizler için 5 g peynir, 40 mL SPME vialine (Supelco, Bellafonte, ABD) alınmış ve içerisine 1 g sodyum klorür ve 10 µL iç standart (1 mL'sinde 0.1 µL 2-metil valerik asit ve 0.6 µL 2-metil-3-heptanon içermektedir) ilave edilerek 40°C'lik su banyosunda (GFL, Model 1103, Burgwedel, Almanya) 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra SPME fiber (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Supelco, Bellafonte, ABD) vial batırılarak 40°C'lik su banyosunda 20 dakika daha bekletilmiş ve GC-MS'e enjekte edilmiştir. Taşıyıcı gaz akışı 1.2 mL/dk, fırın programı başlangıç sıcaklığı 40°C'de 5 dakika, Ramp (10°C/dk, 230°C), son sıcaklık ve süre 230°C'de 20 dakikadır. Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Uçucu bileşenlerin miktarlarının belirlenmesi ise oransal bolluklarına göre yapılmış olup sonuçlar µg/100 g olarak verilmiştir (Avsar vd., 2004).

Duyusal Analiz

Peynirlerin duyusal analizleri, eğitilmiş ve yaşları 25-45 arasında değişen 7 panelist (4 bayan, 3 erkek) tarafından *Spectrum*TM metodu kullanılarak yapılmıştır (Meilgaard vd., 1999). Panelistler peynir ve süt ürünlerinde lezzet profil analizi konusunda yaklaşık 100 saatlik eğitim almışlardır. Eğitim ve değerlendirmeler için 15 puanlı skala kullanılmıştır. Peynir örnekleri oda sıcaklığında, 15-20 g'lık porsiyonlar halinde sunulmuş olup örnekler arasında panelistlerin ağızlarını nötrlemek amacıyla ekmek ve su kullanılmıştır. Daha önce belirledikleri tanımlar doğrultusunda her oturumda 4 peynir örneği paralel olacak şekilde panelistlere sunulmuş ve örnekleri değerlendirmeleri istenmiştir.

İstatistiksel analizler

Peynir çeşidi ve depolama süresinin peynirlerin kimyasal ve duyu özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla iki yönlü Varyans Analizi (*Two way ANOVA*) uygulanmıştır. Örnekler arasındaki farklılıklar ise Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya konmuştur. Olgunlaşmanın 1. ve 90. günlerinde peynirlerin uçucu bileşen analizi sonuçlarına göre geometrik dağılımı amacıyla Çok Boyutlu Ölçekleme tekniği (MDS) kullanılmıştır. Minitab (version 16) (Minitab, 2010), SPSS (Version 20) ve MSTAT-C istatistik paket programları kullanılarak istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Peynirlerin genel bileşimi depolamanın ilk gününde belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 1'de sunulmuştur. Peynirlere ait kurumadde değerleri %43.25-44.80; yağ değerleri %19.38-20.00; tuz değerleri %2.99-3.75; protein değerleri %16.14-

17.17 ve kül değerleri %5.87-6.70 arasında değişmektedir. Peynirlerin genel bileşen değerlerine ait ortalamalara uygulanan varyans analizi sonucuna göre peynir çeşitlerinin kurumadde, yağ, tuz, protein ve kül oranlarına ait ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Hayaloglu vd. (2013) Saanen ırkı keçi sütü kullanılarak klasik yöntemle ürettikleri keçi peynirinde kurumadde oranını %37.56, yağ oranını %16.18, tuz oranını %4.43, protein oranını %14.40, kül oranını %3.80 değerlerinde bulmuşlardır. Tuz oranı dışında belirlenen diğer bileşen oranları çalışmada belirlenen değerlerden düşük bulunmuştur. Aynı çalışmadaki yağ, tuz, protein ve kül oranları kurumadde oranı bakımından çalışmamızla benzer bulunmuş, farklı bulunan %37.56 kurumadde oranının ise mevsim ve laktasyon dönemi farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Guo vd., 2001; Soryal vd., 2004).

Çizelge 1. Peynirlerin kimyasal özellikleri

Table 1. Chemical properties of cheeses

Peynir Cheese	Ortalama±S.E Mean±S.E				
	Kurumadde% Dry matter %	Yağ % Fat %	Tuz % Salt %	Protein % Protein %	Kül % Ash %
K	43.55±0.21	19.50±0.35	2.99±0.25	16.78±0.02	5.87±0.02
C	44.80±0.71	19.75±0.35	3.75±0.33	17.07±0.49	6.70±0.31
İ	43.25±0.49	19.38±0.18	3.72±0.46	16.14±0.30	6.15±0.76
M	44.55±0.35	20.00±0.01	3.32±0.59	17.17±0.58	6.10±0.99
<i>P</i>	0.074	0.232	0.370	0.288	0.642

S.E: Standart hata K: Kontrol peyniri, C: Capalase® K ilaveli peynir, İ: Italase® C ilaveli peynir, M: Destek kültür ilaveli peynir

S.E: Standard error K: Control cheese, C: Capalase® K added cheese, İ: Italase® C added cheese, M: Adjunct culture added cheese

Peynirlere depolamanın 1, 15, 30, 60 ve 90. günlerinde pH, tirasyon asitliği, toplam azot oranı, suda çözünen azot oranı, %12 TCA'da çözünen azot oranı, %5 PTA'da çözünen azot oranı belirlenmiş ve ortalamalar Çizelge 2'de sunulmuştur. pH ve tirasyon asitliği değerleri üzerine olgunlaştırma süresinin etkisi önemli ($P \leq 0.05$) bulunurken, olgunlaştırma yönteminin etkisi önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). Olgunlaştırma süresinin pH değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, gün ortalamaları bakımından en yüksek ortalama 1. gün örneklerinde, en

düşük ortalama ise 90. gün örneklerinde saptanmıştır. Keçi sütünden üretilen peynirlerin olgunlaşma süresince pH değerlerinin incelendiği çalışmalarda çoğunlukla olgunlaşma boyunca pH değerlerinin azaldığı belirlenmiş, keçi peynirinin pH değerine etki eden en önemli faktörün peynir üretiminde keçi sütüne starter kültür ilave edilme durumlarının olduğu bildirilmiştir (Barac vd., 2016; Fresno ve Álvarez, 2012; Sert vd., 2014). Garcia vd. (2014) üç farklı starter kültür ve bitkisel pıhtılaştırıcı (*Cynara cardunculus*) kullanılarak 40 gün süreyle olgunlaştırdıkları keçi peynirlerinin pH

değerlerini olgunlaştırma süresi ve starter kültürün etkilediğini bildirmişlerdir. Karagul-Yuceer vd. (2009) klasik yöntemlerle starter kültür ilave edilmeden üretilen Ezine peynirinin 12 aylık olgunlaştırılma süresince pH değerlerini 5.13-5.72 aralığında belirlemişlerdir. Yapılan analizlerde C ve İ peynirlerinin K ve M peynirlerden daha yüksek titrasyon asitliği değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. Hayaloglu vd. (2013) Saanen ırkı keçilerin sütlerinden üretilen peynirlerde 90 günlük olgunlaştırma boyunca asitlik değerlerini 0.15, 0.20, 0.44 ve 0.71 olarak saptanmışlardır.

Peynirlerde toplam azot oranı, suda çözünen, %12 TCA'da çözünen ve %5 PTA'da çözünen azot oranları üzerine olgunlaştırma süresinin etkisi önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$) (Çizelge 2). Depolamanın 1. ve 15. günlerinde düşük seviyelerde belirlenen toplam azot oranları depolama sonunda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Guizani vd. (2006) keçi sütünden ürettikleri yarı sert keçi peynirinde 30 günlük olgunlaştırma süresince toplam azot oranlarının % 3.15-3.18 aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Depolama süresince suda çözünen azot oranı artarak %17.03 değerine ulaşmıştır. Azot fraksiyonlarından TCA ve PTA değerlerinde de depolama boyunca artış olduğu saptanmıştır. Fernandez-Garcia vd. (1994) ve Izco vd. (2000) tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre lipaz ilaveli peynirlerdeki düşük proteoliz oranı peynirdeki artan serbest yağ asitlerinin laktik asit bakterilerinin proteolitik aktiviteleri üzerine inhibe edici özelliğine bağlanmıştır. Keçi sütünden üretilen Beyaz (White-Brined) peynirlerde Kondyli vd. (2016) olgunlaşmanın 2. ve 60. günlerinde %12 TCA'da çözünen azot oranlarını 4.45-7.91 aralığında çalışmamızla benzer, Barac vd. (2016) 50 günlük olgunlaştırma süresince bu değerleri 1.95- 8.10 olarak çalışmamızdan daha geniş aralıkta bulmuşlardır. %5 PTA'da çözünen azot oranı değerlerine olgunlaştırma süresinin etkisi önemli ($P \leq 0.05$) bulunmuştur. Enzim ilavesinin peynirlerdeki %5 PTA'da çözünen azot oranını destek kültürden daha çok etkilediği belirlenmiştir. González ve Zárata (2012) pastörize keçi sütünde ticari starter kültür kullanarak ürettikleri Tenerife keçi peynirinde %5 PTA'da çözünen azot değerini 90

günlük olgunlaştırma periyodunun başında 2.05 sonunda ise 4.00 olarak, çalışmada elde edilen sonuçlara benzer bulmuşlardır. Depolama süresinin etkisi gözardı edildiğinde enzim ve destek kültür kullanımının peynirlerin pH, tırasyon asitliği, toplam azot oranı, suda çözünen azot oranı ve %5 PTA'da çözünen azot oranı değerlerini önemli derecede etkilediği belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Peynirler arasında en düşük pH (5.50) ve en yüksek titrasyon asitliği (0.19) ortalaması İ peynirinde, K ve M peynirinden yüksek ve C peynirine benzer bulunmuştur. M peyniri toplam azot oranı (2.73) ve suda çözünen azot oranı (13.05) bakımından en yüksek değerleri almış ve kontrolden farklı bulunmuştur. % 5 PTA'da çözünen azot oranları bakımından C peyniri 3.89 ve İ peyniri 3.80 değerleri ile benzer bulunmuştur. Bu özellik için K ve M peynirleri sırasıyla 3.42 ve 3.27 değerlerini alarak kendi aralarında benzer ancak enzim kullanılarak üretilen peynirlerden düşük değerde bulunmuştur.

Süt yağındaki serbest yağ asidi miktarını belirleyen ve lipoliz seviyesinin bir göstergesi olan hidrolitik ransidite değerlerinin (Çizelge 3) olgunlaştırma süresince peynir çeşidine göre değiştiği bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Buna göre, İ peyniri depolamanın 90. gününde 4.07 (meq KOH/100 g yağ) ile en yüksek hidrolitik ransidite değerini almıştır. K ve M peynirlerinde 90 gün sonunda geldiği lipoliz seviyesine İ peyniri olgunlaştırmanın 30. gününden önce ulaşmıştır. Tüm peynirlerin hidrolitik ransidite değerleri olgunlaşma boyunca yükselmiştir. Capalase® K ve Italase® C ilave edilen peynirler olgunlaştırmanın 90. gününde kontrol ve destek kültür kullanılarak üretilen peynirlerden iki kat yüksek değerlere sahiptir. Destek kültür kullanılarak üretilen peynirler hidrolitik ransidite değerleri bakımından olgunlaştırma süresince kontrol peynirleri ile benzer değerler almıştır. Nouira (2011) yaptığı bir çalışmada tam yağlı keçi peynirinin hidrolitik ransidite değerlerinin 0.70 ile 1.34 arasında değiştiğini ve olgunlaştırma süresi boyunca arttığını bildirmiştir. Deeth ve Fithz-Gerald (1976) peynir örneklerinde hidrolitik ransidite değerlerinin 0.7-1.1 arasında olmasının yağda düşük hidroliz, 1.2-1.4 arasında olmasının ise

yağda yüksek bir hidrolizin olduğunun göstergesi olduğunu bildirilmiştir. Atasoy ve Türkoğlu (2009) çiğ keçi sütünden elde ettiği peynirde 90 günlük olgunlaştırma boyunca hidrolitik ransidite değerini 2.08-5.62 aralığında, pastörizasyon uygulayıp starter kültür ilave ettiği peynirlerde ise 0.91-1.49 aralığında bulmuştur. Literatür bilgileri ve araştırma bulgularımıza göre ısı işlem uygulamasının peynirlerde lipoliz olayını yavaşlattığı, bunun sütün doğal mikroflorasında

bulunan lipolitik aktiviteye sahip bakterilerin inhibisyonundan kaynaklandığı, lipolitik enzim kullanımıyla lipoliz seviyesinin yükseldiği söylenebilir. Yapılan diğer bir çalışmada, 63°C'de 120 dk ısı işlem uygulanan Plain Soft keçi peynirinde hidrolitik ransidite değerlerini, 63°C'de 30 dk ısı işlem uyguladığı Monterey Jack keçi peynirlerinin hidrolitik ransidite değerlerinden düşük bulunmuştur (Park vd., 2006).

Çizelge 2. Olgunlaştırma süresinin peynirlerde etki ettiği bazı kimyasal özellikler
Table 2. Some chemical properties of cheeses affected by ripening time

Gün Day	Ortalama±S.E Mean±S.E					
	pH	%Laktik Asit %Lactic Acid	TA	SÇA	TCA	PTA
1	6.04±0.12 ^A	0.13±0.02 ^B	2.63±0.09 ^B	7.41±0.15 ^C	4.68±0.42 ^D	3.24±0.41 ^C
15	5.75±0.18 ^B	0.13±0.02 ^B	2.58±0.05 ^B	10.01±0.71 ^B	5.47±0.30 ^{CD}	3.50±0.41 ^{BC}
30	5.77±0.16 ^B	0.14±0.02 ^B	2.74±0.04 ^A	10.13±0.75 ^B	6.41±1.07 ^{BC}	3.64±.042 ^{AB}
60	5.31±0.15 ^C	0.22±0.04 ^A	2.75±0.06 ^A	15.45±1.82 ^A	7.26±0.91 ^B	3.62±0.32 ^{ABC}
90	5.14±0.11 ^C	0.25±0.03 ^A	2.75±0.04 ^A	17.03±1.71 ^A	8.73±0.79 ^A	3.98±0.31 ^A

^{A-D} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$). S.E: Standart hata
TA: Toplam azot oranı, SÇA: Suda çözünen azot oranı, TCA: %12 Trikloroasetik asitte çözünen azot oranı, PTA: %5 Fosfotungstik asitte çözünen azot oranı

^{A-D} Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$), S.E: Standard error. TA: Total nitrogen, SÇA: Water soluble nitrogen ratio, TCA: 12% Trichloroacetic acid-soluble nitrogen ratio, PTA: 5% Phosphotungstic acid-soluble nitrogen ratio

Çizelge 3. Depolama süresince peynirlerdeki hidrolitik ransidite değerleri
Table 3. Hydrolytic rancidity values of cheeses during storage

Gün Day	Ortalama±S.E (meq KOH/100 g yağ) Mean±S.E (meq KOH/100 g fat)			
	K	C	İ	M
1	0.77±0.05 ^{Ba}	0.86±0.07 ^{Da}	1.36±0.05 ^{Ca}	0.82±0.01 ^{Ba}
15	0.71±0.01 ^{Bb}	1.27±0.02 ^{CDab}	1.63±0.04 ^{Ca}	0.77±0.00 ^{Bb}
30	0.86±0.01 ^{Bc}	1.57±0.09 ^{BCab}	1.92±0.13 ^{Ca}	1.06±0.27 ^{ABbc}
60	1.23±0.01 ^{ABc}	2.10±0.41 ^{Bb}	3.36±0.06 ^{Ba}	1.33±0.12 ^{ABc}
90	1.78±0.01 ^{Ab}	3.92±0.76 ^{Aa}	4.07±0.28 ^{Aa}	1.69±0.03 ^{Ab}

^{A-D} Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$).^{a-c} Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$). S.E: Standart hata K: Kontrol peyniri, C: Capalase® K ilaveli peynir, İ: Italase® C ilaveli peynir, M: Destek kültür ilaveli peynir

^{A-D} Means in the same column followed by different superscript letters represent significant differences ($P \leq 0.05$), ^{a-c} Means in the same row followed by different lowercase letters represent the significant differences ($P \leq 0.05$), S.E: Standard error K: Control cheese, C: Capalase® K added cheese, İ: Italase® C added cheese, M: Adjunct culture added cheese

Keçi peynirlerinde uçucu bileşenler SPME-GC-MS tekniği kullanılarak olgunlaştırmanın 1. ve 90. günlerinde belirlenmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 4'te sunulmuştur. Keçi peynirlerinde keton (4), asit (9), ester (6), alkol (3), aldehit (1), lakton (2), terpen (2) ve diğer (1) gruplarından oluşan toplam 28 uçucu bileşen belirlenmiştir. Literatürde beyaz keçi peynirinde 45 (Kondyli vd., 2016), Malta keçi peynirinde 44 (Chiofalo vd., 2004), Arjantin Keçi peynirinde 38 (Oliszewski vd., 2013), Majorera keçisinin sütünden yapılan peynirlerde 28 (Castillo vd., 2007), Coalho keçi peynirinde 25 (Bezerra vd., 2017) uçucu bileşen belirlendiği bildirilmiştir. Tüm peynirlerde 13 adet ortak uçucu bileşen belirlenmiş olup bunlar; izoamilalkol, alfa pinen, hekzanoik asit, 2-nonanon, nonanal, oktanoik asit, etil oktanoat, delta oktalakton, dekanolik asit, etil dekanolat, karyofilen, delta dekalakton ve difenil sülfittir (Çizelge 4). Etil butirat, etil hekzanoat, dodekanoik asit ve etil dodekanoat tüm peynirlerin sadece 90. gün örneklerinde, 3-metil bütanoik asit, pentanoik asit, heptanoik asit ve nonanoik asit ise sadece enzim kullanılarak üretilen C ve İ peynirlerinin 90. gün örneklerinde saptanmıştır. Capalase® K ve Italase® C enzimleri keçi peynirlerinin olgunlaşması süresince aktivite göstererek C ve İ peynirlerinde kontrol ve destek kültür ilave edilerek üretilen peynirlere kıyasla uçucu bileşenler bakımından farklılıklar meydana getirmiştir.

Peynirin aromasına katkıda bulunan uçucu bileşenler ketonlar, aldehitler, asitler, esterler, alkoller ve laktonlar olarak sınıflandırılmaktadır (McSweeney ve Sousa, 2000). Ketonlar süt ve süt ürünlerinde mikroorganizmaların yağ asidi katabolizmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan bu çalışmada keçi peynirlerinde belirlenen ketonlar 2-bütanon, asetoin, 2-heptanon ve 2-nonanon'dur. Bu ketonlar farklı keçi peyniri çeşitlerinde de belirlenmiştir (Castillo vd., 2007; Kondyli vd., 2016; Oliszewski vd., 2013). 2-bütanon keçi peynirinde miktarı en yüksek bulunan keton grubu uçucu bileşen olup, enzim ve destek kültür kullanılarak üretilen peynirlerin 90. gün örneklerinde yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. 2-bütanon aynı zamanda Xinotyri keçi peynirinde

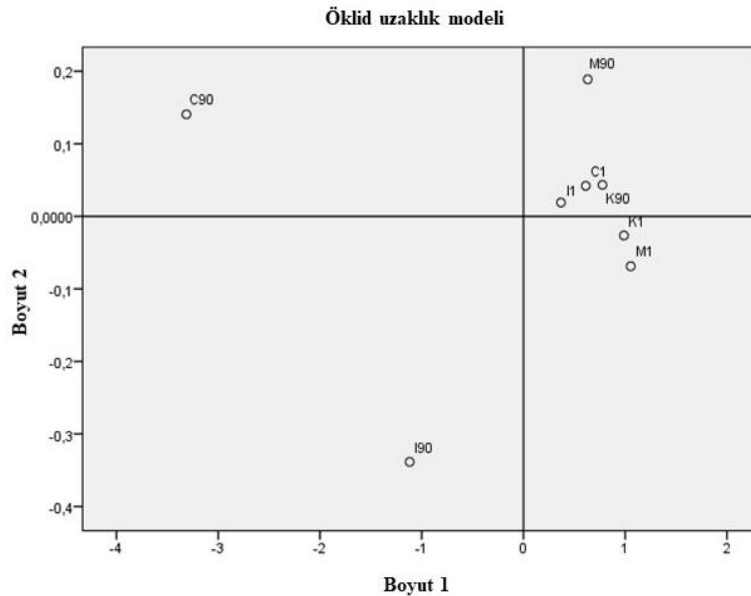
de en yüksek yoğunlukta bulunan keton grubu uçucu bileşendir (Bontinis vd., 2012). 2-heptanon ve 2-nonanon miktarı olgunlaşma boyunca K, C ve İ peynirlerinde azalmış, M peynirinde ise artmıştır. Bulgulara göre destek kültür kullanımı keçi peynirinde bu uçucu bileşenlerin miktarını olgunlaştırma boyunca artırmıştır. Attaie (2009) keçi sütünden üretilen Jack peynirinde 2-heptanon ve 2-nonanon'u karakteristik aroma bileşenleri arasında belirlemiştir.

Peynirlerin karakteristik uçucu bileşenlerinden olan asitler özellikle olgunlaşmış peynirlerde yüksek yoğunluklarda saptanmıştır. Bu asitler 3-metil bütanoik asit, bütanoik asit, pentanoik asit, hekzanoik asit, heptanoik asit, oktanoik asit, nonanoik asit, dekanolik asit ve dodekanoik asittir. Serbest yağ asitlerinden olan bütanoik asit peynirimsi ve ransit bir aromaya ve peynir aromasının oluşumunda önemli role sahiptir. Lipolitik enzim kullanımının keçi peynirlerinde bütanoik asit miktarını etkin bir şekilde artırdığı belirlenmiştir. Bütanoik asit diğer peynir çeşitlerinde de major uçucu bileşenlerden biri olarak tanımlanmış ve olgunlaşma ile bütanoik asit konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Karagül-Yüceer vd., 2009; Massouras vd., 2006). Pentanoik asit, heptanoik asit ve nonanoik asit peynir örnekleri içinde sadece enzim kullanılarak üretilen C ve İ peynirlerinin 90. gün örneklerinde saptanmıştır (Çizelge 4). Olgunlaşmış peynirin karakteristik uçucu bileşenleri olan bu asitlerin oluşumunda lipolitik enzimlerin pozitif etkili olduğu, destek kültürün ise etki etmediği bulunmuştur. Delgado vd. (2010) pentanoik ve heptanoik asitin Torta del Casar peynirinin tipik aroma bileşenlerinden olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada keçi peynirlerinde ester grubu uçucu bileşenlerden etil butirat, metil hekzanoat, etil hekzanoat, etil oktanoat, etil dekanolat ve etil dodekanoat saptanmıştır (Çizelge 4). Esterler, yağ asitleri ile alkollerin birleşmesi sonucu oluşan ve gıda aroması için oldukça önemli bileşenlerdir. Mikroorganizmaların faaliyeti sonucunda meydana gelen bu bileşikler "meyvemsi veya çiçeğimsi" aromaya sahiptirler (Gatfield, 1988). Keçi peynirinde baskın olan ester bileşiklerinin etil esterler olduğu belirlenmiştir. Etil butirat, etil dodekanoat ve etil hekzanoat keçi

peynirlerinin olgunlaştırma periyodunun başlangıcında hiçbir peynirde saptanamamış, olgunlaşmanın ilerlemesiyle bütün peynirlerde konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. Olgunlaştırmanın etkisinin yanında etil butirat ve etil dodekanoat miktarlarının enzim ve destek kültür kullanımından da etkilendiği, enzime oranla destek kültürün artışta daha etkili olduğu ortaya konmuştur. Castillo vd. (2007) Majorero keçi peynirinde etil butirat ve etil hekzanoatı olgunlaşmanın 7. gününde tespit etmişler ve özellikle etil butirat konsantrasyonunun depolama boyunca arttığını bildirmişlerdir. Laktonlar önemli aroma maddeleridir ve ısıtma işleminin etkisiyle gama veya delta hidroksi asit veya trigliseritlerden oluşmaktadırlar. Genellikle pişmiş gıdalarda aromayı oluşturan başlıca bileşenlerdir. Bu bileşenler stabildirler ve “şeftalimsi, tatlımsı ve süte benzer” aroma özelliğine sahiptirler (Avsar vd., 2004). Yapılan bu çalışmada delta oktalakton ve delta dekalakton olgunlaştırmanın 1 ve 90. günlerinde tüm peynir örneklerinde düşük miktarlarda saptanmıştır. Her iki lakton Artisanal Palmero keçi peyniri (Hynes vd., 2002) ve Fresh Chevre (Carunchia Whetstine vd., 2003) keçi peynirlerinde belirlenmiştir.

Keçi peynirlerinde belirlenen diğer uçucu bileşenler; alfa pinen, karyofilen ve difenil sülfittir. Difenil sülfid olgunlaştırmanın 1. ve 90. günlerinde tüm peynir örneklerinde düşük miktarlarda 0.29-1.76 µg/100 g saptanmıştır. Alfa pinen ve karyofilen birer terpen bileşiği olup keçi peynirlerinde belirlenmiştir (Bezerra vd., 2017; Bontinis vd., 2012; Kondyli vd., 2016). Terpenler bitkisel kökenli aromatik bileşenlerdir (Mariaca vd., 1997). Keçi peynirlerinde belirlenen bu maddelerin keçi beslenmesinde kullanılan yemlerden kaynaklanmış ve süte geçmiş olabileceği veya peynirin olgunlaşması süresince gerçekleşen biyokimyasal olaylar sonucu oluşabileceği düşünülmektedir (Inglingstad vd., 2017; Rincon vd., 2017).

Keçi peynirlerinin uçucu bileşen analizleri sonuçlarına göre birbirleriyle olan ilişkinin geometrik dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir. Bazı örnekler birbirleriyle yakın ilişki içerisindeyken, bazı örnekler diğerlerinden farklı özellikler göstermektedir. Genel olarak olgunlaştırma başlangıcında taze peynirler birbirine benzer bulunmuşlardır.



Şekil 1. Olgunlaşmanın 1. ve 90. günlerinde peynirlerin uçucu bileşenlerine göre geometrik dağılımı

Figure 1. Geometrical distribution of the cheeses in terms of volatile compounds at days 1. and 90. of ripening.

RSQ = 0.99 S-stress = 0.005, K1, C1, İ1, M1 peynirlerin 1. gün örnekleri; K90, C90, İ90, M90 peynirlerin 90. gün örnekleri

RSQ = 0.99 S-stress = 0.005, K1, C1, İ1, M1 cheese samples at d 1., K90, C90, İ90, M90 cheese samples at day 90.

Çizelge 4. Peynirlerde depolamanın 1. ve 90. günlerinde belirlenen uçucu bileşenler
 Table 4. Volatile compounds of the cheeses at 1 d and 90 d of storage

Uçucu Bileşen <i>Volatile Compound</i>	Ortalama±S.E (µg/100 g) Mean±S.E (µg/100 g)							
	K		C		İ		M	
	1. gün <i>Day 1</i>	90. gün <i>Day 90</i>	1. gün <i>Day 1</i>	90. gün <i>Day 90</i>	1. gün <i>Day 1</i>	90. gün <i>Day 90</i>	1. gün <i>Day 1</i>	90. gün <i>Day 90</i>
2-Bütanon <i>2-Butanone</i>	-	-	-	1161±1384	-	866±375	-	2875±836
Asetoin <i>Acetoin</i>	60.03±11	67.10±22	36.82±4.29	-	296.20±36	-	82.31±5.39	386±142
İzoamilalkol <i>Isoamylalcohol</i>	133.7±32	53.50±37	107.40±36	119.90±56	372.40±48	83.60±32	158.50±61	112.40±46
2,3-Bütandiöl <i>2,3-Butanediol</i>	62.03±11	10.49±1.08	14.78±7.98	-	-	-	10.15±1.99	37.20±17
Etil bütirat <i>Butanoic acid, ethyl ester</i>	-	20.04±0.26	-	72.20±25.30	-	33.45±11.	-	106.70±17
Bütanoik asit <i>Butanoic acid</i>	-	453±179	986±380	13639±2779	1865±465	8069±4378	-	331±440
3-metil bütanoik asit <i>Butanoic acid, 3-methyl</i>	-	-	-	9.37±5.29	-	6.69±2.22	-	-
2-Heptanon <i>2-Heptanone</i>	5.58±0.61	4.24±0.81	8.39±3.75	-	27.22±7.02	10.52±4.13	3.15±1.90	12.34±1.93
Pentanoik asit <i>Pentanoic acid</i>	-	-	-	325±311	-	47.00±28	-	-
Metil hekzanoat <i>Hexanoic acid, methyl ester</i>	0.98±0.25	-	5.26±0.01	-	6.58±6.56	-	-	-
Alfa pinen <i>Alpha pinene</i>	2.56±0.29	2.76±0.06	3.41±1.73	3.89±1.65	9.12±0.90	2.96±1.92	2.43±0.17	15.42±3.76
Etil hekzanoat <i>Hexanoic acid ethyl ester</i>	-	2.86±0.28	-	9.36±0.30	-	5.59±5.33	-	15.03±11
2-Etilheksanol <i>2-Ethylhexanol</i>	9.13±0.37	8.87±3.90	9.58±4.05	-	-	-	9.73±0.61	36.51±10
Hekzanoik asit <i>Hexanoic acid</i>	290.30±78	1196±522	1707±524	14944±4609	2302±182	5912±3440	150.20±74	1722±1092
Heptanoik asit <i>Heptanoic acid</i>	-	-	-	198±280	-	177±159	-	-
2-Nonanon <i>2-Nonanone</i>	2.71±0.22	0.10±0.07	3.43±1.59	1.50±2.12	10.91±1.72	3.09±2.77	2.12±0.77	11.09±5.85
Nonanal	2.09±0.07	1.74±0.26	10.39±9.84	3.93±1.11	7.27±0.04	1.91±1.46	1.54±0.72	6.97±4.13
Oktanoik asit <i>Octanoic acid</i>	1014±261	1466±712	1769±611	7977±2744	2377±362	4676±3075	391.70±117	2746±1234
Etil oktanoat <i>Octanoic acid, ethyl ester</i>	2.70±0.01	0.96±0.12	4.37±1.93	2.52±0.34	9.74±7.37	15.70±14.3	1.97±1.16	36.50±27
Nonanoik asit <i>Nonanoic acid</i>	-	-	-	174.70±53	-	91.10±105	-	-
Delta oktalakton <i>Delta octalactone</i>	0.03±0.01	0.02±0.01	0.030±0.01	0.02±0.01	0.10±0.02	0.01±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
Dekanoik asit <i>Decanoic acid</i>	549±150	493±250	673±262	2279±924	988±262	1624±1232	189.70±64	894±336
Etil dekanooat <i>Decanoic acid, ethyl ester</i>	1.08±0.27	2.80±0.03	1.88±0.71	8.56±1.15	5.41±0.51	6.90±6.13	0.99±0.84	16.90±12
Karyofillen <i>Caryophyllene</i>	1.54±0.01	1.47±0.13	1.94±0.77	2.66±1	4.64±0.31	1.57±1.75	0.95±0.63	6.24±3.67
Delta dekalakton <i>Delta decalactone</i>	0.05±0.01	0.02±0.01	0.06±0.02	0.04±0.02	0.13±0.02	0.03±0.01	0.040±0.01	0.1±0.06
Dodekanoik asit <i>Dodecanoic acid</i>	-	46.50±16	-	104±45	-	73.70±74	-	90.70±20
Etil dodekanoat <i>Dodecanoic acid ethyl ester</i>	-	0.18±0.03	-	0.54±0.12	-	0.39±0.45	-	1.13±0.94
Difenil sülfid <i>Diphenyl sulfide</i>	0.29±0.18	0.34±0.08	0.61±0.47	0.68±0.26	1.76±1.25	0.42±0.39	0.43±0.24	1.70±1.07

"-" Tespit edilemedi, K: Kontrol peynir, C: Capalase® K ilaveli peynir, İ: Italase® C ilaveli peynir, M: Destek kültür ilaveli peynir. S.E: Standart hata "-" Not detected, K: Control cheese, C: Capalase® K added cheese, İ: Italase® C added cheese, M: Adjunct culture added cheese. S.E: Standard error

K1, K90, C1, İ1 ve M1 peynirleri uçucu bileşen özellikleri bakımından birbirlerine benzerken C90, İ90 ve M90 peynirlerinin uçucu bileşenler bakımından farklı olduğu görülmektedir. Özellikle C90 ve İ90 örneklerinin uçucu bileşen özellikleri bakımından diğer peynirlerden ayrılması ise Capalase® K ve Italase® C enzimlerinin keçi peynirlerinin olgunlaşması süresince aktivite

göstererek kontrol ve destek kültür ilave edilerek üretilen peynirlere kıyasla hissedilir farklılıklar meydana getirdiğini ortaya koymaktadır. 3-metil bütanoik asit, pentanoik asit, heptanoik asit ve nonanoik asit gibi uçucu bileşenlerin sadece C ve İ peynirlerinin 90. gün örneklerinde saptanması ise enzim kullanımının olgunlaşma süresince etkisini kanıtlamaktadır.

Çizelge 5. Olgunlaştırma süresince peynirlerde belirlenen bazı duyuşal özellikler
Table 5. Some sensory properties of cheeses during storage

Gün Day	Ortalama±S.E Mean±S.E					
	Pişmiş Cooked	PAS Whey	Toz/çimento Dust/cement	Tatlı Sweet	Tuzlu Salty	Umami Umami
1	2.54±0.15 ^A	2.35±0.14 ^A	1.03±0.47 ^B	1.47±0.14 ^{ABC}	11.13±0.51 ^A	0.59±0.15 ^{BC}
15	2.52±0.30 ^A	2.48±0.26 ^A	1.33±0.49 ^{AB}	1.27±0.15 ^C	7.93±0.26 ^B	0.77±0.07 ^A
30	2.32±0.17 ^{AB}	1.99±0.19 ^B	1.99±0.78 ^A	1.58±0.18 ^{AB}	5.99±0.52 ^C	0.65±0.11 ^{AB}
60	2.06±0.17 ^B	1.90±0.17 ^B	1.93±0.58 ^A	1.73±0.13 ^A	7.30±0.66 ^B	0.63±0.13 ^{ABC}
90	2.24±0.14 ^{AB}	1.46±0.05 ^C	1.91±0.99 ^A	1.30±0.36 ^{BC}	6.06±0.55 ^C	0.47±0.11 ^C

^{A-C}Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$). S.E: Standart hata. PAS: Peyniraltı suyu

^{A-C}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$), S.E: Standard error. PAS: whey

Peynirlerde gerçekleştirilen tanımlayıcı duyuşal analizde 7 panelist tarafından pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı, sülfür, ransit, toz/çimento ve keçi aroma terimleri ile tatlı, tuzlu, ekşi ve umami tat terimleri belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince değişimi önemli bulunan aroma ve tat terimleri Çizelge 5'te gösterilmiştir ($P \leq 0.05$). Peynirlerde belirlenen terimlerinden pişmiş aroma 1.89-2.87, peyniraltı suyu aroması 1.39-2.87, kremamsı aroma 1.71-4.07, sülfür aroması 0.68-1.68, ransit aroma 0.07-4.04, toz/çimento aroması 0.71-2.80 ve keçi aroması 1.36 ile 2.86 puan aralığında belirlenmiştir. Peynirlerdeki pişmiş aroma olgunlaşma boyunca azalma göstermiştir. Pişmiş aroma üzerine olgunlaştırma etkisi önemli ($P \leq 0.05$) bulunmuştur. Bu aroma peynir üretimi sırasında süte uygulanan pastörizasyon ve telemeye uygulanan kısıtlı ısı uygulamalarından kaynaklı oluşmaktadır. Pişmiş aroma terimi İtalyan yarı sert keçi peyniri (Di Cagno vd., 2007)

ve Çerkez (Guneser ve Karagul-Yuceer, 2011) peynirlerde de karakteristik aroma terimi olarak belirlenmiştir. Peyniraltı suyu aroması olgunlaştırma etkisi ile önemli ($P \leq 0.05$) oranda azalmıştır. Bu sonuç olgunlaşmanın ilerlemesiyle peynirlerde gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan yeni lezzet bileşenlerinin peyniraltı suyu aromasını baskılamasına bağlanabilir. Enzim ve destek kültür kullanımının olgunlaştırma süresince keçi peynirinin kremamsı, sülfür, ransit ve keçi aromalarına etki ettiği belirlenmiştir. Peynirlerdeki ransit aroma değerleri 15 puanlık skala üzerinde 0.07-4.04 aralığında bulunmuştur. Olgunlaştırma süresince peynirlerdeki ransit aroma depolama süresine göre değişiklik göstermiştir ($P \leq 0.05$). Depolamanın 60. gününden itibaren enzim kullanılarak üretilen C ve İ peynirleri farklılaşmaya başlamış ve olgunlaşmanın sonunda C ve İ peynirleri K ve M peynirlerinden yüksek değerler almıştır. Ransit aroma oluşumunda Capalase® K

enziminin daha etkili olduğu belirlenmiştir. K ve M peynirlerine ait ransit aroma değerleri Ezine (Karagul-Yuceer vd., 2007) peyniriyle benzerlik göstermiştir. Di Cagno vd. (2007) ransit aromayı Caprino di Valsassina peynirinde 4.3 değerinde bulmuş ve peynirin tipik aroma bileşeni olarak tanımlamıştır.

Peynirlerde tatlı tat 1.27-1.73 aralığında bulunmuş ve olgunlaştırma süresinin bu özelliği etkilediği belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Alvarez vd. (2007) Majorero keçi peynirinde tatl tat değerlerini 7 puanlık skala üzerinde 0-0.91, Pizzillo vd. (2005) ise farklı keçi ırklarına ait sütlerden elde ettikleri Ricotta peynirlerinde tatlı tat değerlerini 5.75-7.00 aralığında bulmuşlardır. Keçi peynirlerinde tuzlu tat ortalaması olgunlaşmanın 1. gününde 11.13 bulunmuş olgunlaşma süresinin artmasıyla peynirlerde algılanan tuz değeri azalarak 90. günde 6.06 olmuştur. Tuzlu tat üzerine olgunlaştırma süresinin etkisi önemli ($P \leq 0.05$) bulunmuştur. Carunchia Whetstine vd. (2003) Chevre-Style keçi peyniri 10 puanlık skala üzerinde iki farklı örnekte 3.1 ve 4.3, García vd. (2016) Murciano-Granadina keçi sütlerinden bitkisel pıhtılaştırıcı kullanarak ürettikleri keçi peynirlerinde 10 puanlık skala üzerinde 5.4 olarak belirlemişler ve 75 günlük depolama süresince tuzluluk değerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

SONUÇ

Çalışmada kullanılan Capalase® K ve Italase® C enzimleri keçi peynirlerinde depolama boyunca pH ve titrasyon asitliği değerlerini K ve M peynirlerine oranla artırmıştır. Ayrıca peynirlerde olgunlaşmanın göstergelerinden biri olan %5 PTA'da çözünen azot oranları C ve İ peynirlerinde daha yüksek bulunmuştur. C ve İ peynirlerinde hidrolitik ransidite değerleri ve ransit aroma depolamanın 90. gününde K ve M peynirlerinden daha yüksek bulunmuştur. Capalase® K ve Italase® C enzimlerinin keçi peynirlerinde etkilediği özellikler ile bu iki enzimin keçi peynirinin olgunlaşmasını hızlandırdığı, Italase® C enziminin olgunlaşmada Capalase® K enziminden daha etkin olduğu belirlenmiştir. Bu etki keçi peynirinin tipik uçucu bileşenlerinden olan 3-metil bütanoik asit, pentanoik asit, heptanoik asit ve nonanoik asit gibi asitlerin sadece olgunlaşmış C

ve İ peynirlerinde belirlenmiş olmasıyla desteklenmiştir. Olgunlaştırma boyunca toplam azot oranı ve suda çözünen azot oranı M peynirinde yüksek bulunmuş, uçucu bileşen analizinde keton, ester ve aldehit gruplarının, 90 gün olgunlaştırılmış M peynirinde arttığı belirlenmiştir. Peynirlerde belirlenen kimyasal, duyuşsal özellikler ve uçucu bileşenlere göre *Staphylococcus carnosus* bakterisini içeren destek kültür kullanımının keçi peynirinin olgunlaşmasına katkı sağladığı ancak bu katkının hızlı olgunlaşma olmadığı belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu makale “Keçi peynirinin bazı kalite kriterleri üzerine hızlı olgunlaştırmanın etkileri” konulu Hasan Uzkuç’un yüksek lisans tezinin (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, YÖK Tez No: 379602) bölümlerinden oluşturulmuştur. Çalışmanın gerçekleştirilmesinde peynir üretimine destek sağlayan Ekozey A.Ş. yöneticileri ve çalışanlarına, peynir üretiminde kullanılan Capalase® K ve Italase® C enzimlerinin Cargill firmasından tedarik edilmesine katkı sağlayan Bilal Dost’ye, destek kültürün Danisco firmasından tedarik edilmesine katkı sağlayan Kübra Gündoğdu’ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Alais C. (1984). *Science Du Lait*. 4. Edition. Sepsac, Paris, 814 p.
- Alvarez, S., Fresno, M., Méndez, P., Castro, N., Fernández, J. R., Sanz Sampelayo, M. R. (2007). Alternatives for improving physical, chemical, and sensory characteristics of goat cheeses: The use of arid-land forages in the diet. *J. Dairy Sci.*, 90(5), 2181-2188.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis of AOAC International* (Vol. 1, 2). Gaithersburg, ABD.
- Atasoy, A. F. ve Turkoglu, H. (2009). Lipolysis in Urfa cheese produced from raw and pasteurized goats’ and cows’ milk with mesophilic or thermophilic cultures during ripening. *Food Chem.*, 115(1), 71-78.
- Attaie, R. (2009). Quantification of volatile compounds in goat milk Jack cheese using static headspace gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, 92(6), 2435-2443.

- Avsar, Y. K., Karagul-Yuceer, Y., Drake, M. A., Singh, T. K., Yoon, Y., Cadwallader, K. R. (2004). Characterization of nutty flavor in Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 87(7), 1999-2010.
- Barac, M., Pesic, M., Zilic, S., Smiljanic, M., Stanojevic, S., Vasic, M., Kostic, A. (2016). Protein profiles and total antioxidant capacity of water-soluble and water-insoluble fractions of White-brined goat cheese at different stages of ripening. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 51(5), 1140-1149.
- Bezerra, T. K. A., Arcanjo, N. M. de O., Araújo, A. R. R. de, Queiroz, A. L. M. de, Oliveira, M. E. G. de, Gomes, A. M. P., Madruga, M. S. (2017). Volatile profile in goat Coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *LWT - Food Sci. Technol.*, 76, 209-215.
- Bontinis, T. G., Mallatou, H., Pappa, E. C., Massouras, T., Alichanidis, E. (2012). Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Rumin. Res.*, 105(1-3), 193-201.
- Carunchia Whetstine, M. E., Karagul-Yuceer, Y., Avsar, Y. K., Drake. (2003). Identification and quantification of character aroma components in fresh Chevre-style goat cheese. *J. Food Sci.*, 68(8), 2441-2447.
- Castillo, I., Calvo, M. V., Alonso, L., Juárez, M., Fontecha, J. (2007). Changes in lipolysis and volatile fraction of a goat cheese manufactured employing a hygienized rennet paste and a defined strain starter. *Food Chem.*, 100(2), 590-598.
- Chiofalo, B., Zumbo, A., Costa, R., Liotta, L., Mondello, L., Dugo, P., Chiofalo, V. (2004). Characterization of Maltese goat milk cheese flavour using SPME-GC/MS. *South African J. Anim. Sci.*, 34(5SUPPL.1), 176-180.
- Deeth, H. C. ve Fithz-Gerald, C. H. (1976). Lipolysis in dairy products: a review. *Aust. J. Dairy Technol.*, 31(June), 53-61.
- Delgado, F. J., González-Crespo, J., Cava, R., García-Parra, J., Ramírez, R. (2010). Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. *Food Chem.*, 118(1), 182-189.
- Di Cagno, R., Miracle, R. E., De Angelis, M., Minervini, F., Rizzello, C. G., Drake, M. A., Gobbetti, M. (2007). Compositional, microbiological, biochemical, volatile profile and sensory characterization of four Italian semi-hard goats' cheeses. *J. Dairy Res.*, 74(4), 468-477.
- Fernandez-García, E., Fandiño, R. L., Alonso, L., Ramos, M. (1994). The use of lipolytic and proteolytic enzymes in the manufacture of Manchego type cheese from ovine and bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 77(8), 2139-2149.
- Fox, P. F. (1988). Acceleration of cheese ripening. *Food Biotechnol.*, 2, 133-185.
- Fox, P. F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *J. Dairy Sci.*, 72(6), 1379-1400.
- Fox, P. F., Wallace, J. M., Morgan, S., Lynch, C. M., Niland, E. J., Tobin, J. (1996). Acceleration of cheese ripening. *Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.*, 70(2-4), 271-297.
- Fresno, M. ve Álvarez, S. (2012). Chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Majorero goat cheese. *Int. J. Dairy Technol.*, 65(3), 393-400.
- García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E., López, M. B. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *Int. J. Dairy Technol.*, 69(1), 96-102.
- García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E., López Morales, M. B. (2014). Effect of starters and ripening time on the physicochemical, nitrogen fraction and texture profile of goat's cheese coagulated with a vegetable coagulant (*Cynara cardunculus*). *J. Sci. Food Agric.*, 94(3), 552-559.
- Gatfield, I. L. (1988). Production of flavor and aroma compounds by biotechnology. *Food Technol.*, 42(10), 110-122.
- González, L. ve Zárata, V. (2012). Influence of an autochthonous starter culture and a commercial starter on the characteristics of Tenerife pasteurised goats' milk cheese. *Int. J. Dairy Technol.*, 65(4), 542-547.

- Guizani, N., Al-Attabi, Z., Kasapis, S., Gaafar, O. M. (2006). Ripening profile of semi-hard standard goat cheese made from pasteurized milk. *Int. J. Food Prop.*, 9(3), 523-532.
- Guneser, O. ve Karagul-Yuceer, Y. (2011). Characterisation of aroma-active compounds, chemical and sensory properties of acid-coagulated cheese: Circassian cheese. *Int. J. Dairy Technol.*, 64(4), 517-525.
- Guo, M.R, Dixon, P.H., Park, Y.W., Gilmore, J.A., Kindstedt, P.S. (2001). Seasonal Changes in the Chemical Composition of Commingled Goat Milk. *J. Dairy Sci.*, 84, (Supplement) 79-83.
- Hayaloglu, A. A., Tolu, C. Yasar, K. (2013). Influence of goat breeds and starter culture systems on gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening. *Small Rumin. Res.*, 113(1), 231-238.
- Hynes, E., Ogier, J. C., Lamberet, G., Delacroix-Buchet, A. (2002). The influence of starter and adjunct lactobacilli culture on the ripening of washed curd cheeses. *Brazilian J. Chem. Eng.*, 19(4), 397-402.
- IDF (1993). Determination of the nitrogen (Kjeldahl method) and calculation of the crude protein content. Brussels.
- Inglingstad, R.A., Skeie, S., Vegarud, G.E., Devold, T.G., Chilliard, Y., Eknæs, M. (2017). Feeding a concentrate rich in rapeseed oil improves fatty acid composition and flavor in Norwegian goat milk. *J. Dairy Sci.*, 100(9), 7088-7105.
- Izco, J. M., Irigoyen, A., Torre, P., Barcina, Y. (2000). Effect of added enzymes on the free amino acids and sensory characteristics in Ossau-Iraty cheese. *Food Control*, 11, 201-207.
- Jarrett, W. D., Aston, J. W., Dullely, J. R. (1982). A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, 37, 55-58.
- Karagul-Yuceer, Y., Isleten, M., Uysal-Pala, C. (2007). Sensory characteristics of Ezine cheese. *J. Sen.Stud.*, 22(1), 49-65.
- Karagul-Yuceer, Y., Tuncel, B., Guneser, O., Engin, B., Isleten, M., Yasar, K., Mendes, M. (2009). Characterization of aroma-active compounds, sensory properties, and proteolysis in Ezine cheese. *J. Dairy Sci.*, 92(9), 4146-4157.
- Kondyli, E., Pappa, E. C., Svarnas, C. (2016). Ripening changes of the chemical composition, proteolysis, volatile fraction and organoleptic characteristics of a white-brined goat milk cheese. *Small Rumin. Res.*, 145, 1-6.
- Kuchroo, C. N. ve Fox, P. F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331-335.
- Law, B. A. (2001). Controlled and accelerated cheese ripening: The research base for new technologies. *Int. Dairy J.*, 11(4-7), 383-398.
- Mariaca, R. G., Berger, T. F. H., Gauch, R., Imhof, M. I., Jeangros, B., Bosset, J. O. (1997). Occurrence of volatile mono- and sesquiterpenoids in highland and lowland plant species as possible precursors for flavor compounds in milk and dairy products. *J. Agric. Food Chem.*, 45(11), 4423-4434.
- Massouras, T., Pappa, E. C., Mallatou, H. (2006). Headspace analysis of volatile flavour compounds of Teleme cheese made from sheep and goat milk. *Int. J. Dairy Technol.*, 59(4), 250-256.
- McSweeney, P. L. H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *Int. J. Dairy Technol.*, 57(2-3), 127-144.
- McSweeney, P. L. H. ve Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80(3), 293-324.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., Carr, B. T. (1999). Descriptive analysis techniques. In *Sensory Evaluation Techniques* (3. Edition, pp. 161-170). Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.
- Metin, M. (2006). *Süt Teknolojisi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Yayın No: 33, E.Ü. Basımevi, İzmir.
- NEN (1969). Netherlands standard 3059. Butyrometric determination of the fat content of

- cheese (Gerber van Gulik Method). *Netherlands Milk Dairy J.*, 23, 214-220.
- NIST (2008). NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08). National Institute of Standards and Technology Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD 20899.
- Nouira, W. (2011). Comparison of free fatty acid composition between low-fat and full-fat goat milk cheeses stored for 3 months under refrigeration. *Open J. Anim. Sci.*, 1(2), 17-24.
- Oliszewski, R., Wolf, I. V., Bergamini, C. V., Candioti, M., Perotti, M. C. (2013). Influence of autochthonous adjunct cultures on ripening parameters of argentinean goat's milk cheeses. *J. Sci. Food Agric.*, 93(11), 2730-2742.
- Park, Y. W., Lee, J. H., Lee, S. J. (2006). Effects of frozen and refrigerated storage on organic acid profiles of goat milk plain soft and Monterey Jack cheeses. *J. Dairy Sci.*, 89(3), 862-871.
- Pizzillo, M., Claps, S., Cifuni, G. F., Fedele, V., Rubino, R. (2005). Effect of goat breed on the sensory, chemical and nutritional characteristics of Ricotta cheese. *Livest. Prod. Sci.*, 94(1-2), 33-40.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., Paschaloudis, N. (1999). Effect of time, temperature and extraction method on trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *Int. Dairy J.*, 9, 559-568.
- Renner, E. (1986). *Milchpraktikum*. Giessen, Germany: Fachgebiet milchwissenschaft Justic-Liebing Universitat Giessen.
- Rincón, A.A., García-Fraga, J.M., Álvarez, S., Pino, V., Fresno, M.R., Ayala, J.H., Afonso, A.M. (2017). Effect of the inclusion of banana silage in the diet of goats on physicochemical and sensory characteristics of cheeses at different ripening times. *Small Rumin. Res.*, 149, 52-61.
- Sert, D., Akin, N., Aktumsek, A. (2014). Lipolysis in Tulum cheese produced from raw and pasteurized goats' milk during ripening. *Small Rumin. Res.*, 121(2-3), 351-360.
- Soryal, K.A., Zeng, S.S., Min, B.R., Hart, S.P. (2004). Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk Domiati cheese. *Small Rumin. Res.*, 52(1-2), 109-116.
- Tunçtürk, Y. (2005). Peynirde hızlı olgunlaştırma çalışmalarında yeni yaklaşımlar. *Gıda*, 30(5), 343-348.
- Üçüncü, M. (2002). *Süt Teknolojisi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 32. Ege Meslek Yüksekokulu Basımevi, İzmir. s:210.
- Wiley (2005). Wiley Registry of Mass Spectral Data 7. Edition (Fred. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251, 2005 (CD-ROM).

**APPLICATION OF RESPONSE SURFACE METHODOLOGY TO OPTIMIZE
MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION OF TOTAL PHENOLIC
COMPOUNDS FROM CAUCASIAN WHORTLEBERRY
(*Vaccinium arctostaphylos*)**

**Naciye Kutlu*, Cansu Bicak, Duygu Ekinci, Ezgi Kilic,
Naz Erdem, Asli Isci, Ozge Sakiyan**
Department of Food Engineering, Ankara University, Ankara, Turkey

Received / Geliş: 25.09.2017; Accepted / Kabul: 11.02.2018; Published online / Online baskı: 27.02.2018

Kutlu, N., Bicak, C., Ekinci, D., Kilic, E., Erdem, N., Isci, A., Sakiyan, Ö. (2018). Application of response surface methodology to optimize microwave-assisted extraction of total phenolic compounds from Caucasian whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos*). *GIDA* (2018) 43 (2): 264-272 doi: 10.15237/gida.GD17087

ABSTRACT

Microwave-assisted extraction (MAE) is commonly used in recent years as an innovative approach to enhancing the quality of extracts while decreasing the extraction time and the solvent consumption in comparison to conventional techniques. In this study, the influence of microwave power, solid concentration and extraction time on total phenolic content (TPC), colour values and dielectric properties of Caucasian whortleberry were investigated. The process variables were optimized using response surface methodology. The highest TPC from Caucasian whortleberry was obtained at an extraction time of 3.5 min, a solid concentration of 15% and a microwave power of 360 W. The results showed that L* and a* values of the extracts were highly correlated with TPC by a second-order polynomial. Moreover, no significant difference was found in dielectric properties between the groups.

Keywords: Caucasian whortleberry, microwave-assisted extraction, optimization, total phenolic content, dielectric.

**LİKAPADAN (*Vaccinium arctostaphylos*) TOPLAM FENOLİK
BİLEŞİKLERİN MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYONUNUN
YANIT YÜZEY YÖNTEMİ İLE OPTİMİZASYONU**

ÖZ

Mikrodalga-destekli ekstraksiyon (MAE), konvansiyonel tekniklerle ile karşılaştırıldığında ekstraksiyon süresi ile solvent tüketimini düşürürken, ekstrakt kalitesini arttırması nedeniyle yenilikçi bir yöntem olarak son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, mikrodalga gücü, katı konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinin, likapa meyvesinin toplam fenolik içeriği (TPC), renk değerleri ve dielektrik özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Proses değişkenleri yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Likapadan en yüksek TPC, 360 W mikrodalga gücü, %15 katı konsantrasyonu ve 3.5 dakika ekstraksiyon süresi koşullarında elde edilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, ekstraktların L* ve a* değerleri, TPC ile ikinci dereceden polinom ile yüksek korelasyon göstermiştir. Ayrıca, grupların dielektrik özellikleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Anahtar kelimeler: Likapa, mikrodalga destekli ekstraksiyon, optimizasyon, toplam fenolik içerik, dielektrik.

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ nkutlu@ankara.edu.tr,

☎ (+90) 312 203 3300/3632

☎ (+90) 0312 317 8711

INTRODUCTION

Blueberry is a tree species native to the northern hemisphere and belongs to the genus *Vaccinium* and family *Ericaceae*. Caucasian whortleberry (*V. arctostaphylos*), which is one of the wild blueberry species, is known as “Likapa” in Turkey and it is native to Western Asia (Iran and Turkey), the Caucasus (Armenia; Azerbaijan; Georgia; Russia), and Southeastern Europe (Bulgaria, Poland) (Jacquemart, 1996). It is naturally adapted on Black Sea region of Northern, particularly North-eastern Turkey. Caucasian whortleberry fruits have high antioxidant capacity and contain high levels of anthocyanin and other phenolic compounds such as phenolic acids, catechins and flavonols (Prior et al., 1998). They are also a good source of vitamin C, E and carotenoids (Giovannelli and Buratti, 2009). Considering the valuable health benefits of the compounds present in Caucasian whortleberry, high value products can be developed from this fruit. Extracts of Caucasian whortleberry can be used in functional foods, nutraceuticals, and pharmaceutical applications.

Extraction is a process which is used to separate a substance from a matrix. It includes liquid-liquid and solid-liquid types. Generally, the most commonly used conventional methods are Soxhlet extraction, maceration, extraction by infusion, and vapour distillation (Kislik, 2012). Recently, instead of conventional methods, green processes such as microwave-assisted, ultrasound-assisted, enzymatic and pressurized-solvent extractions have been investigated widely. These extraction systems can be used with non-hazardous solvents such as water and also provide solvent and energy recovery (Ivanovic et al., 2014; Boukroufa et al., 2015; Chen et al., 2015).

Microwave-assisted extraction (MAE) is commonly used in recent years as an innovative approach to enhancing the quality of extracts while decreasing the extraction time and the solvent consumption in comparison to conventional techniques (Karabegovic et al., 2014). During MAE, volumetric heating of microwave irradiation causes the disruption of cell structure and helps to separate the target

compounds from the matrix. Efficient separation and rapid extraction are the most important advantages of MAE process (Dahmoune et al., 2015; Setyaningsih et al., 2015). A large number of MAE studies have been reported for the extraction of biological compounds including phenolic compounds from eucalyptus leaves (Gharekhani et al., 2012), broccoli (Jokic et al., 2012), grape seeds (Krishnaswamy et al., 2013), chokeberry (Simic et al., 2016), cabbage (Sookjitsumran et al., 2016), barberry (Ardestani et al., 2016). In addition, there are several articles which focus on the extraction of anthocyanins from blueberries (Zheng et al., 2013; Routray and Orsat, 2014; Routray et al., 2014; Zhou et al., 2015). However, the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from Caucasian whortleberry is lacking in literature. Therefore, the main objective of the present work was to extract total phenolic compounds from Caucasian whortleberry by MAE. It was also aimed to optimize the process parameters for higher phenolic content by response surface analysis. Moreover, colour values and dielectric properties of the extracts were determined at different extraction conditions. In addition, simple mathematical models were proposed to predict TPC as a function of colour values.

MATERIAL AND METHODS

Material

Caucasian whortleberry samples used in the study were obtained from a local producer (Hopa Yaban Mersini) in Artvin (a province of north-east Turkey, on the eastern Black Sea region). They were cleaned and blended for 10 seconds. The moisture contents of the samples were analysed by infrared moisture analyzer (MA150, Sartorius, Germany). Initial moisture content of the sample was $84 \pm 1\%$ (wet basis).

All the chemicals were analytical grade. Sodium carbonate and Gallic acid were obtained from Sigma Aldrich (USA). Folin-Ciocalteu reagent and ethanol were obtained from Merck (Germany).

Microwave-assisted extraction

Extractions were performed in a domestic microwave oven (GMOM 25, General Electric,

USA) which was modified in order to condense the vapour generated during extraction (Fig. 1). Different amount of samples were mixed with water and placed into the extraction flask that had the capacity of 500 ml. Microwave power (270, 360 and 450 W), extraction time (2.5, 3.0 and 3.5 min) and solid concentration (5%, 10% and 15%) were the independent variables used in MAE. After the extraction process, the extracts were filtered through filter paper and stored at -18°C until further use. All of the experiments were performed in duplicates.

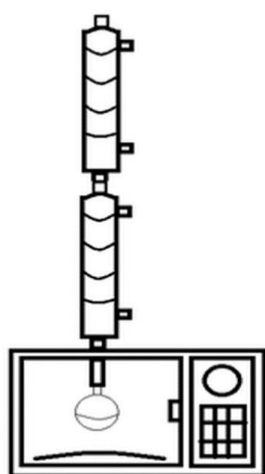


Fig. 1. Schematic diagram of microwave-assisted extraction

Maceration

The samples were extracted at optimum solid concentration (13.9%) for 24 h at room temperature. The optimum solid concentration were decided according to TPC, L* and b* values of microwave assisted extracts of Caucasian whortleberry samples. Response surface methodology was used for optimization. The tool took max TPC and min L* and b* values into consideration for optimum point determination. Water bath (SBD-313, Simsek, Turkey) was used to maceration and samples were agitated at regular intervals. The extracts were then filtered through a filter paper and stored at -18°C until further use (Xu et al., 2016).

Determination of total phenolic content

The total phenolic content (TPC) in Caucasian whortleberry was determined by Folin–Ciocalteu

reagent, using Gallic acid as the standard ($R^2=0.99$). Folin–Ciocalteu's reagent was prepared with distilled water (1:10 v/v). 1.0 ml of extract, 5.0 ml of Folin–Ciocalteu's reagent and 4.0 ml Na_2CO_3 (%7.5) were mixed in the tubes. The mixtures were kept in a dark room for 1 hour. The absorbance was measured at 765 nm using a spectrophotometer (Lambda35, Perkin Elmer, USA) (Slinkard and Singleton, 1977). The total phenolic content was determined from the calibration curve and expressed in mg of Gallic acid equivalents/L. All of the experiments and analysis were performed in duplicates.

Determination of colour values

The colour values of the extracts were determined by a reader (Konica Minolta, C-400, Japan) that was equipped with a cup that holds the liquid samples. The colour meter was calibrated against a standard calibration plate of a white surface. The display was set to CIE L* a* b* colour coordinates. Three readings per sample were recorded and the average values of colour parameters with standard deviation values were reported.

Determination of dielectric properties

Dielectric properties of samples were measured with an Agilent 85070E open-ended coaxial probe connected to an Agilent E8362B Vector Network Analyzer (Agilent Technologies ES061B ENA Series Network Analyzer, ABD) at room temperature. The network analyzer was calibrated with air, short block and distilled water at 25 °C (Sipahioglu and Barringer, 2003). All measurements were done in duplicates.

Statistical analysis

All of the statistical analysis and the response surface regression were performed using Minitab 16.0 software (Minitab, State College, PA). The models were used to plot contour lines. The significant difference between independent variables ($P \leq 0.05$) was determined by Analysis of Variance. All of the experiments and analysis were performed in duplicates.

The experimental data were fit the following second order polynomial equation (Eq. 1) for each response variable (Gao et al., 2008).

$$Y=b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_4X_1^2+b_5X_2^2+b_6X_3^2+b_7X_1X_2+b_8X_1X_3+b_9X_2X_3 \quad (1)$$

Where b_i , Y and X_i represent the coefficients, dependent and independent variables, respectively.

Process parameters, namely, microwave power (X_1 , W), extraction time (X_2 , min) and solid concentration (X_3 , %) were optimized by applying

multiple optimization by using response optimizer in Minitab release 16 software (Table 1). Box–Behnken design was used for optimization. TPC, L^* , a^* and b^* values were selected as the dependent variables.

Table 1. Experimental design including coded and uncoded independent variables

X_1 (W)		X_2 (min)		X_3 (%)	
Coded	Uncoded	Coded	Uncoded	Coded	Uncoded
1	450	0	3	1	15
0	360	0	3	0	10
0	360	1	3.5	1	15
0	360	1	3.5	-1	5
-1	270	-1	2.5	0	10
-1	270	1	3.5	0	10
1	450	0	3	1	15
0	360	-1	2.5	-1	5
0	360	-1	2.5	-1	5
-1	270	-1	2.5	0	10
0	360	-1	2.5	1	15
0	360	0	3	0	10
1	450	0	3	-1	5
0	360	1	3.5	-1	5
0	360	1	3.5	1	15
0	360	0	3	0	10
1	450	0	3	-1	5
1	450	1	3.5	0	10
-1	270	0	3	1	15
1	450	1	3.5	0	10
-1	270	1	3.5	0	10
0	360	0	3	0	10
0	360	-1	2.5	1	15
0	360	0	3	0	10
0	360	0	3	0	10
-1	270	0	3	-1	5
1	450	-1	2.5	0	10
-1	270	0	3	-1	5
-1	270	0	3	1	15
1	450	-1	2.5	0	10

*(X_1 , microwave power; X_2 , extraction time; X_3 , solid concentration)

RESULTS AND DISCUSSIONS

The effects of process variables such as microwave power (X_1), extraction time (X_2) and solid concentration (X_3) on total phenolic content and colour values (L^* , a^* , b^*) were investigated by

RSM. The quadratic equations obtained by the regression analysis were shown in Table 2. The equations had high regression coefficients ($R^2 > 0.88$) and the lack of fit values of the regression models were insignificant ($P > 0.05$).

Table 2. Regression equations for Caucasian whortleberry extract at different extraction conditions

Dependent variables	Model	R ²
TPC	$Y=119.347^{***}+14.010^{***}X_1+13.516^{***}X_2+56.745^{***}X_3-2.023^{ns}X_1^2+5.009^{ns}X_2^2-3.325^{ns}X_3^2+6.250^{ns}X_1X_2+2.708^{ns}X_1X_3+12.552^{*}X_2X_3$	94.09
L* value	$Y=15.0139^{***}-0.5960^{**}X_1-0.5875^{**}X_2-2.5710^{***}X_3+0.1547^{ns}X_1^2-0.1207^{ns}X_2^2+1.3639^{***}X_3^2-0.3671^{ns}X_1X_2+0.5675^{*}X_1X_3-0.0387^{ns}X_2X_3$	89.76
a* value	$Y=7.97722^{***}+0.05000^{ns}X_1+0.02708^{ns}X_2+1.37292^{***}X_3+0.04743^{ns}X_1^2-0.28840^{ns}X_2^2-1.90590^{***}X_3^2-0.09542^{ns}X_1X_2-0.91958^{***}X_1X_3-0.90125^{***}X_2X_3$	88.39
b* value	$Y=4.55111^{***}-0.05896^{ns}X_1+0.00583^{ns}X_2+0.31604^{***}X_3-0.17889^{*}X_1^2-0.21847^{**}X_2^2-0.80222^{***}X_3^2+0.00292^{ns}X_1X_2-0.31083^{***}X_1X_3-0.64042^{***}X_2X_3$	89.02

*The term is significant at $p \leq 0.05$, **The term is significant at $p \leq 0.01$, ***The term is significant at $p \leq 0.001$ (X₁, microwave power (W); X₂, extraction time (min); X₃, solid concentration (%))

The effects of extraction conditions on total phenolic content were visualized in Fig. 2 (a, b and c). The regression equations indicated that all of the independent variables had statistically significant impact on TPC (Table 2). There was a positive correlation between TPC and process variables, meaning that an increase in microwave power, extraction time and solid concentration have resulted in higher TPC. This result can also be seen in Fig. 2. It was observed that at constant solid concentration, increasing microwave power or extraction time increased the TPC (Fig. 2a). For example, the increase in MW power from 270 to 450W (solid concentration: 10%, extraction time: 2.5 min) gave an average of 7% increase in TPC. In addition, the effect of MW power on TPC was more noticeable at longer extraction times. For instance, approximately 29% increase was observed in TPC when the MW power was increased from 270 to 450W (solid concentration: 10%, extraction time: 3.5 min). It can also be reported that solid concentration was the most effective parameter on TPC among the independent variables studied (Fig. 2b). At low microwave power, increasing the solid concentration from 5% to 15% while keeping the extraction time constant gave a 3.2 fold rise in TPC. Moreover, it was found that at high solid concentrations the effect of extraction time on TPC was more pronounced (Fig. 2c). Similar results were also reported in literature. It was observed that TPC of blueberry leaves increased

with increasing microwave power at constant extraction time (Routray and Orsat, 2014). It was stated that increasing the microwave power level from 10% to 20% while keeping the extraction time constant (4 min) gave an approximately 20% rise in TPC. In a different study (Simic et al., 2016), microwave power and extraction time were also found to be statistically effective on the TPC of chokeberries.

Colour denotes the visual appearance of the product whereas pigments or colorants are the chemical compounds that impart the observed colour (Wrolstad et al., 2005). Anthocyanins, the most abundant group of polyphenols in blueberry, are responsible for the dark bluish red colour of the berries (Zheng et al., 2013; Routray and Orsat, 2014). The colour of the extract might change considerably depending on the phenolic groups extracted. The effects of extraction conditions on L*, a* and b* were visualized in Fig. 3, 4 and 5. Similar to TPC results, RSM findings had indicated that all of the independent variables had statistically significant impact on L* values (Table 2). A negative correlation was observed between L* value and independent variables, meaning that an increase in one of the process variables resulted in a lower L* value. This result can also be seen in Fig. 3 (a, b, c). This was an expected result, since more phenolic compounds were extracted at extreme extraction conditions,

the colour of the extract will be darker which would lead to a lower L^* value.

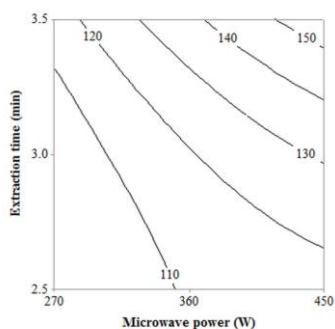


Fig. 2a. Variation of TPC of samples with microwave power and extraction time

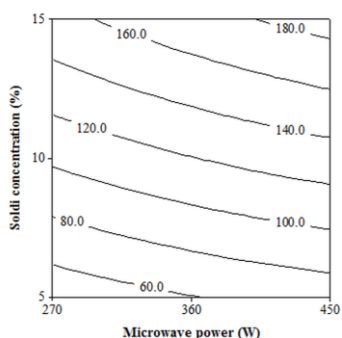


Fig. 2b. Variation of TPC of samples with microwave power and solid concentration

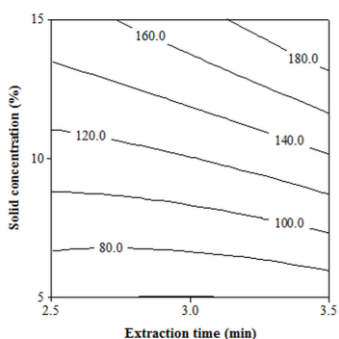


Fig. 2c. Variation of TPC of samples with extraction time and solid concentration

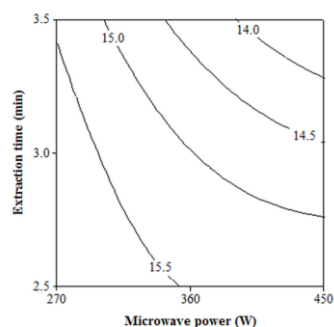


Fig. 3a. Variation of L^* values of the samples with microwave power and extraction time

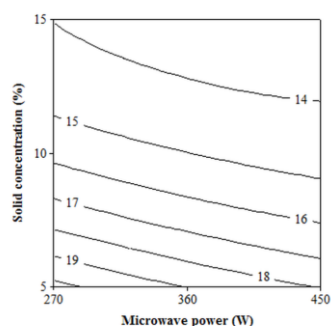


Fig. 3b. Variation of L^* values of the samples with microwave power and solid concentration

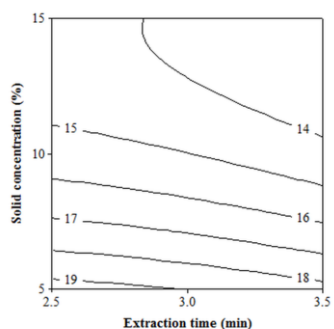


Fig. 3c. Variation of L^* values of the samples with extraction time and solid concentration

Positive a^* and b^* values indicate the red and yellow colours in the extracts. It was found that only solid concentration was significantly effective on these colour values (Table 2). As the solid concentration increased, a^* and b^* values have also increased. At low microwave power, increasing solid concentration gave the highest a^* and b^* values (Fig. 4 and 5). On the other hand,

at high microwave powers, a^* and b^* values first increased with an increase in solid concentration, but then started to decline. This may indicate that at severe extraction conditions some of the pigments in the extract are being destroyed.

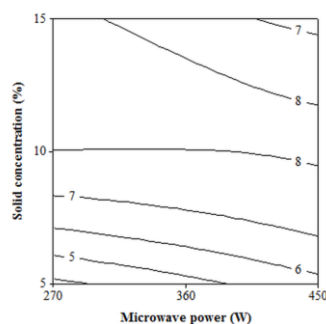


Fig. 4. Variation of a^* values of the samples with microwave power and solid concentration

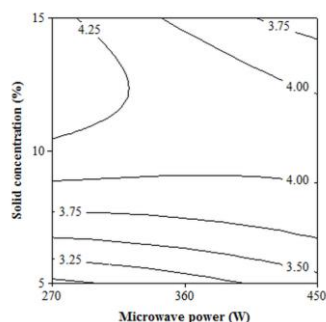


Fig. 5. Variation of b^* values of the samples with microwave power and solid concentration

The correlations between TPC and the colour parameters were also investigated in this study (Fig. 6). It was observed that L^* and a^* values of the extracts were highly correlated with TPC by a second-order polynomial ($R^2 = 0.95$ and 0.91 , respectively) as shown on the graph. Lower L^* values corresponded to higher TPC. In contrast, first an increase was observed in a^* until a certain value is reached, at which point further increase in TPC resulted in a lower a^* value. This finding may signify that even though some phenolic compounds are continued to be extracted, other phenolic compounds (such as anthocyanin) are being destroyed at severe conditions. This is consistent with the results stated earlier in our study (Fig. 3). Moreover, no correlation was

observed between b^* values and the TPC. These results were in agreement with a study done by Yang and Zhai (2010), who have found a negative correlation between L^* and total anthocyanin content of purple corn. Similar results have also been reported such that chromatic parameters can be a helpful means for comparison and quick assessment of phenolic content in grape seed extract (Krishnaswamy et al., 2013).

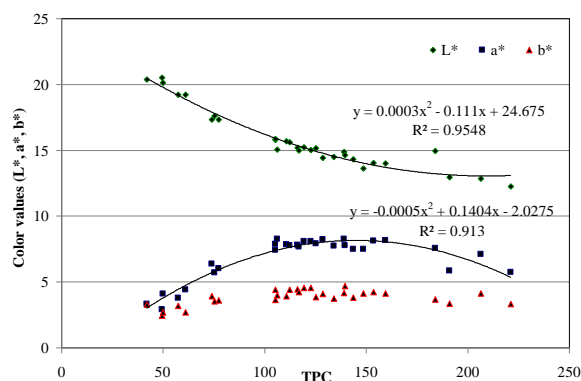


Fig. 6. Change of L^* , a^* and b^* values with TPC

The dielectric constant and dielectric loss factor of the extracts were not affected by the independent variables. The average dielectric constant and dielectric loss factor of the samples were found as 76.25 ± 1.54 and 10.13 ± 0.60 , respectively. The dielectric properties of the extracts were found to be close to those of pure water ($\epsilon' = 77.4$ and $\epsilon'' = 13.0$) (Datta and Anantheswaran, 2001). This may be due to high water content of the samples after extraction.

The results of the RSM analysis revealed that the optimum process conditions were 450 W, 3.45 min and 13.9% for microwave power, extraction time and solid concentration, respectively. The predicted TPC, L^* , a^* and b^* values of extracts at optimum process conditions were 207 mg/L, 12.86, 6.32 and 3.55, respectively. To determine the validity of the predicted values, experiments were also performed at the optimal conditions which were found to be in close agreement, thus confirming the optimization process. As a control the Caucasian whortleberry samples were also extracted at optimum solid concentration (13.9%) for 24 h at room temperature. TPC, L^* , a^* and b^*

values of extract obtained after maceration was found as 156.5 mg/L, 22.71, 11.77 and 6.14, respectively. These findings indicated that microwave extraction not only reduced the extraction time significantly but also increased the TPC of the Caucasian whortleberry extracts by approximately 32%. It can also be reported that the microwave assisted extraction samples were darker. This was an expected result, since more phenolic compounds were extracted by MAE. However, a* value of the extract obtained after maceration was higher than that of MAE. This finding may indicate that phenolic compounds which provides the red colour (anthocyanins) were much better extracted by maceration.

CONCLUSION

Total phenolic content, colour values and dielectric properties of Caucasian whortleberry extracts were investigated in this study. Response surface methodology was successfully applied for the optimization of the MAE conditions (microwave power, extraction time and solid concentration). A positive correlation was found between total phenolic contents and process variables. L* and a* values of the extracts were found to be highly correlated with total phenolic contents by a second-order polynomial. The independent variables did not have any influence on the dielectric constant and dielectric loss factors of the extracts. The total phenolic content of the extract obtained at the optimal condition was approximately 32% greater than that of the maceration method. The results also showed that microwave extraction decreased the extraction time significantly. Thus, MAE can be recommended as an alternative method to conventional extraction for the extraction of phenolic compounds from Caucasian whortleberry.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank “Hopa Yaban Mersini” company for providing Caucasian whortleberry.

REFERENCES

Ardestani, S.B., Sahari, M.A., Barzegar, M. (2016). Effect of extraction and processing conditions on anthocyanins of barberry. *J Food Process Pres*, 40(6): 1407-1420.

Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., Chemat, F. (2015). Bio-refinery of orange peels waste: a new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24: 72-79.

Chen, M., Zhao, Y., Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chem*, 172: 543-550.

Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chem*, 166: 585-595.

Datta, A.K., Anantheswaran, R.C. (2001) *Handbook of Microwave Technology and Applications*. Marcel Dekker, Inc., NY, USA.

Gao, Z.J., Lin, H., Xiao, H.W. (2008). Air-impingement de-shelling of chestnuts (*C. mollissima*): process parameter optimization. *Int J Food Eng*, 4(2): 15.

Gharekhani, M., Ghorbani, M., Rasoulnejad, N. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolic and flavonoid compounds from *Eucalyptus camaldulensis* dehn leaves as compared with ultrasound-assisted extraction. *Latin Am Appl Res*, 42(3): 305-310.

Giovanelli, G., Buratti, S. (2009). Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chem*, 112: 903-908.

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Čačanska Bestrna”. *Ind Crops Prod*, 53: 274-281.

Jacquemart, A.L. (1996). Biological Flora of the British Isles: *Vaccinium uliginosum* L. *J Ecol*, 84: 771-785.

Jokic, S., Cvjetko, M., Bozic, D., Fabek, S., Toth, N., Vorkapic-Furac, J., Redovnikovic, I.R. (2012). Optimisation of microwave-assisted extraction of phenolic compounds from broccoli and its

- antioxidant activity. *Int J Food Sci Technol*, 47(12): 2613-2619.
- Karabegovic, I.T., Stojicevic, S.S., Velickovic, D.T., Todorovic, Z.B., Nikolic, N.C., Lazic, M.L. (2014). The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Ind Crops Prod*, 54: 142-148.
- Kislik, V.S. (2012). *Engineering development of solvent extraction processes, solvent extraction*. Elsevier, Amsterdam, Netherland, pp. 157-184.
- Krishnaswamy, K., Orsat, V., Garipey, Y., Thangavel, K. (2013). Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic antioxidants from grape seeds (*Vitis vinifera*). *Food Bioprocess Technol*, 6(2): 441-455.
- Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., Mcewen, J., O'brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainland, C.M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J Agric Food Chem*, 46: 2686-2693.
- Routray, W., Orsat, V. (2014). MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Ind Crops Prod*, 58: 36-45.
- Routray, W., Orsat, V., Garipey, Y. (2014). Effect of different drying methods on the microwave extraction of phenolic components and antioxidant activity of high bush blueberry leaves. *Drying Technol*, 32: 1888-1904.
- Setyaningsih, W., Saputro, I.E., Palma, M., Barroso, C.G. (2015). Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains. *Food Chem*, 169: 141-149.
- Simic, V.M., Rajkovic, K.M., Stojicevic, S.S., Velickovic, D.T., Nikolic, N.C., Lazic, M.L., Karabegovic, I.T. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Sep Purif Technol*, 160: 89-97.
- Sipahioglu, O., Barringer, S.A. (2003). Dielectric properties of vegetables and fruits as a function of temperature, ash and moisture content. *J Food Sci*, 68: 234-239.
- Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Vitic*, 28: 49-55.
- Sookjitsumran, W., Devahastin, S., Mujumdar, A.S., Chiewchan, N. (2016). Comparative evaluation of microwave-assisted extraction and preheated solvent extraction of bioactive compounds from a plant material: a case study with cabbages. *Int J Food Sci Technol*, 51(11): 2440-2449.
- Wrolstad, R.E., Durst, R.W., Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci Technol*, 16: 423-428.
- Xu, D.P., Zhou, Y., Zheng, J., Li, S., Li, A.N., Li, H.B. 2016. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Antioxidants from the Flower of *Jatropha integerrima* by Response Surface Methodology. *Molecules*, 21(18), 1-12.
- Yang, Z., Zhai, W. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 11: 470-476.
- Zheng, X., Zu, X., Liu, C., Sun, Y., Lin, Z., Liu, H. (2013). Extraction characteristics and optimal parameters of anthocyanin from blueberry powder under microwave-assisted extraction conditions. *Sep Purif Technol*, 104: 17-25.
- Zhou, Y., Zhao, X., Huang, H. (2015). Effects of pulsed electric fields on anthocyanin extraction yield of blueberry processing by-products. *J Food Process Pres*, 39: 1898-1904.

DETECTION OF *LISTERIA* SPP. IN RAW MILK AND DAIRY PRODUCTS RETAILED IN ANKARA

Pınar Şanlıbaba^{1*}, Başar Uymaz Tezel², Gürcü Aybige Çakmak³

¹Ankara University Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Gölbaşı, Ankara, Turkey

²Çanakkale Onsekiz Mart University Bayramiç Vocational School, Food Technology Program, Bayramiç, Çanakkale, Turkey

³Akdeniz University Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Antalya, Turkey

Received / Geliş: 28.11.2017; Accepted / Kabul: 19.02.2018; Published online / Online baskı: 28.02.2018

Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B., Çakmak, G. A. (2018). Detection of *Listeria* spp. in raw milk and dairy products retailed in Ankara. *GIDA* (2018) 43 (2): 273-282 doi: 10.15237/gida.GD17107

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the prevalence of *Listeria* species in raw milk, and dairy products. A total of 110 samples were obtained from randomly selected retail stores and local bazaars located in Ankara. Using TS EN ISO 11290-1 method, 23 samples were found positive for *Listeria* spp. The overall prevalence of *Listeria* spp. was 20.91%, in which *L. innocua* was the most commonly recovered species (6.36%). The remaining isolates were identified as *L. ivanovii* (5.45%), *L. monocytogenes* (4.55%), and *L. welshimeri* (4.55%). The *L. monocytogenes* isolates were positive for the presence of *hlyA* gene. The highest prevalence of *Listeria* spp. was found in homemade cheese (9.09%), followed by raw milk (8.19%), and white cheese (3.64%). *L. monocytogenes* was isolated from raw milk and homemade cheese in this study.

In conclusion, the low hygienic quality dairy products may lead to listeriosis surveillance in Ankara.

Keywords: *Listeria*, milk, dairy products, identification

**ANKARA'DA SATIŞA SUNULAN ÇİĞ SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE
LISTERIA SPP. VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

ÖZ

Bu çalışmada çiğ süt ve süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin yaygınlığının saptanması amaçlanmıştır. Ankara'da bulunan ve rastgele seçilen market ve pazarlardan toplam 110 örnek alınmıştır. TS EN ISO 11290-1 yöntemi kullanılarak, toplam 23 örnek *Listeria* spp. varlığı bakımından pozitif bulunmuştur. Analize alınan örneklerde *Listeria* türlerinin bulunma sıklığı %20.91 olarak tespit edilmiş, *L. innocua* (%6.36) ise en fazla rastlanan tür olarak belirlenmiştir. Geri kalan izolatlar ise *L. ivanovii* (%5.45), *L. monocytogenes* (%4.55) ve *L. welshimeri* (%4.55) olarak tanımlanmıştır. *L. monocytogenes* suşları *hlyA* gen bölgesi varlığı bakımından pozitif olarak saptanmıştır. En yüksek *Listeria* spp. prevalansı ise, sırasıyla ev yapımı peynir (%9.09), çiğ süt (%8.19) ve beyaz peynirde (%3.64) saptanmıştır. Bu çalışmada *L. monocytogenes* suşları çiğ süt ve ev yapımı peynirlerden izole edilmiştir.

Sonuç olarak hijyenik kalitesi düşük süt ürünlerinin, listeriosis surveyansını Ankara'da artırabileceği gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Listeria*, süt, süt ürünleri, tanımlama

* Corresponding author/Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉sanlibab@ankara.edu.tr,

☎ (+90) 312 203 3300/3617,

☎ (+90) 312 317 8711

INTRODUCTION

Listeria spp. is Gram positive and facultative anaerobic organisms. They are also non-spore forming, and rod-shaped bacteria (Momtaz and Yadollahi, 2013; Odetokun and Adetunji, 2016). All six *Listeria* spp. (*L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. innocua*, *L. grayi*) which were identified before 1985 can be isolated from foods. These strains referred to as “classic” *Listeria* spp. (Barre et al., 2016). *L. monocytogenes* and *L. ivanovii* are the two known pathogenic species within this genus. Although *L. monocytogenes* may lead to illness and death in humans and other mammals, *L. ivanovii* is primarily associated with ruminant animals (Hellberg et al., 2013). The genus *Listeria* consists of 17 species and 4 subtypes on the basis of 16S rRNA sequences so far (Anonymous, 2017).

Listeriosis is one of the most important bacterial infections worldwide. This infection arises mainly from the consumptions of contaminated foods. According to reports of Centers for Disease Control and Prevention (CDC), an estimated 1.600 people get sick from *Listeria* each year, and about 260 die (Anonymous, 2018a). Furthermore, listeriosis affected about 2.200 people in 2015, causing 270 deaths. The highest number of this rates ever reported in the EU. The proportion of cases in the over 64 age group steadily increased from 56% in 2008 to 64% in 2015 (Anonymous, 2018b). In Turkey, listeriosis was first detected in 1945, but rare cases were reported in human, and the epidemic was not found (Anonymous, 2018c). *L. monocytogenes* is one of the most important pathogens responsible for food-borne illness which may result in meningitis, septicemia, spontaneous abortion, perinatal infections and gastroenteritis. *L. monocytogenes* is characterized into 13 different serotypes. 1/2a, 1/2b, 1/2c, and 4b are pathogenic serotypes of which 1/2a, 1/2b, and 4b are responsible for 98% human listeriosis. While 1/2a, 1/2b, 4b are isolated from the clinical cases, 1/2a is mostly isolated from foods (Soni et al., 2013; Barre et al., 2016; Reda et al., 2016). The major risk population groups at risk for invasive listeriosis are the immunocompromised such as pregnant women, unborn or newly delivered infants, organ

transplant recipients, cancer and AIDS patients, and the elderly, with fatality rates of 20-30% (Yehia et al., 2016; Phraephaisarn et al., 2017). Different environments such as soil, surface water, sewage, animal feed, farm environments, food processing equipments and environments, urban and suburban settlements are found be contaminated with *Listeria* spp. (Korsak and Szuplewska, 2016). Various food types such as raw and processed foods also can become contaminated with *Listeria* species. These foods are raw milk and dairy products, various meats and meat products such as beef, fermented sausages, fish products, ready-to-eat foods, and vegetables (Saludes et al., 2015).

Milk and dairy products have high nutritional value. Hence, these food products are very suitable for development of microorganisms, including pathogenic bacteria. *Listeria* species are commonly found in the dairy environment, on the farm and in the processing plants (Sarfaz et al., 2017). One of the most common paths for transmission of *L. monocytogenes* is raw milk in dairy industry. Pasteurization of milk which occurs at the temperature of 62.8 °C for 30 minutes and 71.7 °C for 15 seconds is enough to destroy *Listeria* spp. present in the population of 10² CFU/mL. Soft, white and fresh cheeses are also suitable for growth of *L. monocytogenes*. Moreover, in semi-hard cheeses are excellent for reproduction of *L. monocytogenes* (Kasalica et al., 2011). *L. monocytogenes* can be transmitted by the consumption of homemade cheeses which are produced from unpasteurized milk (Arslan and Özdemir, 2008). According to CDC reports annually, about 800 laboratory-confirmed cases of listeriosis linked to several types of cheeses are reported each year in the United States, and typically 3 or 4 outbreaks are identified. In 2017, 8 confirmed listeriosis were reported in the United States as a result of consume of raw milk cheeses, and 2 die occurred (Anonymous, 2018a). In accordance with Turkish Food Codex, there should not be any *L. monocytogenes* in each 25 g/mL of dairy products (Anonymous, 2011).

The aim of the present work was to provide information about *Listeria* spp. strains isolated from raw milk and dairy products produced in Ankara (Turkey), focusing on their prevalence, phenotypic and genotypic characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

In the period February 2016 to July 2016, a total of 110 samples of which 25 were raw milk, 25 pasteurized milk, 30 white cheeses, and 30 homemade cheeses, which were randomly purchased from various local bazaars and supermarkets in Ankara, Turkey. The food samples were transported to the laboratory under cold conditions on the sampling day and analyzed immediately.

Bacterial Strains and Culturing

Listerial strains isolated in this study and the reference strain (*L. monocytogenes* ATCC 7644) were propagated on Tryptic Soy Broth supplemented with 0.6% of yeast extract (TSB-YE) (Sigma, Germany). They were grown at 35 °C for 24 h. The initial isolates of strains were stored at -20 °C with 30% (v/v) glycerol (Merck, Germany).

The reference strain of *L. monocytogenes* ATCC 7644 was obtained from the culture collection of Food Microbiology Culture Collections, Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ankara University, Ankara, Turkey.

Isolation and identification of *Listeria* spp.

Isolation and identification of *Listeria* spp. were carried out according to the International Organization for Standardization (IS EN ISO 11290-1) procedure. Two-step method for enrichment of *Listeria* spp. was performed in accordance with the standard. 25 grams of cheeses were added to 225 mL of ½ Fraser broth (Merck, Germany) as the first selective enrichment medium. It was homogenized in a stomacher-400 (London, UK) at high speed for two minutes and incubated for 24±2 h at 30 ±1 °C. Similarly, 25 mL of milk was sampled and pH adjusted to neutral and thoroughly mixed with 1:10 ratio to ½ Fraser broth and incubated at

30±1 °C for 24 h. After first enrichment step, 0.1 mL of ½ Fraser broth culture was transferred to 10 mL of Fraser broth as a secondary enrichment medium and incubated at 37 °C for 48±2 h. At the same time, after primary enrichment incubation, a loopfull of culture was streaked onto ALOA (Agar *Listeria* Ottaiani Agosti) agar (Merck, Germany) and PALCAM (Polmixin Acriflavin Lithium Chloride Ceftazidime Aesculin Mannitol) agar (Merck, Germany) and incubated for 24-48 h at 37 °C. In a similar vein, incubation a loopfull of secondary enrichment culture was streaked onto ALOA and PALCAM agar plates and incubated, at 37 °C for 24-48 h. It was observed grey-green colonies with black background on PALCAM agar plates, which is typical for *Listeria* spp. Typical green-blue colored colonies with and without a distinctive opaque colonies were determined on ALOA agar. Three to five presumptive colonies from ALOA and PALCAM agar were re-streaked on Tryptic Soy Agar supplemented with 0.6% of yeast extract (TSA-YE) (Sigma, Germany) at 37 °C for 24-48 h. Typical colonies from TSA-YE (1 mm to 2 mm in diameter, convex, colourless and opaque) were subjected to standard biochemical tests including gram staining, determination of catalase activity, oxidase activity, and stabbed into *Listeria* Motility Medium (Sigma, Germany) at 25 °C and 35 °C for observing the characteristics umbrella motility. The isolated and characterized strains were identified using API *Listeria* test system according to the manufacturer recommendations (BioMerieux, France). The reference strain *L. monocytogenes* ATCC 7644 was used in all biochemical tests.

Molecular identification

Bacterial genomic DNA was extracted from the bacterial cells grown at 35 °C overnight in TSB-YE using genomic DNA extraction kit (Thermo Fisher Scientific), following the manufacturer's instructions. The DNA was stored at -20 °C. The primer pairs designated as 907r (CCGTCAATTCCTTTGAGTTT) and 27f (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) proposed by Beasley and Saris (2004) were used to amplify a 900 bp region in the 16S rRNA gene for the detection of *Listeria* genus. In addition, primer

pairs designated as F:GCAGTTGCAAGCGCTTGGAGTGAA and R:GCAACGTATCCTCCAGAGTGATCG were used to detect *L. monocytogenes* isolates harbouring *hlyA* gene that amplify a 456 bp fragment (Paziak-Domanska et al., 1999). Polymerase chain reaction (PCR) amplification was performed in 50 µL of a reaction mixture containing 5 µL of PCR buffer, 1 µL of 2 mM of deoxynucleoside triphosphate mix, 1 µL of each primer, 34.75 µL of sterile distilled water, 0.25 µL of Tag DNA polymerase, 4 µL of 25 mM MgCl₂ and 3 µL of the DNA template solution (Blaiotta et al., 2002). PCR amplification was carried out in a programmed ThermoCycler (Techne TC-512, Staffordshire, UK) with following by 35 cycles each, of 2 minutes denaturation at 95 °C, 45 sec annealing at 55 °C, 2 minutes extension for 72 °C, and final extension at 72 °C for 7 minutes. PCR products were electrophoresed in 1% agarose gel, stained with ethidium bromide at 80 V for 45 minutes and visualized under UV illuminator (SYNGENE, Biosystems UK). A 10000 bp DNA molecular ladder was included to determine the size of the amplified products.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 110 samples were examined for the presence of *Listeria* spp. using two step selective enrichment recommended by TS EN ISO 11290-1 method, which is based on biochemical identification of suspected colonies on ALOA and PALCAM agar plates. Of 110 samples analyzed, 23 were found as *Listeria* spp. positive. All isolates were found to be Gram positive, catalase positive, oxidase negative, and the characteristics umbrella motility was observed in a motility medium. In addition, API®*Listeria* test kit was used to species-level identification of 23 isolates (data not shown). The PCR results were used as final confirmation to identify of presumptive colonies isolated in this study (Figure 1). Incidence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* was summarized in Table 1. The counts of *Listeria* spp. were distributed as follows: 6.36% to *L. innocua*, 5.45% to *L. ivanovii*, 4.55% to *L. monocytogenes*, and 4.55% to *L. welshimeri*. All of the five *L. monocytogenes* isolates were determined to have the *hlyA* gene (Figure 2). The remaining

Listeria isolates tested negative for the *hlyA* gene according to PCR. *L. monocytogenes* was isolated from raw milk and homemade cheese in this study. The highest prevalence of *Listeria* spp. was detected in homemade cheese (9.09%), followed by raw milk (8.19%), and white cheese (3.64%). As it can be seen from Table 1, *L. innocua* was the most prevalent species isolated from the samples, which is followed by *L. ivanovii*. This finding was in agreement with earlier reports (Gebretsadik et al., 2011; Rahimi et al., 2012; Jamali et al., 2013). The incidence of *L. innocua* was 6.36%. *L. innocua* is an indicator of the presence of *L. monocytogenes*. Furthermore, this strain has been used as a surrogated for the study of *L. monocytogenes* in a variety of food systems (Milillo et al., 2012). *L. ivanovii* cause animal and human infections with *L. monocytogenes* (Seyoum et al., 2015). Incidence of *L. ivanovii* (5.45%) obtained in this study was also worrying. Therefore, this prevalence rate is a risk factor in human body causing infections. Moreover, the identification of non-pathogenic *Listeria* spp. in current study was important. These non-pathogenic species have been found to cause disease in both immunocompetent and immunocompromised individuals (Usman et al., 2016).

We did not found any *Listeria* spp. from pasteurized milk, in agreement with Sarker and Ahmed (2015). In contrast to our findings, 16.7% of unclean pasteurized milk was obtained by Silva et al. (2003). Natratilova et al. (2004) stated that *Listeria* spp. was found to be 5% in Czech Republic. In addition, 40% of pasteurized milk was found to be contaminated with *Listeria* spp. in Ethiopia (Seyoum et al., 2015). Contamination after pasteurization or faults of technology during pasteurization are responsible for the presence of *Listeria* spp., specially *L. monocytogenes*. These reports show that thermal process like pasteurization does not give any way guarantee the absolute safety of milk and dairy products.

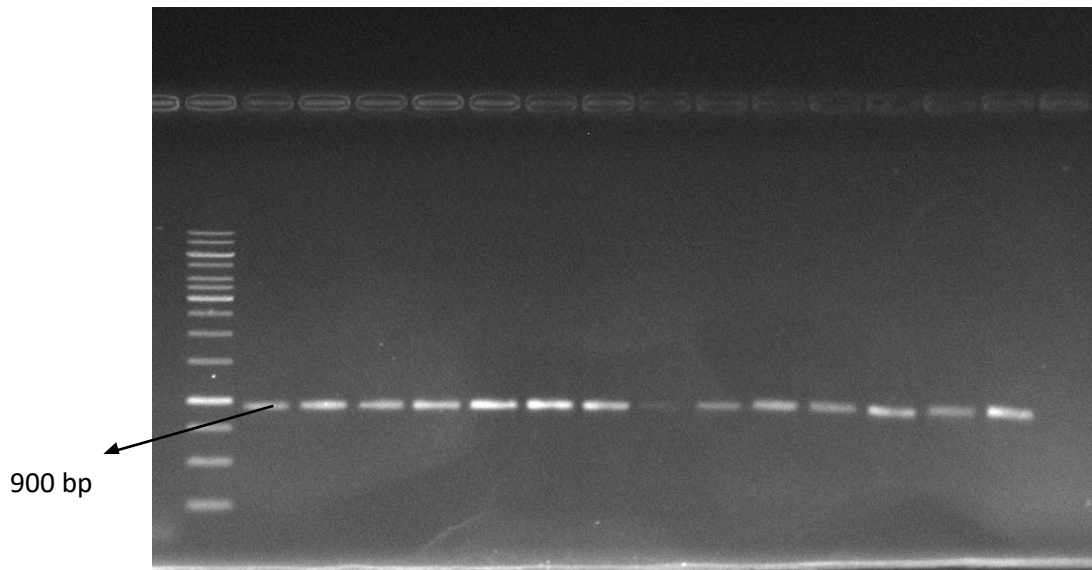


Figure 1. PCR screening of 16S rRNA gene from *Listeria* species
Lanes 1:10000 bp (O'Gene Ruler DNA marker); 2: Positive control (*L. monocytogenes* ATCC 7644); 3-15: L6, L10, L20, L28, L29, L32, L37, L38, L46, L47, L48, L49, L50; 16: Negative control

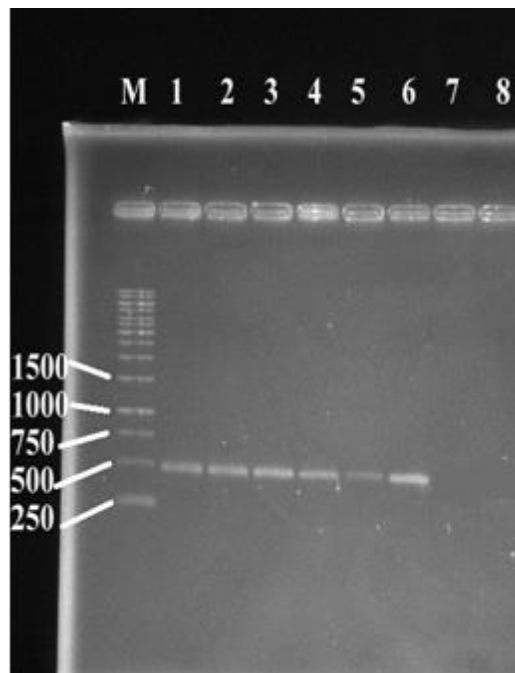


Figure 2. PCR screening of *hlyA* fragments from *L. monocytogenes*
Lanes M:10000 bp (O'Gene Ruler DNA marker); 1: Positive control (*L. monocytogenes* ATCC 7644); 2-6: L32, L37, L38, L46, L47; 7-8: Negative control

Table 1. Incidence of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. in raw milk and dairy products

Nature of Samples	Number of Samples	<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. innocua</i>		<i>L. ivanovii</i>		<i>L. welshimeri</i>		Total	
		n ^a	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Raw Milk	25	3	12.00	3	12.00	1	4.00	2	8.00	9	8.19
Pasteurized Milk	25	- ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-
White Cheese	30	-	-	1	3.33	1	3.33	2	6.67	4	3.64
Homemade Cheese	30	2	6.67	3	10	4	13.33	1	3.33	10	9.09
Total	110	5	4.55 ^c	7	6.36 ^c	6	5.45 ^c	5	4.55 ^c	23	20.91 ^c

^a number of positive samples

^b not detected

^c calculated for total of 110 samples

The contamination rate of *Listeria* spp. was observed in 36 % of raw milk samples. Among these contaminated samples, 12% harbored *L. monocytogenes*. The isolates *L. innocua* (12%), *L. welshimeri* (8%), and *L. ivanovi* (4%), were observed in raw milk. The number of the isolates of *L. monocytogenes* obtained in our study was not similar to the other investigators from Turkey. Vardar-Ünlü et al. (1998), Sağun et al. (2001), Aygun and Pehlivanlar (2006), Taşçı et al. (2010), Abay et al. (2012), Kevenk (2014), and Durmaz et al. (2015), reported that raw milk contained *L. monocytogenes* were found to be 4% in Sivas, 1.2 % in Van, 0% in Antakya, 2.4% in Burdur, 0% in Kayseri, 5% in Samsun, and 2.1% in Southeastern Anatolia, respectively. Our findings were higher than these results. Our results were also comparable to other surveys on raw milk conducted in other countries. Kongo et al. (2006) indicated that 1.9% of raw milk samples analyzed in Portugal were positive for *L. monocytogenes* and also no other *Listeria* spp. were isolated. Furthermore, isolation rates of *L. monocytogenes* from raw milk was 1.9% in Portugal (Kongo et al., 2006), 10.96% in Syria (Al-Mariri et al., 2013), 8.33% in Morocco (Marnissi et al., 2013), 5.8% in India (Soni et al., 2013), 2.04% in Ethiopia (Seyoum et al., 2015), 6.55% in Nigeria (Usman et al., 2016), and 1.46% in Cyprus (Botsaris et al., 2016).

Contamination of raw milk may occur in a dairy farm. In addition, the source of *L. monocytogenes*

contaminations could be: i) poor quality of silage, ii) inadequate cleanliness of animals, iii) poor hygienic conditions which could occur during milking, storage and transport, iv) infected cows in dairy farms (Marnissi et al., 2013; Telli et al., 2016).

In white cheese, *L. welshimeri* (6.67%), *L. innocua* (1.33%), and *L. ivanovi* (1.33%) were detected. The contamination rate of *Listeria* spp. was observed in 16 % of white cheese samples. *L. monocytogenes* was not isolated from white cheese. In other reports conducted with white cheese sold in Turkey, isolation rates of *L. monocytogenes* was 6% in Afyonkarahisar (Akkaya and Alisharli, 2006), 9.5% in Kayseri (Kum et al., 2011), 3% in Erzincan (Azak et al., 2012), 2% in Balıkesir (Gökmen et al., 2016), 15.77% in Tekirdağ (Kaptan, 2016), and 3.53% in Konya (Telli et al., 2016). These results mentioned above were higher than our findings. In contrast to our results, prevalence of *Listeria* spp. in white cheese sold in Turkey was 33.1% in Bolu (Arslan and Özdemir, 2008) and 21.5% in Tekirdağ (Kaptan, 2016). A lower incidence of *Listeria* spp. was found by Gökmen et al. (2016) in Balıkesir and Telli et al. (2016) in Konya, who determined that 14% and 8.85% of white cheese samples were contaminated, respectively. The prevalence of 16% obtained for *Listeria* spp. in this study was comparable to other surveys conducted in other countries on white cheese. Kongo et al. (2006) did

not detect *Listeria* spp. in cheese samples in Portugal. The report from Seyoum et al. (2015) indicated that 60% cheese samples were contaminated with *Listeria* spp. The study performed by Elshinaway et al. (2017), *Listeria* spp. was detected in 12.5% in the white cheese. Large numbers of viable *Listeria* cells present in milk are killed by heat treatment applied through cheese-making (Coroneo et al., 2016). However, cross contamination is a major problem during the cheese production. Contamination sources may be: i) the contaminated raw milk, ii) environment conditions and unclean equipments, and iii) insufficient heat treatment of milk to kill the organisms (Kasalica et al., 2011; Telli et al., 2016). In addition, there are several factors of reproducing of *Listeria* spp. and specially *L. monocytogenes* in cheese: i) the type and composition of cheese, ii) the resistance of *Listeria* to the decreased pH during cheese production, iii) moisture percentage, iv) salt percentage, v) ripeness of cheese, vi) storage conditions, and vii) starter cultures (Elshinaway et al., 2017).

The contamination rate of *Listeria* spp. was observed in 33.33% of homemade cheese samples. The most common species isolated in homemade cheese was *L. ivanovii* (13.33%); the remaining *Listeria* isolates were *L. innocua* (10%), *L. monocytogenes* (6.67%), and *L. welshimeri* (3.33%). In other report conducted with homemade cheeses in Turkey presented by Kaptan (2016) showed that 21.50% of homemade cheese samples were contaminated with *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* was the most prevalent species with 73.3% isolates recovered. In countries other than Turkey, the prevalence of *Listeria* spp. in traditional cheese samples was reported as 16.7% in Brazil (Silva et al., 2003), 12.2% in Brazil (Abrahao et al., 2008), 9.8% in Spain (Arrese and Arroyo-Izaga, 2012), 15% in Iran (Rahimi et al., 2012), 50% in Iran (Moosavy et al., 2014), and 10% in Egypt (Elshinaway et al., 2017). In this study, a higher frequency of *L. ivanovii* in homemade cheese than white cheese was observed. The highest presence of *L. ivanovii* in home-made cheese samples could be linked with listeriosis risk. Traditional cheeses are currently produced from pasteurized milk in modern dairy

industry. Small-sized factories produced dairy products may uncontrol and therefore, they produce non-hygienic cheeses (Kaptan, 2016).

CONCLUSIONS

The results of current study provide information about the contamination status of raw milk and dairy products sold in Ankara with *Listeria* spp. This study demonstrated that raw milk and dairy products was not safe for the presence of *Listeria* spp. We found that *L. innocua* was the most prevalent species, which is followed by *L. ivanovii*. The highest prevalence of *Listeria* spp. was found in homemade cheeses, followed by raw milk, and white cheese. According to microbiological criteria of cheese in Turkish Food Codex, *L. monocytogenes* must not found in cheese samples analyzed. However, in this present study, homemade cheeses were found with *L. monocytogenes*. *L. monocytogenes* was also isolated from raw milk. We suggest that hygienic conditions should still be enforced in order to minimize the count of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in dairy industry.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Ankara University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project number 15B0443010) for financial assistance. We also thank Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN (Ankara University) for supplying reference strain.

REFERENCES

- Abay, S., Aydın, F., Sümerkand, A.B. (2012). Molecular typing of *Listeria* spp. isolated from different sources. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 59: 183-190.
- Abrahao, W.M., Abrahao, P.R.S., Monteiro, C.L.B., Pontarolo, R. (2008). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Prana, Brazil. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 44: 289-296.
- Akkaya, L., Alişarlı, M. (2006). Afyonkarahisar'da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığının belirlenmesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 17(1-2): 87-91.

- Al-Mariri, A., AbouYounes, A., Ramadan, L. (2013). Prevalence of *Listeria* spp. in Raw Milk in Syria. *Bulg. J. Vet. Med.*, 16(2): 112-122.
- Anonymous. (2011). Resmi Gazete. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Sayı: 28157 (3. Mükerrer).
- Anonymous. (2017). Taxonomy Browser. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser>, Access Date: (24.03.2017).
- Anonymous. (2018a). Centers of Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/listeria/index.html>, Access Date: (09.02.2018).
- Anonymous. (2018b). EFSA European Food Safety Authority. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/161216>. Access Date: (09.02.2018).
- Anonymous. (2018c). Turkish Food Safety Association. <http://www.ggd.org.tr/icerik.php?id=340>. Access Date: (09.02.2018).
- Arrese, E., Arroyo-Izaga, M. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Idiazabal cheese. *Nutr. Hosp.*, 27(6): 2139-2141.
- Arslan, S., Özdemir, F. (2008). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in homemade white cheese. *Food Control*, 19: 360-363.
- Aygun, O., Pehlivanlar, S. (2006). *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. *Food Control*, 17: 676-679.
- Azak, M. G., Kılıç, H., Hızlısoy, H., Abay, S. (2012). Erzincan ili tulum peynirlerinden *Listeria* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 9(3): 149-156.
- Barre, L., Angelidis, A.S., Boussaid, D., Brasseur, E.D., Manso, E., Besse, N.G. (2016). Applicability of the EN ISO 11290-1 standard method for *Listeria monocytogenes* detection in presence of new *Listeria* species. *Int. J. Food Microbiol.*, 238: 281-287.
- Beasley, S. S., Saris, P. E. J. (2004). Nisin-Producing *Lactococcus lactis* Strains Isolated from Human Milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(8): 5051-5053.
- Blaiotta, G., Pepe, O., Mauello, G., Villani, F., Andolfi, R., Moschetti, G. (2002). 16S-23S rDNA intergenic spacer region polymorphism of *Lactococcus garviae*, *Lactococcus raffinolactis* and *Lactococcus lactis* as revealed by PCR and nucleotide sequence analysis system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 25: 520-527.
- Botsaris, G., Nikolaou, K., Liapi, M., Pipis, C. (2016). Prevalence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in cattle farms in Cyprus using bulk tank milk samples. *J. Food Saf.*, 36: 482-488.
- Coroneo, V., Carraro, V., Aissani, N., Sanna, A., Ruggeri, A., Succa, S., Meloni, B., Pinna, A., Sanna, C. (2016). Detection of Virulence Genes and Growth Potential in *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Ricotta Salata Cheese. *J. Food Sci.*, 81(1): M114-M120.
- Durmaz, H., Avcı, M., Aygün, O. (2015). The Presence of *Listeria* Species in Corn Silage and Raw Milk Produced in Southeast Region of Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 21:41-44.
- Elshinaway, S.H., Meshref, A.M.S., Zeinhom, M.M.A., Hafez, D.A.A. (2017). Incidence of *Listeria* Species in Some Dairy Products Inbeni-Suef Governorate. *Assiut. Vet. Med. J.*, 63: 5-13.
- Gebretsadik, S., Kassa, T., Alemayehu, H., Huruy, K., Kebede, N. (2011). Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in foods of animal origin in Addis Ababa, Ethiopia. *J. Infect. Public Health*, 4: 22-29.
- Gökmen, M., Akkaya, L., Kara, R., Önen, A. (2016). Prevalence of *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* in some ready to eat foods sold retail in Balıkesir. *Van Vet. J.*, 27(1): 31-36.
- Hellberg, R.S., Martin, K.G., Keys, A.L., Haney, C.J., Shen, Y., Smiley, R.D. (2013). 16S rRNA partial gene sequencing for the differentiation and molecular subtyping of *Listeria* species. *Food Microbiol.*, 36: 231-240.
- Jamali, H., Chai, L.C., Thong, K.L. (2013). Detection and Isolation of *Listeria* spp. And *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods with various selective culture media. *Food Control*, 32: 19-24.

- Kaptan, B. (2016). Prevalence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in Homemade Pottery Cheese. *Tekirdağ Ziraat Fak. Derg.*, 13: 80-87.
- Kasalica, A., Vukovic, V., Vranjes, A., Memisi, N. (2011). *Listeria monocytogenes* in milk and dairy products. *Biotechn. Anim. Husbandary*, 27(3): 1067-1082.
- Kevenk, T. O. (2014). Süt ve Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in İnsidensi, Serotiplendirilmesi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Samsun, Türkiye, 116 sayfa.
- Kongo, J. M., Malcata, F.X., Ho, A. J., Wiedmann, M. (2006). Detection and Characterization of *Listeria monocytogenes* in Sao Jorge (Portugal) Cheese Production. *J. Dairy Sci.*, 89: 4456-4461.
- Korsak, D., Szuplewska, M. (2016). Characterization on nonpathogenic *Listeria* species isolated from food and food processing environment. *Int. J. Food Microbiol.*, 238: 274-280.
- Kum, E., Yıldırım, Y., Ertaş, N. (2011). Kayseri'de Satışa Sunulan Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes* Varlığının Klasik Kültür Yöntemi ile Belirlenmesi. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 8(2): 105-109.
- Marnissi, B. E., Bennani, L., Cohen, N., Lalami, A.E. O., Belkhou, R. (2013). Presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and traditional dairy products marketed in the North-central region of Morocco. *Afr. J. Food Sci.*, 7(5): 87-91.
- Milillo, S. R., Friendly, E. C., Saldivar, J. C., Muthaiyan, A., O'Brian, C., Crandall, P. G., Johnson, M. G., Ricke, S. C. (2012). A review of the ecology, genomics, and stress response of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 52: 712-725.
- Momtaz, H., Yadollahi, S. (2013). Molecular Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh sea food samples in Iran. *Diagn. Pathol.*, 8: 149.
- Moosavy, M. M., Esmaceli, S., Mostafavi, E., Amiri, F.B. (2014). Isolation of *Listeria monocytogenes* from milks used for Iranian traditional cheese in Lighvan cheese factories. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 21(4): 728-729.
- Natratilova, P., Schlegelova, J., Sustackova, A., Napravnikova, E., Lukasova, J. (2004). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in milk, meat and foodstuff of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. *Vet. Med. Czech*, 49: 243-252.
- Odetokun, I.A., Adetunji, V.O. (2016). Prevalence and persistence of *Listeria monocytogenes* in dairy and other ready-to-eat food products in Africa. *Microbes in Food and Health*, 319: 349-361.
- Paziak-Domanska, B., Bogulawska, E., Wiekowska-Szakiel, M., Kotlowski, R., Rozalska, B., Chmiela, M., Kur, J., Dabrowski, W., Rudnicka, W. (1999). Evaluation of the API test, phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity and PCR method in identification of *Listeria monocytogenes* in meat foods. *FEMS Microbiol. Lett.*, 171: 209-214.
- Phraephaisarn, C., Khumthong, R., Takahashi, H., Ohshima, C., Kodama, K., Techaruvichit, P., Vvesaratchavest, M., Taharnklaew, R., Keeratipibul, S. (2017). A novel biomarker for detection of *Listeria* species in food processing factory. *Food Control*, 73: 1032-1038.
- Rahimi, E., Momtaz, H., Sharifzadeh, A., Behzadnia, A., Ashtari, M.S., Esfahani, S.Z., Riahi, M., Momeni, M. (2012). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Listeria* Species Isolated from Traditional Dairy Products in Chahar Mahal & Bakhtiyari, Iran. *Bulgarian J. Vet. Med.*, 15: 115-122.
- Reda, W.W., Abdel-Moein, K., Hegazi, A., Mohamed, Y., Abdel-Razik, K. (2016). *Listeria monocytogenes*: An emerging food-borne pathogen and its public health implications. *J. Infect. Dev. Ctries*, 10(2): 149-154.
- Sağun, E., Sancak, Y.C., İşleyici, Ö., Ekici, K. (2001). Van ve Çevresi Süt ve Otlı Peynirlerinde *Listeria* Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığı Üzerine Bir Araştırma. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25: 15-19.
- Saludes, M., Troncoso, M., Figuero, G. (2015). Presence of *Listeria monocytogenes* in Chilean food matrices. *Food Control*, 50: 331-335.

- Sarfaz, M., Ashraf, Y., Ashraf, S. (2017). A Review: Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of *Listeria* species in milk. *Matrix Sci. Med.*, 1(1): 03-09.
- Sarker, R., Ahmed, S. (2015). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Listeria* spp in Dairy Food Products and Water Samples in Dhaka, Bangladesh. *J. Life Sci.*, 9: 152-158.
- Seyoum, E.T., Woldetsadik, D.A., Mekonen, T.K., Gezahegn, H.A., Gebreyes, W.A. (2015). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw bovine milk and milk products from central highlands of Ethiopia. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 9: 1204-1209.
- Silva, I.M.M., Almeida, R.C.C., Alves, M.A.O., Almedia, P.F. (2003). Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *Int. J. Food Microbiol.*, 81: 241-248.
- Soni, D., Singh, R., Singh, D., Dubey, S. (2013). Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from Ganges water, human clinical and milk samples at Varanasi, India. *Infect. Genet. Evol.*, 14: 83-91.
- Taşçı, F., Türütoğlu, H., Öğütçü, H. (2010). Investigations of *Listeria* Species in Milk and Silage Produced in Burdur Province. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16: 93-97.
- Telli, N., Güner, A., Dönmez, F.S., Özdemir, Ö.Ö. (2016). Detection of the contamination sources of *Listeria monocytogenes* in pickled white cheese production process line and genotyping with the pulsed-field gel electrophoresis method. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 40: 630-636.
- TS EN ISO 11290-1:1996 Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*-Part 1: Detection method.
- Usman, U. B., Kwaga, J. K. P., Kabir, J., Olonitola, O.S. (2016). Isolation and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* from raw milk and milk products in Northern Kaduna State, Nigeria. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 4(3): 46-54.
- Vardar-Ünlü, G., Ünlü, M., Bakıcı, M.Z. (1998). Incidence of *Listeria* spp from raw milk in Sivas. *Tr. J. Medical Sci.*, 28: 389-392.
- Yehia, H.M., Ibraheim, S.M., Hassanein, W.A. (2016). Prevalence of *Listeria* species in some foods and their rapid identification. *Trop. J. Pharm. Res.*, 15: 1047-1052.

**A COMPARATIVE STUDY ON SOME PROPERTIES AND
OXIDATION STABILITY DURING STORAGE OF BUTTER
PRODUCED FROM DIFFERENT ANIMALS' MILK**

Deren Tahmas Kahyaoglu¹, Songül Cakmakci^{2*}

¹Kastamonu University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering, Kastamonu, Turkey

²Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Erzurum, Turkey

Received / Geliş: 20.08.2017; Accepted / Kabul: 02.02.2018; Published online / Online baskı: 08.03.2018

Tahmas Kahyaoglu, D., Cakmakci, S. (2018). A comparative study on some properties and oxidation stability during storage of butter produced from different animals' milk. GIDA (2018) 43 (2): 283-293 doi: 10.15237/gida.GD17081

ABSTRACT

In this study, butter produced from cow, sheep and goat cream and was examined during a 90 day storage period at 4°C. A total of 42 samples produced and were analysed at 1st, 15th, 30th, 45th, 60th, 75th and 90th days. It was found that butter type and storage period had significant effect on the pH value, titratable acidity, acid value, fat constants, peroxide and thiobarbituric acid values, β -carotene and vitamin A amounts of the butter samples. The pH value, iodine number, *b* value and vitamin A amounts decreased during the storage in all the types of butter, whereas titratable acidity, acid value, Reichert-Meissl, Polenske and saponification numbers and oxidation increased. β -carotene was detected only in butter produced from cow milk creams which decreased during storage. Sensory analysis points decreased in all the butter samples during the storage the highest point belonging to the butter produced from cows' milk.

Keywords: Butter, Oxidation stability, Vitamin, Storage, Butter analysis

**FARKLI HAYVAN SÜTLERİNDEN ÜRETİLEN TEREYAĞLARININ
DEPOLAMA SÜRESİNCE OKSİDASYON STABİLİTESİ VE BAZI
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE KARŞILAŞTIRMALI BİR ARAŞTIRMA**

ÖZ

Bu araştırmada, inek, koyun ve keçi sütü kremasından üretilen tereyağları, 4°C'de 90 günlük muhafaza süresince incelendi. Toplam 42 tereyağı örneği 1., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerde analiz edildi. Tereyağı çeşidi ve depolama süresinin, tereyağı örneklerinin pH değeri, titrasyon asitliği, asit değeri, yağ sabitleri, peroksit ve tiyobarbitürik asit değerleri, β -karoten ve A vitamini miktarları üzerinde önemli etkisi olduğu bulundu. pH değeri, iyot sayısı, *b* değeri ve A vitamin miktarı bütün tereyağı örneklerinde depolama süresince azalırken, titrasyon asitliği, asit değeri, Reichert-Meissl, Polenske ve sabunlaşma sayıları ve oksidasyon tüm tereyağı çeşitlerinde depolama süresince arttı. β -karoten sadece inek sütü kremasından üretilen tereyağında bulundu. Bütün tereyağı örneklerinde depolama süresince duyuşsal puanlar azaldı, en yüksek puanları inek sütünden üretilen tereyağları aldı.

Anahtar kelimeler: Tereyağı, Oksidasyon stabilitesi, Vitamin, Depolama, Tereyağı analizleri

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ cakmakci@atauni.edu.tr ; songulcakmakci@hotmail.com ☎ (+90) 442 231 2491, 📠 (+90) 442 231 5878

INTRODUCTION

Butter is a popular and high-fat dairy product that is usually made from cow's milk. It can also be produced from the milk of goats, sheep or buffalo. It has a pleasant and distinctive taste and odour. It can melt at body temperature, is easily digestible, and includes essential fatty acids, vitamin A and/or β -carotene. It is an important energy source, short-chain fatty acids are supply energy rapidly and has a very important place in human nutrition (IDF, 2008). There is an increase in demand for goat milk especially in developed countries due to allergy and gastro-intestinal disorders caused by cow's milk (Haenlein, 2004). Goat's milk presents some important functions in butter manufacture. It has a higher fat content of different composition and structure than that of cow's milk fat. The mostly short-chain fatty acids such as caproic, caprylic, and capric impart a characteristic odour, flavour, and texture to the goat's milk butter (Barlowska et al., 2001; Poutzalis et al., 2016). On the other hand, goat's milk butter has a characteristic white colour due to absence of carotenoids (Rodriguez et al., 2003). Because goats transform all β -carotene to vitamin A in the milk, goat milk is whiter than cow milk (Park et al., 2007). Goat and sheep milk have higher amounts of vitamin A than cow milk. In terms of the chemical composition, sheep milk is richer than any other milk type. It has a greater amount of lecithin and it is also rich in riboflavin though poor in vitamin C and nicotinic acid (Raynal-Ljutovac et al., 2008). Significant changes may occur to butter flavour during storage as a result of lipolysis and oxidation processes (Kashaninejad et al., 2017). Lipid oxidation is undesirable in most foods due to quality deterioration that includes changes in appearance, texture, shelf life and nutritional profiles, and development of off-flavours and potentially toxic reaction products (Ozturk and Cakmakci, 2006; Lim et al., 2015). Acidity and peroxide value are the most used parameters to determine these processes (Povolo and Contarini, 2003). β -carotene is an oil-soluble, natural pigment of many oils and has strong antioxidant activity. Thus, β -carotene captures free radicals, delaying potentially harmful oxidative reactions (Karabulut, 2010). The physico-chemical

properties of the butter are also related by the animal species. Thus, storage conditions are an important factor for preserving butter for consumption. The aim of this study were to determine the chemical properties, fat constants, oxidation stability, vitamin A and β -carotene amounts, colour and sensory properties of the butter samples made from cows', sheeps' and goats' milk during the storage period and to contribute to the literatures comparing the differences among these butter.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The cream used in the butter production was obtained locally from cows', sheeps' and goats' milk that were reared on the same vegetation of highlands of Erzurum Cat district, Turkey. Mesophilic aromatic starter culture containing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* was used for the butter production. The starter culture was obtained from Peyma-Hansen's Rennet Industry and Trade Inc. (Istanbul, Turkey) via its code DVS (50) CH Normal 22 (LD).

Stages of the preparation of fat samples are as follows: 50% fat cream (from cow's, sheep's and goat's milk); Pasteurization (85°C, 5 minutes) and cooling (18-20°C); Addition of starter culture (50 units/500 kg); Ripening; Churning (14-16°C); Washing with water; Mixing; Packaging (250 g for each storage period, first coating with stretch film, then wrapping with aluminium foil); Storage (4 \pm 1°C); Analysis (1st, 15th, 30th, 45th, 60th, 75th and 90th days).

The butter samples are coded as follows: C: butter made from cow's milk cream; S: butter made from sheep's milk cream; G: butter made from goat's milk cream.

Physico-chemical analysis and oxidation test methods

Dry matter and fat content of the butter samples were determined according to the methods used by Kurt et al. (2007) while pH and titratable acidity (lactic acid, %) were determined according to the methods used by Atamer (1993). Acid

value, iodine number, saponification number, refractive index, Reichert–Meissl number and Polenske number were determined according to the standard methods (AOAC, 1995). Thiobarbituric acid value (TBA value) was determined as described by Öztürk and Çakmakçı (2006) as mg malonaldehyde/kg butter. Peroxide value (PV) was determined as described by Atamer (1993).

Colour analysis

During the storage period of butter samples, colour measurements (L , a , b values) were made using Minolta colorimeter (Chroma Meter CR-200, Osaka, Japan). Measurements were made in three different locations based on the average value of the readings. Before the measurements, the device was calibrated with white calibration plate and all measurements were carried out by using chromium drying containers on a white board.

Determination of vitamin A and β -carotene amounts

The method described by Hulshof et al. (2006) was adapted as follows with slight modifications. The concentrations of β -carotene and vitamin A in butter samples was calculated by the external standard method using a β -carotene and vitamin A standards (Sigma Aldrich) and expressed as μg of β -carotene and vitamin A per 100 g of sample on a dry weight basis (Çakmakçı et al., 2014a).

Sensory analysis

Butter samples were evaluated using a sensory scale according to the methods of Bernotene et al. (1980) during the storage. Sensory criteria were developed taking the characteristics of butter into consideration. Eight panelists who were familiar with butter and were academic staff (ages were between 30 to 50) at the Department of Food Engineering (Atatürk University, Erzurum, Turkey) staffed in the evaluation of butter. Each panelist evaluated the butter samples for the six sensory characteristics including colour, texture, flavour, odour, rancid taste and general acceptability. All sensory characteristics were graded from 1 to 9 (1: poor, 9: excellent) on point scales. Panelists were also instructed to cleanse their palates between samples by using water and bread.

Statistical analysis

The experimental research design was done as follows: 3 (butter samples made from cows', sheeps' and goats' milk creams) \times 7 (storage period) \times 2 (replicates). Duncan multiple comparison test was applied to the results of the statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Physico-chemical properties and oxidation stability

The physico-chemical properties of the butter are also related by animal species. Lipids in sheep and goat milk have higher physical characteristics than in cow milk, but physico-chemical indices vary between different reports (Park et al., 2007). Table 1 shows the physico-chemical properties of the butter samples. There was no significant difference in the dry matter and fat contents of C, S and G samples. The results of dry matter and fat content of the butters were similar to those obtained by Sagdic et al. (2004). However, pH, titratable acidity and acid value showed significant differences in all varieties of butter. C samples had the highest pH and acid value. Titratable acidity of the S sample was significantly higher than those of other butters. The acidity and acid values increased during the storage period and the values were statistically determined as different. pH decreased during storage (Table 1). According to the results of variance analysis on pH, titratable acidity and acid value in the butter samples, butter type, storage period and butter type \times storage period interactions were found significant ($P < 0.01$).

Butter type and storage period were found significant ($P < 0.01$) in all fat constants of the all butter, whereas butter type \times storage period interactions was not significant ($P > 0.05$) in terms of Polenske number and refractive index. Reichert–Meissl number and Polenske number are used to determine the presence of short chain fatty acids (Kurt et al., 2007). In this study, Reichert Meissl numbers and Polenske numbers varied from 25.57 to 26.68 and from 1.01 to 2.15 in C and S samples, respectively. The highest values for Reichert Meissl number had sheep, goat and cow butter samples, respectively. The highest value for Polenske number had goat

butter sample and the cow butter sample had the lowest value (Table 2). The values increased in three types of butter during the storage period and compare favourably to those obtained by Sagdic et al. (2004) and Hayaloglu (1999) and Sengul et al. (1998). Goat milk may have higher Reichert Meissl and higher Polenske values than cow milk, suggesting that goat milk fat contains less soluble and more insoluble volatile fatty acid than cow milk fat, although there are different values in the literature for all three species. Cow milk has a higher saponification value and slightly greater refractive index than goat milk, which relates to the longer carbon chains and saturation of the fatty acids (Park et al., 2007). But in our study, goat butter was found a higher saponification value than cow butter. Goat milk has lower iodine

values, which reflects its greater amount on lower and unsaturated fatty acid (Park et al., 2007). In this study, the highest value was found in sheep butter. Park et al. (2007) was found similar result. Moreover, the highest values of saponification and Polenske number were found in the goat butter (Table 2). Short and medium chain fatty acids occur as a result of lipolysis; it causes rancidity which negatively affects the flavour of milk and dairy products (Deeth, 2006). Cow butter had the highest value of refractive index followed by sheep butter and goat butter. Average refractive index results were found in G (1.4571), S (1.4576) and C (1.4587) samples, starting from the lowest, respectively. Similarly, during the storage period values of refractive index increased (Table 2).

Table 1. Chemical properties of butter samples

Butter types	Storage time (days)	Dry matter (%)	Fat (%)	pH	Titrateable acidity (%)	Acid value (mg KOH/g fat)
C	1	82.90±0.14	81.65±0.21	5.67±0.00	0.13±0.01	0.56±0.00
	15	82.88±0.04	81.65±0.21	5.66±0.00	0.17±0.02	0.58±0.00
	30	82.92±0.09	81.80±0.00	5.64±0.02	0.21±0.00	0.60±0.00
	45	82.90±0.15	81.90±0.14	5.53±0.01	0.23±0.00	0.82±0.00
	60	82.93±0.07	81.90±0.14	5.48±0.02	0.26±0.00	0.97±0.00
	75	82.79±0.08	81.50±0.00	5.44±0.01	0.28±0.00	1.10±0.00
	90	82.82±0.03	81.50±0.00	5.35±0.00	0.31±0.00	1.27±0.00
Average		82.88±0.09a	81.70±0.19a	5.54±0.11c	0.23±0.06a	0.84±0.26c
S	1	82.94±0.06	81.65±0.21	4.97±0.00	0.31±0.00	0.45±0.00
	15	82.88±0.02	81.90±0.14	4.94±0.00	0.32±0.00	0.47±0.00
	30	82.84±0.06	81.65±0.21	4.92±0.00	0.34±0.01	0.58±0.00
	45	82.94±0.10	81.80±0.00	4.89±0.00	0.36±0.00	0.81±0.00
	60	82.88±0.13	81.90±0.14	4.87±0.01	0.39±0.00	0.97±0.00
	75	82.96±0.01	81.80±0.00	4.85±0.01	0.44±0.00	1.18±0.00
	90	82.77±0.03	81.80±0.00	4.83±0.03	0.51±0.00	1.38±0.00
Average		82.89±0.08a	81.78±0.14a	4.89±0.05b	0.38±0.06c	0.83±0.34b
G	1	82.76±0.00	81.50±0.00	4.96±0.00	0.22±0.01	0.45±0.00
	15	82.88±0.07	81.65±0.21	4.91±0.00	0.25±0.01	0.47±0.00
	30	83.00±0.01	81.75±0.35	4.88±0.00	0.29±0.01	0.58±0.00
	45	82.82±0.00	81.65±0.21	4.83±0.02	0.33±0.00	0.74±0.00
	60	82.82±0.06	81.80±0.00	4.80±0.00	0.36±0.00	0.89±0.00
	75	82.84±0.04	81.50±0.00	4.77±0.00	0.40±0.00	1.02±0.00
	90	82.88±0.06	81.65±0.21	4.76±0.00	0.43±0.01	1.19±0.00
Average		82.85±0.07a	81.64±0.17a	4.84±0.07a	0.32±0.07b	0.76±0.27a
Source	D.F.	ANOVA				
BT	2	0.60	1.07	10443.89**	1024.47**	1947.08**
S	6	0.82	0.87	201.44**	347.92**	41352.40**
BT × S	12	1.74	0.34	14.89**	6.11**	347.07**
Error	21					
Total	42					

C: Butter made from cow milk cream; S: Butter made from sheep milk cream; G: Butter made from goat milk cream
BT: Butter types; S: Storage time

The difference between the average in the same letter is statistically indistinguishable from each other.

** is significant at $P < 0.01$ probability levels.

Table 2. Fat constants values of butter samples

Butter types	Storage time (days)	Reichert-Meissl number	Polenske number	Refractive indice	Saponification number	Iodine number
C	1	25.21±0.02	0.80±0.00	1.4585±0.00	226.25±0.39	35.10±0.47
	15	25.33±0.02	0.85±0.07	1.4586±0.00	226.96±0.04	34.55±0.05
	30	25.55±0.04	0.95±0.07	1.4586±0.00	227.38±0.12	34.50±0.15
	45	25.64±0.05	1.00±0.00	1.4586±0.00	229.23±0.09	33.96±0.18
	60	25.72±0.02	1.05±0.07	1.4588±0.00	230.77±0.80	33.05±0.07
	75	25.77±0.04	1.20±0.00	1.4588±0.00	232.75±0.26	32.25±0.22
	90	25.83±0.04	1.25±0.07	1.4590±0.00	233.97±0.40	31.62±0.04
Average		25.57±0.22a	1.01±0.16a	1.4587±0.00c	229.61±2.88a	33.57±1.25b
S	1	26.50±0.00	1.30±0.00	1.4573±0.00	232.25±0.03	36.79±0.28
	15	26.57±0.08	1.40±0.00	1.4575±0.00	232.69±0.43	36.25±0.04
	30	26.62±0.02	1.45±0.07	1.4577±0.00	234.43±0.28	35.79±0.21
	45	26.68±0.00	1.50±0.00	1.4577±0.00	235.16±0.24	35.28±0.02
	60	26.73±0.02	1.60±0.00	1.4577±0.00	236.57±0.07	34.04±0.12
	75	26.79±0.00	1.70±0.00	1.4577±0.00	237.70±0.44	33.08±0.04
	90	26.87±0.04	1.80±0.00	1.4580±0.00	238.85±0.04	32.31±0.07
Average		26.68±0.12c	1.53±0.16b	1.4576±0.00b	235.38±2.38b	34.79±1.62c
G	1	26.08±0.02	1.95±0.07	1.4570±0.00	234.33±0.57	33.23±0.42
	15	26.12±0.00	2.00±0.00	1.4571±0.00	235.66±0.37	32.30±0.24
	30	26.18±0.00	2.05±0.07	1.4571±0.00	235.98±0.31	31.85±0.10
	45	26.25±0.00	2.15±0.07	1.4571±0.00	236.99±0.28	30.93±0.16
	60	26.29±0.01	2.20±0.00	1.4572±0.00	237.56±0.47	30.22±0.02
	75	26.35±0.00	2.35±0.07	1.4573±0.00	239.43±0.54	29.58±0.02
	90	26.42±0.02	2.40±0.00	1.4575±0.00	241.17±0.28	28.46±0.18
Average		26.24±0.11b	2.15±0.16c	1.4571±0.00a	237.30±2.27c	30.94±1.59a
Source	D.F.	ANOVA				
BT	2	3897.17**	2138.77**	253.26**	1644.88**	1407.24**
S	6	136.15**	81.77**	5.85**	294.03**	369.17**
BT × S	12	8.11**	0.27	0.24	3.90**	3.78**
Error	21					
Total	42					

C: Butter made from cow milk cream; S: Butter made from sheep milk cream; G: Butter made from goat milk cream ; BT: Butter types; S: Storage time

The difference between the average in the same letter is statistically indistinguishable from each other.

** is significant at $P < 0.01$ probability levels.

PV shows the amount of hydroperoxide which consisted in the primary stage of oxidative deterioration, while TBA value gives the amount of malonaldehyde at the advanced stages of oxidation. It is not possible to detect the malonaldehyde with peroxide tests since the hydroperoxides are transformed into malonaldehydes during the storage period (Atamer, 1993). Oxidative degradation (rancidity), which is known to be influenced by many factors including fatty acid profile, oxygen availability, light and temperature exposure, minor components in the oil/fat (Flakelar et al., 2015).

In this study, the highest value (0.25 meq O₂/mg fat) was defined in the butter samples made from goat's milk followed by sheep's and cow's and PV increased during the storage. In the butter samples made from cow's milk was not found 30 days of storage. PV and TBA values of sheep and goat butter were found higher compared to cow butter (Table 3). The highest PV and TBA values were determined in the goat butter followed by sheep and cow butter samples (Fig. 1a and Fig. 1b). The lowest TBA value was observed on the 1st and 15th days of storage, and it increased during storage (Table 3). The TBA value of cow butter

was similar to those given by Çakmakçı et al. (2014b). Our PV results were similar to those given by Povolo and Contarini (2003), Öztürk and Çakmakçı (2006), Şenel et al. (2011) and

Çakmakçı et al. (2014b) with the results of PV of cow butter samples. TBA value of sheep butter was similar to those given by Özkanlı and Kaya (2007).

Table 3. Colour properties and oxidation tests results of butter samples

Butter types	Storage time (days)	L value	a value	b value	PV (meq O ₂ /kg fat)	TBA value (mg malonaldehyde/kg fat)
C	1	84.63±0.16	-3.85±0.08	20.45±0.05	nd	0.01±0.00
	15	84.66±0.00	-3.70±0.01	19.80±0.02	nd	0.02±0.00
	30	84.59±0.02	-3.75±0.02	19.37±0.03	nd	0.05±0.00
	45	84.60±0.06	-3.81±0.02	18.86±0.05	0.05±0.00	0.08±0.01
	60	84.62±0.08	-3.79±0.00	18.78±0.04	0.13±0.02	0.11±0.00
	75	84.65±0.06	-3.82±0.03	18.73±0.04	0.20±0.04	0.13±0.00
	90	84.67±0.00	-3.89±0.00	18.48±0.24	0.27±0.01	0.15±0.00
Average		84.63±0.06c	-3.80±0.06a	19.21±0.68c	0.09±0.10a	0.08±0.05a
S	1	83.55±0.19	-3.84±0.06	11.84±0.09	nd	0.02±0.00
	15	83.47±0.14	-3.82±0.02	11.70±0.03	nd	0.03±0.00
	30	83.49±0.00	-3.79±0.06	10.78±0.04	0.14±0.02	0.09±0.01
	45	83.50±0.00	-3.81±0.11	10.71±0.07	0.27±0.00	0.19±0.01
	60	83.49±0.13	-3.73±0.01	10.58±0.12	0.32±0.00	0.23±0.01
	75	83.61±0.00	-3.77±0.05	10.39±0.02	0.37±0.00	0.25±0.00
	90	83.57±0.07	-3.65±0.05	10.28±0.00	0.49±0.03	0.27±0.00
Average		83.53±0.09a	-3.77±0.07a	10.90±0.59b	0.22±0.18b	0.15±0.09b
G	1	84.43±0.02	-3.77±0.03	9.79±0.04	nd	0.03±0.00
	15	84.47±0.00	-3.79±0.02	8.79±0.06	nd	0.04±0.00
	30	84.56±0.05	-3.69±0.02	8.61±0.04	0.18±0.01	0.14±0.01
	45	84.46±0.00	-3.72±0.00	8.28±0.02	0.28±0.00	0.30±0.00
	60	84.47±0.03	-3.74±0.05	7.79±0.00	0.34±0.00	0.33±0.01
	75	84.53±0.02	-3.80±0.00	7.68±0.01	0.42±0.01	0.39±0.01
	90	84.61±0.00	-3.84±0.01	7.50±0.01	0.55±0.01	0.43±0.00
Average		84.50±0.06b	-3.76±0.05a	8.35±0.76a	0.25±0.19c	0.23±0.16c
Source	D.F.	ANOVA				
BT	2	787.65**	2.65	83997.24**	393.66**	964.86**
S	6	1.29	1.99	541.84**	637.71**	767.35**
BT × S	12	0.51	4.21**	11.94**	28.61**	72.47**
Error	21					
Total	42					

C: Butter made from cow milk cream; S: Butter made from sheep milk cream; G: Butter made from goat milk cream; BT: Butter types; S: Storage time ; nd: non detectable

The difference between the average in the same letter is statistically indistinguishable from each other.

** is significant at $P < 0.01$ probability levels.

The natural yellowish colour of butter, mainly is derived from carotene (provitamin A) in the milk fat, which originates from the feed and animal species. In this study, in the case of three kinds of butter, L and b values were statistically different. The lowest L value was found in the sheep butter (83.53), while the highest b value was found in the cow butter (19.21). L values varied from 83.53 to

84.63 in S and C samples, respectively. b values varied from 8.35 to 19.21 in G and C samples, respectively. During the storage period, the change in L value was insignificant and the change in b value was found to be significant. a value showed small fluctuations (Table 3). The b value differs for all butter types. Because carotenoids are fat-soluble, fat colour is a function

of the carotenoid concentration in the butter (Kneifel et al., 1992). Carotenoids play a major role in the colour of dairy products. Goats convert the carotene in their diet to vitamin A more efficiently than cows do, producing whiter milk, cream, and butter (Jerop et al., 2014). Colour differences is mainly due caused by the differing β -carotene contents. Because, butter samples made from cows' milk contains more β -carotene, it is more yellow than other butter types. Moreover, the *b* value decreased during storage in all butter types. *b* value was higher than the values found by Özkanlı and Kaya (2007) and Krause et al. (2008).

Butter type and storage period were found significant ($P < 0.01$) in terms of vitamin A. The highest amount of vitamin A was found in the sheep butter sample (19.86 $\mu\text{g/g}$) followed by

goat and cow butter samples and it decreased during the storage period (Table 4; Fig. 1c). Vitamin A contents of goat and sheep butter samples are mostly higher than in cow butter (Table 4). Similar result was found by Park et al. (2007). Goats convert all β -carotene into vitamin A in the milk, for the same reason, goat milk is always whiter than cow milk (Park et al., 2007; Zenebe et al., 2014). The results of vitamin A in the butter samples made from cow's milk were similar to those given by Mallia et al. (2008) and Hulshof et al. (2006). β -carotene was only found in the butter samples made from cows' milk (5.03 $\mu\text{g/g}$). The results of β -carotene of the butter samples made from cows' milk were similar to those given by Hewavitharana et al. (1996) and Hulshof et al. (2006).

Table 4. β -carotene and vitamin A contents of butter samples

Butter types	Storage time (days)	β -carotene ($\mu\text{g/g}$)	Vitamin A ($\mu\text{g/g}$)
C	1	5.38 \pm 0.22	17.30 \pm 0.17
	30	5.10 \pm 0.05	16.78 \pm 0.08
	60	4.90 \pm 0.07	15.96 \pm 0.14
	90	4.74 \pm 0.12	15.35 \pm 0.21
Average		5.03 \pm 0.27a	16.35 \pm 0.80a
S	1	nd	20.67 \pm 0.18
	30	nd	20.03 \pm 0.09
	60	nd	19.55 \pm 0.09
	90	nd	19.21 \pm 0.14
Average		-	19.86 \pm 0.59c
G	1	nd	19.76 \pm 0.12
	30	nd	19.00 \pm 0.19
	60	nd	18.43 \pm 0.04
	90	nd	17.70 \pm 0.25
Average		-	18.72 \pm 0.81b
Source	D.F.	ANOVA	
BT	2	10709.37**	1029.27**
S	3	8.05**	148.80**
BT \times S	6	8.05**	2.00
Error	12		
Total	24		

C: Butter made from cow milk cream; S: Butter made from sheep milk cream; G: Butter made from goat milk cream; BT: Butter types; S: Storage time; nd: non detectable

The difference between the average in the same letter is statistically indistinguishable from each other.

** is significant at $P < 0.01$ probability levels.

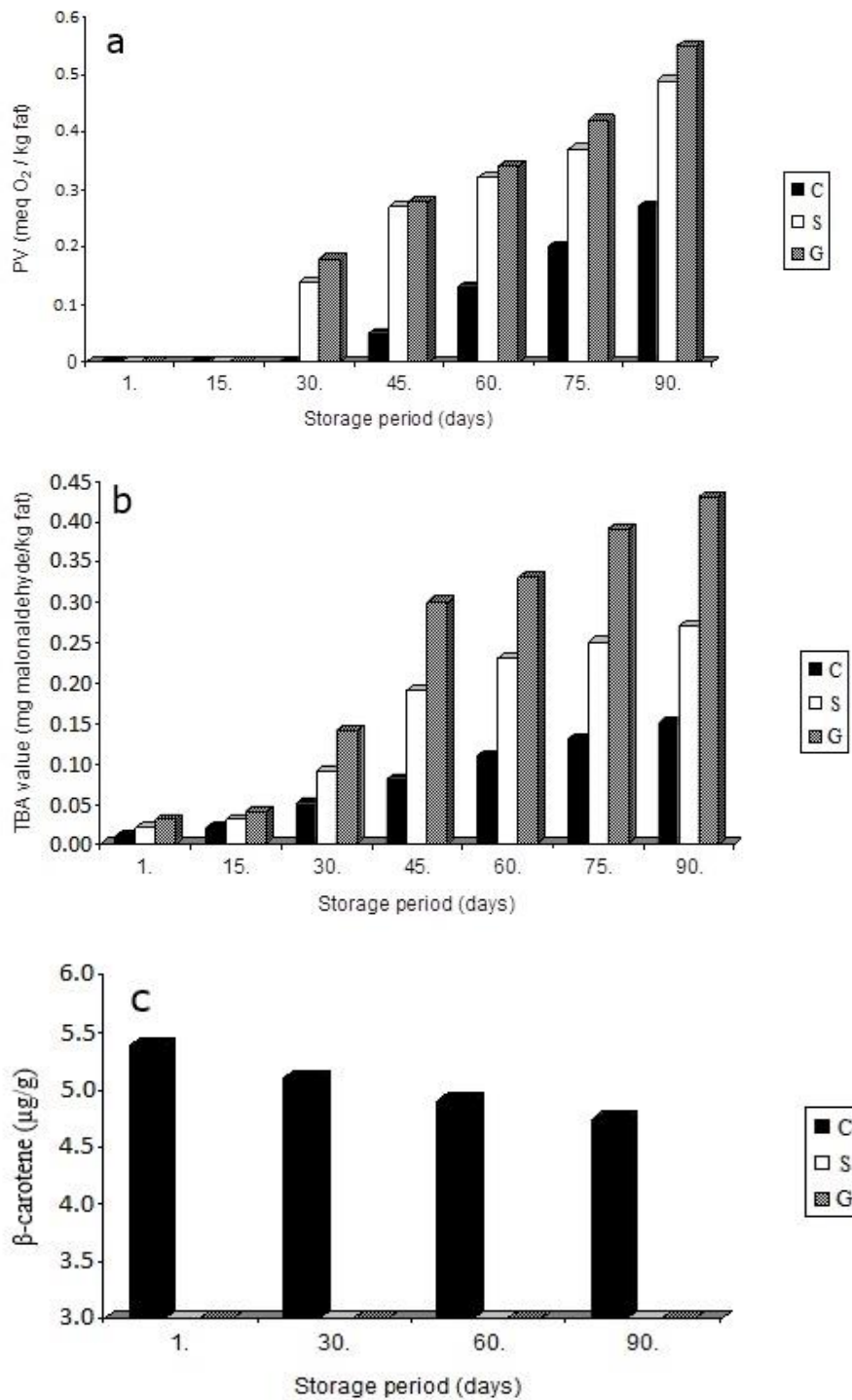


Figure 1 a) The effect of butter type and storage period on peroxide value; b) The effect of butter type and storage period on TBA value; c) The effect of butter type and storage period on β -carotene
 C: Butter made from cow's milk cream; S: Butter made from sheep's milk cream; G: Butter made from goat's milk cream

Sensory characteristics

Sensory scores for colour, texture, odour, flavour, rancid taste and general acceptability were significantly influenced by the storage period of all butter types (Table 5). Butter type, storage period and butter type \times storage period interaction showed statistically significant effects ($P < 0.01$) on sensory properties (in interaction, except general acceptability). The highest sensory scores in all kinds of butter were determined in the cow butter samples followed by goat and then sheep butter samples. During the storage period, reduction was observed in all sensory properties (Table 5). The reason for this may be due to the increase in the PV during the storage period. The scores of colour, texture and flavour of the butter samples were similar to those given by Şenel et al. (2011). Sensory characteristics showed strong positive correlation with pH (except rancid taste) and strong negative with titratable acidity. Sensory

characteristics also have weak positive correlation with Reichert-Meissl number, refractive indice and iodine number; however, we observed weak negative correlation between Polenske number and sensory characteristics. Saponification number was strong negative correlated with sensory characteristics. Sensory characteristics showed strong negative correlation between PV and TBA value, and strong positive with *b* value (except rancid taste) (Table 6). If the storage temperature cannot be preserved, there might be some important changes for the butter aroma as a result of lipolysis and oxidation. Sensory characteristics showed strong negative correlation between PV and TBA value, and strong positive with *b* value (except rancid taste). Lastly, sensory characteristics have weak positive correlation with *L* value, vitamin A and β -carotene, and weak negative with *a* value (Table 6).

Table 5. Sensory characteristics of butter samples

Butter types	Storage time (days)	Colour	Texture	Odour	Flavour	Rancid taste	General acceptability
C	1	8.83±0.24	8.33±0.24	8.16±0.00	8.24±0.12	9.00±0.00	8.33±0.24
	15	8.33±0.07	8.00±0.00	7.87±0.17	8.01±0.12	8.29±0.05	8.24±0.12
	30	8.26±0.07	7.92±0.11	7.75±0.00	7.79±0.11	7.71±0.19	7.74±0.08
	45	8.21±0.04	7.71±0.04	7.68±0.13	7.58±0.11	7.42±0.24	7.71±0.14
	60	8.20±0.06	7.66±0.02	7.56±0.00	7.41±0.02	7.16±0.02	7.45±0.04
	75	8.01±0.15	7.62±0.08	7.43±0.00	7.51±0.02	7.15±0.00	7.37±0.12
	90	7.93±0.09	7.56±0.00	7.10±0.10	7.10±0.10	6.24±0.26	7.00±0.00
Average		8.25±0.29c	7.83±0.27c	7.65±0.32c	7.66±0.37c	7.56±0.85c	7.69±0.46b
S	1	8.00±0.00	7.33±0.00	6.99±0.23	6.91±0.12	9.00±0.00	7.58±0.35
	15	7.16±0.00	7.33±0.11	6.67±0.04	6.76±0.02	7.87±0.05	7.27±0.02
	30	7.00±0.19	7.14±0.00	6.47±0.09	6.35±0.02	6.56±0.04	6.64±0.16
	45	6.89±0.05	7.10±0.10	6.53±0.31	6.09±0.08	6.18±0.00	6.31±0.42
	60	6.82±0.02	6.94±0.02	6.10±0.06	5.96±0.13	6.12±0.08	6.15±0.13
	75	6.46±0.04	6.70±0.07	5.99±0.21	5.68±0.04	5.52±0.09	5.93±0.00
	90	6.37±0.08	6.76±0.11	5.62±0.08	5.03±0.04	4.71±0.04	5.28±0.31
Average		6.95±0.52a	7.04±0.25a	6.34±0.46a	6.11±0.62a	6.56±1.38a	6.45±0.78a
G	1	8.49±0.23	8.49±0.23	7.79±0.05	7.62±0.05	9.00±0.00	7.95±0.06
	15	7.20±0.17	7.54±0.05	7.16±0.12	6.81±0.14	7.80±0.14	7.30±0.20
	30	6.99±0.10	7.31±0.14	6.78±0.09	6.51±0.09	6.47±0.19	6.66±0.08
	45	6.82±0.06	7.07±0.06	6.79±0.02	6.17±0.24	6.32±0.02	6.38±0.01
	60	6.76±0.02	6.93±0.00	6.37±0.08	6.18±0.09	6.23±0.02	6.29±0.06
	75	6.71±0.04	7.06±0.00	5.92±0.15	5.76±0.46	5.77±0.13	5.93±0.09
	90	6.46±0.04	6.92±0.24	5.78±0.04	5.57±0.37	5.48±0.07	5.34±0.22
Average		7.06±0.65b	7.33±0.54b	6.65±0.67b	6.37±0.68b	6.72±1.19b	6.55±0.83a
Source	D.F.	ANOVA					
BT	2	576.38**	176.91**	400.64**	355.09**	308.38**	204.44**
S	6	117.28**	57.08**	90.71**	69.71**	638.08**	92.27**
BT \times S	12	6.86**	7.42**	4.97**	3.40**	16.75**	2.99
Error	21						
Total	42						

C: Butter made from cow milk cream; S: Butter made from sheep milk cream; G: Butter made from goat milk cream

BT: Butter types; S: Storage time ; The difference between the average in the same letter is statistically indistinguishable from each other. ; ** is significant at $P < 0.01$ probability levels.

CONCLUSIONS

In conclusion, from the results obtained in this study butter made from cow milk is preferable than other varieties considering the chemical analysis, oxidation stability and sensory properties. While cows' butter was received the highest scores, sheeps' butter was the lowest scored by panelists due to its rancid and off-flavour. Moreover, when these results were evaluated collectively, the amount of vitamin A, oxidation stability and sensory characteristics decreased in all butter samples during the storage period. β -carotene was determined only in the butter samples made from cows' butter and the values decreased during storage. Therefore, the importance of consuming fresh butter is obvious.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Atatürk University Research Fund for supporting this research (BAP-Project Number: 2012/419). Also, the authors thank to Prof. Dr. Ali Adnan Hayaloglu (Inonu University, Food Engineering Department, Malatya, Turkey) and Prof. Dr. Ümit Demir (Atatürk University, Chemistry Department, Erzurum, Turkey) for their help in vitamin analysis.

REFERENCES

- AOAC (1995). Official Method of Analysis, 16th Edition, Washington, DC, USA.
- Atamer, M. (1993). *Tereyağı Teknolojisi Uygulama Kılavuzu*. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 1314, Ankara, Türkiye, s. 10-20.
- Barlowska, J., Szwajkowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J. (2011). Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 10(6): 291-302. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00163.x
- Bernotene, O.P., Grinene, E.K., Ignatavichene, R.B., Rekshtene, A.A., Lyibinskene, Y.S. (1980). Sensory evaluation of butter. *Molochnaya Promyshlennost*, 10: 26-29.
- Çakmakçı, S., Tahmas-Kahyaoglu, D., Erkaya, T., Cebi, K., Hayaloglu, A.A. (2014a). β -carotene contents and quality properties of set type yoghurt supplemented with carrot juice and sugar. *J Food*

Process Pres, 38(3): 1155-1163. DOI: 10.9775/kvfd.2013.10550

Çakmakçı, S., Gündoğdu, E., Dağdemir, E., Erdoğan, Ü. (2014b). Investigation of the possible use of black cumin (*Nigella sativa* L.) essential oil on butter stability. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20(4): 533-539. DOI: 10.9775/kvfd.2013.10550

Deeth, H.C. (2006). Lipoprotein lipase and lipolysis in milk. *Int Dairy J*, 16(6): 555-562. DOI: 10.1016/j.idairy.2005.08.011

Flakelar, C.L., Luckett, D.J., Howitt, J.A., Doran, G., Prenzler, P.D. (2015). Canola (*Brassica napus*) oil from Australian cultivars shows promising levels of tocopherols and carotenoids, along with good oxidative stability. *J Food Compos Anal*, 42: 179-186. DOI: 10.1016/j.jfca.2015.03.010

Haenlein, G.F.W. (2004). Goat milk in human nutrition. *Small Rumin Res*, 51(2): 155-163. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2003.08.010

Hayaloglu, A.A. (1999). Malatya Yöresinde Kremadan ve Yoğurttan Elde Edilen Çeşitli Tereyağlarının Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Nitelikleri Üzerine Karşılaştırmalı Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 85s.

Hewavitharana, A.K., Van Brakel, A.S., Harnett, M. (1996). Simultaneous liquid chromatographic determination of vitamins A, E and β -carotene in common dairy foods. *Int Dairy J*, 6(6): 613-624. DOI: 10.1016/0958-6946(95)00057-7

Hulshof, P.J.M., Roekel-Jansen, T., Bovenkampy, P., Westz, C. (2006). Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in The Netherlands. *J Food Compos Anal*, 19(1): 67-75. DOI: 10.1016/j.jfca.2005.04.005

IDF (International Dairy Federation) (2008). Nutritional quality of milkfat. International (Dairy Nutrition Website); pp 1-10.

Jerop, R., Kosgey, I.S., Ogola, T.D.O., Opondo, F.A. (2014). Consumers' perceptions towards goat's milk: Exploring the attitude amongst consumers and its implication for a dairy goat breeding programme in Siaya County, Kenya. *EJBM*, 6: 221-229.

- Karabulut, I. (2010). Effects of α -tocopherol, β -carotene and ascorbyl palmitate on oxidative stability of butter oil triacylglycerols. *Food Chem*, 123(3): 622–627. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.080
- Kashaninejad, M., Razavi, S.M.A., Tehrani, M.M., Kashaninejad, M. (2017). Effect of extrusion conditions and storage temperature on texture, colour and acidity of butter. *Int J Dairy Technol*, 70(1): 102–109. DOI: 10.1111/1471-0307.12273
- Kneifel, W., Ulberth, F., Chaffer, E. (1992). Tristimulus colour reflectance measurement in milk and dairy products. *Le Lait*, 72(4): 383–391. DOI: 10.1051/lait:1992427
- Krause, A.J., Miracle, R.E., Sanders, T.H., Dean, L.L., Drake, M.A. (2008). The effect of refrigerated and frozen storage on butter flavor and texture. *J Dairy Sci*, 91(2): 455–465. DOI: 10.3168/jds.2007-0717.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (2007). *Süt ve Mamülleri Muayene Analiz Metotları Rehberi*. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayın No: 257, Erzurum, Türkiye, s. 124–137.
- Lim, S.H., Kim, H.R., Choi, S.J., Moon, T.W. (2015). Lipid oxidation of sodium caseinate-stabilized emulsion-gels prepared using microbial transglutaminase. *Food Sci Biotechnol*, 24(6): 2023–2026. DOI: 10.1007/s10068-015-0267-9
- Mallia, S., Piccinali, P., Rehberger, B., Badertscher, R., Escher, F., Schlichtherle-Cerny, H. (2008). Determination of storage stability of butter enriched with unsaturated fatty acids/conjugated linoleic acids (UFA/CLA) using instrumental and sensory methods. *Int Dairy J*, 18(10–11): 983–993. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.05.007
- Özkanlı, O., Kaya, A. (2007). Storage stability of butter oils produced from sheep's non-pasteurized and pasteurized milk. *Food Chem*, 100(3): 1026–1031. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.10.052
- Öztürk, S., Çakmakçı, S. (2006). The effect of antioxidants on butter in relation to storage temperature and duration. *Eur J Lipid Sci Tech*, 108(11): 951–959. DOI: 10.1002/ejlt.200600089
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin Res*, 68(1–2): 88–113. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2006.09.013
- Poutzalıs, S., Anastasiadou, A., Nasopoulou, C., Megale mou, K., Sioriki, E., Zabetakis, I. (2016). Evaluation of the in vitro anti-atherogenic activities of goat milk and goat dairy products. *Dairy Sci Technol*, 96(3): 317–327. DOI: 10.1007/s13594-015-0266-x
- Povolo, M., Contarini, G. (2003). Comparison of solid-phase microextraction and purge-and-trap methods for the analysis of the volatile fraction of butter. *J Chromatogr A*, 985(1–2): 117–125. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)01395-X
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products. *Small Rumin Res*, 79(1): 57–72. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2008.07.009
- Rodríguez, A., Bunge, A., Castro, E., Sousa, I., Empis, J. (2003). Development and optimization of cultured goat cream butter. *J Am Oil Chem Soc*, 80(10): 987–992. DOI: 10.1007/s11746-003-0808-8
- Sagdic, O., Donmez, M., Demirci, M. (2004). Comparison of characteristic and fatty acid profiles of Traditional Turkish Yayık butters produced from goats', ewes' or cows' milk. *Food Control*, 15(6): 485–490. DOI: 10.1016/j.foodcont.2003.07.003
- Şenel, E., Atamer, M., Öztekin, Ş.F. (2011). The oxidative and lipolytic stability of Yayık butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt. *Food Chem*, 127(1): 333–339. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.01.012
- Şengül, M., Çakmakçı, S., Ünsal, M. (1998). Trabzon tereyağlarının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tespiti. Türkiye V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu: Geleneksel Süt Ürünleri, 21–22 Mayıs 1998, Tekirdağ, Türkiye, 427s.
- Zenebe, T., Ahmed, N., Kabeta, T., Kebede, G. (2014). Review on medicinal and nutritional values of Goat milk. *Acad J Nutr*, 3(3): 30–39. DOI: 10.5829/idosi.aj.n.2014.3.3.93210

**ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SİRMO
(*Allium vineale* L.), MENDİ (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.)
AND SİYABO (*Ferula rigidula* DC.)**

Şenol Köse* , Elvan Ocak

Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Van, Turkey

Received / Geliş: 27.11.2017; Accepted / Kabul: 22.02.2018; Published online / Online baskı: 08.03.2018

Köse, Ş., Ocak, E. (2018). Antimicrobial and antioxidant properties of sirmo (*Allium vineale* L.), mendi (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and siyabo (*Ferula rigidula* DC.). *GIDA* (2018) 43 (2): 294-302 doi: 10.15237/gida.GD17099

ABSTRACT

In the current study, antioxidative and antibacterial characteristics of the three various extracts such as methanol, ethanol and acetone of brine and fresh herbs containing Sirmo (*Allium vineale* L.), Mendi (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and Siyabo (*Ferula rigidula* DC.) were investigated. When antioxidant activity was measured using the 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) methods, the antimicrobial activity was measured by the agar well diffusion method. The DPPH values of all extracts ranged from 17.10±1.30 to 119.53±0.06 mg TEAC/kg lyophilized herb, while ABTS values ranged from 53.55±3.49 to 780.36±39.46 mg TEAC/kg lyophilized herb. It was determined that the extracts of Siyabo exhibited higher antibacterial activity in comparison to other plants. These results suggest that extracts of Sirmo, Mendi and Siyabo can be used as natural antimicrobials and antioxidants in food processing.

Keywords: Antimicrobial activity, antioxidant activity, fresh and brine herbs

**SİRMO (*Allium vineale* L.), MENDİ (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) VE
SİYABO (*Ferula rigidula* DC.)'NUN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİ**

ÖZ

Bu çalışmada, salamura ve taze Sirmo, Mendi ve Siyabo otlarının metanol, etanol ve aseton ekstraktlarının antioksidan ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenirken antimikrobiyel aktiviteleri agar kuyu difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Tüm ekstraktların ABTS değerleri 53.55±3.49 ile 780.36±39.46 mg TEAC/kg dondurarak kurutulmuş ot arasında değişirken, DPPH değerleri ise 17.10±1.30 ile 119.53±0.06 mg TEAC/kg dondurarak kurutulmuş ot olarak saptanmıştır. Siyabo ekstraktlarının diğer bitkilere kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Sirmo, Mendi ve Siyabo ekstraktlarının gıda işlemede doğal antimikrobiyeller ve antioksidanlar olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyel aktivite, antioksidan aktivite, taze ve salamura otlar

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ senolkose28@gmail.com,

☎ (+90) 432 225 1024,

☎ (+90) 432 225 1730

INTRODUCTION

It has been well known that plant spices have antimicrobial (Durmaz et al., 2006) and antioxidant activity since ancient times (Delaquis et al., 2002). In recent times, there is an increasing tendency in the antioxidant and antimicrobial role of vegetables, fruits, teas, wines, seeds and medicinal plants, that can be used as natural substances of antimicrobial and antioxidants (Dillard and German, 2000). The phenolic compounds in natural materials such as medicinal herbs, spices and plants has begun to gain more and more attention due to their antioxidant and antimicrobial activities (Cai et al., 2004; Dağdelen et al., 2014).

Especially in eastern Anatolia region of Turkey, Sirmo (*Allium vineale* L.), Mendi (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and Siyabo (*Ferula rigidula* DC.) are traditionally used in production of herbed cheese for their flavor and aroma (Ocak et al., 2015; Köse, 2015). They are usually collected from mountains in May and June and are added into the cheeses with two ways. Firstly, the herbs are used freshly after washing and cutting into small pieces. The second way is making pickle from herbs. Approximately 30 days later, they are ready to produce herby cheese. They can also be stored for one year at ambient temperature and these herbs can be used whenever needed (Kavaz et al., 2013).

The chemical, microbiological, antimicrobial and antioxidant characteristics of some herbs used in the production of Herby cheese were investigated by several authors (Akyüz et al., 1996; Ağaoglu et al., 2005; Sağun et al., 2005; Durmaz et al., 2006; Sağun et al., 2006; Çoruh et al., 2007; Çelik et al., 2008; Dağdelen, 2010; Dağdelen et al., 2014; Durmaz et al., 2015) However, in the reported studies, the effects of brine treatments on antioxidant and antimicrobial activity of herbs haven't been reported. Therefore, there is a need to examine the antimicrobial and antioxidant properties of herbs to compare treatments (fresh and brine), ensure product safety and produce high quality herby cheese.

The aim of this study was to evaluate *in vitro* antioxidant and antibacterial properties of methanol, ethanol and acetone extracts of fresh and brined Sirmo, Mendi and Siyabo.

MATERIALS AND METHODS

Herbs and preparation of extracts

The investigation material consists of three local herbs such as Sirmo (*Allium vineale* L.), Mendi (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and Siyabo (*Ferula rigidula* DC.) were used. These herbs are grown in Van province of Turkey.

The herbs were collected from mountain by villagers based on their own experiences and fresh herbs were sold in local markets. Samples were first washed with deionised water and then cut into small pieces. After that each herb was divided into two portions; the first portion (containing 20% whey in 10% brine) kept at 4 °C for one month and the second portion was placed in a freeze-drying device (Freeze-drier, Labconco, Czech Republic, Model:117) after being subjected to freezing at -18 °C (freezer) for 12 hours. One month later, brine herbs were subjected to freeze drying like fresh herbs.

Methanol, ethanol and acetone solvents were used to obtain extracts from herbs for antimicrobial activity tests. About 1.25 g of grounded lyophilized brine and fresh herbs were extracted individually with solvents by using Soxhlet extractor for 6 h at the boiling point of the solvents (Lin et al., 1999). The solvents (methanol, ethanol and acetone) were concentrated using a vacuum rotary evaporator (IKA RV 10 rotary evaporator, Germany) and the final volume was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO), then extracts were filtered using (Whatman no:1) filter paper and completed in 25 ml with DMSO. These stock solutions were kept at -18 °C until used.

For total phenolics and antioxidant activity extracts, 2.5 g of grounded lyophilized herb was put into a centrifuge tube, stirred with 22.5 mL of methanol and shaken in an incubator (Heidolph Unimax 1010, Germany) for 2 h in dark at 20 °C. After this, the homogenate was centrifuged at

9000 x g (Hettich Zentrifugen Universal 32 R, Germany) for 10 min at 20 °C and then supernatant was transferred into labeled sterile screw capped bottles. The above procedure was repeated twice using the pellet and then collected supernatants were combined. The supernatants were concentrated using a vacuum rotary evaporator (IKA RV 10, Germany) at 40 °C. The same procedure was repeated for ethanol and acetone extracts. Then residue was dissolved in 2 mL DMSO and the final volume was completed to 25 mL with methanol.

Bacterial cultures

Three Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 33186) and four Gram negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 11303, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729) were used in this study. Bacterial cultures were stored on Müller Hinton Agar (Oxoid) at +4 °C until use.

Antibacterial assay

An agar well diffusion method was used to determine the antibacterial activities of herb species (NCCLS, 1999). 50 mg/mL concentrations of all the extracts in DMSO solvents were used and sterilized by filtration (pore size 0.47 µm). All the microorganisms mentioned above were incubated at 37±0.1 °C for 24 h after inoculation into Mueller Hinton Broth (Oxoid). After the incubation, bacterial inoculum was diluted with sterile physiological solution with 0.5 Mc Farland turbidity standard tubes. Mueller-Hinton Agar was inoculated by 100 µL of prepared culture over the entire agar surface. One hundred microliters of extract solution was filled into the wells of agar plates directly. The plates were kept at 20-25°C for 2 h to enable diffusion of extracts and were incubated for 24 h at 37°C for all bacterial species. Standard antibiotic discs (6 mm in diameter) of Tetracycline (30 µg) and Ampicillin (10 µg) were used as positive controls for comparison. Methanol, ethanol, acetone and DMSO solvents were also tested as negative controls.

Antibacterial activity of the extracts were evaluated by measuring the inhibition zone against tested organisms. Each assay was performed in triplicate.

Determination of total phenolic compounds

The total phenolic content of extracts were analysed by the Folin-Ciocalteu method (Yemiş et al., 2008). A total of 150 µL sample extract and 3.0 mL (of 2%) sodium carbonate (w/v in water) were transferred into a test tube. After about two minutes 150 µL Folin-Ciocalteu's reagent (1:1, v/v in water) was added and mixed thoroughly. The reaction was kept in the dark for 45 min at room temperature. The absorbance values of the mixture was recorded at 765 nm in a spectrophotometer (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan). Each assay was performed in triplicate. Gallic acid was used to calculate calibration curve and the results were expressed as mg of gallic acid equivalents per kg of lyophilized herb (mg GAE/kg of lyophilized herb).

Antioxidant activity

DPPH assay

The free radical scavenging activity of the extracts of various herb species were measured using DPPH· free radical scavenging method (Brand-Williams et al., 1995) with slight modifications. 100 µL of the herb extract were added to 2.4 mL of DPPH solution (25 mg DPPH/L methanol). The mixture was shaken vigorously and maintained in dark for 30 min. After the incubation, the absorbance of resulting solution was recorded at 520 nm in a spectrophotometer. Results were expressed as mg Trolox (Sigma-Aldrich, Canada) equivalent antioxidant capacity (TEAC) per kg of lyophilized herb. Methanol was used instead of the sample for the control measurements.

ABTS assay

ABTS (Sigma-Aldrich, Canada) radical cation solution was prepared by reacting 7.0 mM ABTS stock solution with 2.45 mM (final concentration) potassium persulfate for 16 h in the dark at room temperature until reaching a stable oxidative state (Re et al. 1999). Then the ABTS⁺ solution was diluted with methanol to get an absorbance of

Antimicrobial and Antioxidant Properties of Sirmo, Mendi and Siyabo

0.700 ± 0.020 at 734 nm. For the spectrophotometric assay, a diluted solution of ABTS⁺ (2.9 mL) and 100 mL of herb extract in methanol was mixed thoroughly and the absorbance was determined at 734 nm at 6 min after mixing. Results were expressed in terms of mg TEAC per kg lyophilized herb.

Statistical analysis

Data were recorded as means ± standard deviation of triplicate measurements. SAS version 9.3 (SAS, 2012) was used to analyse statistical calculations. Duncan multiple comparison test

was performed on herb species and the effect of main treatments was determined. Statistical differences were considered significant at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Antimicrobial activity

Table 1 shows the results of the antimicrobial activity of plant extracts. The inhibition zones varied depending on the nature of solvent, plant species, treatments of plant species used for extraction and bacterial species.

Table 1. Antibacterial activities of herb extracts obtained using different herb species and solvents

Plant species	Treatments	Extracts	Inhibition zone diameter (mm)						
			Sa	Bc	Ef	Ec	St	Pa	Ye
Sirmo	Fresh	Methanol	19	15	-	14.50	-	12.50	10.50
		Ethanol	16	10	-	9.50	-	17	15.25
		Acetone	13	7	-	7.50	-	13.50	8.25
	Brine	Methanol	19.50	17	8.25	19	-	17	13.50
		Ethanol	16.50	13	7	14.25	-	18	18.50
		Acetone	13.50	9	-	12.50	-	17.25	11.50
Mendi	Fresh	Methanol	18	13	-	13.25	-	18.50	-
		Ethanol	16	8	-	11.50	-	20	7.50
		Acetone	12	-	-	8.50	-	12	-
	Brine	Methanol	18.50	16	-	18	-	16.25	8.50
		Ethanol	16.25	11	-	17.50	-	20	10.75
		Acetone	13	8	-	13.50	-	13.25	7.25
Siyabo	Fresh	Methanol	21	17	-	13.50	-	20.50	9.50
		Ethanol	19.50	12	-	18	-	19	11
		Acetone	18.50	8	-	11.50	-	15.25	7.50
	Brine	Methanol	23.50	19	10.50	20	7	17.25	12.50
		Ethanol	21	14	7.75	21	9.25	19.50	14
		Acetone	21	10	-	18	-	14.25	10.50
Positive controls									
Tetracycline (30µg)			40	23	20	20	21	10	28
Ampicillin (10µg)			30	10.50	27	21	24	-	12
Negative controls									
Methanol			-	-	-	-	-	-	-
Ethanol			-	-	-	-	-	-	-
Acetone			-	-	-	-	-	-	-
DMSO			-	-	-	-	-	-	-

Bacteria: Sa, *Staphylococcus aureus*; Bc, *Bacillus cereus*; Ef, *Enterococcus faecalis*; Ec, *Escherichia coli*; St, *Salmonella typhimurium*; Pa, *Pseudomonas aeruginosa*; Ye, *Yersinia enterocolitica*

-: No inhibition zone.

In general, methanol extracts of the three species were found to be more efficient than other extracts on Gram positive and negative bacterias. These results are in accordance with those from previous studies of plants for antimicrobial activity, where it was reported that methanol is a good solvent for extraction of antibacterial substances from plants in comparison with other solvents (Ahmad et al., 1998; Eloff et al., 1998; Ojala et al., 2000).

Methanol extracts of brine Siyabo showed the largest inhibition zone against *S. aureus* (23.50 mm). The fact that methanol extract of Siyabo has higher antibacterial activity may be due to the high content of phenolics in this plant (Table 2).

Sirmo and Siyabo extracts had weak antibacterial activity and Mendi extracts didn't have any antibacterial activity on *E. faecalis*. Also, Siyabo extracts had weak antibacterial activity, Sirmo and Mendi didn't have any antibacterial activity on *S.typhimurium*.

All of fresh and brine herb extracts showed higher antibacterial activity than reference antibiotics

against *P. aeruginosa*. Therefore, extracts from these plants could be used as natural food preservatives, which could inhibit growth of *P. aeruginosa*. Solvents (negative control) used for extraction showed no activity against any bacteria tested.

Brine Siyabo extracts had higher antibacterial activity than Sirmo and Mendi extracts against both Gram positive and negative bacterias. The higher antibacterial activity of this extract may be due to the higher terpenes of this plant. The most abundant terpenes in Siyabo are α -terpinene, α -pinene, L-limonene (Dağdelen, 2014) and these compounds have been reported to antibacterial ability (Griffin et al., 1999).

Total phenolic compounds and radical-scavenging activities

Total phenolic compounds of various solvent extracts were shown in Table 2. Total phenolics of herb species ranged from 14.99 ± 0.86 to 164.20 ± 3.44 mg GAE/kg lyophilized herb. While methanol extract of fresh Siyabo had the highest total phenolic, acetone extract of brine Mendi had the lowest total phenolic.

Table 2. Total phenolic compounds (mg of GAE/kg lyophilized herb) of herb extracts obtained using different herb species and solvents

	Solvents	Herb species		
		Sirmo	Mendi	Siyabo
Fresh	Methanol	89.99 ± 4.65^{aB}	101.50 ± 6.29^{aB}	164.20 ± 3.44^{aA}
	Ethanol	42.36 ± 3.37^{bB}	32.21 ± 0.98^{bC}	100.24 ± 4.25^{bA}
	Acetone	33.52 ± 1.33^{bB}	23.26 ± 1.25^{bC}	52.75 ± 2.58^{cA}
	General Average	55.29 ± 27.29^{aB}	52.32 ± 38.41^{aB}	105.73 ± 50.09^{aA}
Brine	Methanol	90.79 ± 0.47^{aB}	38.77 ± 1.13^{aC}	141.19 ± 5.23^{aA}
	Ethanol	35.22 ± 1.41^{bB}	28.23 ± 0.52^{bC}	58.19 ± 1.62^{bA}
	Acetone	25.00 ± 1.41^{cB}	14.99 ± 0.86^{cC}	30.00 ± 1.49^{cA}
	General Average	50.34 ± 31.68^{aAB}	27.33 ± 10.68^{aB}	76.46 ± 51.77^{aA}

Data values are expressed as means \pm standard deviation, Values in the same column followed by a different letters (a-c) are significantly different ($P < 0.05$), Values in the same row followed by a different letters (A-C) are significantly different ($P < 0.05$), General averages were also evaluated between themselves ($P < 0.05$).

The amounts of total phenolics found in the methanol extracts were at very high concentrations in comparison to other solvents. These results are in accordance with those from previous literature (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007; Dağdelen et al., 2014). Total phenolic compounds in the methanol extracts ranged from 38.77 (in Mendi) to 164.20 (in Siyabo) mg of GAE/kg lyophilized herb.

The average total phenolic content of fresh herbs were found to be higher than brined samples of herbs. Similarly, Durmaz et al. (2015) reported that dried Sirmo and Mendi herbs contain higher levels of total phenolics than that in brined samples of the herbs.

According to the findings obtained from the herb extracts, total phenolic compounds were found to be lower than some dried fruits (apple, peach, quince, orange, grapefruit, kiwi, banana, cantaloupe, watermelon, strawberries and tomatoes) (Ertekin Filiz and Seydim, 2014) and some vegetables (mint, *eruca sativa*, *lepidium sativum*, *rumex acetosa*, *portulaca oleracea*, dill, chicory, and parsley) (Barut Uyar et al., 2013).

Both DPPH and ABTS assays are widely used for evaluating antioxidant activities of natural extracts (Dağdelen et al., 2014). Antioxidant activities of different extracts expressed as mg TEAC/kg lyophilized herb (Table 3 and 4).

Antioxidant activity ranged from 17.10 to 120.21 mg TEAC equivalents/kg lyophilized herb weight and ethanol extract of fresh Siyabo exhibited the highest antioxidant activity (120.21 mg TEAC/kg lyophilized herb), followed by methanol extract of fresh Siyabo (118.36 mg TEAC/kg lyophilized herb) with the DPPH method. Similarly, it was determined that the ethanol extract of Siyabo gave the highest results among the solvents used by Dağdelen et al., (2010).

DPPH relatively stable organic radical, has been widely used in the determination of antioxidant activity of single compounds, as well as of various herb extracts (Katalinic et al., 2006). Antioxidant activity determined by ABTS showed the same relationships as did DPPH method, but TEAC values were higher.

Table 3. Antioxidant activities of herb extracts obtained using different herb species and solvents determined by the DPPH methods (mg TEAC/kg lyophilized herb)

	Solvents	Herb species		
		Sirmo	Mendi	Siyabo
Fresh	Methanol	94.13±4.58 ^{aB}	114.60±0.55 ^{aA}	118.36±1.10 ^{aA}
	Ethanol	26.59±0.73 ^{bC}	36.47±1.94 ^{bB}	120.21±0.12 ^{aA}
	Acetone	21.78±0.83 ^{bC}	27.71±0.47 ^{cB}	74.46±1.41 ^{bA}
	General Average	47.50±36.25 ^{aB}	59.59±42.80 ^{aB}	104.34±23.17 ^{aA}
Brine	Methanol	73.32±0.18 ^{aB}	57.60±2.75 ^{aC}	119.53±0.06 ^{aA}
	Ethanol	46.00±0.71 ^{bB}	24.61±0.72 ^{bC}	79.54±1.15 ^{bA}
	Acetone	25.00±0.71 ^{cA}	17.10±1.30 ^{cB}	24.62±0.73 ^{cA}
	General Average	48.11±21.68 ^{aAB}	33.10±19.32 ^{aB}	74.56±42.62 ^{aA}

Data values are expressed as means±standard deviation, Values in the same column followed by a different letters (a-c) are significantly different ($P < 0.05$), Values in the same row followed by a different letters (A-C) are significantly different ($P < 0.05$), General averages were also evaluated between themselves ($P < 0.05$).

Table 4. Antioxidant activities of herb extracts obtained using different herb species and solvents determined by the ABTS methods (mg TEAC/kg lyophilized herb)

	Solvents	Herb species		
		Sirmo	Mendi	Siyabo
Fresh	Methanol	376.14±0.00 ^{aC}	642.40±1.34 ^{aB}	780.36±39.46 ^{aA}
	Ethanol	157.22±3.55 ^{bB}	114.40±5.59 ^{bC}	345.10±1.41 ^{bA}
	Acetone	141.97±1.34 ^{cB}	106.56±2.54 ^{bC}	179.82±2.47 ^{cA}
	General Average	225.10±117.20 ^{aA}	287.80±274.72 ^{aA}	435.10±278.03 ^{aA}
Brine	Methanol	264.67±0.00 ^{aB}	122.45±8.80 ^{aC}	655.95±1.88 ^{aA}
	Ethanol	77.22±3.55 ^{bB}	55.56±0.00 ^{bC}	153.68±4.44 ^{bA}
	Acetone	71.97±1.34 ^{bB}	53.55±3.49 ^{bC}	94.23±0.55 ^{cA}
	General Average	137.95±98.20 ^{aAB}	77.19±35.33 ^{aB}	301.29±276.01 ^{aA}

Data values are expressed as means±standard deviation, Values in the same column followed by a different letters (a-c) are significantly different ($P < 0.05$), Values in the same row followed by a different letters (A-C) are significantly different ($P < 0.05$), General averages were also evaluated between themselves ($P < 0.05$).

Antioxidant activity values of herb varieties ranged from 53.55 to 780.36 mg TEAC/kg lyophilized herb with the ABTS method. Methanol extract of fresh Siyabo antioxidant activity determined according to this method, showed the highest antioxidant concentration (780.36 mg TEAC/kg lyophilized herb).

Differences in antioxidant activity between the investigated herbs may be due to the variation in antioxidant species as well as polarity and solubility behaviors. Phenolic compounds are the major components responsible for the antioxidant activity of herbs (Rice-Evans et al., 1996).

According to the findings obtained from the herb extracts, DPPH and ABTS values were found to be lower than leaf and flower extracts of *A. roseum* (Najja et al. 2011). In another study, Çoruh et al. (2007) studied antioxidant capacity of *C. macropodium* from Van province in Turkey and found that 50% inhibitory concentration (IC50) values were 0.623 and 0.852 mg/mL for DPPH radical scavenging and lipid peroxidation inhibition, respectively. Antioxidant activities of the leaves and flowers extracts of *C. macropodium* from Isfahan province in Iran were found 196.8

and 167.1 µg/mL as IC50 values for DPPH test from Ebrahimabadi et al. (2010), respectively. The antioxidant activities of *C. macropodium* obtained from these studies cannot be compared with those obtained from our study because their values given in different units.

CONCLUSION

As a result, utilization of methanol and ethanol play a vital role in the extraction of plant constituents. Therefore, the total phenolic compounds, antibacterial and antioxidant activity found in the methanol and ethanol extracts of herbs were determined as very high in comparison to acetone extracts.

Studied extracts of herbs had antibacterial activity against Gram positive and negative bacterias. Antibacterial ability of the extracts might depend on their some phenolics and other bioactive components. This investigation is first study on the antibacterial and antioxidant activity of fresh and brine herbs studied. The compounds responsible for the antimicrobial and antioxidant ability are still unclear. Therefore, further phytochemical investigations are needed to determine, isolate and characterize the bioactive components.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported as financial by Coordination Unit of Scientific Research Projects of Yuzuncu Yil University (Project Number: BAP-2012-FBE-D057).

REFERENCES

- Ağaoğlu, S., Dostbil, N., Alemdar, S. 2005. The antibacterial efficiency of some herbs used in Herby Cheese. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16(2):39-41.
- Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammad, F. 1998. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *J Ethnopharmacol*, 62, 183–193.
- Akyüz, N., Coşkun, H., Andiç, S., Altun, İ. 1996. Some general characteristics of pickled herbs used in making Van herby cheese. *YYÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6(1): 35-41.
- Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem*, 102: 1233–1240.
- Barut Uyar, B., Gezmen-Karadağ, M., Şanlıer, N., Günyel, S. 2013. Toplumumuzda sıklıkla kullanılan bazı bitkilerin toplam fenolik madde miktarlarının saptanması. *GIDA*, 38(1): 23-29.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 28 (1): 25-30.
- Cai, Y.Z., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74:2157–2184.
- Çelik, S.E., Özyürek, M., Altun, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., Berker, I., Özgökçe, F., Apak, R. 2008. Antioxidant capacities of herbal plants used in the manufacture of Van herby cheese: "Otlu Peynir". *Int J Food Prop*, 11: 747–761.
- Çoruh, N., Sağdıçoğlu Celep, A. G., Özgökçe, F. 2007. Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from *Apiaceae* family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food Chem*, 100: 1237-1242.
- Dağdelen, Ş. 2010. Otlu Peynire Katılan Önemli Ot Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Dağdelen, S., Bilenler, T., Durmaz, G., Gökbulut, I., Hayaloğlu, A.A., Karabulut, I. 2014. Volatile composition, antioxidant and antimicrobial activities of herbal plants used in the manufacture of Van Herby (Otlu) cheese. *J Food Process Pres*, 38: 1716-1725.
- Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol*, 74:101–109.
- Dillard, C.D., German, J.B. 2000. Phytochemicals: Nutraceutical and human health. *J. Sci. Food Agric*, 80:1744–1756.
- Durmaz, H., Sağun, E., Tarakçı, Z., Özgökçe, F. 2006. Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodium* and *Prangos ferulacea*. *Afr J Biotechnol*, 5 (19): 1795-1798.
- Durmaz, H., Aygün, O., Sancak, H., Çelik, H. 2015. Oxidant/antioxidant status of herbs *Allium vineale* and *Chaerophyllum macropodium* used for manufacture of Van herby cheese. *IJSER*, 1(1): 288-296.
- Ebrahimabadi, A. H., Djafari-Bidgoli, Z., Mazoochi, A., Kashi, F. J., Batooli, H. 2010. Essential oils composition, antioxidant and antimicrobial activity of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. *Food Control*, 21:1173-1178.
- Eloff, J.N. 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *J Ethnopharmacol*, 60: 1–8.
- Ertekin Filiz, B., Seydim, A. C. 2014. Bazı Kurutulmuş Meyvelerin Antioksidan Özellikleri. *Türk. Tarım Gıda Bilim Teknol. Derg*, 2(3):128-131.

- Griffin S. G., Wyllie, S. G., Markham J. L., Leach, D.N. 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoides in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragr J*, 14: 322-32.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*, 94:550-557.
- Kavaz, A., Bakırcı, İ., Kaban, G., 2013. Some physico-chemical properties and organic acid profiles of herby cheeses. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19(1):89-95.
- Köse, Ş. 2015. Otlu peynire katılan bazı otların peynirin antimikrobiyal özellikleri, antioksidan kapasitesi ve fenolik bileşikleri üzerine etkisi. Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van.
- Lin, J., Opoku, A. R., Geheeb-Keller, M., Hutchings, A.D., Terblanche, S.E., Jäger, A. K., Van Staden, J. 1999. Preliminary screening of some traditional Zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. *J Ethnopharmacol*, 68: 267–274.
- Najja, H., Zerria, K., Fattouch, S., Ammar, E., Neffati, M. 2011. Antioxidant and antimicrobial activities of *Allium Roseum* L. "Lazoul," A wild edible endemic species in North Africa. *Int J Food Prop*, 14: 371-380.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard), 1999. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 9th International Supplement. M100-S9, Wayne Pa.
- Ocak, E., Tunçtürk, Y., Javidipour, I., Köse, Ş. 2015. Farklı Süt Türlerinden Üretilen Van Otlu Peynirlerinde Olgunlaşma Boyunca Meydana Gelen Değişiklikler: Mikrobiyolojik Değişiklikler, Lipoliz ve Serbest Yağ Asitleri. *YYU Tar Bil Derg*, 25(2): 164-173.
- Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., Vuorela, P. 2000. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *J Ethnopharmacol*, 73: 299–305.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med*, 26: 1231–1237.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. 1996. Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med*, 20: 933–956.
- Sağun, E., Durmaz, H., Sancak, H. 2005. Otlu peynir üretiminde kullanılan otların mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri. *YYU Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(1-2): 33-38.
- Sağun, E., Durmaz, H., Tarakçı, Z., Sağdıç, O. 2006. Antibacterial activities of the extracts of some herbs used in Turkish herby cheese against *Listeria Monocytogenes* Serovars. *Int J Food Prop*, 9: 255–260.
- SAS Institute Inc. 2012. SAS Version 9.3 Cary, NC, USA.
- Yemis O., Bakkalbasi E., Artık, N. 2008. Antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts obtained from different varieties grown in Turkey. *Int J Food Sci Technol*, 43:154-159.



**EFFECT OF MICROWAVE HEATING ON THE YIELD
AND QUALITY OF RED BELL PEPPER PUREE**

Hamza Bozkır^{1*}, Ahsen Rayman Ergun², Özge Taştan², Taner Baysal²

¹Food Engineering Department, Faculty of Engineering, Munzur University, Tunceli, Turkey

²Food Engineering Department, Engineering of Faculty, Ege University, Bornova, Izmir, Turkey

Received / Geliş: 20.11.2017; Accepted / Kabul: 14.02.2018; Published online / Online baskı: 08.03.2018

Bozkır, H., Rayman Ergun, A., Taştan, Ö., Baysal, T. (2018). The effect of microwave heating on the yield and quality of red bell pepper puree. *GIDA* (2018) 43 (2): 303-312 doi: 10.15237/gida.GD17103

ABSTRACT

In this study, microwave heating was applied as an alternative method to conventional heating for comparing the effect on the yield and quality of red bell pepper puree. The microwave application was optimized concerning the yield and the outlet temperature by response surface methodology (RSM). The optimum conditions were found to be a power of 900 W and a flow rate of 6.52 rpm for the microwave oven with RSM. Production of red bell pepper puree was carried out using these optimum conditions. At this optimum point, yield and outlet temperature were found as 76.76% and 95°C, respectively. Conventional heating (CH) was performed reaching the same temperature as with microwave heating (MWH) at 95°C and a process time of 9 min. As a result, the yield increased by 8.07% and also the pectin content (17.75%) and vitamin C (20.6%) were improved by the MWH.

Keywords: Red pepper puree, microwave heating, conventional heating, yield, and quality.

**KIRMIZI BİBER PÜRESİNİN VERİM VE KALİTESİNE
MİKRODALGA ISITMANIN ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmada kırmızı biber püresinin verim ve kalitesi üzerine konvansiyonel ısıtma tekniğine alternatif olarak mikrodalga ısıtma tekniği uygulanmıştır. Mikrodalga ısıtma uygulaması verim ve çıkış sıcaklığı cevap olacak şekilde yanıt yüzey metodu ile optimize edilmiştir. Mikrodalga ısıtma uygulamasının yanıt yüzey metodu ile optimum koşulları 900 W güç ve 6.52 rpm akış hızı olarak saptanmıştır. Bu optimum çalışma koşullarında verim ve çıkış sıcaklığı %76.76 ve 95 °C olarak bulunmuştur. Konvansiyonel ısıtma uygulaması da mikrodalga ısıtmada ulaşılan aynı sıcaklık derecesinde 95°C ve 9 dk olarak yürütülmüştür. Sonuç olarak mikrodalga ısıtma uygulaması ile verimde %8.07, pektin içeriğinde %17.75, C vitamini içeriğinde %20.6 artış saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kırmızıbiber püresi, mikrodalga ısıtma, konvansiyonel ısıtma, verim, kalite.

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

Email: bozkirhamza@gmail.com

Tel: (+90) 428 213 1752

Fax: (+90) 428 213 1624

INTRODUCTION

Pepper, specifically *Capsicum annuum*, used as vegetable and spice, is a good source of important antioxidants (vitamins A and C). It can be consumed raw or cooked as a vegetable and can also be used commonly for making paste, pickle, and sauces (Doymaz and Pala 2002). This plant may be processed in a variety of ways, such as by pulping and either by concentrating or by treating to paprika (ground pepper) which is a universally-known spice produced from red pepper fruits (*Capsicum annuum* L.) to give color and flavor to various foods (Doymaz and Pala 2002; Bozkurt and Erkmen 2004; Jeevitha et al., 2013). Puree can be used directly in cooking or in food preparations for domestic purposes, for sauces and for other food production such as canning which provides an extended shelf-life while retaining its favorable qualities (Ismail and Revathi 2006). Red bell peppers (*Capsicum annuum*) were selected as the raw material, which is the second vegetable processed to paste after the tomato, which has high production rates in Turkey. In 2012, 748.422 tons of red peppers were processed to paste (Anon, 2013).

Microwave heating (MWH) is based on the transformation of alternating electromagnetic field energy into thermal energy by affecting the polar molecules of a material. In microwave heating, heat is generated directly into the material, leading to faster heating rates compared to conventional heating where heat is usually transferred from the surface to the interior (Baysal, 1994). Recent studies have shown that MWH also provides the transfer of functional components to the product (Canumir et al., 2002; Gerard and Roberts 2004).

In the industry, vegetables are blanched as a pretreatment in hot water or by steam which is effective on the yield and quality of the juice. But this thermal processing leads to an increase in energy and a decrease in the solids, nutrients and phytochemicals, and sensory attributes (texture, taste, flavor, and color) (Gerard and Roberts 2004; Jeevitha et al., 2013). Therefore, MWH as an alternative to CH was used in several studies to preserve the quality criteria such as texture, taste,

flavor, and color (Dorantes-Alvarez et al., 2011; Ramesh et al., 2002; Jeevitha et al., 2013). Furthermore, it was stated that yield was improved after MWH (Gerard and Roberts 2004; Wang and Sastry 2002; Cendres et al., 2011; Cravotto et al., 2008; Leone et al., 2014).

Although microwave applications have been evaluated for some purposes in the food industry, to the best of our knowledge, no studies about optimizing the conditions for MWH of red pepper puree during the production using RSM has been reported in the literature. Therefore, the main objectives of this study were; (1) to determine the optimum process conditions for MWH application by RSM, and (2) to investigate the effects of MWH and CH applications on the yield and some quality characteristics of red pepper puree. In this way, the study of determining the optimization parameters for microwave heating provides new opportunities to enhance this technique in the production of red pepper puree to increase puree yield.

MATERIALS AND METHODS

Material

Fresh red bell peppers (*Capsicum annuum* L.) were purchased from a local market in Izmir, and then stored in a refrigerator at +4°C and 92.4% humidity for a maximum of 24 h before processing to puree.

Heating

The raw materials were divided into two groups: Microwave heating (MWH) and conventional heating (CH). The production scheme for red pepper puree is given in Figure 1. The peppers were washed with water, the seeds and stems were removed, the peppers were then minced into small pieces and blended, and then processed into puree using a pulper. A total of 500±3 g of peppers was processed in pilot scale for each experiment of the response surface methodology (RSM) design. After optimization, red pepper purees were heated conventionally and also with a modified microwave oven. After heating, they were cooled to room temperature and the analyses were conducted.

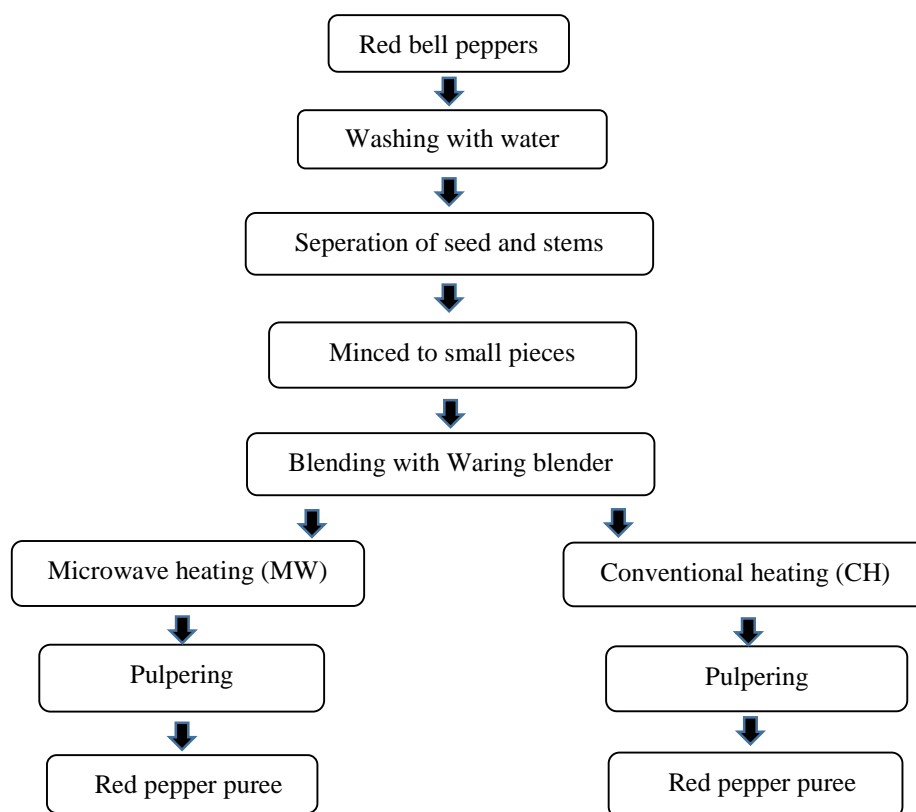


Figure1. Red pepper puree production scheme

Microwave heating application

A modified MW oven (Model Arcelik MW 595, Istanbul, Turkey) with 2450 MHz operated at 540 to 900 W was used. The heating region of the MW oven contained a 3-m-long silicon hose and a peristaltic pump for controlling the flow (Watson Marlow [505U] Ltd., Falmouth, Cornwall, U.K.).

The inlet (20°C) and outlet temperatures (95°C) were measured using thermocouples. Flow rates between 5 to 15 rpm were studied. Operating variables and ranges applied in the experimental design for the MWH application and the experimental design are shown in Table 1 and Table 2.

Table 1. Operating variables and ranges applied in the experimental design for MWH

Variables	Symbol	Level		
		-1	0	+1
Microwave power (W)	x_1	540	720	900
Flow rate (rpm)	x_2	5	10	15

Conventional heating application

In this research, CH was carried out up to the outlet temperature of the MWH application. The samples were placed in glass jars of 200 mL and the jars were placed in a water bath (Daihan, DK7-1, Korea) at 95°C. The jars were then removed when the temperature of the samples

reached 95°C. Heating was performed to 95°C same as the MWH application.

Methods of analysis

After processing, the effects of the red bell pepper puree MWH and CH treatments on the yield of the purees were calculated. The yield was calculated as follows:

$$\text{yield\%} = \frac{\text{weight of pepper before blender (g)} - \text{weight of pomace pulper (g)}}{\text{Weight of pepper before blender (g)}} * 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\text{Increase in yield (\%)} = \frac{\text{yield of treatment group (\%)} - \text{yield of control (\%)}}{\text{yield of control (\%)}} * 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Chemical and physical analysis

Changes of the quality characteristics such as pH, titratable acidity, total soluble solids, color, vitamin C, viscosity, and the pectin content of the samples were analyzed after the production of red bell pepper purees. Pectin content was investigated according to Anon (1968). The method is based on the extraction of pectin with ethanol after centrifugation (4000 rpm, 15 min, 20°C) (CFC free Universal Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany); the precipitated part was then treated with 5 mL NaOH and completed with 100 mL deionized water. After filtration, the samples were prepared with 0.5 mL carbazol (Merck, Darmstadt, Germany) and 0.5 mL ethanol. Sulfuric acid (Merck, Darmstadt, Germany) (6 mL) was added to both samples, then they were placed in a water bath at 85°C for 5 min. The absorbance values were taken at 525 nm with a Varian Cary 50 Scan (Sydney, Australia) spectrophotometer and the pectin content was calculated with the calibration curve that was made using the gallacturonic acid anhydrate standards (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis). The ascorbic acid analysis was made by the spectrophotometric (Varian Cary 50 Scan (Australia) spectrophotometer) method (Hişıl 2004). The establishment of a standard curve: stabilizing solution (4% oxalic acid (Merck, Darmstadt, Germany), dye solution (2,6-dichloroindophenol, Na salt), and ascorbic acid solution using a series of different concentrations were prepared and the absorbance at a wavelength of 518 nm against a standard showing the concentration of the vitamin C curve was obtained.

The viscosity of puree was measured by a Fungilab, Smart model viscosimeter (L3 spindle, 100 rpm). The total soluble matter (°Brix) of the puree was measured with a refractometer at 20°C

(RFM 330; Bellingham Stanley Limited, Tunbridge Wells, Kent, U.K.) (AOAC 1995). The total titratable acidity was determined using a potentiometric titration of the acidity of the juice titrated up to a pH 8.1 (pH meter-WTW InoLab) with a solution of 0.1 N NaOH. The results were expressed as g/100 mL with reference to citric acid (AOAC 1995). The color (L^* , a^* , b^*) values of the puree were measured with a Hunter Lab Colorflex colorimeter (Hunter Associates Laboratory, Reston, Va., U.S.A.).

Statistical analysis

RSM (Design Expert 7.0.0 STAT-EASE, 2005) was used for the optimization of the MWH application. The results were statistically analyzed with the Independent-Samples T Test using the software SPSS 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.) to evaluate the differences between treatments at a level of significance $P < 0.05$. Each experiment was repeated 3 times.

RESULTS AND DISCUSSION

Optimization

The experimental value and analysis of variance (ANOVA) for responses are presented in Table 2 and Table 3. The statistical analysis indicated that the proposed model was adequate, possessing no significant lack of fit and with high R^2 values for the response. ANOVA was conducted to determine the significant effects of process variables on each response and to fit the second order polynomial models to the experimental data.

In the MWH application, the effects of microwave power and flow rate on the yield of puree were investigated and the experimental design for the responses of yield and outlet temperature is shown in Table 2.

Table 2. Experimental values of response variables for the central composite face centered design

Run	Power of microwave (W)	Flow rate (rpm)	Yield (%)	Outlet Temperature (°C)
1	720	10	70.86	85.0
2	720	10	71.94	85.5
3	900	5	71.78	95.7
4	720	5	68.12	88.8
5	900	10	72.60	88.9
6	540	15	65.4	73.6
7	720	10	71.35	86.5
8	720	15	69.5	78.5
9	720	10	72.54	87.5
10	720	10	70.62	86.9
11	540	10	67.47	75.4
12	540	5	61.90	76.8
13	900	15	68.36	82.9

Table 3. ANOVA table showing the variables as a linear, quadratic, and interaction term on each response variable and coefficients for the prediction models

Source	Yield (%)			Outlet Temperature (°C)		
	Coefficient	Sum of squares	p-value	Coefficient	Sum of squares	p-value
Model	71.53	114.52	<0.0001	85.90	468.33	<0.0001
x ₁	2.99	53.82	<0.0001	6.95	289.81	<0.0001
x ₂	0.24	0.36	0.4461	-4.38	115.28	<0.0001
x ₁ x ₂	-1.73	11.97	0.0022	-2.40	23.04	0.0067
x ₁ ²	-1.68	7.79	0.0069	-2.81	21.84	0.0077
x ₂ ²	-2.90	23.30	0.0003	-1.31	4.75	0.1283
Residual		3.82			11.19	
Lack of fit		1.34	0.5887		7.02	0.2251
Pure error		2.47			4.17	
Total		118.34			479.52	
R ²		0.9678			0.9767	
Adj-R ²		0.9447			0.96	
Pred-R ²		0.8594			0.8743	
Std.Dev.		0.74			1.26	
PRESS		16.64			60.29	
CV		1.06			1.51	

x₁ Microwave power (W), x₂ Flow rate (rpm)

The Optimum point was determined by the desirability functions for max yield and max temperature:

$$\% \text{ yield} = 71.53 + 2.99x_1 + 0.24x_2 - 1.73x_1x_2 - 1.68x_1^2 - 2.90x_2^2 \quad \text{Eq. (3)}$$

$$\text{Outlet temperature (°C)} = 85.90 + 6.95x_1 - 4.38x_2 - 2.40x_1x_2 - 2.81x_1^2 - 1.31x_2^2 \quad \text{Eq. (4)}$$

Confirmation tests were made at 900 W and at 6 rpm processing conditions and the yield was found as 76.76% with the outlet temperature of 95.5°C in the MWH group. A 71.03% yield was found using CH with the same conditions of 95°C and 9 min processing time.

As shown in Figure 2, when the power of the microwave level increased, the yield also increased. Although the variables had a positive linear effect on the response (yield), the

interaction effect of these variables had a negative effect on the yield.

The power level of the microwave had a positive effect, meaning that as the power increased the outlet temperature also increased. When the flow rate was lower, the outlet temperature became higher. Gerard and Roberts (2004) found that the juice yield was improved when the mash was heated.

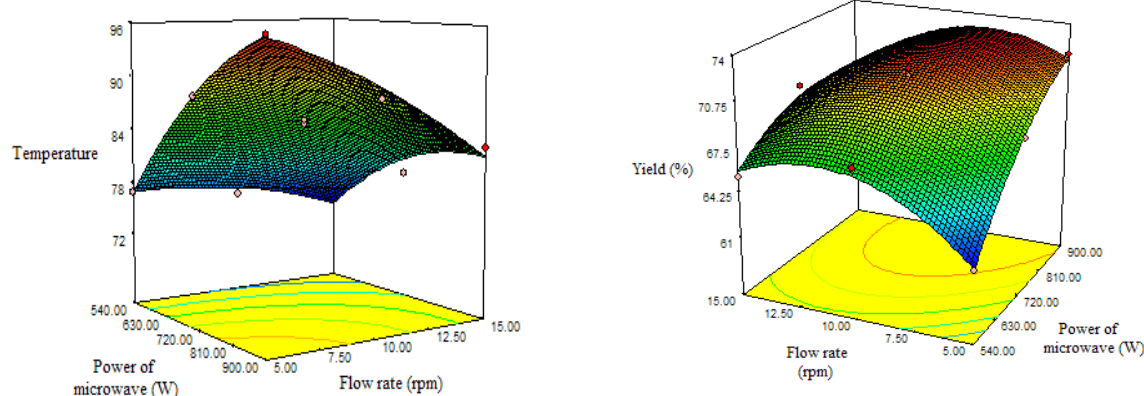


Figure 2. Response surface and contour plots for temperature and yield

Effect of electrical methods on the yield and quality characteristics of red bell pepper purees

Yields after treatments are shown in Table 4. In the MWH group, the yield was increased by 8.07% compared to the control, namely the CH group. This is an important ratio for industrial production. In a previous study, Rayman Ergün et al. (2015) found the yield as 76.3% after electroplasmolysis, after the combination of electroplasmolysis and MWH the yield increased by 7.56%. In another study, Gerard and Roberts (2004) applied MWH to Fuji and McIntosh apple mashes. They compared the yield of juices obtained from the mashes which were heated by microwave and the unheated mashes. The juice yield enhanced significantly when the mash was heated before pressing ($P < 0.05$). Wang and Sastry (2002) carried out ohmic and MWH to investigate the electro-thermal effects on apple juice yield and then compared it to the unheated

and preheated apple samples at 40 and 50°C. They found that the apple juice yield was significantly improved by the ohmic and microwave pretreatments ($P < 0.05$). Cendres et al. (2011) developed a process for extraction of fruit juice by using microwave heating. MWH allowed rapid extraction of juice from fresh or frozen fruits (plum, apricot, and grape). They determined that MWH increased the yields. MWH increased the extraction of vegetable oils and olive oil compared to the conventional methods (Cravotto et al., 2008; Leone et al., 2014). Similar to our research, electroplasmolysis was applied to tomato puree and a 7.06% increase in electroplasmolysis when combined with steam heated samples was found by Yıldız and Baysal (2007). In another study, different blanching methods before pulping in red bell pepper paste production were investigated and the yield was determined as 51.40% after CH with steam for 5 min (Baysal et al., 1990).

Table 4. Quality characteristics of pepper puree

Groups	Yield (%)	pH	TSS (°Bx)	Acidity (%)	Pectin content (GA-AH, mg/L)	Vit C (mg/ 100 ml)	Viscosity (Pa.s)
MWH	76.76±0.30 ^a	4.92±0.01 ^a	9.87±0.06 ^a	3.43±0.13 ^a	1012.33±12.67 ^a	4.63±0.14 ^a	0.67±0.03 ^a
CH	71.03±0.40 ^b	4.94±0.01 ^b	9.77±0.06 ^a	3.16±0.13 ^a	859.72±25.28 ^b	3.91±0.19 ^b	0.33±0.01 ^b

^a to ^b Different letters within columns are significantly different ($P < 0.05$)

Wang and Sastry (2002) reported that MWH can generate an enhancement in mass transport because of electroporation of the cell membrane and thermal denaturation of membranes. Therefore, the yield of red bell pepper puree was increased compared to CH.

The pH values of the samples ranged between 4.92 - 4.94. The pH values of MWH were found to be less than the CH treatments ($P < 0.05$). The values were found similar to those in other studies such as Shaha et al. (2013), who determined that the pH value of red peppers varied between 5.43 - 5.73. Ahmet et al. (2002a) found the pH value of green chili pepper puree as 5.08. Another researcher who studied with Habanero red chili pepper which is grown in Yucatan found the pH values as 5.2 - 5.4 (Pino et al., 2007).

The total soluble matter (°Brix) values varied between 9.77-9.87. Castro et al. (2008) reported that red pepper had a Brix value of 6.01 ± 0.01 . Pino et al. (2007) found that the total soluble solids of chili pepper varied between 6.4-7.7. After treatments the soluble solid content transferred to the puree. There was no significant difference between the °Brix values of the different heat applied groups ($P > 0.05$). Previous studies found the °Brix value of green chili puree as 4.8 (Ahmed et al., 2002a). In addition, same researchers determined that red chili puree has a °Brix value of 11.6 (Ahmed et al., 2002b).

The acidity value after heat treatments was found as 3.16 - 3.43%. There were no significant differences between the CH and MWH groups ($P > 0.05$). Castro et al. (2008) who investigated thermal blanching on red bell pepper found the acidity as 2.61 ± 0.09 g/100 ml.

The pectin content of the MWH group was found as 1012.33 ± 12.67 (GA-AH, mg/L) which was

higher than the CH group. In the previous study, pectin content was found as 498.75 ± 18.45 after electroporation and MWH combination, in CH group this content was found as 477.56 ± 8.50 (GA-AH, mg/L) (Ergün et al, 2015). The difference between the pectin contents was due to the properties of raw material and seasonal changes. Baysal et al. (1990) found the pectin values of red bell pepper puree as 0.379 g/100 g and after water blanching as 0.405g/100 g. Christiaens et al. (2012) determined that the water soluble pectin content (%) decreased when compared to the raw material, after high temperature blanching of broccoli puree at 95°C for 5 min and low temperature blanching at 60°C for 40 min. Ismail and Revathi et al. (2006) determined the alcohol insoluble pectin as 11 g pectin/100 g solid matter. The viscosity values changed according to the pectin content. In the samples which were treated by MWH, the viscosity was higher than the other group.

The vitamin C content in the MWH group was found as 4.63 ± 0.14 and in the CH group as 3.91 ± 0.19 mg/100 ml. Vitamin C which is degradable with the effect of heat decreased significantly after MWH and after conventional heating at 95°C. In a study of Rayman Ergün et al. (2015) in the EP+MWH group vitamin C was found as 16.64 mg/100 ml Vitamin C content differs with the harvest season so the results were different from each other. Similar to our study, Chuah et al. (2008) who studied different heating treatments such as MWH, cooking, stir frying, and boiling in water, indicated that there is a significant decrease in Vitamin C content after treatments. They also emphasized that the best method for protecting the vitamin C was MWH heating at 95°C for 5 min. In agreement with our results, Ramesh et al. (2002) who researched the effects of microwave blanching at 95°C for spinach, carrot, and bell peppers, revealed that the

losses in Vitamin C content decreased by microwave by 8.5% for bell peppers, 18% for spinach, and by 33.5% for carrot. Jeevitha et al. (2013) studied with red bell peppers and determined the blanching effects. Retention of ascorbic acid was detected. The losses were higher with water and steam blanching compared to MWH and infrared blanching.

The color values were also compared after heat treatments as shown in Table 5. The color values and changes were parallel to the previous studies. Lightness was better in the MWH group. The Hunter L* value in the fresh sweet red pepper was found as 28.02 by Eissa et al. (2007). a* and b* values were indicated as 35.39 and 19.62 in the same study. Reyes de Corcuera et al. (2004) stated

that blanching affects the color directly and indirectly, for example as degradation of pigments such as chlorophyll. Mexican bell peppers were boiled at 96°C and the L, a, and b values were measured for purees. The values were 43.5 ± 0.5 , 44.4 ± 0.5 , and 37.6 ± 1.5 , respectively (Ornelas-Paz et al., 2010). In a different study, the color parameters (L, a, b) of fresh red chili peppers were found respectively as 29.7, 37.1, and 18.1 (Ahmed et al., 2002b). They applied acidic and thermal process, detected a significant reduction in the color values L, a, b (8.65, 15.78, and 8.16). Ismail and Revathi (2006) determined that the L values changed between 41.10 - 40.80, the a values between 45.06 - 44.86, and the b value between 60.17 - 58.84 of the boiled red bell pepper puree at 90°C for 5 - 20 min.

Table 5. Color properties of pepper puree

Groups	L*	a*	b*
MWH	30.20 ± 0.02^a	44.66 ± 0.05^a	16.89 ± 0.02^a
CH	29.36 ± 0.03^b	43.99 ± 0.06^b	16.59 ± 0.05^b

^{a to b}Different letters within columns are significantly different ($P < 0.05$)

CONCLUSION

In this study, the yields of pepper puree were calculated as 76.76% for MWH and 71.03% for CH groups. In the MWH group the yield improved by 8.07% compared to the CH group. The difference between the groups via the pH, acidity, and TSS (°Brix) were found statistically insignificant. Pectin and the viscosity of red pepper puree were detected higher after the MWH application compared to CH. MWH application preserved vitamin C better which was determined as 4.63 ± 0.14 mg/100ml. The color values were protected better after MWH. As a result, MWH increased the yield and improved the quality of the red pepper puree.

REFERENCES

Ahmed, J., Shivhare, U.S., Debnath, S. (2002a). Colour degradation and rheology of green chilli puree during thermal processing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37, 57-63.

Ahmed, J., Shivhare, U.S., Ramaswamy, H.S. (2002b). A Fraction Conversion Kinetic Model for Thermal Degradation of Color in Red Chilli Puree and Paste. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 35, 497-503.

Anon (1968). IFJU, *Methods Of Analyses*. Metod-26. International Federation of Fruit Juice Producers, 10, Rue De Liege, Paris, France.

AOAC (1995). In: Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th edn. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Anon. (2013). Turkey Statistical Institute, Turkey's Statistical Yearbook, Ankara.

Baysal, T. (1994). The Effects of microwave and conventional blanching methods on the quality of selected vegetables. PhD Thesis, p.160, Ege University Institute of Natural and Applied Science, Department of Food Engineering, Izmir, Turkey.

Baysal, T., Güres, H., Yurdagel, Ü. (1990). Biber salçası yapımında palper öncesi farklı haşlama yöntem ve sürelerinin palper verimi ve sıra kalitesine etkileri. *GIDA*. 15(2), 73-78.

Bozkurt, H., Erkmén, O. (2004). Effects of production techniques on the quality of hot pepper paste. *J. Food Eng.* 64, 173-178.

- Canumir, J.A., Celis, J.E., De Brujin, J., Vidal, L.V. (2002). Pasteurization of apple juice by using microwaves. *Food Sci. Technol.* 35, 389–392.
- Castro, S.M., Saraiva, J.A., Lopes-Da-Silva, J.A., Delgadillo, I., Loey, A.V., Smout, C. Hendrickx, M. (2008). Effect of thermal blanching and of high pressure treatments on sweet green and red bell pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). *Food Chem.* 107, 1436–1449.
- Cendres, A., Chemat, F., Jean-François, M., Renard, C.M.G.C., (2011). An innovative process for extraction of fruit juice using microwave heating. *LWT-Food Sci. Technol.* 44, 1035-1041.
- Christiaens, S., Mbong, V.B., Buggenhout, S.V., David, C.C., Hofkens, J., Loey, A.M.V., Hendrickx, M.E. (2012). Influence of processing on the pectin structure–function relationship in broccoli puree. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 15, 57-65.
- Chuah, A.M., Lee, Y.C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L.J., Matoba, T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chem.* 111, 20–28.
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M., Cintas, P. (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrason. Sonochem.* 15, 898–902.
- Dorantes-Alvarez, L., Jaramillo-Flores, E., González, K., Martínez, R., Parada, L. (2011). Blanching peppers using microwaves. *Procedia Food Sci.* 1, 178 – 183.
- Doymaz, İ., Pala, M. (2002). Hot-air drying characteristics of red pepper. *J. Food Eng.* 55, 331-335.
- Eissa, H.A., Mostafa, B.E., Hussein, A.S. (2007). Capsaicin Content and Quality Characteristics in Different Local Pepper Varieties (*Capsicum Annum*) and Acid-Brine Pasteurized Puree. *J. Food Technol.* 5, 246-255.
- Gerard, K.A., Roberts, J.S. (2004). Microwave heating of apple mash to improve juice yield and quality. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 37, 551–557.
- Hışıl, Y. (2004). Enstrümental Gıda Analizleri Laboratuar Deneyleri. Ege Üni. Müh. Fak. Ders Kitapları Yayın No: 45. İzmir.
- Ismail, N., Revathi, R. (2006). Studies on the effects of blanching time, evaporation time, temperature and hydrocolloid on physical properties of chili (*Capsicum annuum* var kulai) puree. *LWT– Food Sci. Technol.* 39, 91–97.
- Jeevitha, G.C. Hebbar Umesh, H., Raghavarao, K.S.M.S. (2013). Electromagnetic Radiation-Based Dry Blanching of Red Bell Peppers: A Comparative Study. *J. Food Process. Eng.* 36, 663–674.
- Leone, A., Tamborrino, A., Romaniello, R., Zagaria, R., Sabella, E. (2014). Specification and implementation of a continuous microwave-assisted system for paste malaxation in an olive oil extraction plant. *Biosystems Eng.* 125, 24–35.
- Ornelas-Paz, J.D.J., Martínez-Burrola, J.M., Ruiz-Cruz, S., Santana-Rodríguez, V., Ibarra-Junquera, V., Olivas, G.I., Pérez-Martínez, J.D. (2010). Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. *Food Chem.* 119, 1619–1625.
- Pino, J., Gonzalez, M., Ceballos, L., Centurionyah, A., Trujilloaguirre, J., Latourneriemoreno, L., Sauriduch, E. (2007). Characterization of total capsaicinoids, colour and volatile compounds of Habanero chilli pepper (*Capsicum chinense* Jack.) cultivars grown in Yucatan. *Food Chem.* 104, 1682–1686.
- Ramesh, M.N., Wolf, W., Tevini, D., Bognár, A. (2002). Microwave blanching of vegetables. *J. Food Sci.* 67 (1), 390-398.
- Rayman Ergün, A., Bozkir, H., Taştan, Ö., Baysal, T. (2015). Effects of Electrical Pretreatments on the Yield and Quality Characteristics of Red Bell Pepper Puree. *J. Food Qual.* 38: 396–404.
- Reyes De Corcuera, J.J., Cavaleri, R.P., Powers, J.R. (2004). Blanching of foods. In: *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering* (edited by D.R.Heldman). Pp. 1–5. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Shaha, R.K., Rahman, S., Asrul, A. (2013). Bioactive compounds in chilli peppers (*Capsicum*

annuum L.) at various ripening (green, yellow and red) stages. *Ann. Biol. Res.* 4 (8), 27-34.

Wang, W.C., Sastry, S.K. (2002). Effects of moderate electrothermal treatments on juice yield from cellular tissue. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 3, 371–377.

Yıldız, H., Baysal, T. (2007). Color and Lycopene content of tomato puree affected by electroplasmolysis. *Int. J. Food Prop.* 10, 489–495.

İZMİR'DE SATIŞA SUNULAN SU ÜRÜNLERİNDE KOAGÜLAZ POZİTİF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*UN İNSİDANSI VE ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Fatma Öztürk*, Hatice Gündüz

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi Bölümü, Çiğli, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 22.11.2017; Kabul / Accepted: 06.01.2018; Online baskı / Published online: 08.03.2018

Öztürk, F., Gündüz, H. (2018). İzmir'de satışa sunulan su ürünlerinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus*'un insidansı ve antibiyotik direnci. *GIDA* (2018) 43 (2): 313-320 doi: 10.15237/gida.GD17106

Öztürk, F., Gündüz, H. (2018). The incidence and antibiotic resistance of coagulase positive *Staphylococcus aureus* in seafoods marketed in İzmir. *GIDA* (2018) 43 (2): 313-320 doi: 10.15237/gida.GD17106

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, İzmir'de satışa sunulan çiğ ve tüketime hazır su ürünlerinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* varlığının tespit edilerek, antibiyotik dirençlerinin belirlenmesidir. Bu amaçla çiğ ve tüketime hazır su ürünlerinden oluşan 50 örnek analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda, 24 çiğ su ürününün %58'inde ve 26 tüketime hazır su ürününün %46'sında koagülaz pozitif *S. aureus* tespit edilmiştir. İzole edilen tüm *S. aureus* suşları, seftazidim, gentamisin, klindamisin, nitrofurantoin, ofloksasin, oksasilin, rifampisin, vankomisin ve amikasin'e duyarlı bulunurken, izolatların %7,7'si amoksisilin-klavulanik asit ve siprofloksasine, %3,8'i sefalotine, %30,8'i metisiline, %80,8 penisiline ve %19,2'si linezolid dirençli bulunmuştur. Koagülaz pozitif *S. aureus* tüketiciler ve gıda güvenliği için potansiyel bir tehlike olarak değerlendirilmektedir. Bu patojenin gıdalara bulaşmasını engellemek için, üretim ve satış alanlarında hijyen ve sanitasyon koşullarına dikkat etmek gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Su ürünleri, koagülaz pozitif *S. aureus*, antibiyotik direnci

THE INCIDENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF COAGULASE POSITIVE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN SEAFOODS MARKETED IN IZMIR

ABSTRACT

The aims of this study are to check the prevalence of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* in raw and ready-to-eat seafoods samples in İzmir and to determine the antibiotic resistance of the isolates. For this purpose, 50 samples of raw and ready-to-use seafoods were analyzed. As a result of the study, coagulase positive *S. aureus* was detected in 24 (58%) raw and 26 (46%) ready-to-eat seafoods. While all *S. aureus* isolates were susceptible to ceftazidime, gentamycin, clindamycin, nitrofurantoin, ofloxacin, oxacillin, rifampicin, vancomycin and amikasin, the isolates were resistance to amoxicillin-clavulanic acid and ciprofloxacin (7.7%), cephalotine (3.8%), meticillin (30.8%), penicillin (80.8%), linezolid (19.2%). Coagulase positive *S. aureus* is considered a potential hazard to consumers and food safety. Hygiene and sanitation conditions must be considered during production and sales areas in order to prevent the contamination of this bacterium with seafood.

Keywords: Seafoods, coagulase positive *S. aureus*, antibiotic resistance

* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ fatma.ozturk@ikc.edu.tr

☎ (+90) 232 329 3535/4215

☎ (+90) 232 325 0535

GİRİŞ

Staphylococcus aureus tüm dünyada yaygın olarak görülen, gıda kaynaklı intoksikasyonlara neden olan bakteriyel ajanlardan birisidir (Acco vd., 2003; Normanno vd., 2005; Rhee ve Woo, 2010; Koluman vd., 2011; Vazquez-Sanchez vd., 2012; Arslan ve Özdemir, 2017; Bogdanovicova vd., 2017).

Micrococcaceae üyesi olan *Staphylococcus* türleri Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, hareketsiz, katalaz ve koagülaz pozitif bakterilerdir (Anonymous, 2000; Küçükçetin ve Milci, 2008; Zaheer, 2017). *S. aureus* suşlarının patogeneğinde rol oynayan termonükleaz, hiyaluronidaz, lipazlar ve hemolizinler gibi birkaç virulans faktörü literatürde tanımlanmıştır (Pereira vd., 2009). *S. aureus* 7-48 °C sıcaklık aralığında gelişebilmekte, 10-48 °C'de enterotoksin üretmektedir. Optimum olarak 7-7.5 pH'da gelişirken 4.2-9.3 pH sınırları arasında da gelişimini sürdürmektedir (Erol ve İşeri, 2004; Ayçiçek vd., 2005; Oh vd., 2007). Kurumaya karşı nispeten dirençlidir, çoğalması için minimum su aktivitesi değeri, 0.86 hatta 0.83'tür (Bogdanovicova vd., 2017).

S. aureus'un da dahil olduğu pek çok stafilokok türü, insanların üst solunum yolları ve derilerinde doğal olarak bulunmaktadır (Küçükçetin ve Milci, 2008; Abraham vd., 2010; Fijalkowski vd., 2016; Zaheer, 2017). Gıda zehirlenmelerine neden olan *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenin insan olduğu saptanmıştır (Acco vd., 2003). İnsanların yaklaşık %30'unun mukozal membranlarında *S. aureus* bulunmaktadır (Normanno vd., 2007; Fetsch vd., 2014; Tong vd., 2015). Gıda üretiminde çalışan personelin yüzde %26.0-36.9'unun *S. aureus*, %8.0-17.4'ünün ise enterotoksijenik *S. aureus* suşlarını taşıdığı belirtilmiştir (Stewart vd., 2003).

S. aureus suşlarının %50 ile 70'i kadarı uygun koşullar altında ısıya dayanıklı enterotoksin üretebilir. Gıdalarda 10⁵ KOB/g'dan fazla sayıya ulaşan *S. aureus*'un zehirlenme yapacak düzeyde toksin oluşturabileceği belirlenmiştir (Erol ve İşeri, 2004; Bogdanovicova vd., 2017). Stafilokokal enterotoksinler (SE) düşük molekül

ağırlıklı proteinler (MW 26.900-29.600) olup yapısında fazla miktarda lizin, tirozin, aspartik asit ve glutamik asit bulundurlar. SE'nin yaygın olarak görülen 7 tipi bulunmakta ve bunlar; A (SEA); B (SEB); C1 (SEC1); C2 (SEC2); C3 (SEC3); D (SED) ve E (SEE) olarak isimlendirilmektedir. Ancak nadir olmakla birlikte *S. aureus*'un G, H, I, J ve K tipi toksin ürettiği de belirlenmiştir (Simon ve Sanjeev, 2007; Küçükçetin ve Milci, 2008; Argudín vd., 2010; Onmaz vd., 2015). Genel olarak alınan gıdanın 1 gramında 1 ng SE bulunması hastalık belirtilerinin ortaya çıkması için yeterli olmaktadır (Sutherland ve Varnam, 2002; Erol ve İşeri, 2004; Çakıcı vd., 2015).

Stafilokokal gıda zehirlenmelerine çoğunlukla protein ve karbohidrat yönünden zengin işlem görmüş gıdalar sebep olmaktadır. Bu gıdalar arasında yer alan balık ve diğer su ürünleri, günümüzde tüketilen proteinli yiyeceklerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Balık eti proteinleri, bakteriyel proteaz tarafından kolayca parçalanmakta, peptidlere hatta aminoasitlere kadar indirgenebilmektedir. Bu nedenle yalnızca *Staphylococcus* türleri değil diğer bakterilerin gelişimini de desteklemektedir (Abraham vd., 2010; Siriken vd., 2013).

Stafilokokal gıda zehirlenmesinde semptomlar 2 ile 8 saat içerisinde başlar ve genellikle 24-48 saat içerisinde hızlı bir şekilde iyileşme görülür (Argudín vd., 2010; Vazquez-Sanchez vd., 2012). İntoksikasyon, mide bulantısı, kusma, abdominal kramplar, ishal ve semptomların aniden ortaya çıkmasıyla karakterizedir (Fetsch vd., 2014; Onmaz vd., 2015; Demirci vd., 2016). Bireysel duyarlılık ve vücuda alınan SE miktarı semptomların başlangıcını ve ciddiyetini etkiler. Özellikle bebek, yaşlı, hamile ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler arasında hastaneye kaldırılacak kadar şiddetli olabilir (Murray, 2005).

Antibiyotiklerin çiftlik hayvanlarında yoğun olarak kullanımı, antibiyotiklerin dokularda birikmesine ve antibiyotiklere dirençli bakteri generasyonlarının oluşmasına neden olmaktadır (Byun vd., 1997; Gomez-Gil vd., 2000). Gıdalardaki antibiyotik kalıntıları ve

antibiyotiklere direnç kazanmış patojenlerin gıda ile birlikte insan vücuduna geçmesi söz konusudur (Pereira vd., 2009). Bu durum insanlarda tedavi edilmesi zor olan enfeksiyonlara yol açmakta ve halk sağlığı açısından oldukça büyük problemlere neden olmaktadır (Terzi vd., 2015).

Son yıllarda, antibiyotik dirençli Stafilocok suşlarının sistematik olarak arttığı belirlenmiştir. Bu sebeple *S. aureus* ile yapılan araştırmaların çoğunda gıdalardan izole edilen bu bakterinin antibiyotik direncine odaklanılmıştır (Fijalkowski vd., 2016). *S. aureus*'un antibiyotik dirençli suşları et ve et ürünleri (Lee, 2003; Normanno vd., 2007; Pesavento vd., 2007), süt ve süt ürünleri (Gündoğan vd., 2006; Peles vd., 2007; Pereira vd., 2009) ve balık ürünlerinde tespit edilmiştir (Beleneva, 2011; Vazquez-Sanchez vd., 2012). *S. aureus* insanda hastalık etkeni olarak sık rastlanan, toksin üretme yeteneği ve antibiyotik direnci nedeniyle patojenitesi yüksek olan bir bakteridir.

Bu çalışmada İzmir'de satışa sunulan çiğ ve tüketime hazır su ürünlerinde koagülaz pozitif *S. aureus*'un varlığının belirlenmesi ve antibiyotik direncinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, İzmir'de satışa sunulan çiğ ve tüketime hazır su ürünlerinin her birinden birer adet olmak üzere 50 örnek incelenmiştir. Örnekler balık pazarı, market ve restoranlardan satın alınarak, soğuk zincir altında (+4 °C'de) laboratuvara getirilmiş ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Çiğ ürün olarak alabalık, barbun, çipura, hamsi, istavrit, karides, kalamar, kefal, kupez, levrek, lidaki, mercan, mezigit, mırmır, palamut, sardalya, sargoz, sarpa, sübye, tekir, uskumru, dil balığı, lokum balığı ve hani balığı kullanılmıştır. Tüketime hazır su ürünlerinden; alabalık füme, alabalık sushi, ringa füme, ançuez, ahtapot salata, uskumru salata, yengeç salata, balık nugget, balık salam, çiroz, karides çips, karides köfte, somon köfte, midye dolma, midye tava, somon sashimi, somon tartar, soslu hamsi, turna havyarı, uçan balık havyarı, uskumru nigiri, yengeç nigiri, yılan balığı nigiri,

ton balığı konservesi, sardalya konserve ve balık çorba kullanılmıştır.

Yöntem

S. aureus izolasyonu ve tanımlanması

10 g örnek aseptik koşullarda 90 ml steril Maximum Recovery Diluent çözeltisi içerisine aktarılarak homojenize edilmiştir. Homojenizattan 1/10 seyreltme oranına dikkat edilerek 10⁶ dilüsyonlara kadar seyreltme yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0.1 mL alınarak Baird Parker Agar'a ekim yapıp 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda parlak düzgün kenarlı yaklaşık 1-1.5 mm çaplı siyah dış bükey kolonilerin varlığı incelenmiştir. Şüpheli *S. aureus* kolonileri sayılarak, beş tipik koloni seçilip Tryptic Soy Agar (TSA; Merck) besiyerinde kültüre alınmıştır. Gelişen kolonilerin tanımlanması için Gram boyama, katalaz, mannitol ve glikozun anaerobik kullanımı ve koagülaz testleri yapılmıştır (Anonymous, 2000).

Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi

Koagülaz pozitif *S. aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, Müller Hilton Agar kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. Zon çaplarının değerlendirilmesinde National Committee for Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS, 2008) standardı kullanılmıştır. Antibiyotik diski olarak Amikasin (AK, 30 mcg), amoksisilin-klavulanik asit (AMC, 20 mcg), sefalotin (KF, 30 mcg), Seftazidim (CAZ, 30 mcg), siprofloksasin (CIP, 5 mcg), klindamisin (DA, 2 mcg), gentamisin (CN, 10 mcg), linezolid (LNZ, 30 mcg), metisilin (ME, 5 mcg), nitrofurantoin (F, 300 mcg), ofloksasin (OFX, 5 mcg), oksasilin (OX, 1 mcg), penisilin (P, 10U), rifampisin (RA, 5 mcg) ve Vankomisin (VA, 30 mcg) kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, 24 farklı çiğ su ürününün %58'inde koagülaz pozitif *S. aureus* tespit edilmiştir. *S. aureus* tespit edilen çiğ su ürünleri; barbun, çipura, dil balığı, hamsi, hani balığı, kalamar, karides, kefal, lidaki, levrek, lokum balığı, sardalya, tekir ve uskumru balığıdır. Bu çalışmanın aksine Kumar vd. (2016) tarafından koagülaz pozitif *S. aureus*'un

çiğ su ürünlerinde görülme sıklığının (%15.78) daha düşük olduğu belirtilmiştir. Abraham vd. (2010) tarafından da benzer sonuçlar elde edilmiş, taze tatlı su balığı ve balık tezgahlarından alınan örneklerin %16'sında *S. aureus* izole edilmiştir. Buna ilaveten, Ayulo vd. (1994); Normanno vd. (2005); Herrera vd. (2006); Zarei vd. (2012); Siriken vd. (2013) ve Onmaz vd. (2015) tarafından daha düşük *S. aureus* yüzdeleri elde edilmiş olup, sırasıyla %3, %5, %9, %16, %20 ve %30 oranları rapor edilmiştir. Herrera vd. (2006) tarafından ise daha yüksek *S. aureus* sayısı elde edilmiş olup, taze ürünlerde %43 ve donmuş ürünlerde %30'luk insidans bildirilmiştir. Sokari (1991), yaygın olarak tüketilen kırmızı et, balık ve sebzededen oluşan 880 gıda örneğinden izole ettiği 552 (%62) koagülaz pozitif *S. aureus* suşundan 269'unun (%48) enterotoksijenik olduğunu saptamış ve SEA oluşturanların en sıklıkla bulunduğunu bildirmiştir. En yüksek insidans (%87) ise Hammad vd. (2012) tarafından rapor edilmiştir. Yapılan araştırmalarda tespit edilen yüksek *S. aureus* yüzdeleri, bu organizmanın doğada çok yaygın olduğunu ve gıda ürünlerinin kontaminasyon riskinin çok yüksek olduğunu göstermektedir.

Yürütülen bu çalışmada tüketime hazır 26 adet su ürününde koagülaz pozitif *S. aureus* insidansının %46 olduğu belirlenmiştir. Analize alınan örneklerden ahtapot salata, alabalık sushi, midye dolma, karides çips, karides köfte, ringa füme, somon nigiri, somon tartar, soslu hamsi, turna havyarı, uskumru salata ve yengeç salatada *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir. Bu sonucun aksine, farklı araştırmacılar tarafından daha düşük insidanslar rapor edilmiştir. Siriken vd. (2013) tarafından tuzlanmış hamsi balıklarında koagülaz pozitif *S. aureus* insidansının %16 olduğu belirtilmiştir. Benzer sonuçlar Zarei vd. (2012) tarafından da rapor edilmiş, çiğ balık ve karides örneklerinin %5'inde, donmuş örneklerin %17.5'inde ve tüketime hazır örneklerin %12.3'ünde *S. aureus* tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada, 298 adet su ürününün %25'inde *S. aureus* izole edildiği, en yüksek insidansın taze (%43) ve dondurulmuş ürünlerde (%30) görüldüğü bunu tuzlanmış balık (%27), füme balık (%26), hazır pışmış ürünler (%25), dondurulmuş

surimi (%20), ve balık yumurtasının (%17) izlediği belirtilmiştir (Vazquez-Sanchez vd., 2012). Simon ve Sanjeev (2007) tarafından da balıkçılık ürünlerinin %17'sinin ve fabrika işçilerinden alınan numunelerin %62'sinin enterotoksijenik *S. aureus* için pozitif olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar tarafından tüketime hazır ürünlerdeki yüksek insidans oranlarının, taşıyıcı olan veya yeteri kadar temizlenmemiş ekipmanlarla temas eden çalışanlardan kaynaklandığı ifade edilmiş, ürünün depolanması ve satışı sırasındaki hijyen koşullarının yetersizliğine atıfta bulunulmuştur.

Bu araştırmada analize alınan örneklerde tespit edilen koagülaz pozitif *S. aureus* sayısının 10^2 - 10^3 KOB/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Bu araştırmanın aksine Onmaz vd., (2015) tarafından daha yüksek sayıda *S. aureus* tespit edilmiş (10^2 - 10^6 KOB/g) ve bu değer Türk Gıda Kodeksine göre balıklar için tolere edilebilir limiti (10^2 KOB/g) aştığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, Herrera vd. (2006), 50 adet taze deniz balığının 15 (%30)'ünde *S. aureus* sayısının 10^2 KOB/g'dan düşük olduğunu belirtmiş olup, birçok araştırmacı tarafından da benzer sonuçlara ulaşılmıştır (Grigoryan vd., 2010; Saito vd., 2011; Vazquez-Sanchez vd., 2012). Taze su ürünlerinin belirli sayıda bakteri taşıdığı ancak uygun koşullarda işlenip tüketime hazır hale getirildiklerinde sağlık açısından tehdit oluşturmadığı rapor edilmiştir (Herrera vd., 2006).

Bu çalışmada, izole edilen tüm koagülaz pozitif *S. aureus* suşları, seftazidim, gentamisin, klindamisin, nitrofurantoin, ofloksasin, oksasilin, rifampisin, vankomisin ve amikasin duyarlı bulunurken, izolatların %7.7'si amoksisilin-klavulanik asit ve siprofloksasine, %3.8'i sefalotine, %30.8'i metisiline, %80.8 penisiline ve %19.2'si linezolid dirençli bulunmuştur. Pereira vd. (2009) tarafından Portekiz'de satışa sunulan farklı gıda örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının %15'inin test edilen tüm antibiyotiklere (penisilin G, ampisilin, vankomisin, nitrofurantoin, eritromisin, kloromfenikol, oksasilin, rifampisin, gentamisin, tetrasiklin ve siprofloksasin) karşı duyarlı olduğu ve suşların en az 3 antibiyotiğe dirençli olduğu rapor edilmiştir. Tarafımızca yürütülen çalışmada olduğu gibi Pereira vd. (2009)

tarafından da nitrofurantoin ve vankomisin'e karşı herhangi bir direnç tespit edilemezken, penisilin gibi β -laktamlara karşı direncin çok yüksek olduğu (%73) belirtilmiştir. Benzer şekilde Beleneva (2011); Vazquez-Sanchez vd. (2012) ve Siriken vd. (2013) tarafından da balık ürünlerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının penisiline dirençli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Siriken vd. (2013), siprofloksasin ve klindamisin'e direnç oranlarının %12.19 ve %4.87 olduğunu ve tüm izolatların gentamisin ve vankomisine duyarlı bulunduğunu rapor etmiştir. Vazquez-Sanchez vd. (2012) tarafından da siprofloksasine direnç tespit edilirken metisiline direncinin görülmediği belirtilmiştir. Tarafımızca yürütülen çalışmanın aksine Onmaz vd. (2015) tarafından su ürünlerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının Siprofloksasin ve amoksisilin-klavulanik aside duyarlı olduğu bildirilmiş, penisilin G'ye olan direnç düzeyinin (%33) daha düşük olduğu rapor edilmiştir.

Yaptığımız araştırmada su ürünlerinden izole edilen *S. aureus*'un metisilin direnci %30.8 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde Kumar vd. (2016), 35 farklı su ürününden izole edilen 16 *S. aureus* suşunda metisilin direncinin varlığını göstermiştir. Bu çalışmaların aksine Hammad vd. (2012) %5 düzeyinde daha düşük metisilin direnci tespit etmiştir. Sonuç olarak izole ettiğimiz *S. aureus* suşlarının farklı antibiyotiklere dirençli oldukları belirlenmiş ve en yüksek direnç penisilin G'de (%80.8) gözlenmiş olup bunu metisilin izlemiştir. Yapılan araştırmalar değerlendirildiğinde *S. aureus*'un ilaç direncinin tüm dünyada arttığı fakat görülme sıklığında bölgesel olarak büyük farklılıklar olduğu görülmüştür (Normanno vd., 2007; Pereira vd., 2009; Beleneva, 2011; Vazquez-Sanchez vd., 2012).

Bu çalışmada yalnızca çiğ su ürünlerinde değil aynı zamanda tüketime hazır ürünlerde de koagülaz pozitif *S. aureus* tespit edilmiştir. Stafilokoklar, su ürünlerinin doğal florasının bir parçası değildir. Bu bakterinin su ürünlerinde varlığı hasat, üretim veya satış alanlarında hijyen ve sanitasyon koşullarının halk sağlığı için uygun olmadığını göstermektedir. Ayrıca, *S. aureus* izolatlarının penisilin ve metisilin başta olmak üzere

amoksisilin-klavulanik asit, siprofloksasin, sefalotin ve linezolid dirençli olduğu tespit edilmiştir. Antibiyotik direnci, tüm dünyayı ilgilendiren sadece bugünü değil geleceği de etkileyen çok önemli bir sağlık problemidir. Bu nedenle, özellikle insan tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin su ürünlerinde kullanımından kaçınılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abraham, A., Sergelidis, D., Kirkoudis, I., Anagnostou, V., Kaitsa-Tsiopoulou, E., Kazila, P., Papa, A. (2010). Isolation and antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. in freshwater fish and Greek marketplaces. *J Aquat Food Prod Tech.* 19: 93–102, doi:10.1080/10498850.2010.491597.
- Acco, M., Ferreira, F.S., Henriques, J.A.P., Tondo, E.C. (2003). Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. *Food Microbiol.* 20(5): 489-493, doi:10.1016/S0740-0020(03)00049-2.
- Anonymous, 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara, Türkiye, 522 s.
- Argudin, M.A., Mendoza, M.C., Rodicio, M.R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7): 1751-1773, doi: 10.3390/toxins2071751.
- Arslan, S., Özdemir, F. (2017). Molecular characterization and detection of enterotoxins, methicillin resistance genes and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* from fish and ground beef. *Pol J Vet Sci*, 20(1): 85-94, doi: 10.1515/pjvs-2017-0012.
- Aycicek, H., Cakiroglu, S., Stevenson, T.H. (2005). Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. *Food control*, 16(6): 531-534, doi: 10.1016/j.foodcont.2004.04.005.
- Ayulo, A.M.R., Machado, R.A., Scussel, V.M. (1994). Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int J. Food*

- Microbiol*, 24(1-2): 171-178, doi: 10.1016/0168-1605(94)90116-3.
- Beleneva, I.A. (2011). Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Mar Pollut Bull*, 62(2): 382-387, doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.09.024.
- Bogdanovicova, K., Necidova, L., Harustiakova, D., Janstova, B. (2017). Milk powder risk assessment with *Staphylococcus aureus* toxigenic strains. *Food Control*, 73: 2-7, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.07.007.
- Byun, J.W., Park, S., Benno, Y. (1997). Probiotic effect of *Lactobacillus* sp. DS-12 in flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J Gen Appl Microbiol*, 43: 305-308, doi: 10.2323/jgam.43.305.
- Çakıcı, N., Demirel Zorba, N. N., Akçalı, A. (2015). Food industry employees and staphylococcal food poisoning. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 72(4): 337-350, doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.21704.
- Demirci, M., Tombul, F., Yiğın, A., Altun, S.K. (2017). Investigation of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A to E via real-time PCR from various food samples in Turkey. *Pak Vet J*, 37(1): 100-104.
- Erol, İ., İşeri, Ö. (2004). Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51: 239-245.
- Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., Kraushaar, B., Lauer F., Strommenger, B. (2014). *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. *Int J Food Microbiol*, 187: 1-6, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.017.
- Fijalkowski, K., Peitler, D., Karakulska, J. (2016). Staphylococci isolated from ready-to-eat meat-Identification, antibiotic resistance and toxin gene profile. *Int J Food Microbiol*, 238: 113-120, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.001.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F. (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191: 259-270, doi: 10.1016/S0044-8486(00)00431-2.
- Grigoryan, K., Badalyan, G., Andriasyan, D. (2010). Prevalence of *Staphylococcus aureus* in fish processing factory. *Potravinarstvo* 4(2): 25-28, doi:10.5219/47.
- Gündoğan, N., Citak, S., Turan, E. (2006). Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control*, 17: 389-392, doi: doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.01.006.
- Hammad, A.M., Watanabe, W., Fujii, T., Shimamoto, T. (2012). Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Int J Food Microbiol*, 156(3): 286-289, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.022.
- Herrera, F.C., Santos, J.A., Otero, A., García-López, M.L. (2006). Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. *J Appl Microbiol*, 100(3): 527-536, doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02848.x.
- Koluman, A., Unlu, T., Dikici, A., Tezel, A., Akcelik, E.N., Burkan, Z.T. (2011). Presence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in different foods. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (Suppl A): 55-60.
- Kumar, L.R., Kasim, A.K., Lekshmi, M., Nayak, B.B., Kumar, S. (2016). Incidence of methicillin-resistant staphylococci in fresh seafood. *Adv Microbiol*, 6(06): 399-406, doi: 10.4236/aim.2016.66039.
- Küçükçetin, A., Milci, S. (2008). *Staphylococcus aureus* ile kontamine olan peynirlerden kaynaklanan gıda zehirlenmeler, *GIDA*, 33(3): 129-135.
- Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*, 2(1): 63-76.
- Murray, R.J. (2005). Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Intern Med J*, 35(2): 106-119, doi: 10.1111/j.1444-0903.2005.00984.x.

- National Committee for Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement (M100-S18). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., Decastelli, L., Mioni, R., Scuota, S., Bolzoni, G., Di Giannatale, E., Salinetti, A.P., La Salandra, G., Bartoli, M., Zuccon, F., Pirino, T., Sias, S., Parisi, A., Quaglia, N.C., Celano, G.V. (2005). Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol*, 98(1): 73-79, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.008.
- Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N. C., Corrente, M., Parisi, A., Santagada, G., Firinu, A., Crisetti, E., Celano, G.V. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol*, 115(3): 290-296, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.049.
- Oh, S.K., Lee, N., Cho, Y.S., Shin, D.B., Choi, S.Y., Koo, M. (2007). Occurrence of toxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat food in Korea. *J Food Prot*, 70(5): 1153-1158.
- Onmaz, N.E., Abay, S., Karadal, F., Hizlisoy, H., Telli, N., Al, S. (2015). Occurrence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.* in retail fish samples in Turkey. *Mar Pollut Bull*, 90(1): 242-246, doi: 10.1016/j.marpollbul.2014.10.046.
- Peles, F., Wagner, M., Varga, L., Hein, I., Rieck, P., Gutser, K., Keresztúri, P., Kardos, G., Turcsányi, I., Béri, B., Szabó, A. (2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *Int J Food Microbiol*, 118: 186-193, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.010.
- Pereira, V., Lopes, C., Castro, A., Silva, J., Gibbs, P., Teixeira, P. (2009). Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiol*, 26(3): 278-282, doi: 10.1016/j.fm.2008.12.008.
- Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N., Lo-Nostro, A. (2007). Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: a research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control*, 18: 196-200, doi: doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.09.013.
- Rhee, C.H., Woo, G.J. (2010). Emergence and characterization of foodborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. *J Food Prot*, 73(12): 2285-2290.
- Saito, E., Yoshida, N., Kawano, J., Shimizu, A., Igimi, S. (2011). Isolation of *Staphylococcus aureus* from raw fish in relation to culture methods. *J Vet Med Sci*. 73: 287-292, doi: 10.1292/jvms.10-0198.
- Simon, S.S., Sanjeev, S. (2007). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food control*, 18(12): 1565-1568, doi: 10.1016/j.foodcont.2006.12.007.
- Siriken, B., Yildirim, T., Erol, I., Durupinar, B., Ciftci, A., Onuk, E.E. (2013). Prevalence and characterization of coagulase positive staphylococci isolated from salted anchovy. *J Aquat Food Prod T*, 22(4): 339-352, doi: 10.1080/10498850.2011.651773.
- Sokari, T. (1991). Distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in eastern Nigeria. *Int J Food Microbiol*, 12(2-3): 275-280, doi: 10.1016/0168-1605(91)90079-5.
- Stewart, C.M., Cole, M.B., Schaffner, D.W. (2003). Managing the risk of staphylococcal food poisoning from cream-filled baked goods to meet a food safety objective. *J Food Prot*, 66(7): 1310-1325, doi: 10.4315/0362-028X-66.7.1310.
- Sutherland, J., Varnam, A. (2002). Enterotoxin-producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. *Foodborne Pathogens*, 384-415.
- Terzi, G., Gücükoğlu, A., Çadırcı, Ö., Uyanık, T., Alişarlı, M. (2015). Serotyping and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Samsun, Turkey. *Türk J Vet*

Anim Sci, 39(2): 211-217, doi: 10.3906/vet-1407-15.

Tong, S.Y., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler, V.G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*, 28(3): 603-661, doi: 10.1128/CMR.00134-14.

Vazquez-Sanchez, D., Lopez-Cabo, M., Saa-Ibusquiza, P., Rodriguez-Herrera, J.J. (2012). Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). *Int J Food Microbiol*, 157(2): 286-296, doi, 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.021

Zaheer, Z. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry-an emerging concern related to future epidemic. *Matrix Sci Medica*, 1(1): 15-18.

Zarei, M., Maktabi, S., Ghorbanpour, M. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in seafood products using Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Foodborne Pathog Dis*, 9(2): 108-112, doi: 10.1089/fpd.2011.0989.

KIRMIZI ÜZÜM SUYU ÜRETİM SÜRECİNDE RESVERATROL MİKTARI VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER*

Mehmet Gülcü^{1**}, Figen Dağlıoğlu²

¹Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Gıda Teknolojileri Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

²Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş/ Received : 20.12.2017; / Kabul/ Accepted: 07.02.2018; Online baskı/ Published online: 08.03.2018

Gülcü, M., Dağlıoğlu, F. (2018). Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol miktarı ve biyoaktif özelliklerde meydana gelen değişimler. *GIDA* (2018) 43 (2): 321-332 doi: 10.15237/gida.GD17110

Gülcü, M., Dağlıoğlu, F. (2018). Changes in resveratrol content and bioactive properties during production process of red grape juice. GIDA (2018) 43 (2): 321-332 doi: 10.15237/gida.GD17110

ÖZ

Bu araştırma kapsamında, kırmızı üzüm çeşitlerinden üzüm suyu üretim sürecinde biyoaktif özellikler (toplam fenolik madde, antiradikal aktivite, toplam antosiyanin) ve resveratrol miktarlarında meydana gelen stabilite veya değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, Cabernet Sauvignon ve Papazkarası üzüm çeşitleri kullanılarak kırmızı üzüm suyu üretimi gerçekleştirilmiş, işleme sürecinde belirlenen proses basamaklarında örnekler alınarak incelenmiştir. Örneklerdeki resveratrol miktarları, C18 ters faz kolon ve floresans dedektörle kombine edilmiş HPLC sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, DPPH serbest radikal yakalama ve ABTS radikal yakalama kapasitesi değerleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Üzüm suyu üretim sürecinde, özellikle durultma ve kaba filtrasyon işlemlerinin biyoaktif özelliklerde kayıplara yol açtığı, genel olarak proses boyunca resveratrolde artışlar olurken, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin ise daha stabil kaldığı görülmüştür. İşleme sürecinde en fazla kayıp toplam antosiyanin miktarlarında meydana gelmiş, başlangıç değerlerine göre kayıp oranı %50'nin üzerinde olmuştur.

Anahtar kelimeler: Biyoaktif özellikler, Resveratrol, Antioksidan aktivite, Üzüm suyu

CHANGES IN RESVERATROL CONTENT AND BIOACTIVE PROPERTIES DURING PRODUCTION PROCESS OF RED GRAPE JUICE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the stability and changes of bioactive properties (total phenolic content, antioxidant capacity, and total anthocyanin) and resveratrol contents during the production process of red grape juice. In this context, two red grape varieties (Cabernet Sauvignon and Papazkarası) were used for grape juice production and juice samples were evaluated from each production step. Resveratrol contents of samples were determined using an HPLC system with C18 reverse phase column and fluorescence detector. Total phenolic content, total anthocyanin, DPPH free radical scavenging and ABTS radical scavenging capacities were determined by spectrophotometric methods. In grape juice production process, bioactive properties decreased particularly in clarification and coarse filtration operations. In the overall process, resveratrol content increased while the total phenolic content and antioxidant activity values remained stable. During processing, the maximum loss, over 50% compared to the initial values, occurred in the total anthocyanins.

Keywords: Bioactive properties, Resveratrol, Antioxidant capacity, Grape juice

* Bu çalışma, Mehmet Gülcü'nün doktora tezinin bir bölümüdür / *This study is a part of Mehmet Gülcü's Ph. D Thesis*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author;*

✉ mehmetgulcu@hotmail.com,

☎ (+90) 282 261 2042

☎ (+90) 282 262 4061

GİRİŞ

Yetiştirilme alanı ve çok sayıda değerlendirme olanakları ile üzüm, hem önemli bir besin maddesi, hem de gıda sanayinde hammadde özelliğinde olup ülke ekonomisinde ve sosyal hayatında önemli bir yere sahiptir. Türkiye, uygun ekolojik (iklim, toprak) koşullar yanında, sahip olduğu zengin üzüm gen potansiyeli ile, Dünya'da önemli bir bağcılık merkezi konumundadır. Dünyada üzüm denilince sofralık tüketim haricinde, akla ilk gelen ürün şarap olmakla birlikte, sirke, meyve suyu ve diğer bazı alkollü içkilerin üretimi üzümün hammadde olarak kullanıldığı başlıca alanlardır, çok eski ve köklü bir bağcılık kültürüne sahip Anadolu topraklarında sıralanan ürünlerin yanında üzümün önemli bir kısmı, kuru üzüme işlenmekte, pekmez başta olmak üzere köfter, pestil, cevizli sucuk, şıra, hardaliye vb. daha sayamadığımız pek çok geleneksel gıdanın üretiminde kullanılmaktadır.

Üzümün içermiş olduğu karbonhidrat ve mineral maddelerin yanı sıra, diğer meyveler içerisinde ayrı ve özel bir yere sahip olmasının asıl nedeni üzümün kabuğunda ve çekirdeklerinde oldukça fazla miktarlarda bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler insan sağlığı bakımından antioksidan özellikleri ile ön plana çıkan doğal bileşiklerin başında gelmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar, fenolik bileşiklerin çeşitli mekanizmalar aracılığı ile vücudu koruduğunu ve insan bağışıklık sisteminin daha aktif bir şekilde çalışmasını sağladığını ortaya koymuştur. Üzümde en fazla bulunan polifenoller flavonoller (kuersetin, kamferol, mirisetin), flavan-3-ol'ler (kateşin, epikateşin, tanenler) ve antosiyaninlerdir. Flavonoid yapısında olmayan polifenoller arasında ise hidroksisinnamik asit ve gallik asit türevleri ile *trans*-resveratrol yer alır (Gülcü vd., 2008). Üzümdeki resveratrol varlığı ve miktarı genel olarak üzüm çeşidine, yetiştirildiği bölge özelliklerine, iklim koşullarına, bağda uygulanan kültürel/bitki koruma işlemlerine göre değişebilmektedir (Karadeniz, 2000; Adıgüzel, 2007).

Üzüm ürünlerindeki resveratrol varlığı ve miktarı başta hammadde olarak işlenen üzüm çeşidine, uygulanan üretim teknik ve teknolojilerine,

depolama süresi ve koşullarına göre değişebilmektedir. Üzümde bulunan resveratrol içeriği çekirdek ve kabuk kısımlarında yoğunlaştığından, üzümde üretilen ürünlerin resveratrol içeriği de üretim sürecinde uygulanacak maserasyon vb. işlemlerle, ürünün kabuk ve çekirdek kısımlarıyla temas süresine bağlı olarak değişiklik gösterecektir (Gülcü, 2016).

Romero-Perez vd. (1999), 36 farklı üzüm suyunda resveratrol türevlerinin seviyelerini araştırmışlar, kırmızı üzüm sularında konsantrasyonları; 0.50 mg/L *trans*-resveratrol ve 0.06 mg/L *cis*-resveratrol olarak tespit etmişler. Dani vd., (2007), beyaz üzüm sularına kıyasla renkli üzüm sularının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerinin daha yüksek olup, resveratrolün sadece renkli üzüm sularında tespit edildiğini bildirmişlerdir. Üzüm suyu ve şarapta fenolik madde seviyesinin parçalama, presleme, kükürt ilavesi, kabuk teması ve yıllandırma gibi çok sayıda proses faktöründen etkilendiğini bildirilmiştir (Lachman vd., 2009). Capanoğlu vd. (2013), konsantre üzüm suyu üretimi esnasında, antosiyanin ve prosiyanidin bileşiklerin büyük oranda pres keki şeklinde ayrılan çekirdek ve kabuk kısımlarında kalırken, durultma ve filtrasyon uygulamalarının antosiyanin içeriğini daha da azalttığını bildirmiştir. Tríska vd. (2016), üzüm suyu üretiminde teknolojik işlemlerin bazı biyolojik aktif bileşikler, antioksidan kapasite, toplam polifenol ve antimutajenik aktivite açısından en önemli proses parametrelerinin sıcaklık ve sıcak maserasyonda bekleme süresi olduğunu, kabuktan şıraya biyoaktif bileşiklerin geçişinde önemli etki görüldüğünü bunun aynı zamanda antioksidan kapasite değerlerine de olumlu yansıdığı ve arttırdığını belirtmişlerdir.

Çalışmamız kapsamında, kırmızı üzüm çeşitlerinden üzüm suyu üretim sürecinde toplam fenolik madde, antioksidan/antiradikal aktivite, toplam antosiyanin gibi biyoaktif özellikler ve resveratrol miktarlarında meydana gelen stabilite veya değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

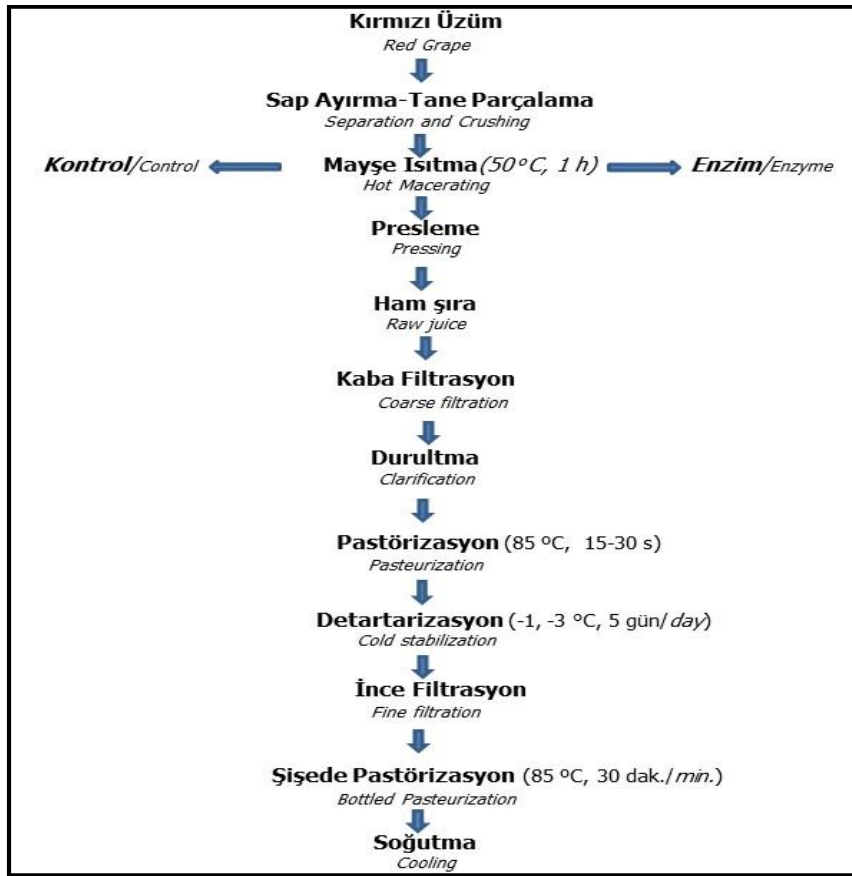
MATERYAL VE YÖNTEM**Materyal**

Çalışma kapsamında üzüm suyu üretiminde kullanılan kırmızı üzüm çeşitlerinden Cabernet Sauvignon ve Papazkarası üzümleri, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bağlarından temin edilmiştir.

Üzüm suyu üretimi

Üzümler % 21-22 suda çözünen kuru madde değerlerine ulaştığı dönemde hasat edilerek işleme

yerine getirilip, toz vs. yabancı maddelerden temizlemek üzere içilebilir nitelikte çeşme suyu ile yıkanmış, varsa çürük, ham salkımlar ve yaprak, dal parçacıkları ayıklanmıştır. Üzüm suyu üretimi laboratuvar ölçeğinde Şekil 1’de yer alan proses akışına göre gerçekleştirilmiş, mayşe ısıtma aşamasında pektolitik enzim (Polygalacturonase, Sihazym Extro, Begerow) ve kontrol (enzim katılmadan) uygulamaları yapılmış, belirlenen proses noktalarında örnekler alınarak analizlere kadar -80°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Kırmızı üzüm suyu üretimi işlem basamakları

Figure 1. Red grape juice production process

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Üzüm suyu örneklerinde toplam fenolik madde tayini, Waterhouse (2002) tarafından bildirilen prosedüre göre, Folin-Coicalteau ayracı ile yaptığı reaksiyon sonucu oluşan rengin spektrofotometrede okunması ile gerçekleştirilmiştir. 40 µL üzüm suyu numunesi spektrofotometre küveti

içine pipetlenmiş, üzerine 3.16 mL saf su ilavesinin ardından 200 µL Folin-Coicalteau reaktifi ilavesi ile karışım 1-8 dakika boyunca bekletilmiştir. Beklemenin ardından 600 µL sodyum karbonat (%20) çözeltisi ilave edilip, karıştırılmış ve 2 saat boyunca oda sıcaklığında beklemenin ardından spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda aynı şekilde hazırlanmış şahide

karşı absorbans ölçümleri yapılmıştır. Okunan absorbans değerlerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri (GAE) olan fenolik bileşik miktarı gallik asit standart eğrisi ($y=0.001x+0.0071$) yardımıyla hesaplanmıştır.

Antioksidan/antiradikal aktivite tayini

Antioksidan/antiradikal aktivite tayini iki farklı metotla belirlenmiştir.

DPPH (1.1-difenil 2-pikril hidrazil) serbest radikal yakalama kapasitesi analizi Garzón ve Wrolstad (2009)'ın bildirdiği yönteme göre yürütülmüştür. Buna göre, farklı hacimlerde (25-50-75 µL) örnek ve örnek seyreltiği üzerine 0.1 mM DPPH metanolik çözeltisinden 1.95 mL eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika boyunca bekletildikten sonra absorbans değeri 517 nm dalga boyunda, spektrofotometrede okunmuştur. Değişik hacimlere karşılık, elde edilen yüzde inhibisyon değerlerine linear regrasyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, daha önce standart Troloks solüsyonları (50–1000 µM) ile hazırlanan eğrinin eğimine oranlanarak, örneğin TEAC-DPPH (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri hesaplanmıştır.

ABTS (2.2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikal kation temizleme aktivitesi Re vd. (1999) tarafından tanımlanan metotla

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4.5} \quad (1)$$

$$\text{Toplam Antosiyenin Miktarı (mg/L)} = \frac{(A) (MW) (Sf) (1000)}{(\epsilon) l} \quad (2)$$

Burada, MW malvidin-3-glukozid'in molekül ağırlığını (493.5 g/mol), Sf seyreltme faktörünü ve ϵ ise molar absorpsiyon katsayısını (28000), l ise spektrofotometre küveti katman kalınlığını (l) ifade etmektedir.

Resveratrol miktarının belirlenmesi

Resveratrol analizi, Anonymous (2010)'da bildirilen metodun modifiye edilerek kullanıldığı, Gülcü (2016)'da uygulanan yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Shimadzu (Kyoto,

belirlenmiştir. ABTS çözeltisi PBS (tuzlu fosfat tamponu) çözeltisi ile 734 nm'de 0.700 (± 0.2) absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiştir. Mikro küvet, spektrofotometreye yerleştirilerek küvetteki ABTS+ radikal çözeltisinin başlangıç absorbans değeri kaydedilmiştir. 3 farklı örnek hacminde (10, 20, 30 µL) çalışılarak 6 dakika sonunda 734 nm'de yapılan ölçümler neticesinde saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek miktarlarına (hacimlerine) karşı bir grafiğe aktarılıp linear regrasyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanarak örneğin TEAC-ABTS (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri hesaplanmıştır.

Toplam antosiyenin miktarının belirlenmesi

Üzüm suyu örneklerinde pH-differansiyel metoduna göre toplam antosiyenin miktarları belirlenmiştir. Örnekler iki ayrı spektrofotometre küveti içerisinde pH 1.0 (0.025 M potasyum klorür) ve pH 4,5 (sodyum asetat) tampon çözeltileri ile uygun ve eşit oranda seyreltilerek hızla karıştırılmış 30 dakika bekledikten sonra 520 ve 700 nm dalga boylarında absorbans okumaları yapılmıştır. Okunan absorbans değerleri formüllerde (1 ve 2) yerine konularak toplam antosiyenin miktarı malvidin-3-glukozid eşdeğeri (ME) olarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

Japonya Prominence LC 20A HPLC sistemi, floresans dedektör (RF-20A) ile kullanılmıştır. Resveratrol, Inertsil ODS-3 guard kolon (5 µm, 10 x 4.0 mm i.d.) ve Inertsil ODS-3 (5 µm, 250 x 4.6 mm i.d.) kolonla, gradient sistemde 300 nm uyarma, 386 nm emisyon dalga boyuna ayarlanmış floresans dedektör ile tespit edilmiştir. Mobil faz olarak, %0.2 oranında formik asitle (Merck, Darmstadt, Almanya) hazırlanan asetonitril (B) ve ultra saf su (A) kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 1.5 mL/dk, kolon fırını sıcaklığı 30 °C'de analiz

süresi 22 dk.'ya ayarlanmıştır. Örnekler 0.45 µm'lik PTFE şırınga filtreden süzülerek direkt enjeksiyon yapılmıştır. Örneklerdeki resveratrol miktarları, resveratrol (Sigma-Aldrich, Katalog No: R5010) standardı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımıyla, LC Solutions (Shimadzu, Japonya) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda resveratrol için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla yaklaşık 0.005 mg/L ve 0.02 mg/L olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel analizleri

Araştırmanın tüm aşamaları 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi için faktöriyel deneme deseninde varyans analizi uygulanmış, farklılıklar

% 5 güven aralığında ($P < 0.05$) belirlenmeye çalışılmıştır. Varyasyon kaynaklarının ortalamalarının karşılaştırılmasında LSD (Least Significant Difference: Asgari Önemli Fark) Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizler için, JMP 5.0.1 istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde yedi ayrı üretim aşamasında (Ham şıra-Kaba filtre-Durultma-Pastörizasyon-Detartarizasyon-İnce filtre-Şişe pastörize) numuneler alınarak analizleri yapılmıştır. Çizelgeler (Çizelge 1 ve Çizelge 2) çeşit bazında ayrı ayrı hazırlanarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 1. Cabernet Sauvignon çeşidinden üzüm suyu işleme esnasında resveratrol ve biyoaktif özelliklerin değişimi

Table 1. Resveratrol and bioactive properties during processing of grape juice from Cabernet Sauvignon variety

	Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i> mg GAE/mL	Toplam Antosiyanin <i>Total anthocyanins</i> mg ME/mL	TEAC _{DPPH} µmol troloks/mL	TEAC _{ABTS} µmol troloks/mL	Resveratrol mg/L	
Ham Şıra <i>Raw juice</i>	1.58 ^a	0.37 ^a	1.15	11.86	1.35 ^d	
Kaba filtre <i>Coarse filtration</i>	1.55 ^a	0.35 ^b	1.14	11.51	1.20 ^c	
Durultma <i>Clarification</i>	1.27 ^{bc}	0.21 ^c	1.19	9.96	2.74 ^c	
Proses basamağı <i>Process stage</i>	Pastörizasyon <i>Pasteurization</i>	1.32 ^b	0.20 ^{cd}	1.17	10.21	3.35 ^a
	Detartarizasyon <i>Cold stabilization</i>	1.27 ^{bc}	0.20 ^{cd}	1.16	11.22	3.11 ^b
	İnce filtrasyon <i>Fine filtration</i>	1.24 ^{cd}	0.18 ^{de}	1.17	11.41	3.11 ^b
	Şişede Pastörizasyon <i>Bottled Pasteurization</i>	1.22 ^d	0.17 ^e	1.16	10.67	3.04 ^b
LSD ($P < 0.05$)	0.05	0.02	ÖD	ÖD	0.06	
Uygulama <i>Treatment</i>	Enzim <i>Enzyme</i>	1.11 ^b	0.22 ^b	1.09 ^b	9.98 ^b	1.72 ^b
	Kontrol <i>Control</i>	1.58 ^a	0.26 ^a	1.24 ^a	11.97 ^a	3.40 ^a
	LSD ($P < 0.05$)	0.03	0.01	0.06	0.84	0.11
LSD ($P < 0.05$) UygulamaXProses Bas. <i>Treatmentx Process stage</i>	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	0,16	

ÖD: önemli değil. *Not significant*

Farklı harfleri taşıyan ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

Means with different letters are statistically significant ($P < 0.05$).

Çizelge 2. Papazkarası çeşidinden üzüm suyu işleme esnasında resveratrol ve biyoaktif özelliklerin değişimi

Table 2. Resveratrol and bioactive properties during processing of grape juice from Papazkarası variety

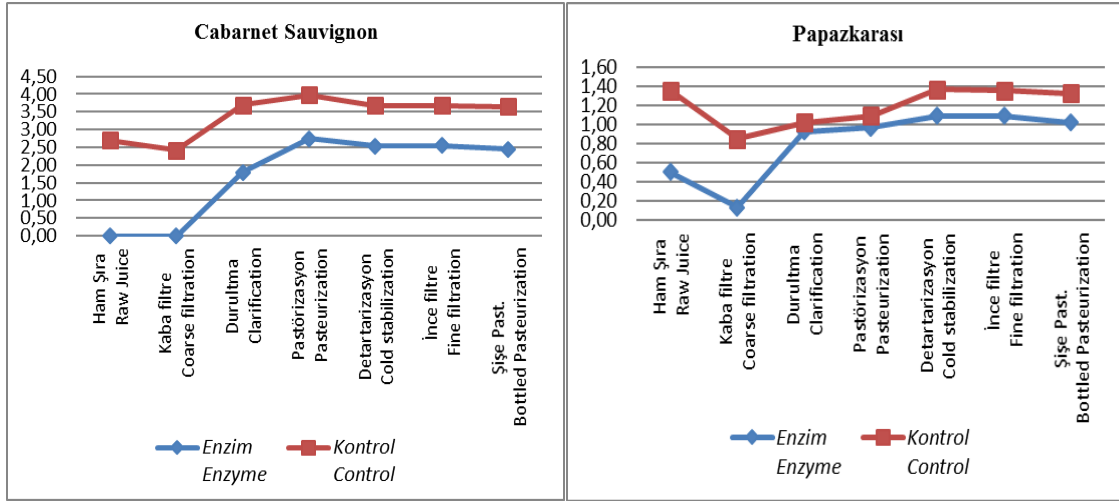
	Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i> mg GAE/mL	Toplam Antosiyanin <i>Total anthocyanins</i> mg ME/mL	TEAC _{DPPH} μmol troloks/mL	TEAC _{ABTS} μmol troloks/mL	Resveratrol mg/L
Ham Şıra <i>Raw juice</i>	1.29 ^b	0.16 ^a	1.15	7.97	0.93 ^b
Kaba filtre <i>Coarse filtration</i>	1.46 ^a	0.12 ^b	1.15	10.57	0.49 ^c
Durultma <i>Clarification</i>	1.23 ^{bc}	0.05 ^d	1.05	8.67	0.97 ^b
Proses basamakları <i>Process stage</i>					
Pastörizasyon <i>Pasteurization</i>	1.24 ^{bc}	0.07 ^{cd}	1.15	8.75	1.03 ^b
Detartarizasyon <i>Cold stabilization</i>	1.12 ^c	0.07 ^{cd}	1.18	7.87	1.23 ^a
İnce filtrasyon <i>Fine filtration</i>	1.16 ^{bc}	0.07 ^c	1.20	8.66	1.22 ^a
Şişede Pastörizasyon <i>Bottled Pasteurization</i>	1.09 ^c	0.06 ^{cd}	1.21	8.03	1.18 ^a
LSD ($p < 0.05$)	0.15	0.02	ÖD	ÖD	0.13
Uygulama <i>Treatment</i>					
Enzim <i>Enzyme</i>	1.07 ^b	0.07 ^b	1.07 ^b	7.79 ^b	0.82 ^b
Kontrol <i>Control</i>	1.38 ^a	0.10 ^a	1.24 ^a	9.50 ^a	1.20 ^a
LSD ($p < 0.05$)	0.08	0.01	0.08	1.28	0.07
LSD ($p < 0.05$) Uygulama X Proses Bas. <i>Treatment x Process stage</i>	ÖD	0.03	ÖD	ÖD	0.18

ÖD: önemli değil. *Not significant*

Farklı harfleri taşıyan ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

Means with different letters are statistically significant ($P < 0.05$).

Üzüm suyu üretim sürecinde alınan örneklerin resveratrol (mg/L) değişim grafikleri Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol (mg/L) değişimi

Figure 2. The change of resveratrol during processing of grape juice

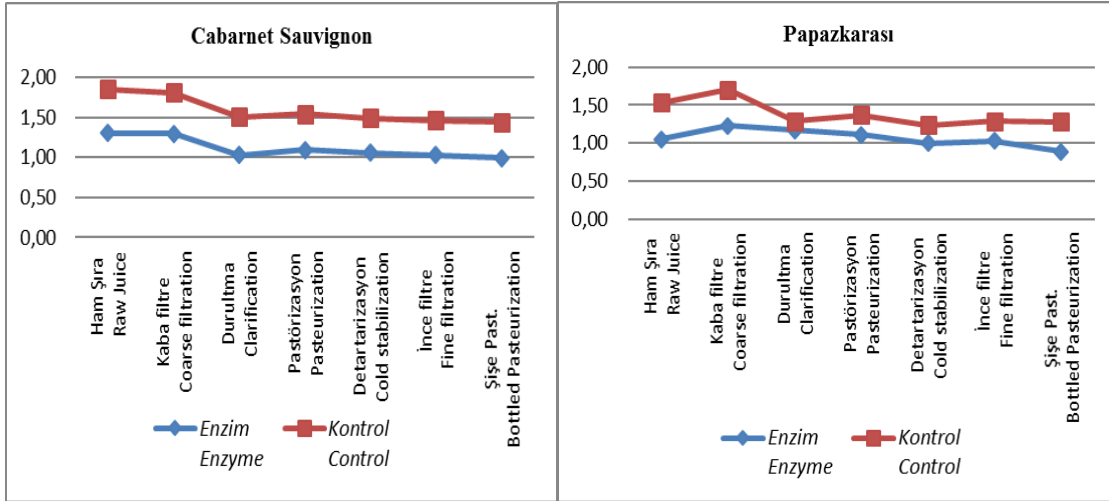
Çalışmamızda Cabernet Sauvignon çeşidinden elde edilen üzüm sularının resveratrol miktarı enzim ve kontrol uygulaması örneklerinde sırasıyla 1.72 ve 3.40 mg/L, Papazkarası çeşidinden elde edilen üzüm sularında ise yine enzim ve kontrol örneklerinde sırasıyla 0.82 ve 1.20 mg/L olarak tespit edilmiştir. Lamuela-Raventós vd. (2001), kırmızı üzüm sularında toplam resveratrol içeriğinin; 0.69 mg/L ile 14.47 mg/L arasında (ortalama 4.73 mg/L) olduğunu bildirmişlerdir. Her iki çeşitte de enzim uygulanan örneklerde resveratrol içeriğinin kontrol örneklerinden daha düşük olduğu görülmektedir. İstatistik değerlendirme neticesinde de uygulamaların (enzim, kontrol) resveratrol miktarına etkisi önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Özellikle Cabernet Sauvignon çeşidinde enzim ve kontrol ortalamaları arasındaki farkın çok daha fazla açıldığı görülmüştür. LeBlanc (2006), üzüm suyu üretiminde pektik enzim uygulamasıyla meyve suyu randımanının önemli oranda arttığını, fakat resveratrol ve türevleri olan stilben konsantrasyonunda bir artışın olmadığını, sıcak presleme uygulamasıyla karşılaştırıldığında pulptan meyve suyu geçişindeki artışın etkisiyle üzüm suyunda stilben konsantrasyonunun seyreltilmiş olabildiğini bildirmiştir.

Her iki çeşit içinde proses sürecindeki değişimler incelendiğinde, öncelikle proses basamaklarının resveratrol miktarına etkisi istatistik olarak önemli

($P < 0.05$) bulunmuştur. Proses sürecinde özellikle kaba filtre aşamasında resveratrol miktarında düşüş olduğu görülmüştür. Nitekim bazı araştırmacılar da filtrasyon işleminin resveratrol miktarını negatif etkilediğini bildirmiştir (Vrhovsek vd., 1997). Çalışmamızda durultma ve pastörizasyon aşamalarında resveratrol miktarında artışların olduğu, son basamaklarda (detartarizasyon, ince filtrasyon, şişe pastörizasyon) ise resveratrol miktarında önemli bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. Genel olarak başlangıç (Ham şıra) değerlerine göre işleme sürecinde resveratrol miktarında artış olduğu görülmüştür. Cheynier (2005), Meyve sularında işleme ve depolama esnasında oluşan bazı yeni bileşiklerden bahsetmiş, ön ürünlerinden farklı spesifik özellikler gösterebilmelerine rağmen, çalışmalarda sıklıkla göz ardı edildiğini belirtmiştir. Özellikle şarap üretiminde glukozid (piceid) formdan enzimatik hidroliz sonucu resveratrol miktarında meydana gelen yükselmeler bazı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (La Torre vd., 2004; Bavaresco vd., 2012; Bavaresco vd., 2016). Çalışmamızda durultma ve pastörizasyon aşamalarında resveratrol miktarında meydana gelen artışın, muhtemelen piceid formdan enzimatik hidroliz sonucu meydana geldiği düşünülmektedir.

Üzüm suyu işleme sürecinde resveratrol miktarları üzerine proses basamağıuygulama interaksyonu önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur.

Üretim sürecinde üzüm suyu örneklerinin toplam fenolik madde (mg GAE/mL) değişim grafikleri Şekil 3'de verilmiştir.



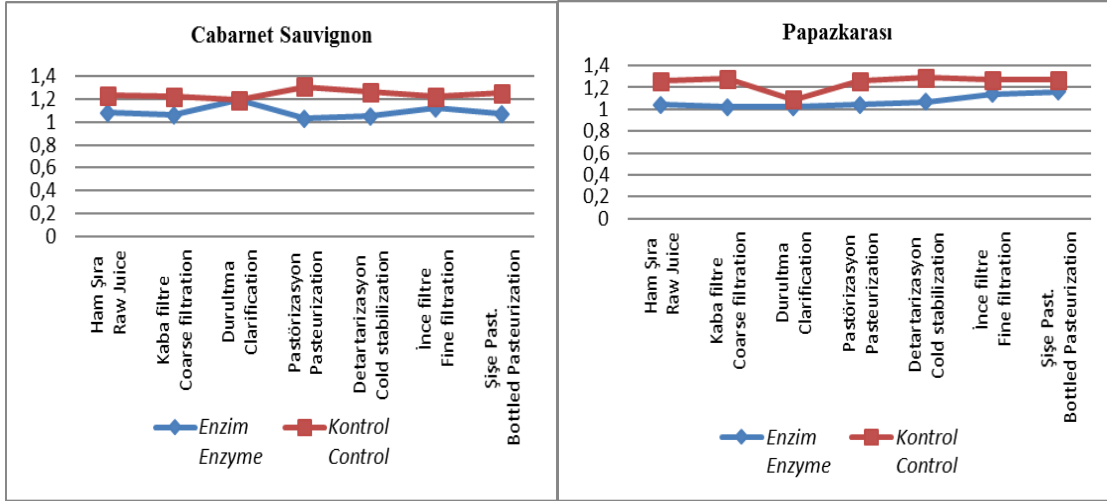
Şekil 3. Üzüm suyu üretim sürecinde toplam fenolik madde (mg GAE/mL) değişimi
Figure 3. The change of total phenolic content (mg GAE/mL) during processing of grape juice

Her iki kırmızı çeşit için de, mayşe ısıtma esnasında uygulanan enzimin toplam fenolik madde üzerine etkisi negatif yönde olurken istatistik açıdan da kontrol ve enzim uygulamaları arasındaki fark önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda pektolitik enzim kullanımıyla öncelikle meyve suyu randımanının artışına işaret edilmiştir (Morris ve Brady 2004; Sacchi vd., 2005; LeBlanc, 2006). Resveratrol miktarlarında olduğu gibi enzim etkisiyle meydana gelen meyve suyu randımanı artışının toplam fenolik madde miktarında da bir seyreltme etkisi yapmış olduğu görülmüştür.

Her iki kırmızı çeşitten üzüm suyu işleme proses sürecinde toplam fenolik madde miktarında en önemli değişim/düşüş durultma aşamasında olurken, daha sonraki aşamalarda önemli bir değişimin olmayıp yatay bir seyir izlendiği görülmüştür. Gollücke vd., (2009), Concord ve Isabel çeşitlerinden üzüm suyu konsantresi üretim sürecinde bazı proses basamaklarında (sıcak pres/şıra pastörizasyon, filtrasyon, konsantras-

yon) toplam fenolik madde ve DPPH antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde özellikle ısı işlem (pastörizasyon) sonrasında bazı değişiklikler görülmekle birlikte genel olarak proses esnasında bu parametrelerde stabil bir davranış görüldüğünü bildirmiştir. Kulcan vd., (2015), berrak siyah üzüm suyu işleme esnasında toplam fenolik madde de en büyük azalmanın durultma işlemi sonrasında izlendiğini bildirmiştir. Nitekim çalışmamızdaki üzüm suyu örneklerinin farklı proses basamaklarında toplam fenolik miktarı değişimi istatistik olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmakla birlikte, çoklu karşılaştırmada birbirine yakın gruplar oluşmuştur. Diğer taraftan proses basamağıuygulama interaksyonu önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

İşleme sürecinde üzüm suyu örneklerinin DPPH antioksidan/antiradikal aktivite (μmol troloks/mL) değerleri değişim grafikleri Şekil 4'de verilmiştir.

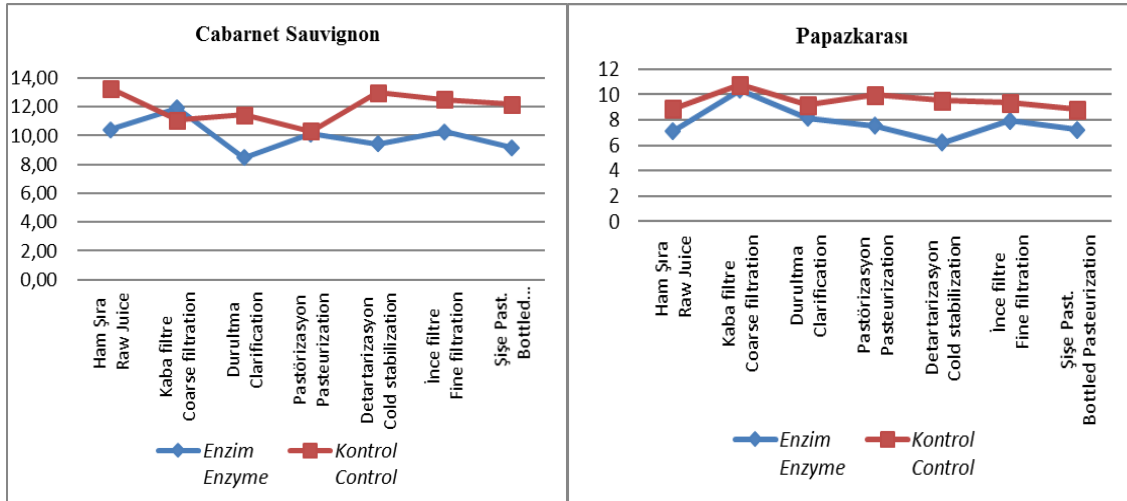


Şekil 4. Üzüm suyu üretim sürecinde DPPH antiradikal aktivite (µmol troloks/ml) değişimi
Figure 4. The change of DPPH antiradical activity (µmol troloks/mL) during processing of grape juice

Her iki kırmızı çeşitten üzüm suyu işleme sürecinde enzim uygulamasıyla DPPH antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde düşüş olurken, uygulama ortalamaları arasında oluşan fark her iki çeşitte de istatistik açıdan önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Her iki kırmızı çeşidin de üzüm suyuna işleme basamaklarında, DPPH antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde önemli bir değişim görülmezken,

istatistik açıdan da proses basamaklarının etkisi önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. Kırmızı üzüm suyu işleme de proses basamağıuygulama interaksyonu da önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

İşleme sürecinde üzüm suyu örneklerinin ABTS antioksidan/antiradikal aktivite (µmol trolox/mL) değerleri değişim grafikleri Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. Üzüm suyu üretim sürecinde ABTS antioksidan aktivite (µmol troloks/mL) değişimi
Figure 5. The change of ABTS antiradical activity (µmol troloks/mL) during processing of grape juice

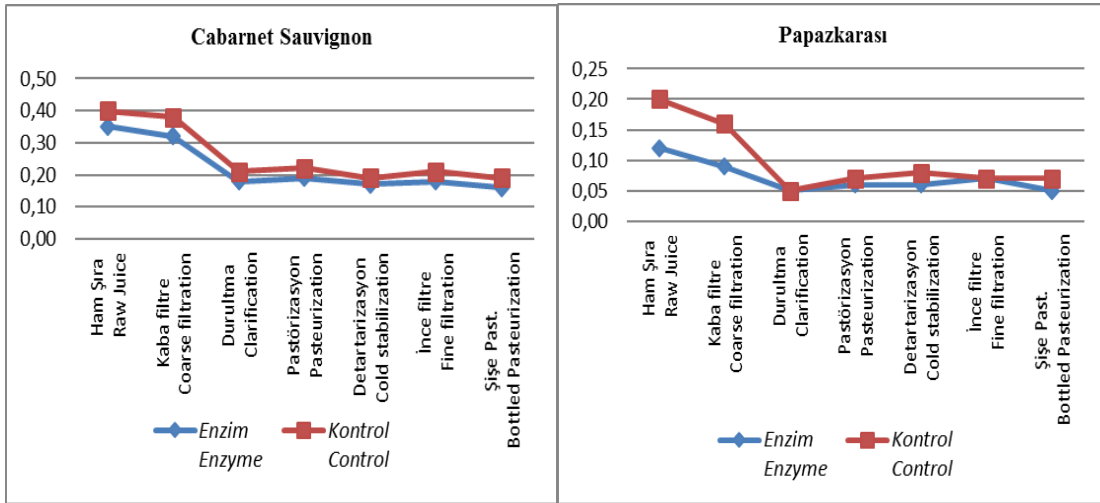
Her iki kırmızı çeşitten üzüm suyu işlemede enzim uygulamasıyla ABTS antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde de düşüş olurken, uygulama

ortalamaları arasında oluşan fark her iki çeşitte de istatistik açıdan önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Kırmızı üzüm suyu işleme sürecinde başlangıç

değerlerine göre ABTS antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde kaba filtrasyon işlemiyle bir miktar yükseliş, durultma işlemiyle de bir miktar düşüş olduğu görülmekle birlikte bu değişimler dar sınırlarda gerçekleşmiştir. Üzüm suyu konsantresi üretim sürecinin incelendiği benzer bir çalışmada antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde proses esnasında stabil bir davranış görüldüğü bildirilmiştir (Gollücke vd., 2009). Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmiştir.

İstatistik analiz sonuçları da bunu doğrular nitelikte olup proses basamağı faktöründe ABTS antioksidan/antiradikal aktivite değişimi ve ikili faktör interaksyonu da (proses basamağı x uygulama) istatistik açıdan önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

Üzüm suyu örneklerinin işleme sırasında toplam antosiyanin miktarında meydana gelen değişimler Şekil 6'de görülmektedir.



Şekil 6. Üzüm suyu üretim sürecinde toplam antosiyanin (mg ME/mL) değişimi
Figure 6. The change of total anthocyanin (mg ME/mL) during processing of grape juice

Cabernet Sauvignon çeşidi üzüm sularının Papazkarası çeşidinden elde edilen üzüm suyuna göre daha yüksek antosiyanin içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Enzim uygulaması yine toplam antosiyanin miktarına da negatif bir etki yaparken, istatistik olarak da uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Sacchi vd., (2005), bazı enzimlerin antosiyaninleri daha az stabil aglikon bileşiklerine dönüşürebildiğini bu nedenle renk kayıplarının oluşabildiğini, özellikle pektinaz kullanımında polimerik pigment oluşumunun arttığını belirtmişlerdir. Amarowicz vd., (2009), meyve sebze işleme teknolojisinde kullanılan bazı enzim preparatlarının pigment ekstraksiyon verimini arttırmaları beklenirken, preparatın diğer bazı aktivitelerine bağlı olarak şarap ve meyve sularında antosiyaninlerin hidrolizine yol açabileceklerinin, bunda pigment düzeylerinde azalmalara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Kırmızı üzüm suyu işleme sürecinde proses aşamalarında toplam antosiyanin değerlerinde meydana gelen değişim istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu süreçte en önemli değişim/kayıp durultma aşamasında meydana gelmiş olup, durultma sonrası proses basamaklarında ise önemli bir değişimin olmadığı görülmüştür. Capanoğlu vd., (2013), çalışmalarında üzüm suyunda ileri derecede antosiyanin kaybının durultma ve filtrasyon aşamasında, muhtemelen tortuların adsorbsiyonu veya çökeltmesi sonucu meydana geldiğini belirtmiştir. Çalışmamızda da benzer olarak durultma aşamasındaki önemli düzeyde antosiyanin kayıpları dikkat çekmiştir. Genel olarak her iki çeşitten de kırmızı üzüm suyu işleme sürecinde toplam antosiyanin miktarında yaklaşık % 50 civarında bir kayıp olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak, kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde durultma ve kaba filtrasyon işlem basamaklarının incelenen özelliklerde kayıplara yol açtığı görülmüştür. Genel olarak işleme süreci boyunca resveratrol miktarında yükselmelerin olduğu tespit edilmiş, bunun piceid formdan enzimatik hidroliz sonucu meydana gelen resveratrol artışı olduğu değerlendirilmiştir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin proses boyunca daha stabil kaldığı görülürken, toplam antosiyanin miktarında yaklaşık % 50 civarında bir kayıp olduğu tespit edilmiştir. Toplam antosiyaninde en yüksek kayıplar durultma basamağında meydana gelmiştir. Kırmızı üzüm suyu üretiminde mayşe ısıtma esnasında uygulanan enzim preparatının sağladığı şıra/meyve suyu randımanı artışına bağlı olarak, resveratrol ve biyoaktif özelliklerde seyreltme etkisi meydana getirdiği görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından desteklenen TAGEM/HSGYAD/13/A05/P01/25 nolu projenin bir bölümüdür.

KAYNAKLAR

Adıgüzel, B.Ç. (2007). Bazı bölgelerimizde üretilen şrapların resveratrol düzeyleri ve bölgelerin ekolojik koşullarının resveratrol içeriği üzerine etkileri. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Amarowicz, R., Carle, R., Dongowski, G., Durazzo, A., Galensa, R., Kammerer, D., Maiani, G. and Piskula, M.K. (2009). Influence of postharvest processing and storage on the content of phenolic acids and flavonoids in foods. *Mol Nutr Food Res*, 53(S2), pp.S151-S183.

Anonymous (2010). Ultra-High-Speed Analysis of Polyphenols in Wine. Nexera Application Data Sheet No.11, Shimadzu Corporation.

Bavaresco, L., Lucini, L., Busconi, M., Flamini, R., De Rosso M. (2016). Wine Resveratrol: From the Ground Up. *Nutrients*, 8(4): 222.

Bavaresco, L., Mattivi, F., De Rosso, M., Flamini, R. (2012). Effects of elicitors, viticultural factors, and enological practices on resveratrol and

stilbenes in grapevine and wine. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 12(13): 1366-1381.

Capanoglu, E., de Vos, R.C., Hall, R.D., Boyacioglu, D., Beekwilder, J. (2013). Changes in polyphenol content during production of grape juice concentrate. *Food Chem*, 139(1): 521-526.

Cemeroğlu B (2007). Gıda analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, Türkiye, 657 s. ISBN: 978-975-98578-3-7.

Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr*, 81(1): 223-229.

Dani, C., Oliboni, L.S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M., Henriques, J.A.P. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically-or conventionally-produced grapes. *Food Chem Toxicol*, 45(12): 2574-2580.

Garzón, G.A., Wrolstad, R.E. (2009). Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chem*, 114(1): 44-49.

Gollücke, A.P.B., Catharino, R.R., de Souza, J.C., Eberlin, M.N., de Queiroz Tavares, D. (2009). Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage. *Food Chem*, 112(4): 868-873.

Gülcü, M. (2016). Bazı üzüm çeşitlerinin resveratrol ve biyoaktif özelliklerine ürün işleme ve depolamanın etkisi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 184 s.

Gülcü, M., Demirci, A.Ş., Güner K.G. (2008). Siyah üzüm; zengin besin içeriği ve sağlık açısından önemi, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 179-182 s.

Karadeniz, F. (2000). Üzümlerde ve şaraplarda resveratrol oluşumu. *GIDA* 25(2): 113-119.

Kulcan, A.A., Öziyici, H.R., Tetik, N., Karhan, M. (2015). Changes in turbidity, total phenolic and anthocyanin contents of clear red grape juice

- during processing. *GIDA* 40(6): 311-317, doi: 10.15237/gida.GD15029.
- La Torre, G. L., Laganà, G., Bellocco, E., Vilasi, F., Salvo, F., Dugo, G. (2004). Improvement on enzymatic hydrolysis of resveratrol glucosides in wine. *Food Chem*, 85(2):259-266.
- Lachman, J., Šulc, M., Faitová, K., Pivec, V. (2009). Major factors influencing antioxidant contents and antioxidant activity in grapes and wines. *International Journal of wine research*, 1 (1): 101-121.
- Lamuela-Raventós, R.M., Romero-Perez, A.I., de la Torre-Boronat, M.C. (2001). Physiological properties of resveratrol isomers in wine: Compositional changes during processing. In: *Polyphenols, Wine and Health*, Springer Netherlands, pp. 123-137.
- LeBlanc, M.R. (2006). Cultivar, juice extraction, ultra violet irradiation and storage influence the stilbene content of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). Ph.D. Dissertation, Louisiana State University, LA, the USA, 112 p.
- Morris, J.R., Brady, P.L. (2004). The muscadine experience: adding value to enhance profits (Vol. 974). Arkansas Agricultural Experiment Station.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9): 1231-1237.
- Romero-Perez, A.I., Ibern-Gomez, M., Lamuela-Raventós, R.M., Torre-Boronat, M.C. (1999). Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J Agricult Food Chem*, 47(4): 1533-1536.
- Sacchi, K.L., Bisson, L.F., Adams, D.O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 56(3): 197-206.
- Tříška, J., Balík, J., Strohalm, J., Novotná, P., Vrchotová, N., Lefnerová, D., Landfeld, A., Híc, P., Tománková, E., Veverka, J. and Houška, M. (2016). Influence of technological processes on biologically active compounds of produced grapes juices. *Food and bioprocess technology*, 9(3): 421-429.
- Vrhovsek, U., Wendelin, S., Eder, R. (1997). Effects of various vinification techniques on the concentration of cis-and trans-resveratrol and resveratrol glucoside isomers in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48(2): 214-219.
- Waterhouse, A.L. (2002). Determination of total phenolics. Current Protocols in Food Analytical Chemistry I1.1.1-I1.1.8 John Wiley & Sons, Inc.

FARKLI BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN AYÇİÇEĞİ YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bahattin Tabar¹, Ayhan Baştürk^{2*}

¹Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Iğdır, Türkiye

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye

Geliş/ Received: 30.12.2017; Kabul/ Accepted: 11.02.2018; Online baskı/ Published online: 08.03.2018

Tabar, B., Baştürk, A.. (2018). Farklı bitkisel ekstraktların ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri. *GIDA* (2018) 43 (2): 333-346 doi: 10.15237/gida.GD17115

Tabar, B., Baştürk, A.. (2018). *Effects of different herbal extracts on oxidative stability of sunflower oil. GIDA* (2018) 43 (2): 333-346 doi: 10.15237/gida.GD17115

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, 7 farklı bitki ekstraktının ayçiçek yağında oksidasyonu engelleme performanslarını değerlendirmektir. Farklı bitki ekstraktları ilave edilmiş ayçiçeği yağı örnekleri, 25, 50 ve 75 °C'lerde 21 gün süre ile hızlandırılmış oksidasyona tabi tutulmuştur. Depolama öncesi, 7., 14. ve 21. günlerde numuneler alınarak peroksit değeri (PD), malondialdehit (MAD), konjuge dien (K₂₃₂) ve konjuge trien (K₂₇₀) analizleri yapılmıştır. Ayrıca antioksidan olarak kullanılan maddelerin antioksidan aktiviteleri DPPH (EC₅₀) testi ile belirlenmiştir. PD, MAD, K₂₃₂ ve K₂₇₀ değerleri depolama sıcaklığı ve süresi artışına paralel olarak artmıştır. Özellikle birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu geciktirmede biberiye ekstraktı (BB), sumak ekstraktı (SM) ve ısırgan ekstraktı (IS) referans antioksidan olarak kullanılan BHT, tokoferol (TOC) ve AP kadar etkili olmuştur. İkincil oksidasyon ürünleri oluşumunu geciktirmede ise ekstraktlardan BB, SM ve zencefil ekstraktı (ZC) etkili olmuştur. BB, SM, IS ve ZC ekstraktlarının oksidasyonu geciktirerek, ayçiçek yağının oksidatif stabilitesini arttırdığı ve gıda sanayinde ticari olarak yağ oksidasyonunun geciktirilmesinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Bitkisel ekstrakt, Ayçiçek yağı, Oksidatif stabilite, Antioksidan aktivite

EFFECTS OF DIFFERENT HERBAL EXTRACTS ON OXIDATIVE STABILITY OF SUNFLOWER OIL

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the performance of 7 different plant extracts on prevention of sunflower oil oxidation. Sunflower oil samples enriched with different herbal extracts were subjected to accelerated oxidation conditions at 25, 50 and 75 °C for 21 days of storage. Peroxide value (PV), malondialdehyde (MAD), conjugated dien (K₂₃₂) and trien (K₂₇₀) values were determined initially before the storage, and at the 7th, 14th and 21st day of storage. In addition, antioxidant activities of the ingredients used as antioxidant source were analyzed by DPPH (EC₅₀) test. PV, MAD, K₂₃₂ and K₂₇₀ values increased by the increase of the storage temperature during the storage period. Especially, rosemary extract (RE) was found to be as effective as sumac (SM) and nettle (NE) extracts, natural tocopherols of the refined sunflower oil, AP and BHT used as a reference antioxidant, in deferral of formation of primary oxidation products. Similarly, RE, SE and ginger (GE) extract was quite effective in deferring the formation of secondary oxidation products. It is concluded that RE, SM, NE and GE were effective in prevention of oxidation and improving the oxidative stability of sunflower oil, and thus, they may be used commercially in food industry to provide longer shelf life for edible oils and oily products.

Keywords: Herbal extract, Sunflower oil, Oxidative stability, Antioxidant activity.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ayhanbasturk@yyu.edu.tr,

☎ (+90) 432 225 1726 /28162

☎ (+90) 432 225 1730

GİRİŞ

Ayçiçek yağı, esansiyel linoleik asit kaynağı olarak kabul edilen ve beslenmede yaygın olarak kullanılan önemli yemeklik yağlardan birisidir (Wang vd., 2012). Ancak yüksek doymamış yağ asidi ve özellikle çoklu doymamış yağ asidi içeriği ile oksidasyona daha duyarlıdır. Yağların oksidasyonu, gıdaların tadında, kokusunda, dokusunda ve görünüşünde istenmeyen değişikliklere neden olur ve ayrıca yağda çözünen vitaminleri yok eder (da Silva ve Jorge, 2014). Son yıllarda bütil hidroksi anisol (BHA) ve bütil hidroksi toluen (BHT) gibi sentetik antioksidanlar yüksek oksidatif stabilitesi ve düşük maliyetleri nedeniyle lipidlerin oksidatif bozunmasını geciktirmede yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, sentetik antioksidanların kullanımının insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri ile ilgili endişeler gün geçtikçe artmıştır (Cordeiro vd., 2012). Bu durum gıda endüstrisini sentetik antioksidanlar yerine bitkilerden elde edilen doğal antioksidan bileşiklerin kullanımına yöneltmiştir. Bitkiler insana değerli biyoaktif maddeleri sunan zengin kaynaklardır (Tayel ve El-Tras, 2012). Bu nedenle farklı bitki ve baharatlardan elde edilen ekstraktlar yağ ve yağ içeren gıdaların kalitesini ve raf ömrünü geliştirmek için antioksidan olarak değerlendirilmektedir. Biberiye yaygın olarak incelenmiş ve oksidasyon kontrolü için etkili olduğu ispatlanmış popüler bir bitkidir (Pizzale vd., 2002). Sumak'ın (*Rbus coriaria*) hidrolizlenebilir tanenler, antosiyaninler gibi fenolik bileşikler, ayrıca malik ve sitrik asitler gibi organik asitleri içerdiği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Regazzoni vd., 2013). Fitokimyasal çalışmalar, zencefilin antioksidan ve anti-inflamatuar etkilere sahip olduğunu ve potansiyel bir kanser önleyici aktivite sergilediğini göstermektedir (Yeh vd., 2014). Zencefilin karakteristik bileşenleri, monoterpenoid ve seskiterpen hidrokarbonlardan oluşan uçucu yağlar ve zenceoller, shogaoller ve zingerone olarak bilinen uçucu olmayan fenoliklerden oluşan oleoresindir (Huang vd., 2012). Isırgan ekstraktı antioksidan aktivitesinin kafeik asit ve türevleri, klorojenik asit, 2-O-kafeoilmalik asit, kersetin 3-O-glukosid, kaempferol 3-O-rutinosid ve izorhamnetin 3-O-rutinosid gibi fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Almasi

vd., 2016). Okaliptus ekstraktlarının doğal polifenollerce zengin olduğu ve yağların stabilizasyonunda doğal antioksidan olarak kullanılabilceği yapılan önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Ali vd., 2015). Sarımsak biyoaktif bileşenlerinin iyi antioksidan oldukları bilinmektedir (Ide vd., 1997). Sarımsak uçucu yağlarında bulunan allisin türevleri (diallil disülfür, diallil trisülfid) iyi antimikrobiyal ve antioksidan aktivite göstermektedir (Amagase vd., 2001). Çalışmada kullanılan ekstraktlar, literatür taramaları sonucu zengin fenolik içeriklerinden dolayı tercih edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), zencefil (*Zingiber officinale* Roscoe), yeşil çay (*Camelia sinensis*), ısırgan otu (*Urtica dioica* L.), okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis*), sumak (*Rbus coriaria* L.) ve sarımsak (*Allium sativum*) ekstraktlarının antioksidatif etkinliğini, standart antioksidanlardan BHT, AP, TOC ile karşılaştırmak ve ayçiçek yağı örneklerinde oksidasyonu engelleme performanslarını değerlendirmektir. 25, 50, 75 °C'lerde depolanan örneklerin 0., 7., 14. ve 21. günlerde PD, MAD, K₂₃₂ ve K₂₇₀ analizleri yapılarak oksidatif stabiliteleri belirlenmiştir. Ayrıca ayçiçek yağına eklenen maddelerin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile belirlenerek karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan rafine ayçiçek yağı Iğdır ili marketlerinden alınmıştır. Biberiye (BB), zencefil (ZC), yeşil çay (YC), ısırgan (IS), okaliptüs (OK), sumak (SM) ve sarımsak (SR) öğütülmüş olarak Deva Ticaret (www.yesildeva.com, Manisa, Türkiye) firmasından alınmıştır. BHT, AP, DPPH, heksan, isopropil alkol ve alüminyum oksit Sigma-Aldrich Chem Co. (St. Louis, MO, USA)'dan temin edilmiştir. Diğer kimyasal maddelerin bilimsel hassasiyeti sağlayacak saflıkta ve nitelikte olmasına özen gösterilmiştir.

Ayçiçek Yağının Antioksidanlardan Arındırılması

İşlem Yoshida vd. (1992) tarafından tanımlanan yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ayçiçeği yağında (AY)

bulunun tokoferollerin uzaklaştırılması için 100 °C'de 8 saat, 200 °C'de 10 saat ısıtılarak aktif hale getirilen 65 g alüminyum oksit 3x45 cm ebatlarındaki kolona yerleştirilmiştir. Başlangıçta 65 mL n-hekzan kolondan geçirilmiş, sonra 65 g rafine ayçiçek yağı 65 mL n-hekzanla karıştırılarak vakum altında kolondan geçişi sağlanmıştır. Kolondan geçirilen yağdaki çözücü madde vakum altında, 40 °C sıcaklık ve 65 rpm devirde çalıştırılan rotary evaporatörde uzaklaştırılmıştır. İşlem öncesi ve sonrası AY'nın tokoferol (TOC) analizleri yapılmıştır. Saflaştırılmış AY'ında TOC'in uzaklaştırıldığı HPLC analizleri ile doğrulanmıştır.

Ekstraktların Hazırlanması

Her bir ekstrakt, 20 g kuru öğütülmüş bitkisel materyalin, soxhlet aparatında etanol:su karışımı (80:20) ile ekstraksiyonu sonucu elde edilmiştir. Çözücü, rotary evaporatörde (Heidoph, Schwabach, Germany) 65 rpm ve 40 °C'de uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlar liyofilize edildikten sonra amber renkli vida kapaklı şişelerde analizleri yapılmaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

DPPH Radikal Yakalama Aktivitesi Tayini

Bitkisel ekstraktların DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri Blois (1958) yönteminde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bitkisel ekstraktlar deney tüplerine farklı derişimlerde (20, 40 ve 60 µg/µL) hazırlanarak, 3 mL'ye etanol ile tamamlanmıştır. Sonra tüplere 0.1 mM DPPH çözeltisinden 1 mL ilave edilmiştir. Bu örnekler vortekslenerek, yarım saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH çözeltisi kullanılmıştır. Azalan absorbans geriye kalan DPPH çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermiştir. Antioksidan aktivite (AA), Eşitlik 1'de verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$AA (\%) = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (1)$$

Elde edilen % inhibisyon değerleri ekstrakt derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek her bir ekstraktın %50 renk açılımını sağlayan derişimleri %50 inhibisyon (EC₅₀) değeri olarak verilmiştir.

Yağların Oksidatif Tepkimelerinin Hızlandırılması

BB, ZC, YÇ, IS, OK, SM ve SR ekstraktları etanolde çözüldürüldükten sonra, 1g ekstrakt/1kg yağ olacak şekilde, saflaştırılmış ayçiçek yağına eklenerek 7 örnek, bunlarla karşılaştırmak için 614.35 mg/kg α-Toc, 400 mg/kg AP, 200 mg/kg BHT içeren örnekler ve kontrol olarak antioksidan içermeyen saflaştırılmış ayçiçek yağı hazırlanmıştır. Bitki ekstrakt derişim düzeyleri literatür araştırmaları sonucunda, aralarında karşılaştırılabilmeleri için 1g/kg olarak seçilmiştir. Tokoferol için kullanılan rafine ayçiçeği yağında mevcut bulunan düzey, AP için daha önceki çalışmalarımızda belirlenen etkili düzey ve BHT için ise ilgili mevzuatta belirlenen düzey seçilmiştir. Örnekler 25, 50 ve 75 °C'ye ayarlanmış etüvlerde hızlandırılmış oksidasyona tabi tutularak 0., 7., 14. ve 21. günlerde alınan numunelerde PD, MAD, K₂₃₂ ve K₂₇₀ analizleri yapılmıştır.

Peroksit, Konjuge Dien ve Konjuge Trien Değerlerinin Belirlenmesi

Peroksit, AOCS Cd 8b-90 (1989b), K₂₃₂ ve K₂₇₀ değerleri IUPAC 2.505 (IUPAC, 1992) resmi yöntemlerine göre yapılmıştır.

TBARS Analizi

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) testi AOCS (1994) yöntemine göre yapılmıştır. 150 mg yağ örneği 25 mL'lik balonjojeye tartılıp, 1-butanol ile karıştırılarak çizgisine kadar tamamlanmıştır. Ultrasonik su banyosunda uniform karışım sağlanmıştır. Vida kapaklı cam tüpe 5 mL örnek çözeltisi aktarılıp, aynı tüpe 1-butanolde hazırlanmış 5 mL % 0.2'lik TBA çözeltisinden ilave edilmiştir. Vortekslenerek su banyosunda 95 °C'de 2 saat inkübe edilmiş, musluk suyu altında 10 dakika bekletilerek oda sıcaklığına düşürülmüştür. Spektrofotometrede 532 nm'de absorbanslar okunmuştur. TBARS değeri MAD cinsinden Eşitlik-2 kullanılarak hesaplanmıştır. Oksidasyonun ikincil ürünlerinin göstergesi olarak kabul edilen MAD, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyon vererek 532 nm dalga boyunda ölçülebilen renkli bir bileşik vermesi esasına dayanmaktadır.

$$MAD=(50 \times A_{532})/m \quad (2)$$

Burada, “A₅₃₂” 532 nm’deki absorbans değerini, “m” örnek miktarını (mg) ve “50” ise 25 mL hacimsel balon ve spektrofotometre kütetinden kaynaklanan faktörü ifade etmektedir.

Tokoferol Tayini

Aluminyum oksit uygulaması öncesi ve sonrası alınan ayçiçeği yağı 0.5 g tartılarak, 1:10 oranında n-hekzan ile seyreltilip, 0.45 µm PTFE filtreden geçirilerek HPLC’ye enjekte edilmiştir (AOCS, 1989a). Analizler, Shimadzu (Kyoto, Japonya) marka HPLC cihazında LiChrosorb Si60 (250X4mm, ID) 5µm kolon, 1 mL/min akış hızında mobil faz olarak hekzan/izopropil alkol (99:1), 295 nm dalga boyunda ve 25 °C kolon sıcaklığı koşullarında gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde SPSS paket programı (version 20.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois) kullanılmıştır. Deneysel veriler 3 tekrarın ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. Değerlendirmede varyans analiz tekniği uygulanmış, ortalamalar arasındaki farklar Duncan karşılaştırma testi ile belirlenmiştir ($P < 0.05$).

BULGULAR VE TARTIŞMA

DPPH Radikal Yakalama Aktiviteleri

Çalışmada antioksidan olarak kullanılan maddelerin % 50 inhibisyonu sağlayan derişimleri (EC₅₀) ve doğrusal regresyon eşitlikleri Şekil 1’de verilmiştir. EC₅₀ değerinin düşük olması, yüksek antiradikal aktiviteyi göstermektedir. Bu değerler 28.84 ile 377.97 µg/mL aralığında bulunmuştur. EC₅₀ değerlerinin hesaplanmasında doğrusal regresyon denklemleri kullanılmış olup, regresyon katsayılarının 0.86-0.99 aralığında olduğu belirlenmiştir. OK, TOC, AP, SM ve BHT yüksek, SR ve IS düşük antioksidan aktivite göstermiştir. SM’in EC₅₀ değeri 39.89 µg/ml olarak bulunmuştur. Bu sonuç, yapılan önceki çalışmalarda ele edilen; 38 µg/mL (Kossah vd., 2013), 29.89 µg/mL (Baştürk vd., 2017) 50 µg/ml (Bozan vd., 2003), 37.7-42.7 µg/ml (Danış vd., 2014) ve 36.4 µg/mL (Bursal ve Koksall, 2011)

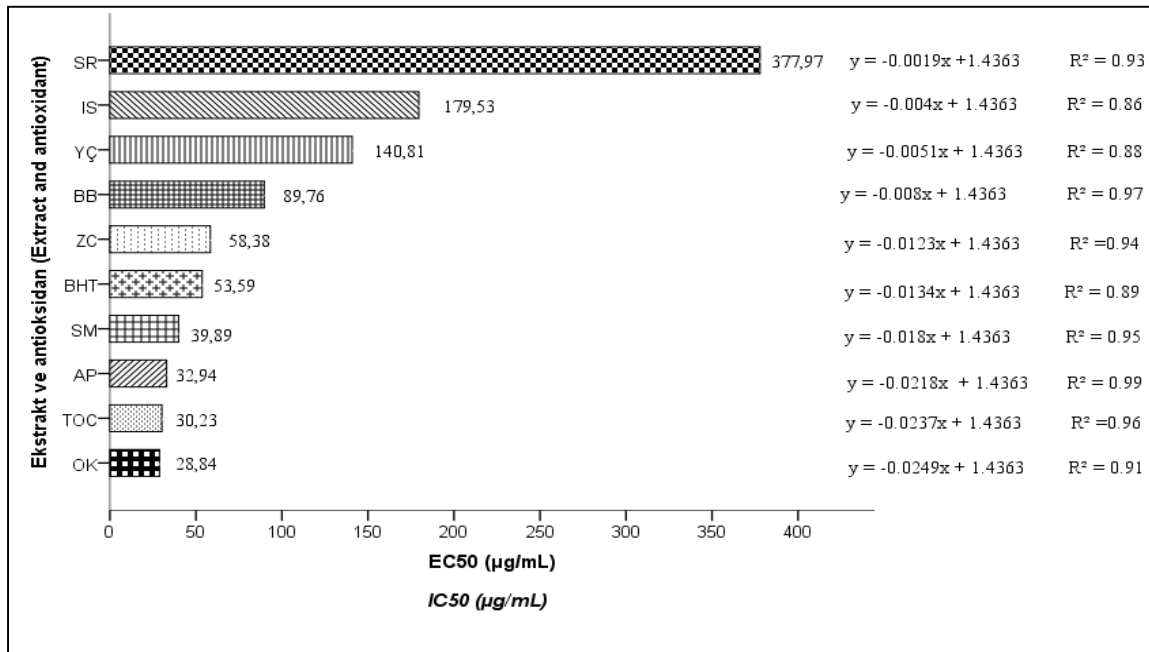
değerleri ile uyum göstermektedir. En yüksek antioksidan aktivite (en düşük EC₅₀) OK (*Eucalyptus camaldulensis*)’ta (28.84 µg/mL) belirlenmiştir. Yapılan önceki çalışmalarda, *E. camaldulensis*’in metanol ekstraktı ve esansiyel yağının EC₅₀ değerleri sırasıyla 14.0 µg/mL (Singab vd., 2011), 4.096 µl/mL (Basak ve Candan, 2010) olarak rapor edilmiştir. Chen vd. (2014) BB’nin DPPH radikal süpürme aktivitesinin BHT’den daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda BB’nin EC₅₀ değeri 89.76 µg/mL, BHT’nin ise 53.59 µg/mL bulunmuştur. Casarotti ve Jorge (2014) ise BB’nin EC₅₀ değerini 43.52 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda ZC’in EC₅₀ değeri 58.38 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu sonuç önceki çalışmalarda (Ghasemzadeh vd., 2010; Jain vd., 2008; Khalaf vd., 2008; Kubra ve Rao, 2012) elde edilen sonuçlarla uyumludur. En yüksek EC₅₀ değeri SR’ta gözlemlenmiştir (377.97 µg/mL). Kallel vd. (2014) sarımsağın su, metanol ve etanol ekstraktlarının EC₅₀ değerlerini sırasıyla, 260, 640 ve 1260 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Hamidi ve Shami (2015) farklı çözücüleri kullanarak elde ettikleri SR ekstraktlarında EC₅₀ değerlerini 270-530 µg/mL aralığında tespit etmişlerdir. Ekstraktlar içinde ikinci en zayıf antiradikal aktivite IS’da (EC₅₀=179.53 µg/mL) belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda IS ekstraktı EC₅₀ değerleri; 175 µg/mL (Nikolova ve Dzhurmanski, 2009), 105.16 µg/mL (Kataki vd., 2010), 179.53 µg/mL (Baştürk vd., 2017) 152.34 µg/mL (Zemmouri vd., 2017), 300-370 µg/mL (Guler, 2013) olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda YÇ’in EC₅₀ değeri 140.81 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda YÇ’in EC₅₀ değerleri 201.3 µg/mL (Tewari vd., 2014), 70.25 µg/mL (Tariq ve Reyaz, 2013), 73 µg/mL (Atalay ve Erge, 2017) ve 26-37 µg/mL (Chan vd., 2007) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar arasındaki farklılıklar; ekstraksiyon tekniği, ekstraksiyonda kullanılan çözücü türü, bitkilerin yetiştiği coğrafya ve fenolik içeriklerinden kaynaklanmaktadır.

Peroksit Değeri

Farklı bitki ekstraktları ve antioksidan maddelerin eklendiği AY örneklerinin değişen PD’leri Şekil 2’de verilmiştir. Örnek, sıcaklık ve süre faktörlerine bağlı olarak değişen PD’leri

arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 25 °C sıcaklıkta en fazla PD artışı kontrol örneğinde (1.35-14.4 meqO₂/kg), bunu takiben IS ve ZC katkılı örneklerde (sırasıyla 1.00-6.50 ve 1.31-5.62 meqO₂/kg) gerçekleşmiştir. TOC (RAY), BB, SR ve BHT içeren örneklerde PD en düşük seviyede artış göstermiştir. 50 °C'de PD artışını engellemede sırasıyla, BB, BHT, AP, YÇ ve SM en etkili antioksidanlar iken, SR, OK, ZC en zayıf antioksidan etkiyi göstermişlerdir. PD, kontrol örneğinde depolama sonunda 36.87 meqO₂/kg'a yükselmiştir. 75 °C'de 21. gün sonunda PD en yüksek seviyelerine sırasıyla, kontrol, AY+SR, AY+OK ve AY+ZC örneklerinde (sırasıyla, 40.45, 38.86, 31.16 ve 28.57 meqO₂/kg) ulaşmıştır. En az düzeyde PD ise AY+BHT, AY+BB, RAY, AY+IS ve AY+AP örneklerinde (sırasıyla, 11.09, 12.25, 13.03, 14.00 ve 13.35 meqO₂/kg) gözlemlenmiştir. Her üç depolama sıcaklığında PD artışını engellemede BB, ekstraktlar arasında en etkili olmuştur. Bunu 25 °C'de SR, 50 °C'de YÇ ve SM, 75 °C'de IS ekstraktları izlemiştir. Bu ekstraktların referans

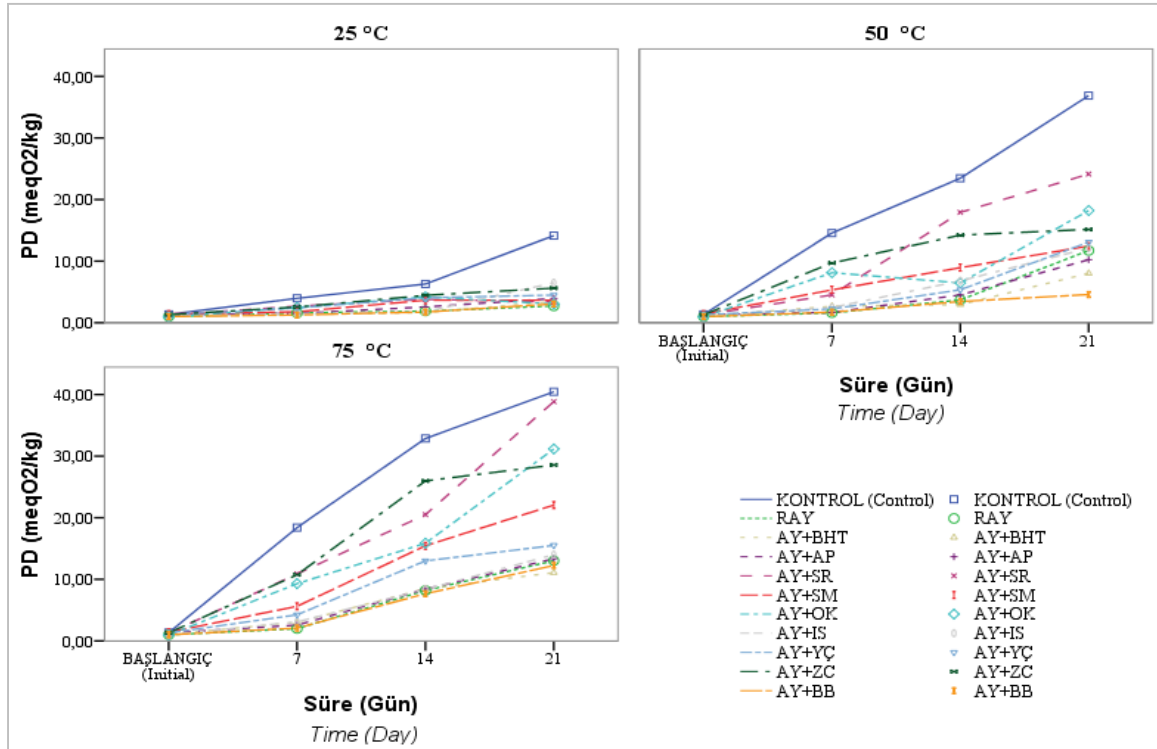
antioksidanlar olarak kullanılan BHT, AP ve TOC kadar etkili oldukları anlaşılmaktadır (Şekil 2). Baştürk vd. (2017), ısırgan, keten tohumu, adaçayı, nane, sumak ve kekik ekstraktları ve referans antioksidan olarak TOC, BHT ve AP'ın mısır yağının 60 °C'de oksidatif stabilitesini araştırdıkları çalışmada PD oluşumunu engellemede en etkili ekstraktın sırasıyla, SM, nane ve kekik olduğunu bildirmişlerdir. Özcan ve Akgül (1995) 70 °C'de depoladıkları farklı bitki metanol ekstraktlarının eklendiği ayçiçeği yağlarında SM'in etkili bir stabilizasyon sağladığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda; BB'nin ayçiçek yağında (Hraš vd., 2000; Upadhyay vd., 2017), fındık yağında (Tohma ve Turan, 2015) ve soya yağında (Casarotti ve Jorge, 2014) lipid oksidasyonuna karşı etkili olduğu rapor edilmiştir. AY'da YÇ'in (Modzelewska-Kapituła ve Marin-Iniesta, 2005) ve SR'in (Hamidi ve Shami, 2015), yerfıstığı yağında SM'in (Ozcan, 2003) ve mısır yağında SR'in (Navas vd., 2006) peroksit oluşumuna karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir.



SR: Sarımsak ekstraktı (*Garlic extract*), IS: Isırgan ekstraktı (*Nettle extract*), YÇ: Yeşilçay ekstraktı (*Green tea extract*), BB: Biberiye ekstraktı (*Rosemary extract*), ZC: Zencefil ekstraktı (*Ginger Extract*), BHT: Bütilenmiş hidroksi tolüen (*Butylated hydroxy toluene*), SM: Sumak ekstraktı (*Sumac extract*), AP: Askorbil palmitat (*Ascorbyl palmitate*), TOC: Tokoferol (*Tocopherol*), OK: Okaliptus ekstraktı (*Eucalyptus extract*)

Şekil 1. Antioksidan olarak yağlara eklenen maddelerin EC₅₀ değerleri.

Figure 1. IC₅₀ values of the substances added to oils as antioxidant.



PD: Peroksit değeri (*Peroxide value*), Kontrol: *Control*, RAY: Rafine ayçiçek yağı (*Refined sunflower oil*), AY: Ayçiçek yağı (*Sunflower oil*), SR: Sarımsak ekstraktı (*Garlic extract*), IS: Isırgan ekstraktı (*Nettle extract*), YÇ: Yeşilçay ekstraktı (*Green tea extract*), BB: Biberiye ekstraktı (*Rosemary extract*), ZC: Zencefil ekstraktı (*Ginger Extract*), BHT: Bütilenmiş hidroksi tolüen (*Butylated hydroxy toluene*), SM: Sumak ekstraktı (*Sumac extract*), AP: Askorbil palmitat (*Ascorbyl palmitate*), TOC: Tokoferol (*Tocopherol*), OK: Okaliptus ekstraktı (*Eucalyptus extract*)

Şekil 2. AY örneklerinin 25, 50 ve 75 °C'de depolanmaları sırasında peroksit değerleri.

Figure 2. Peroxide values of sunflower oil samples during storage at 25, 50 and 75 °C.

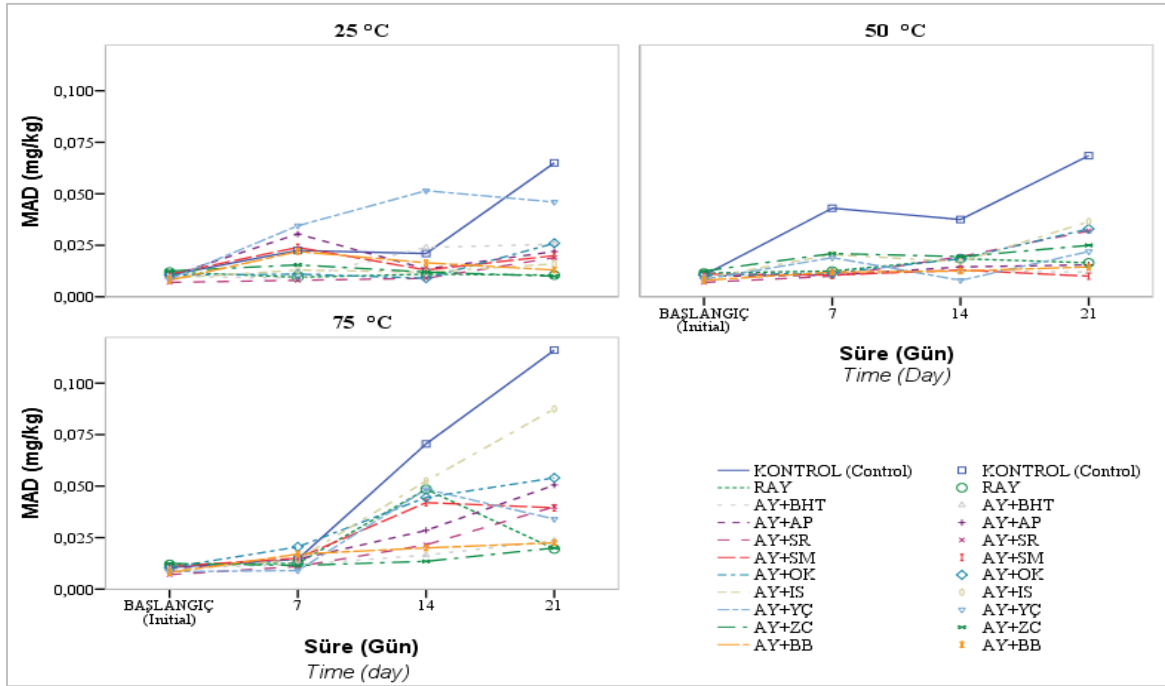
MAD (TBARS)

Üç farklı sıcaklıkta hızlandırılmış oksidasyona tabi tutulan örneklerin değişen MAD değerlerine ait grafikler Şekil 3'te verilmiştir. Yağların ikincil oksidasyon ürünlerinin göstergesi olarak değerlendirilen MAD değerleri 0.007-0.116 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. 50 ve 75 °C'lerde depolanan örneklerde genelde depolama süresi arttıkça MAD değerleri de artmıştır ($P < 0.05$). Standart antioksidan ve bitki ekstraktlarının eklendiği AY örneklerinde belirlenen ortalama MAD değerleri arasında istatistiki olarak önemli fark bulunmuştur ($P < 0.05$). MAD ile sıcaklık ve süre arasında pozitif bir korelasyonun (sırasıyla, $r=0.22$ ve $r=0.49$) olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan MAD ile PD arasında pozitif bir ilişki ($r=0.68$) belirlenmiştir. MAD en yüksek seviyesine 75 °C'de 21 gün

depolama sonunda kontrol ve IS içeren örnekte (sırasıyla, 0.116 ve 0.088 mg/kg) ulaşmıştır. 75 °C'de depolama sonunda RAY, AY+BHT, AY+ZC ve AY+BB örnekleri arasında (0.020-0.024 mg/kg), AY+SR, AY+SM ve AY+YÇ arasında (0.034-0.040 mg/kg) önemli fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Depolama süresi sonunda MAD değeri 25 °C'de en fazla kontrol ve bunu takiben YÇ eklenmiş örnekte artış göstermiştir. 50 °C'de en fazla artış kontrolde (0.011-0.069 mg/kg), bunu takiben IS, OK ve SR eklenmiş örneklerde (sırasıyla, 0.009-0.037, 0.011-0.033 ve 0.07-0.032 mg/kg) belirlenmiştir. 75 °C'de ise başlangıç değerlerine göre en fazla artış sırasıyla, kontrol (10.5 kat), IS (9.7 kat), SR (5.7 kat), AP (5.1 kat), OK (4.9 kat), YÇ (3.7 kat), ve SM (3.6 kat) ekstraktları eklenmiş örneklerde meydana gelmiştir. MAD oluşumu engellemede

en başarılı katkıları sırasıyla, 25 °C'de TOC (RAY), ZC ve BB, 50 °C'de SM, BHT, BB, AP ve TOC, 75 °C'de ZC, BB, BHT ve TOC olarak saptanmıştır. Ekstraktların MAD değeri üzerindeki etkileri sıcaklığa ve depolama süresine bağlı olarak değişmiştir. Baştürk vd. (2017) farklı bitki ekstraktlarını ekledikleri mısırözü yağı örneklerini 60 °C'de 6 hafta depoladıkları çalışmada depolama süresi sonunda kontrolün

MAD değerinin (0.360 mg/kg) SM, IS, BHT, AP ve TOC katkıları yağların MAD değerlerinden sırasıyla, 3.4, 1.2, 1.5, 1.8 ve 1.9 kat daha fazla olduğunu saptamışlardır. Chen vd. (2014) 60 °C'de 24 gün süreyle, 200 mg/kg BB ve BHT ilave ettikleri ve antioksidan içermeyen (kontrol) AY örneklerinde MAD değerlerini sırasıyla, 0.161, 0.171 ve 0.300 µg/mL olarak tespit etmişlerdir.



MAD: Malondialdehyde, Kontrol: Control, RAY: Rafine ayçiçek yağı (Refined sunflower oil), AY: Ayçiçek yağı (Sunflower oil), SR: Sarımsak ekstraktı (Garlic extract), IS: Isırgan ekstraktı (Nettle extract), YÇ: Yeşilçay ekstraktı (Green tea extract), BB: Biberiye ekstraktı (Rosemary extract), ZC: Zencefil ekstraktı (Ginger Extract), BHT: Bütilenmiş hidroksi tolüen (Butylated hydroxy toluene), SM: Sumak ekstraktı (Sumac extract), AP: Askorbil palmitat (Ascorbyl palmitate), TOC: Tokoferol (Tocopherol), OK: Okaliptus ekstraktı (Eucalyptus extract)

Şekil 3. AY örneklerinin 25, 50 ve 75°C'de depolanmaları sırasında malondialdehit değerleri.

Figure 3. Malondialdehyde values of sunflower oil samples during storage at 25, 50 and 75°C.

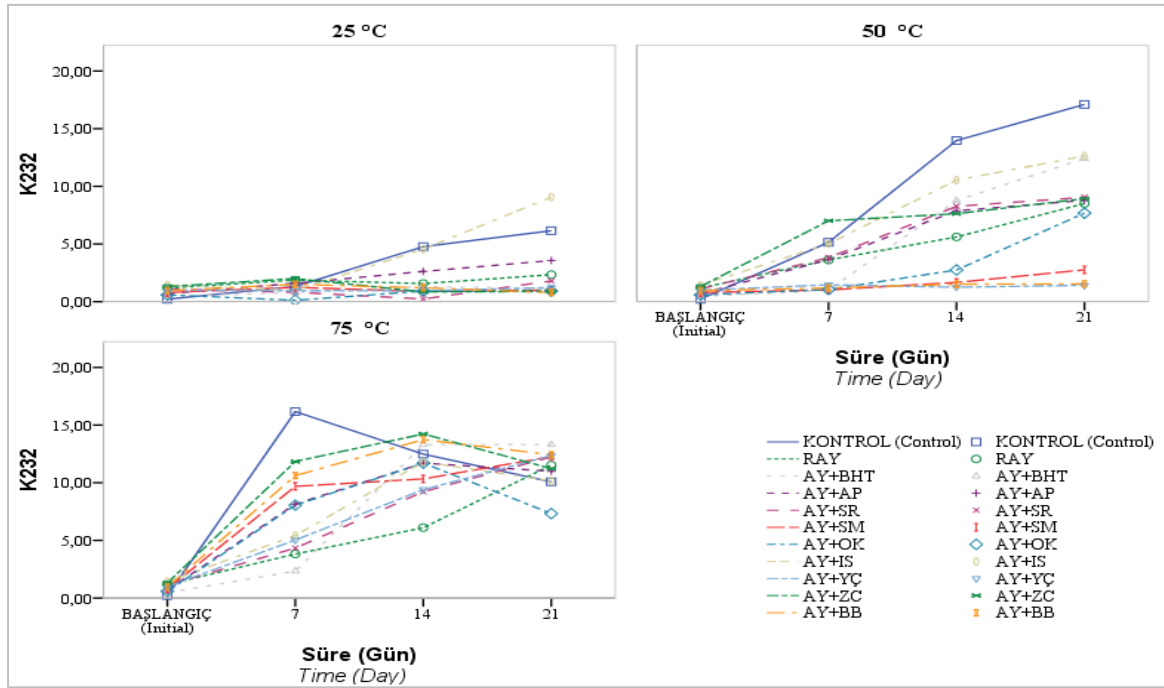
K₂₃₂ değerleri

K₂₃₂ değerlerinin ısıtma süresine göre değişimleri Şekil 4'te görülmektedir. K₂₃₂ değerleri 0.21-17.10 arasında değişim göstermiştir. K₂₃₂ ile sıcaklık ve süre arasında pozitif ilişki (sırasıyla, r=0.50 ve r=0.53) olduğu tespit edilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında kullanılan ekstraktların her birinin belli oranlarda K₂₃₂ oluşumunu engellediği anlaşılmaktadır. Genelde depolama süresi artışına bağlı olarak K₂₃₂ değeri de artış göstermiştir (P < 0.05). K₂₃₂'nin 25 °C'de en fazla artış kontrol,

AP ve IS katkıları örneklerde (sırasıyla, 29.2, 15.9 ve 7.1 kat), 50 °C'de kontrol ve bunu takiben BHT, IS, SR ve ZC katkıları örneklerde (sırasıyla, 81.4, 27.0, 8.83, 8.15 ve 6.8 kat) gerçekleşmiştir. 75 °C'de ise örneklerin çoğu depolamanın 7. ve 14. günlerine kadar artış, sonrasında ise düşüş eğilimi göstermiştir. Konjuge dienler daha çok oksidasyon birincil bozulma ürünleri olan hidroperoksitlerle eş zamanlı oluşur. İkincil oksidasyon ürünleri oluşumuna paralel olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin tekli doymamış

veya doymuş yağ asitlerine dönüşümü ile azalma eğilimine girmektedir. K_{232} en yüksek düzeyine kontrolde ve bunu takiben sırasıyla, ZC, BB, BHT, OK, YÇ ve SR katkılı örneklerde gerçekleşmiştir. 25 °C'de IS dışındaki ekstraktların K_{232} artışını engellemede etkili oldukları göze çarpmaktadır. 50 °C'de BB, SM ve YÇ

ekstraktlarının K_{232} oluşumunu önemli ölçüde engellediği görülmektedir (Şekil 4). 75 °C'de RAY, AY+SR, AY+YÇ ve AY+SM örneklerinin daha stabil olduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar, Baştürk vd. (2017) ve Latif ve Anwar (2009) tarafından elde edilen sonuçlarla uyum içindedir.



Kontrol: Control, RAY: Rafine ayçiçek yağı (Refined sunflower oil), AY: Ayçiçek yağı (Sunflower oil), SR: Sarımsak ekstraktı (Garlic extract), IS: Isırgan ekstraktı (Nettle extract), YÇ: Yeşilçay ekstraktı (Green tea extract), BB: Biberiye ekstraktı (Rosemary extract), ZC: Zencefil ekstraktı (Ginger Extract), BHT: Bütilenmiş hidroksi tolüen (Butylated hydroxy toluene), SM: Sumak ekstraktı (Sumac extract), AP: Askorbil palmitat (Ascorbyl palmitate), TOC: Tokoferol (Tocopherol), OK: Okaliptus ekstraktı (Eucalyptus extract)

Şekil 4. AY örneklerinin 25, 50 ve 75°C'de depolanmaları sırasında K_{232} değerleri.

Figure 4. K_{232} values of sunflower oil samples during storage at 25, 50 and 75°C.

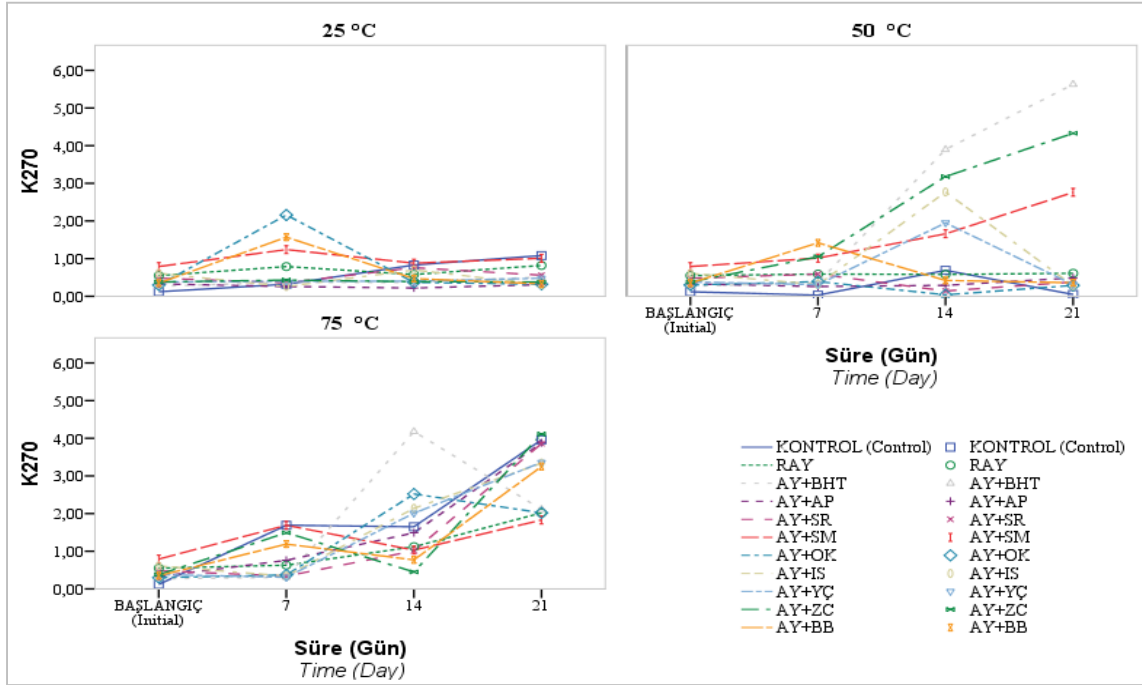
K_{270} değerleri

Örneklerin sıcaklık ve süreye bağlı olarak değişen K_{270} değerlerine ait grafikler Şekil 5'te verilmiştir. Sıcaklık artışına paralel olarak K_{270} değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Depolama süresine bağlı olarak K_{270} değerlerinde daha çok inişli çıkışlı değişimler olmuştur. K_{270} değerleri 0.12-5.63 arasında değişim göstermiş ve en yüksek seviyelerine, 25 °C'de AY+OK örneğinde (2.16), 50 ve 75 °C'lerde ise AY+BHT örneğinde (sırasıyla, 5.63 ve 4.18) ulaşmıştır. 50 °C'de IS, YÇ ve BB katkılı örneklerde K_{270} değeri belli bir süreye kadar artış sonrasında ise düşüş

göstermiştir. Bu muhtemelen çoklu doymamış yağ asitlerinin, tekli doymamış veya doymuş yağ asidi formuna dönüşmesinden kaynaklanmaktadır. 75 °C'de de aynı durum BHT ve OK katkılı örneklerde söz konusudur. RAY örneği (50 °C) dışındaki örneklerde süreye bağlı olarak ortalama K_{270} değerleri arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Latif ve Anwar, (2009) farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde ettikleri ayçiçek yağlarında K_{270} değerlerini 0.64-0.82 aralığında tespit etmişlerdir. Upadhyay ve Mishra (2015) farklı derişimlerde BB ve AP ekledikleri AY'ında K_{270} değerlerini 0.84-1.21

aralığında bulmuşlardır. Baştürk vd. (2017), AP (400 mg/kg), BHT(200 mg/kg), SM (1000 mg/kg) ve IS (1000 mg/kg) katkılı mısırözü

yağlarının 60 °C'de 6 haftalık depolanması sonrasında K_{270} değerlerini sırasıyla, 1.93, 1.63, 2.18 ve 1.74 olarak belirlemişlerdir.



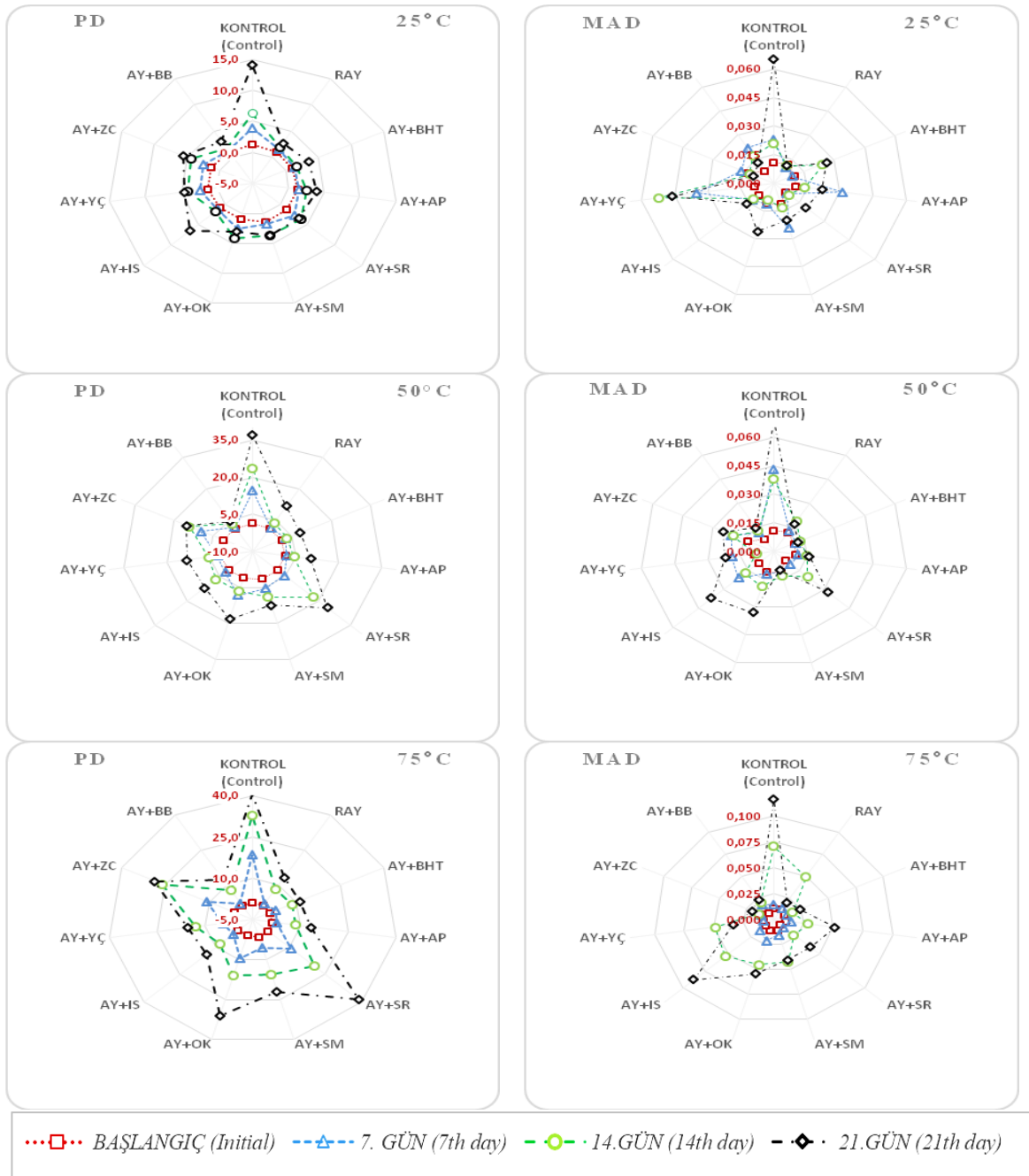
Kontrol: *Control*, RAY: Rafine ayçiçek yağı (*Refined sunflower oil*), AY: Ayçiçek yağı (*Sunflower oil*), SR: Sarımsak ekstraktı (*Garlic extract*), IS: Isırgan ekstraktı (*Nettle extract*), YÇ: Yeşilçay ekstraktı (*Green tea extract*), BB: Biberiye ekstraktı (*Rosemary extract*), ZC: Zencefil ekstraktı (*Ginger Extract*), BHT: Bütilenmiş hidroksi toluen (*Butylated hydroxy toluene*), SM: Sumak ekstraktı (*Sumac extract*), AP: Askorbil palmitat (*Ascorbyl palmitate*), TOC: Tokoferol (*Tocopherol*), OK: Okaliptus ekstraktı (*Eucalyptus extract*)

Şekil 5. AY örneklerinin 25, 50 ve 75°C'de depolanmaları sırasında K_{270} değerleri.

Figure 5. K_{270} values of sunflower oil samples during storage at 25, 50 and 75°C.

Her üç sıcaklıkta örneklerin oksidasyonun birincil bozunma ürünü olarak PD ve ikincil oksidasyon ürünü olarak MAD değerleri radar grafik olarak görselleştirilip karşılaştırılmıştır (Şekil 6). 25 °C'de PD inhibisyonunda etkili olan katkıları sırasıyla, BB, TOC, SR, AP ve SM iken, MAD inhibisyonunda ise en etkili katkıları sırasıyla, TOC, ZC, IS ve BB olarak saptanmıştır. 50°C'de PD ve MAD oluşumunu engellemede en etkili katkıların BB, TOC, BHT, AP ve SM olduğu görülmektedir (Şekil 6). 75 °C'de PD inhibisyonunda BB, TOC, BHT, AP, IS ve SM, MAD inhibisyonunda ise BB, BHT, ZC, SM ve SR etkili olmuştur. Her üç sıcaklıkta depolama sonucu PD ve MAD artışı en fazla kontrol örneğinde gerçekleşmiştir. PD'ni engellemede ZC, OK ve SR ekstraktları, MAD engellemede IS,

OK, SR ve YÇ ekstraktları zayıf etki göstermiştir. Çeşitli iç (doymamışlık derecesi, anti- ve pro-oksiasyon ajanlarının varlığı, vb.) ve dış (sıcaklık, ışık, oksijen ve metal iyonlarına maruz kalma, vb.) faktörler, yağ oksidasyonunu basitçe açıklanamayacak kadar karmaşık bir olay haline getirmektedir (Adhvaryu vd., 2000). Bazı yağlarda hidroperoksitlerin yıkımı konsantrasyon düzeyleri uygun olduğunda başlarken, bazılarında ise ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumu neredeyse başlamaktadır (Guillén ve Cabo, 2002). Bu çalışmada, düşük sıcaklıklarda PD ve MAD depolamanın başlamasıyla eş zamanlı oluşmaya başlarken, 75 °C'de ise PD depolama başladıktan hemen sonra artışa geçerken, MAD depolamanın 7. gününden sonra artış göstermiştir.



Kontrol: *Control*, RAY: Rafine ayçiçek yağı (*Refined sunflower oil*), AY: Ayçiçek yağı (*Sunflower oil*), SR: Sarımsak ekstraktı (*Garlic extract*), IS: Isırgan ekstraktı (*Nettle extract*), YÇ: Yeşilçay ekstraktı (*Green tea extract*), BB: Biberiye ekstraktı (*Rosemary extract*), ZC: Zencefil ekstraktı (*Ginger Extract*), BHT: Bütillenmiş hidroksi tolüen (*Butylated hydroxy toluene*), SM: Sumak ekstraktı (*Sumac extract*), AP: Askorbil palmitat (*Ascorbyl palmitate*), TOC: Tokoferol (*Tocopherol*), OK: Okaliptus ekstraktı (*Eucalyptus extract*)

Şekil 6. AY örneklerinin 25, 50 ve 75 °C'de depolanmaları sırasında PD ve MAD değerlerinin radar grafikleri.

Figure 6. Radar graphs of PV and MAD values of sunflower oil samples during storage at 25, 50 and 75 °C

SONUÇ

Elde edilen sonuçlara göre, araştırılan bitkisel ekstraktlardan BB, SM, IS ve ZC, ayçiçek yağı oksidasyonunun gecikmesinde önemli bir potansiyel sergilemiştir. Özellikle birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu geciktirmede BB, SM ve IS, referans antioksidan olarak kullanılan BHT, TOC ve AP kadar etkili olmuşlardır. İkincil oksidasyon ürünleri oluşumunu geciktirmede ise ekstraktlardan BB, SM ve ZC etkili olmuştur. Bu ekstraktların antioksidan etkinlikleri, içerdikleri fenolik bileşenler ve kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Yağların raf ömrünü uzatmak için yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstraktların, fenolik bileşenleri belirlenerek, kombinasyon halinde kullanımına yönelik çalışmalar yapılabilir. Buna ek olarak, yüksek fenolik içerikli gıdalar düşük fenolik içeriğe sahip gıdalara göre tercih edilebilir. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitki özlerinin preparatları ticarileştirilebilir ve daha ileri araştırmalar yapıldıktan sonra farklı gıda formülasyonlarında kullanılabilir.

TEŞEKKÜR

Bu makale, Iğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenen (Proje No: 2013-FBE-L03), Bahattin TABAR'ın yüksek lisans tezi sonuçlarından yararlanılarak hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

Adhvaryu, A., Erhan, S., Liu, Z., Perez, J. (2000). Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Thermochim Acta*, 364, 87-97.

Ali, S., Chatha, S. A. S., Ali, Q., Hussain, A. I., Hussain, S. M., Perveen, R. (2015). Oxidative Stability of Cooking Oil Blend Stabilized with Leaf Extract of *Eucalyptus citriodora*. *Int J Food Prop*, 19(7), 1556-1565. doi:10.1080/10942912.2015.1047514

Almasi, H., Zandi, M., Beigzadeh, S., Haghju, S., Mehrnow, N. (2016). Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica Dioica L.*) extract-loaded

nanoliposomes: II. Antioxidant activity and release properties. *J Microencapsul*, 1-11. doi:10.1080/02652048.2016.1208295

Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., Itakura, Y. (2001). Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as a supplement. *J Nutr*, 131(3), 955S-962S.

AOCS. (1989a). *Official Method Ce 8-89. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC. In Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (4th ed.):* AOCS, Champaign, IL, USA.

AOCS. (1989b). *Official Method Cd 8b-90. (1989b). Peroxide value, acetic acidisoctane method. In Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (4th ed.):* AOCS Champaign, IL, USA.

AOCS. (1994). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society:* AOCS press.

Atalay, D., Erge, H. S. (2017). Determination of Some Physical and Chemical Properties of White, Green and Black Teas (*Camellia Sinensis*). *Gıda*, 42(5), 494-504. doi:10.15237/gıda.GD17024

Basak, S. S., Candan, F. (2010). Chemical Composition and In vitro Antioxidant and Antidiabetic Activities of *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh. Essential Oil. *J Iran Chem Soc*, 7(1), 216-226.

Baştürk, A., Ceylan, M., Çavuş, M., Boran, G., Javidipour, I. (2017). Effects of some herbal extracts on oxidative stability of corn oil under accelerated oxidation conditions in comparison with some commonly used antioxidants. *LWT-Food Sci Technol*, (In press) doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.005

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Bozan, B., Kosar, M., Tunalier, Z., Ozturk, N., Baser, K. H. C. (2003). Antioxidant and free radical scavenging activities of *Rhus coriaria* and *Cinnamomum cassia* extracts. *Acta Aliment*, 32(1), 53-61. doi:DOI 10.1556/AAlim.32.2003.1.7

- Bursal, E., Koksall, E. (2011). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). *Food Res Int*, 44(7), 2217-2221. doi:10.1016/j.foodres.2010.11.001
- Casarotti, S. N., Jorge, N. (2014). Antioxidant Activity of Rosemary Extract in Soybean Oil under Thermoxidation. *J Food Process Preserv*, 38(1), 136-145. doi:10.1111/j.1745-4549.2012.00755.x
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Chew, Y. L. (2007). Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. *Food Chem*, 102(4), 1214-1222. doi:10.1016/j.foodchem.2006.07.009
- Chen, X. Q., Zhang, Y., Zu, Y. G., Yang, L., Lu, Q., Wang, W. (2014). Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. *Int J Food Sci Technol*, 49(2), 385-391. doi:10.1111/ijfs.12311
- Cordeiro, A. M. T. M., Medeiros, M. L., Santos, N. A., Soledade, L. E. B., Pontes, L. F. B. L., Souza, A. L., Souza, A. G. (2012). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *J Therm Anal Calorim*, 113(2), 889-895. doi:10.1007/s10973-012-2778-4
- da Silva, A. C., Jorge, N. (2014). Influence of *Lentinus edodes* and *Agaricus blazei* extracts on the prevention of oxidation and retention of tocopherols in soybean oil in an accelerated storage test. *J Food Sci Technol*, 51(6), 1208-1212. doi:10.1007/s13197-012-0623-1
- Danış, Ö., Yuce-Dursun, B., Çimen, T., Demir, S., Salan, Ü., Yalçın, G., Ogan, A. (2014). Evaluation of Antioxidant, Radical-Scavenging and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Various Culinary Herbs Cultivated in Southern Turkey. *J Food Biochem*, 38(6), 602-611.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Rahmat, A. (2010). Identification and concentration of some flavonoid components in Malaysian young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) varieties by a high performance liquid chromatography method. *Molecules*, 15(9), 6231-6243. doi:10.3390/molecules 15096231
- Guler, E. (2013). Investigation of chemopreventive properties of *Urtica dioica* L., in MCF-7 and MDA 231 breast cancer cell lines. *New J Med*, 30, 50-53.
- Guillén, M. a. D., Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chem*, 77, 503-510.
- Hamidi, M. E., Shami, S. M. E. (2015). Scavenging Activity of Different Garlic Extracts and Garlic Powder and their Antioxidant Effect on Heated Sunflower Oil. *Am J Food Technol*, 10(4), 135-146. doi:10.3923/ajft.2015.135.146
- Hraš, A. R., Hadolin, M., Knez, Ž., Bauman, D. (2000). Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem*, 71(2), 229-233.
- Huang, B., Wang, G., Chu, Z., Qin, L. (2012). Effect of Oven Drying, Microwave Drying, and Silica Gel Drying Methods on the Volatile Components of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HS-SPME-GC-MS. *Drying Technol*, 30(3), 248-255. doi:10.1080/07373937.2011.634976
- Ide, N., Nelson, A. B., Lau, B. H. (1997). Aged garlic extract and its constituents inhibit Cu^{2+} induced oxidative modification of low density lipoprotein. *Planta Med*, 63(03), 263-264.
- IUPAC. (1992). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. (7th ed.). Oxford, England: Blackwell, International Union of Pure and Applied Chemistry.
- Jain, P. K., Ravichandran, V., Sharma, S., Agrawal, R. K. (2008). The antioxidant activity of some medicinal plants. *Turk J Biol*, 32(3), 197-202.
- Kallel, F., Driss, D., Chaari, F., Belghith, L., Bouaziz, F., Ghorbel, R., Chaabouni, S. E. (2014). Garlic (*Allium sativum* L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Ind Crops Prod*, 62, 34-41. doi:10.1016/j.indcrop.2014.07.047

- Kataki, M. S., Murugamani, V., Rajkumari, A., Singh, P., Mehra, D. A., Yadav, R. S. (2010). Antioxidant, hepatoprotective, and anthelmintic activities of methanol extract of *Urtica dioica* L. leaves. *Pharm Crops*, 3, 38-46.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turk J Biol*, 32(1), 51-55.
- Kossah, R., Nsabimana, C., Zhang, H., Chen, W. (2013). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of Syrian Sumac fruit extract. *J Nat Prod*, 6, 96-102.
- Kubra, I. R., Rao, L. J. M. (2012). Microwave drying of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its effects on polyphenolic content and antioxidant activity. *Int J Food Sci Technol*, 47(11), 2311-2317. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03104.x
- Latif, S., Anwar, F. (2009). Effect of Aqueous Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality. *J Am Oil Chem Soc*, 86(4), 393-400. doi:10.1007/s11746-009-1357-8
- Modzelewska-Kapituła, M., Marin-Iniesta, F. (2005). Influence of the Fe and Cu presence in tea extracts on antioxidant activity. *Food Sci Technol*, 8(4), 14.
- Navas, P. B., Carrasquero-Durán, A., Flores, I. (2006). Effect of black tea, garlic and onion on corn oil stability and fatty acid composition under accelerated oxidation. *Int J Food Sci Technol*, 41(3), 243-247.
- Nikolova, M., Dzhurmanski, A. (2009). Evaluation of free radical scavenging capacity of extracts from cultivated plants. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 23(sup1), 109-111.
- Ozcan, M. (2003). Effect of sumach (*Rhus coriaria* L.) extracts on the oxidative stability of peanut oil. *J Med Food*, 6(1), 63-66. doi:10.1089/109662003765184769
- Özcan, M., Akgül, A. (1995). Antioxidant activity of extracts and essential oils from Turkish spices on sunflower oil. *Acta Aliment*, 24(1), 81-90.
- Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Überegger, E., Conte, L. S. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content. *J Sci Food Agric*, 82(14), 1645-1651. doi:10.1002/jsfa.1240
- Regazzoni, L., Arlandini, E., Garzon, D., Santagati, N. A., Beretta, G., Maffei Facino, R. (2013). A rapid profiling of gallotannins and flavonoids of the aqueous extract of *Rhus coriaria* L. by flow injection analysis with high-resolution mass spectrometry assisted with database searching. *J Pharm Biomed Anal*, 72, 202-207. doi:10.1016/j.jpba.2012.08.017
- Singab, A.-N., Ayoub, N., Al-Sayed, E., Martiskainen, O., Sinkkonen, J., Pihlaja, K. (2011). 4. Phenolic Constituents of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, with Potential Antioxidant and Cytotoxic Activities. *Rec Nat Prod*, 5(4), 271.
- Tariq, A., Reyaz, A. (2013). Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 2(5), 40-46.
- Tayel, A. A., El-Tras, W. F. (2012). Plant extracts as potent biopreservatives for *Salmonella typhimurium* control and quality enhancement in ground beef. *J Food Saf*, 32(1), 115-121.
- Tewari, I., Sharma, L., Gupta, G. L. (2014). Synergistic antioxidant activity of three medicinal plants *Hypericum perforatum*, *Bacopa monnieri*, and *Camellia sinensis*. *Indo Am J Pharm Res*, 4(5), 2563-2568.
- Tohma, S., Turan, S. (2015). Rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.), solvent extract and essential oil can be used to extend the usage life of hazelnut oil during deep frying. *Eur J Lipid Sci Technol*, 117(12), 1978-1990. doi:10.1002/ejlt.201400382
- Upadhyay, R., Mishra, H. N. (2015). A multivariate approach to optimise the synergistic blend of oleoresin rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and ascorbyl palmitate added into sunflower oil. *Int J Food Sci Technol*, 50(4), 974-981. doi:10.1111/ijfs.12738
- Upadhyay, R., Sehwal, S., Niwas Mishra, H. (2017). Chemometric approach to develop frying stable sunflower oil blends stabilized with oleoresin rosemary and ascorbyl palmitate. *Food*

- Chem*, 218, 496-504. doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.105
- Wang, L., Yang, B., Yan, B., Yao, X. (2012). Supercritical fluid extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and its antioxidant potential in sunflower oil. *Innovative Food Sci Emerging Technol*, 13, 120–127.
- Yeh, H. Y., Chuang, C. H., Chen, H. C., Wan, C. J., Chen, T. L., Lin, L. Y. (2014). Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. *LWT-Food Sci Technol*, 55(1), 329-334. doi:10.1016/j.lwt.2013.08.003
- Yoshida, H., Kondo, I., Kajimoto, G. (1992). Participation of Free Fatty-Acids in the Oxidation of Purified Soybean Oil during Microwave-Heating. *J Am Oil Chem Soc*, 69(11), 1136-1140. doi:Doi 10.1007/Bf02541050
- Zemmouri, H., Sekiou, O., Ammar, S., El Feki, A., Bouaziz, M., Messarah, M., Boumendjel, A. (2017). *Urtica dioica* attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung tissues in rat asthma model. *Pharm Biol*, 55(1), 1561-1568. doi:10.1080/13880209.2017.1310905
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y. G., Chen, X. Q., Wang, F. J., Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chem*, 118(3), 656-662. doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.038

ÇEŞİTLİ BESİYERLERİNİN *BACILLUS CEREUS* SPORLANMASINDAKİ ETKİSİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA*

Gizem Özlük Çilak¹, A. Kadir Halkman²

¹Hitit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Merkez, Çorum, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölbaşı, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 12.01.2018; Kabul / Accepted: 26.02.2018; Online baskı / Published online: 08.03.2018

Özlük Çilak, G. Halkman A.K. (2018). Çeşitli besiyerlerinin *Bacillus cereus* sporlanmasındaki etkisi üzerine bir araştırma. *GIDA* (2018) 42 (2): 347-355 doi: 10.15237/gida.GD18016

Özlük Çilak, G. Halkman A.K. (2018). A research on the effect of various culture media for sporulation strenght of *Bacillus cereus*. *GIDA* (2018) 42 (2): 347-355 doi: 10.15237/gida.GD18016

ÖZ

Gıdalarda *Bacillus cereus* kaynaklı hastalıklarda bakterinin sporlanması ve germinasyonu önemlidir. Bakteriler, yaşamsal bir tehdit altında olduklarında spor oluştururlar ve koşullar normale döndüğünde çimlenerek yaşamlarına devam ederler. Gıdanın bileşimi de sporlanma üzerinde etkilidir. Bu çalışmada, literatürde rastlanan 8 farklı besiyeri kullanılmak suretiyle, *B. cereus*'un sporlanması için en uygun besiyerinin seçilmesi amaçlanmıştır. Seçilen besiyerlerine önceden aktifleştirilmiş *B. cereus* ATCC 11778 suşu inoküle edilmiş, inkübasyona bırakılan besiyerlerinden 5., 12. ve 18. günlerde sonuç alınmıştır. Bakterilerin ne kadarının spor oluşturduğu, % TSAMB/TAMB oranı ile belirlenmiş ve sporlanma verimi en yüksek besiyeri belirlenmiştir. En hızlı sporlanma 5 gün sonunda %58 oranla m-TGEA'da gerçekleşirken 18 gün inkübasyon sonucunda en yüksek spor oranı %92 ile m-DTSB besiyeri en verimli besiyeri olarak seçilmiştir. Besiyeri içeriklerinin sporlanma hızını ve oranını etkilediğinin gözlemlendiği çalışmada su aktivitesinin düşüklüğü, mangan bileşiklerinin varlığı ve karbon kaynağının düşüklüğünün sporlanmayı desteklediği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Bacillus cereus*, sporlanma, besiyeri

A RESEARCH ON THE EFFECT OF VARIOUS CULTURE MEDIA FOR SPORULATION STRENGTH OF *BACILLUS CEREUS*

ABSTRACT

Sporulation and germination of *Bacillus cereus* are important about foodborne illnesses. Bacteria form spores when there's any life threat and germinate when the conditions are back to normal. Composition of the food also affects sporulation. In this study, 8 different kinds of media found in literature were studied and selecting optimal medium for *B. cereus* sporulation was aimed. *B. cereus* ATCC 11778 was inoculated to the media and results were obtained on 5th, 12th and 18th days. Sporulation efficiency was indicated by percentage of TSAMB to TAMB. The fastest sporulation was occurred in m-TGEA medium in 5 days with 52 % efficiency rate, whereas m-DTSB was selected as the most effective medium with 92 % efficiency rate. In this study, it was observed that, content of media highly affects sporulation velocity and rate. Low water activity, occurrence of manganese compounds and low carbon sources supports formation of spores.

Keywords: *Bacillus cereus*, sporulation, medium

* Bu çalışma, Gizem Özlük Çilak'ın doktora çalışmasının bir bölümüdür / This paper is a part of PhD study of Gizem Özlük Çilak

¹ Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉ gizem.ozluk@gmail.com

☎ (+90) 532 740 8607

☎ (+90) 364 227 4535

GİRİŞ

Bacillus cereus, Gram pozitif, çubuk şekilli, fakültatif anaerop, endospor oluşturma yeteneğinde bir bakteridir (de Vries vd., 2004; Hussain ve Oh, 2018). Toprak kaynaklı bir bakteri olan *B. cereus*, pirinç, et, sebze, çiğ süt, süt ürünleri, baharat gibi çok çeşitli gıdalarda yaygın olarak bulunmakta ve gıda kaynaklı hastalıklara yol açmaktadır. *B. cereus*, çiğ gıdalarda bulunabildiği gibi işlenmiş ve pişmiş gıdalarda da bulunabilmektedir (Organji vd., 2015). Donmuş ve pastörize ürünlerde de canlı sporların bulunması ve depolama sırasında düşük sıcaklıklarda bile germine olabilmeleri son zamanlarda *B. cereus* hakkındaki endişeleri artırmıştır (de Vries vd., 2004, van Melis vd., 2014). *B. cereus* aynı zamanda biyofilmlerde de spor oluşturma yeteneğindedir (Hayrapetyan vd., 2015).

Birçok *B. cereus* suşu toksin üretme yeteneğindedir ve hem enfeksiyon hem de intoksikasyon tip gıda kaynaklı hastalıklara yol açabilmektedir (de Vries vd., 2004; Organji vd., 2015). Bakteri, 40 kDa ağırlığında, sıcaklığa dayanıklı (Stabil Toxin; ST) ve 5-7 kDa ağırlıkta, sıcaklığa dayanıksız (Labil Toxin; LT) olmak üzere, iki farklı toksin oluşturur. Protein yapısındaki ST, 126 °C'ta 90 dakikada inaktif hale gelirken LT 60 °C'ta birkaç dakikada inaktive olabilen bir peptittir (Tunail, 2000, Halkman, 2013, Lakha vd. 2017). Gıdalarda *B. cereus* kaynaklı hastalıklar genellikle; kontamine gıdaların pişirildikten sonra hızlı soğutulmadıklarında canlı ve ısıya dirençli sporların germinasyonu ve çoğalması ile ortaya çıkmaktadır (Kalkan, 2006, Lakha vd. 2017). Bu durumun önüne geçmek için yapılan çalışmalar bakterinin sporlanması ve germinasyonu üzerine odaklanmıştır (de Vries vd., 2004, Hayrapetyan vd. 2016).

Bakteriyel endospor oluşumu, çevresel olumsuzluklara karşı bakterinin adapte olarak cevap vermesi olayıdır (Abe vd., 2017). Endospor oluşumu (sporulasyon), bakterinin sitoplazma yüzeyini azaltarak metabolizma hızını düşürmesiyle gerçekleşir. Sporların geçirgenlikleri fazla, fiziksel ve kimyasal faktörlere dirençleri yüksek ve ağırlıkları düşüktür (Arda, 2000). Spor

oluşum süresi bakterinin türü, ortam sıcaklığı ve özellikle karbon ve azot kaynaklarındaki azalmaya bağlı olarak değişmektedir (Pommerville ve Jeffrey, 2014). Sporulasyon, karbon ve enerji isteyen bir olaydır. Azotlu bileşikler (bazı aminoasitler) ve bazı türler için de metalik iyonlar (Mn^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} , Mo^{++} , vs.) sporulasyonu uyarırlar (Vasanth ve Freese, 1979; Arda, 2000, Mhatre vd.; 2016). Vejetatif hücrelere göre, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, kimyasallar, ışınlama vb. olumsuz çevre koşullarına daha dirençli olan sporlar, hiçbir metabolik etkinlik göstermedikleri için besin maddelerine gereksinim duymadan canlılıklarını sürdürebilirler (Anonymous, 2016).

Laboratuvar koşullarında kullanılan sporulasyon besiyerleri genellikle kompleks yapıda ve yaklaşık olarak ortak besin maddelerini içerir özelliktedirler. Bu besiyerleri genellikle pepton, maya ekstraktı, aminoasitler, demir, magnezyum, kalsiyum, bakır, mangan ve çinko gibi mineralleri içerir ve pH 7'ye yakın olarak ayarlanmaktadır. Bu besiyerlerinin formülasyonundaki temel prensip, besiyerinin içerikçe fakirleşmesine kadar bakterinin gelişmesi, daha sonra spontan olarak sporlanmasına dayanmaktadır. Bu yüzden inkübasyon süresi uzundur (Abbas vd., 2014).

Oluşan sporların özellikleri besiyeri içeriğine göre değişiklik göstermektedir. Besiyerinin sıvı veya katı oluşu oksijenin besiyerindeki dağılımını etkiler. Besiyerindeki mineral çeşitliliği, su aktivitesi, oksijen varlığı ve oksijenin besiyerindeki dağılımı, sporulasyonu ve spor özelliklerini etkilemektedir. (Hayrapetyan vd., 2016). Örneğin, *B. cereus*'un polistren mikrotiter plaklarında emetik toksin üreten suş sporlarının ısı direncinin, sıvı kültürden elde edilen sporlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (van der Voort ve Abee, 2013).

Literatürde *B. cereus* sporlanması ve germinasyonu ile ilgili birçok çalışma bulunmakta olup her birinde farklı besiyerlerinin kullanıldığı dikkat çekmiştir. Bu çalışmada, *B. cereus* sporlandırma için en uygun besiyerinin seçimi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM**Materyal**

Spor formunda bakteri eldesi için referans suş olarak Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *B. cereus* ATCC 11778 kullanılmıştır. Bakteri, sporlandırma besiyerine inoküle edilmeden önce Tryptic Soy (CASO) Broth (TSB/ CASO Broth, 1.05459, Merck) besiyerinde 28-30 °C'ta bir gece inkübasyon ile aktifleştirilmiştir.

Sporlandırma için Sporulation Medium Broth (SPMB) (Collado vd., 2005), Modifiye Nutrient Agar (m-NA) (Islam vd., 2006), Modifiye G Medium (m-GM) (Hornstra vd., 2007), Modifiye Tryptone Glucose Extract Agar (m-TGEA) (Peng, vd., 2001), Modifiye DTSB Agar (m-DTSB) (Peng, vd., 2001), Modifiye DTSB Agar + Sakkaroz (m-DTSB+S) (Peng, vd., 2001), Modifiye DTSB Agar + Laktoz (m-DTSB+L) (Peng, vd., 2001) ve Beef Extract Agar (BEA) kullanılmıştır. Kullanılan 8 çeşit besiyeri içerikleri aşağıda verilmiştir.

Sporulation medium broth (SPMB): Nutrient broth:13 g/L; NaCl: 3 g/L; MnSO₄.H₂O: 0.05 g/L; CaCl₂:0.06 g/L; glikoz: 0.1 g/L; (NH₄)₂SO₄:0.08 g/L; MnCl₂.4H₂O:0.008 g/L; 0.005 g/L; ZnSO₄.7H₂O:0.005 g/L.

Modifiye Nutrient Agar (m-NA): Nutrient Broth 20 g/L; MnSO₄.H₂O: 0.1 mM; Agar: 15 g/L.

Modifiye G-Medium (m-GM): maya ekstraktı: %0.2, KH₂PO₄: 2.87 mM, MgSO₄: 0.81 mM; ZnCl₂: 0,017 mM; FeCl₃: 0,0018 mM; CaCl₂: 0,17 mM; (NH₄)₂SO₄: 15,5 mM, CuSO₄.5H₂O: 0,02 mM; Agar: 15 g/L.

Tryptone Glucose Extract Agar (m-TGEA): Et ekstraktı: 3 g/L; Kazein: 5 g/L; Dekstroz: 1 g/L; MnSO₄.H₂O: 10 ppm; Agar: 15 g/L.

Modifiye Diluted Tryptic Soy Broth Agar (m-DTSB): KHPO₄: 1.0 g/L; Na₂HPO₄: 2.0 g/L; (NH₄)₂SO₄: 1.0 g/L; tryptic soy broth: 4.0 g/L; yeast extract: 0.1 g/L; Agar: 15 g/L; tuz çözeltisi: 0,6 mL/100 mL [Tuz çözeltisi: MgSO₄: 1 g/L; FeSO₄: 0.1 g/L; CaCl₂: 10 g/L; MnCl₂.4H₂O: 0.1 g/L].

Modifiye Diluted Tryptic Soy Broth Agar+ Sakkaroz (m-DTSB+S): m-DTSB+ sakkaroz: 10 g/L.

Modifiye Diluted Tryptic Soy Broth Agar+ Laktoz (m-DTSB+L): m-DTSB+ laktoz: 10 g/L.

Beef Extract Agar (BEA): Et ekstraktı: 3 g/L; pepton: 10 g/L; NaCl: 5 g/L; Agar: 15 g/L.

Besiyerlerinin son pH'sı 7±0.2 olacak şekilde 1 N HCl ve 1 N NaOH ile ayarlanmıştır.

Yöntem

Besiyerlerine aktif, vejetatif *B. cereus* ATCC 11778 suşu inoküle edilmiş, ekim yapılan besiyerleri 28 °C'ta 18 gün inkübasyona bırakılmış, 5., 12. ve 18. günlerde sonuç alınmıştır.

Aktif *B. cereus* ATCC 11778 suşu yaklaşık 5x10⁶ KOB/mL düzeyinde sıvı besiyerine (Sporulation Medium Broth) 1 mL/500 mL besiyeri oranında ilave edilirken, 7 çeşit katı besiyerine ise 0,1 mL yayma plak yöntemi kullanılarak inoküle edilmiştir. Sporlanma kontrolü için oluşan koloniler katı besiyerlerinden yıkama yapılarak hasat edilmiştir. Yıkama yapılan bu homojenizatın 10⁻¹ dilüsyon olduğu varsayılarak hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Gerekli dilüsyonlardan toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB) ve toplam sporlu aerobik mezofil bakteri (TSAMB) sayımı için ekimler gerçekleştirilmiştir. TSAMB sayımında, her besiyerinden alınan 10² ar mL numune 80 °C'ta 5 dak bekletilerek vejetatif bakterilerin imhası sağlandıktan sonra standart yöntemle sayım yapılmıştır. Besiyeri sporlanma veriminin belirlenmesi, bakterilerin ne kadarının spor oluşturduğu, TSAMB sayısının TAMB sayısına oranının yüzdesi ile belirlenmiş ve sporlanma verimi en yüksek besiyeri seçilmiştir.

Sporlanma açısından en verimli besiyerlerinden elde edilen sporlar muhafaza edilmiştir. Sporlanma besiyerinde sporlanmış olan bakterilerin, vejetatif formlardan ayrılması için hasat edilen sporlar 10 mL steril saf su içine alınmış ve 80 °C'ta 5 dak tutulmuştur. Sporların muhafazası Hornstra vd., 2007'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Bu amaçla, saf su içindeki sporlu bakteri kültürü santrifüj tüplerine

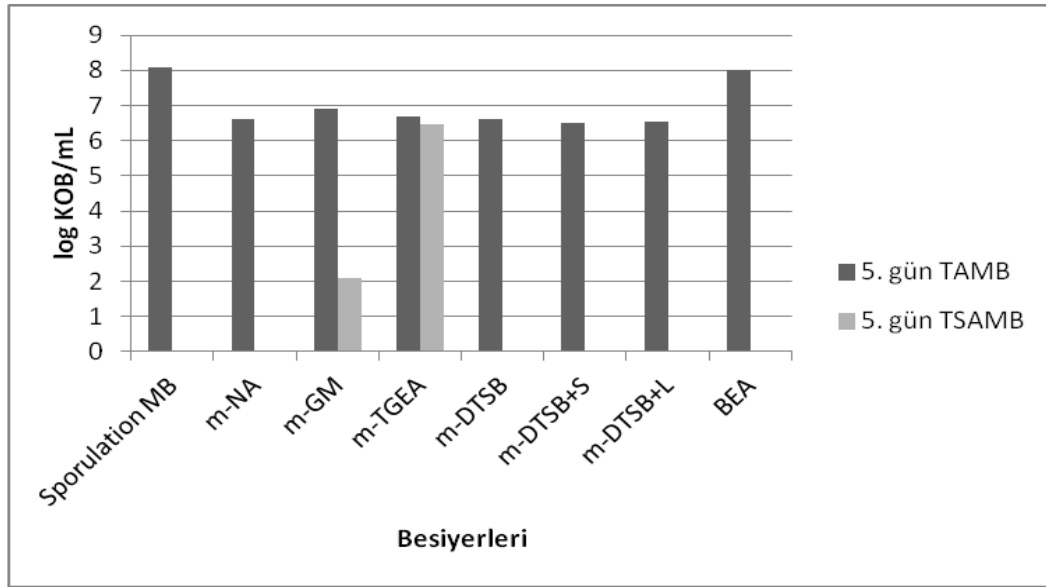
aktarılmış, 2500 g'de santrifüjlenmiş, süpernatant atıldıktan sonra pelet üzerine steril saf su eklenmiş, tüpler karıştırıldıktan sonra aynı koşullarda yeniden santrifüjlenmiştir. Yıkama işlemi 4 kez tekrarlanmıştır. Son santrifüjleme sonrasında peletler %0.01 Tween 20 içeren 5'er mL 1mM fosfat tampon (pH 7.4) içinde daha sonraki kullanımlar için 4 °C'ta muhafaza edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Sekiz çeşit sporlandırma besiyerinden elde edilen TAMB ve TSAMB sayıları Şekil 1, 2, 3 ve Çizelge 1'de görülmektedir.

TAMB sayısı besiyeri çeşidine göre değişiklik göstermiştir. m-DTSB+L besiyerinde hiçbir

gelişim olmazken diğer tüm besiyerlerinde zamanla artış gözlenmiştir. TSAMB oluşumu ise m-NA, m-DTSB+L ve BEA besiyerlerinde gözlenmemiş, 80 °C'ta ısı işlemi sonucunda yapılan ekimlerde bu besiyerlerinde 18. gün sonunda gelişim olmadığı gözlenmiştir. TAMB ve TSAMB sonuçlarının her ikisinde de 12-18 gün aralığında önemli bir değişim olmamıştır. Sporlanma 5. günde yalnızca m-TGEA ve m-GM'de gerçekleşirken 12. günde SPMB, m-DTSB ve m-DTSB+S besiyerlerinde de spor oluşmuştur. Sporlanma en hızlı m-TGEA'da gerçekleşmesine rağmen en iyi sporlandırma besiyerinin bu olduğu söylenemez. Sporlandırmanın verimliliği için TSAMB/TAMB oranlarına bakılmıştır.

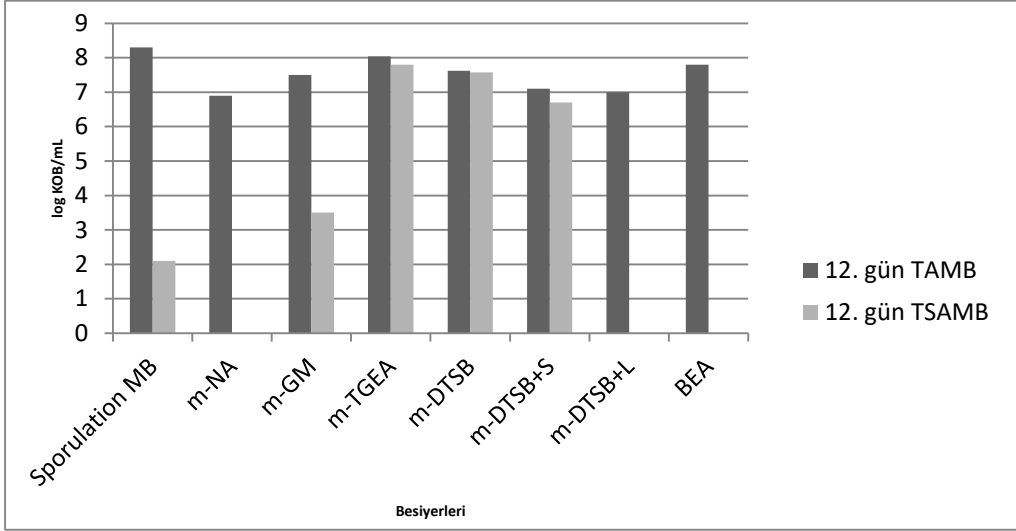


Şekil 1. Çeşitli sporlandırma besiyerinde 5 gün inkübasyon sonucunda TAMB ve TSAMB sayısı

Figure 1. TAMB and TSAMB number in various media after 5 days of incubation

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modifiye nutrient agar, m-GM: modifiye G medium, m-TGEA: modifiye tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modifiye %10 seyreltilmiş TSB agar, m-DTSB+S: modifiye DTSB agar + sakkaroz, m-DTSB+L: modifiye DTSB agar + laktöz, BEA: beef extract agar

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modified nutrient agar, m-GM: modified G medium, m-TGEA: modified tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modified %10 diluted TSB agar, m-DTSB+S: modified DTSB agar + saccharose, m-DTSB+L: modified DTSB agar + lactose, BEA: beef extract agar

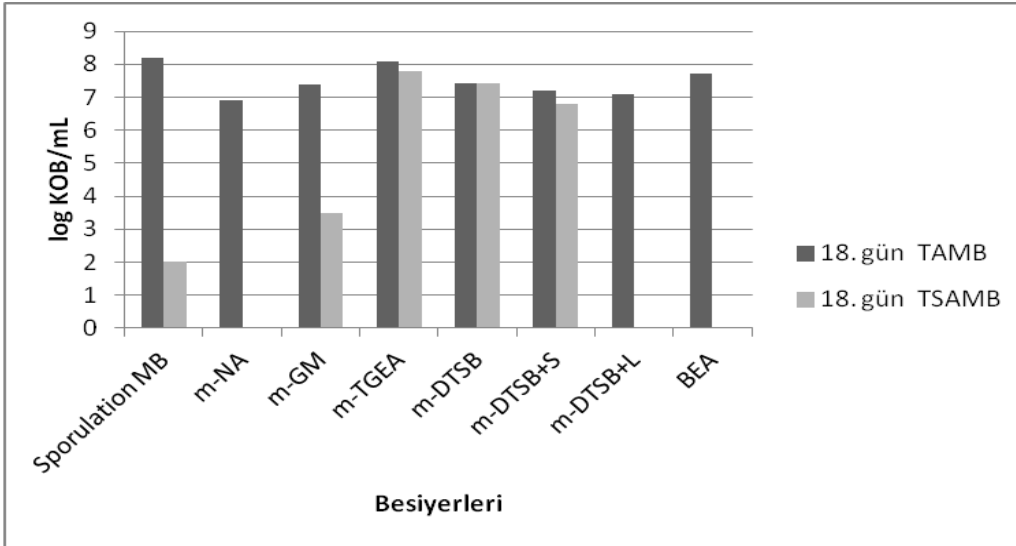


Şekil 2. Çeşitli sporlandırma besiyerinde 12 gün inkübasyon sonucunda TAMB ve TSAMB sayısı

Figure 2. TAMB and TSAMB number in various media after 12 days of incubation

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modifiye nutrient agar, m-GM: modifiye G medium, m-TGEA: modifiye tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modifiye %10 seyreltilmiş TSB agar, m-DTSB+S: modifiye DTSB agar + sakkaroz, m-DTSB+L: modifiye DTSB agar + laktoz, BEA: beef extract agar

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modified nutrient agar, m-GM: modified G medium, m-TGEA: modified tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modified %10 diluted TSB agar, m-DTSB+S: modified DTSB agar + saccarose, m-DTSB+L: modified DTSB agar + lactose, BEA: beef extract agar



Şekil 3. Çeşitli sporlandırma besiyerinde 18 gün inkübasyon sonucunda TAMB ve TSAMB sayısı

Figure 3. TAMB and TSAMB number in various media after 18 days of incubation

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modifiye nutrient agar, m-GM: modifiye G medium, m-TGEA: modifiye tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modifiye %10 seyreltilmiş TSB agar, m-DTSB+S: modifiye DTSB agar + sakkaroz, m-DTSB+L: modifiye DTSB agar + laktoz, BEA: beef extract agar

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modified nutrient agar, m-GM: modified G medium, m-TGEA: modified tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modified %10 diluted TSB agar, m-DTSB+S: modified DTSB agar + saccarose, m-DTSB+L: modified DTSB agar + lactose, BEA: beef extract agar

Çizelge 1. Sporlandırma besiyerlerinde 5, 12 ve 18 gün inkübasyon sonunda %TSAMB/TAMB oranları

Table 1. % TSAMB/TAMB ratio at the end of 5, 12 and 18 days of incubation in sporulation media.

Besiyeri <i>Medium</i>	5. gün <i>5th day</i>	12. gün <i>12th day</i>	18. gün <i>18th day</i>
SPMB	NS	<1	<1
m-NA	NS	NS	NS
m-GM	<1	<1	<1
m-TGEA	58	60.9	61
m-DTSB	NS	91.2	92
m-DTSB+S	NS	39.8	65.5
m-DTSB+L	NS	NS	NS
BEA	NS	NS	NS

SPMB: sporulation medium broth, m-NA: modifiye nutrient agar, m-GM: modifiye G medium, m-TGEA: modifiye tryptone glucose extract agar, m-DTSB: modifiye %10 seyreltilmiş TSB agar, m-DTSB+S: modifiye DTSB agar + sakkaroz, m-DTSB+L: modifiye DTSB agar + laktöz, BEA: beef extract agar

NS: Sporlanma gerçekleşmedi.

SPMB: *sporulation medium broth*, m-NA: *modified nutrient agar*, m-GM: *modified G medium*, m-TGEA: *modified tryptone glucose extract agar*, m-DTSB: *modified %10 diluted TSB agar*, m-DTSB+S: *modified DTSB agar + saccharose*, m-DTSB+L: *modified DTSB agar + lactose*, BEA: *beef extract agar*

NS: *No sporulation*

En hızlı sporlanma 5 gün sonunda %58 oranla m-TGEA'da gerçekleşirken 18 gün inkübasyon sonucunda en yüksek spor oranı %92 ile m-DTSB besiyeri en verimli besiyeri olarak seçilmiştir. m-DTSB'den elde edilen sporlar daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir. Besiyerlerinde sporlanmanın uzun sürmesi, besiyerindeki besin maddelerinin bakteriler tarafından tüketilmesine bağlıdır. İçeriği çok zengin olmayan m-TGEA'daki besin maddeleri daha hızlı tüketilmiş, sporlanma hızlı gerçekleşmiştir. 12-18. gün arasında önemli değişim olmaması da 12. günde besin maddelerinin tükenmiş, sporlanmanın gerçekleşmiş olmasından kaynaklıdır.

Bu çalışmada kullanılan besiyerlerinden m-GM, Hornstra vd. (2007) tarafından *B. cereus* ATCC 14579 ve *B. cereus* CMCC 3328 suşlarını sporlandırmak amacıyla kullanmıştır. Araştırmacılar, bakteri sporlarını yıkayarak hasat etmiş ve mikroskopik gözlem ile 10^7 spor/mL düzeyinde spora ulaşıldığını bildirmişlerdir. Peng vd. (2001) m-TGEA, m-DTSB, m-DTSB+S, m-DTSB+L besiyerlerinde *B. cereus* sporlandırıdıklarında ise 30 °C'ta 10-18 gün inkübasyon sonucunda mikros-

kobik gözlem ile 10^8 spor/mL düzeyine ulaşmışlardır. Collado vd. (2006), *B. cereus*'u SPMB besiyerinde 4 günde sporlandırmış, mikroskopik gözlem ile %95 verim elde etmiştir. Tarafımızca yapılan bu çalışmada mikroskopik değil, standart kültürel yöntemler kullanılmış ve sonuçlar, m-GM'de 5×10^3 spor/mL, m-TGEA'da 8×10^7 spor/mL, m-DTSB'de 4×10^7 spor/mL, m-DTSB+S'de 8×10^6 spor/mL, m-DTSB+L'de <100 spor/mL ve SPMB besiyerinde ise 1×10^2 spor/mL (verim: $<1\%$) olarak bulunmuştur. Kültürel sayım yöntemlerinin mikroskopik sayım yöntemlerine göre avantajı sadece canlı hücrelerin sayılmasıdır (Anonim 2005). Dolayısıyla, elde edilen verimlerin literatürle olan farklılıklarının canlı spor sayısının belirlenmesinden ileri geldiği söylenebilir.

Islam vd ise m-NA'da *B. subtilis*, *B. coagulans* ve *B. stearothermophilus* sporlandırmış, spor suspansiyonunda 10^{7-9} spor/mL sonucuna ulaşmıştır. Bu çalışmada ise m-NA'da sporlanma gerçekleşmemiştir. Bu durum sporlandırılmaya çalışılan mikroorganizmaların farklı türler olmasından ileri gelebilir.

Warda vd. (2015) çalışmasında *B. cereus* ATCC 14579 suşunu, Garcia vd. (2010) tarafından belirlenen MSM Broth (nutrient broth (NB, Difco, the Netherlands, 8 g/l), maltoz (10 mM), CuCl₂ (12.5 µM), ZnCl₂ (12.5 µM), MnSO₄ (66 µM), MgCl₂ (1 mM), (NH₄)₂SO₄ (5 mM), Na₂MoO₄ (2.5 µM), CoCl₂ (2.5 µM), Ca(NO₃)₂ (1 mM) and FeSO₄ (1 µM)) besiyerinde sporlandırmıştır. Faz kontrast mikroskopisiyle elde edilen sonuçlar, 30°C'ta 2-3 gün içinde % 99'un üzerinde sporlanma olduğunu göstermiştir.

Hayrapetyan vd. (2016)'da *B. cereus* ATCC 10987 ve *B. cereus* NIZO 4080 suşlarının ısı direncini kuru veya ıslak formda biyofilmlerde polistiren ve paslanmaz çelik yüzeylerde araştırmıştır. *B. cereus* ATCC 10987 suşu için maksimum sporlanmaya Y1 besiyerinde (İçeriği: D-glikoz (10 mM), L-glutamik asit (20 mM), L-lösin (1.2 mM), L-valin (0.52 mM), L-treonin (0.28 mM), L-metionin (0.1 mM), L-histidin (0.06 mM), sodyum-DL-laktat (5 mM), asetik asit (1 mM), FeCl₃ (50 mM), CuCl₂ (2.5 mM), ZnCl₂ (12.5 mM), MnSO₄ (66 mM), MgCl₂ (1 mM), (NH₄)₂SO₄ (5 mM), Na₂MoO₄ (2.5 mM), CoCl₂ (2.5 mM), ve Ca(NO₃)₂ (1 mM)), 30°C'ta 5. gün inkübasyon sonucunda yaklaşık %90 verimlilikle polistiren yüzey/ kuru biyofilmden, ulaşılmıştır. *B. cereus* NIZO 4080 suşu için ise maksimum sporulasyona Y1 besiyerinde paslanmaz çelik yüzey/ kuru biyofilmden yaklaşık % 90 verimlilikle ulaşılmıştır.

Tarafımızca gerçekleştirilen bu çalışmada 18 gün inkübasyon sonunda, gelişme gözlenen besiyerlerinden, sıvı besiyeri olan SPMB'nin veriminin çok düşük olduğu, katı besiyerlerinde sporlanma veriminin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Su aktivitesinin düşük olmasının sporlanma için teşvik edici bir faktör olduğu, sıvı besiyerine kıyasla, katı besiyerinde sporlanmanın çok daha kolay gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Daha önceki çalışmalarda sporulasyonun mangan varlığı ile desteklendiği belirtilmiştir (Charney vd., 1951; Vasantha ve Freese, 1979; Hayrapetyan vd., 2016, Mhatre vd., 2016). Bu çalışmada elde edilen verilere göre de mangan içermeyen tek besiyeri olan BEA'da spor oluşmadığı gözlenmiştir. En yüksek spor oluşumu ile m-DTSB en verimli

besiyeri seçilmiştir. m-DTSB besiyerine 10 g/L oranında eklenen laktoz ve sakkaroz, bakterilere karbon kaynağı olarak verimli bir gelişme ortamı sağlayarak sporulasyona gerek bırakmadığı düşünülmektedir. Sakkarozla kıyasla laktozun gelişimi daha fazla desteklediği, sporulasyona hiç gerek bırakmadığı görülmüştür. Laktoz içeren m-DTSB'de 18 gün sonunda sporlanma <100 KOB/mL iken, m-DTSB+S besiyerinde yaklaşık 8x10⁶ KOB/mL olarak bulunmuştur.

Sporlanmayı 18 gün inkübasyon sonunda hiç desteklememiş olan besiyerlerinden BEA'da, içerikteki mangan eksikliği sebebiyle; m-NA ve m-DTSB+L besiyerlerinde ise bileşim zenginliğinin sporulasyona gerek bırakmamasından dolayı hiç sporlu bakteri gelişimi gözlenmemiştir.

Diğer besiyerlerine kıyasla m-DTSB besiyeri içeriği, minerallerce daha zengin, karbon kaynağınca daha fakirdir. Yine aynı şekilde sporlanmanın en hızlı gerçekleştiği m-TGEA besiyerinde de karbon kaynağı düşük oranda bulunmakta ve mineral olarak sadece mangan sülfat içermektedir. Bu da mangan varlığının sporulasyonu hızlandırdığı bilgisini desteklemektedir. Besiyerlerinin içeriğinde bulunan mangan bileşiklerinin mangan klorür veya mangan sülfat halinde olması, sporulasyonu etkilememiştir. Genel bir besiyeri olan Nutrient Agar'a mangan sülfat eklenmesiyle elde edilen m-NA besiyerinde ise sporlanma gözlenmemiştir. Bu durumda besiyeri bileşiminin bakteri sporlanmasına gerek duyulmayacak kadar yeterli olduğu söylenebilir. Bir başka deyişle, sporlanma sadece kısıtlı besin maddesi ve mangan varlığında teşvik edilmektedir.

KAYNAKLAR

Abe, K., Shimizu, K., Tsuda, S, Sato, T. (2017). A novel non prophage(-like) gene-intervening element within gerE that is reconstituted during sporulation in *Bacillus cereus* ATCC 10987. *Sci Rep.* 7: 11426. DOI:10.1038/s41598-017-11796-8.

Abbas, A.A., Planchon, S., Jobin, M., Schmitt, P. (2014). A new chemically defined medium for the growth and sporulation of *Bacillus cereus* strains in anaerobiosis. *J Microbiol Meth* 105: 54-58.

- Anonim (2005). Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. (ed), A.K. Halkman. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., 358 s., Ankara.
- Anonymous (2016). Bacterial Endospores. Cornell University College of Agriculture and Life Sciences, Department of Microbiology. <http://micro.cornell.edu/research/epulopiscium/bacterial-endospores> (Erişim tarihi: 16.05.2016).
- Arda, M. (2000). Temel Mikrobiyoloji. İkinci Baskı (Genişletilmiş). Medisan Yayın Serisi: 46. 548 s.
- Charney J., Fisher W., Hegarty C.P. (1951). Manganese as an essential element for sporulation in the genus *Bacillus*. *J Bacteriol* 62: 145.
- Collado, J., Fernandez M.R., Martinez, A. (2006). Modelling the effect of a heat shock and germinant concentration on spore germination of a wild strain of *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol* 106: 85-89.
- De Vries, Y.P., Hornstra, L.M., de Vos, W.M., Abee, T. (2004). Growth and Sporulation of *Bacillus cereus* ATCC 14579 under Defined Conditions: Temporal Expression of Genes for Key Sigma Factors. *Appl Environ Microbiol* 70(4): 2514-2519
- Garcia, D., van der Voort, M., Abee, T. (2010). Comparative analysis of *Bacillus weihenstephanensis* KBAB4 spores obtained at different temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 140: 146-153.
- Halkman, A.K. (2013). Gıda Mikrobiyolojisi II Ders notları. http://food.eng.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/256/2015/10/Halkman_g%C4%B1da_mik-2_gdm310.pdf (Erişim tarihi: 11.01.2018).
- Hayrapetyan, H., Muller, L., Tempelaars, M., Abee, T., Groot, M.N. (2015). Comparative analysis of biofilm formation by *Bacillus cereus* reference strains and undomesticated food isolates and the effect of free iron. *Int J Food Microbiol*, 200: 72-79.
- Hayrapetyan, H.M., Abee, T., Nierop Groot, M. (2016). Sporulation dynamics and spore heat resistance in wet and dry biofilms of *Bacillus cereus*. *Food Control* 60: 493-499.
- Hornstra, L.M., de Leeuw P.L.A, Moezelaar R., Wolbert E.J., de Vries Y.P., Vos W.M., Abee T. (2007). Germination of *Bacillus cereus* spores adhered to stainless steel. *Int J Food Microbiol* 116: 367-371.
- Hussain, M. S. ve Oh, D. H. (2018). The impact of isolation source in the biofilm formation characteristics of *Bacillus cereus*. *J Microbiol Biotechnol.* 28(1): 77-86. doi:10.4014/jmb.1707.07023.
- Islam, M. S., Inoue, A., Igura, N., Shimoda, M., Hayakawa, I. (2006). Inactivation of *Bacillus* spores by the combination of moderate heat and low hydrostatic pressure in ketchup and potage. *Int J Food Microbiol.* 107: 124-130.
- Lakha, S.S. Velarde, C.G.L., Chen, S., Lee, S., Shannon, K., Fabri, M., Downing, G., Keown, B. (2017). A Study To Assess the Numbers and Prevalence of *Bacillus cereus* and Its Toxins in Pasteurized Fluid Milk. *J Food Prot.* 80(7): 1085-1089. doi/10.4315/0362.
- Mhatre, E., Troszok, A., Monterrosa, R.G., Lindstädt, S., Hölscher, T., Kuipers, O.P., Kovács, A.T. (2016). The impact of manganese on biofilm development of *Bacillus subtilis*. *Microbiology.* 162: 1468-1478, doi: 10.1099/mic.0.000320.
- Organji, S.R., Abulreesh, H.H., Elbanna, K., Osman, G.E.H., Khider, M. (2015). Occurrence and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* in food and infant feces. *Asian Pac Trop Biomed.* 5(7): 515-520.
- Tunail, N. (2000). *Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları.* Sim Matbaacılık Ltd., Ankara. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s. 03. Bölüm, 01. Kısım.
- Kalkan, S. (2006). Çiğ sütte *Bacillus cereus* sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Pommerville, J.C. (2014). Fundamentals of Microbiology. 10th Edition, Jones & Bartlett Learning, Burlington, MA., 944 s.

Peng, J.S, Tsai, W.C., Chou, C.C. (2001). Surface characteristics of *Bacillus cereus* and its adhesion to stainless steel. *Int J Food Microbiol* 65: 105-111

Van der Voort, M., Abee, T. (2013). Sporulation environment of emetic toxinproducing *Bacillus cereus* strains determines spore size, heat resistance and germination capacity. *J Appl Microbiol*, 114(4): 1201-1210.

Van Melis, C.C.J., den Besten, M.W., Nierop Groot, M.N., Abee, T. (2014). Quantification of the impact of single and multiple mild stresses on outgrowth heterogeneity of *Bacillus cereus* spores. *Int J Food Microbiol*. 177: 57-62

Vasanth, N., Freese, E. (1979). The role of manganese in growth and sporulation of *Bacillus subtilis* . *J Gen Microbiol* 112.

GELENEKSEL ÜRÜNLERİMİZDEN OLAN KÖFTÜRÜN BAZI BİYOAKTİF, FİZİKOKİMYASAL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ*

Fatma Becerikli, Fikri Başoğlu**

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 22.08.2017; Kabul / Accepted: 14.02.2018; Online baskı / Published online: 12.03.2018

Becerikli, F., Başoğlu, F. (2018). Geleneksel ürünlerimizden olan köftürün bazı biyoaktif, fizikokimyasal ve kimyasal özellikleri. *GIDA* (2018) 43 (2): 356-363 doi: 10.15237/gida.GD17085

Becerikli, F., Başoğlu, F. (2018). Some bioactive, physicochemical and chemical properties of köftür as a traditional food. GIDA (2018) 43 (2): 356-363 doi: 10.15237/gida.GD17085

ÖZ

Köftür, ülkemizde bağcılığın geliştiği bölgelerde özellikle Nevşehir ilinde, üretilen geleneksel bir üründür. Köftür üretiminde genellikle üzüm şırası ile un kullanılmakta ve kış mevsimi boyunca atıştırılabilir olarak tüketilmektedir. Bileşiminden dolayı yüksek besleyici özelliğe sahiptir. Bu çalışmada 3 farklı tipte köftür örneğinin (unlu, unlu-yumurtalı, unlu-niştastalı) kimyasal ve fonksiyonel özellikleri araştırılmıştır. Köftür örneklerinde, kuru madde 79.17-82.17 g/100g; titre edilebilir asitlik 0.05-0.08 g/100g; pH 5.44-5.73; indirgen şeker %40.70-47.30; HMF 0-27.10 mg/kg; toplam fenolik madde miktarı 393.86-488.71 mg GAE/100g; antioksidan kapasite (CUPRAC) 3268.38-3552.17 µmol trolox/g olarak saptanmıştır. Renk değerleri (L, a, b) ortalama olarak sırasıyla 34.47, 2.98 ve 12.28 bulunmuştur. Her üç tipteki köftür örneklerinde en fazla potasyum, en az demir belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Köftür, antioksidan kapasite, toplam fenolik madde, hidroksimetilfurfural

SOME BIOACTIVE, PHYSICOCHEMICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF KOFTUR AS A TRADITIONAL FOOD

ABSTRACT

Köftür is a traditional product, in the regions where the vineyard is developed, especially in Nevşehir, in our country. It is usually made with grape syrup-flour and consumed as a snack during the winter seasons. It has a high nutritional character due to its content. In this study, three different types of köftür samples (floury, floury-egg, floury-starch) chemical properties were focused. The investigated parameters of köftür samples were determined as follows: Total solids 79.17-82.17 g/100g; titratable acidity 0.05-0.08 g/100g; pH 5.44-5.73; reducing sugar %40.70-47.30; HMF 0-27.10 mg/kg; total phenolics 393.86-488.71 mg GAE/100g; antioxidant capacity (CUPRAC) 3268.38-3552.17 µmol trolox/g. The colour values (L, a, b) of köftür were determined 34.47, 2.98 and 12.28, sequentially. While K was the most concentrated, Fe was the least concentrated detected in all samples.

Keywords: Köftür, antioxidant capacity, total phenolics, hydroxymethylfurfural

* Bu çalışma birinci yazarın YL tezinden üretilmiştir. / This paper was produced from first author's M. Sc. Thesis

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ftm.becerikli@gmail.com,

☎ (+90) 224 294 1492

☎ (+90) 224 294 1402

GİRİŞ

Üzüm ve üzüm ürünleri, birbirinden farklı tekstürel yapıları, tatları, besleyici özellikleri, sağlık üzerine olumlu etkileri, ürününe göre uzun raf ömrüne sahip olması gibi özellikleri nedeniyle ülkemizde tercih edilen gıdaların başında gelmektedir. Örneğin yaz mevsimlerinde yaş üzüm olarak tercih edilirken, aynı zamanda her mevsim tüketilebilecek pekmeze de işlenmektedir. İçecek olarak üzüm şırası ve şarap olarak tüketilmekte, bunların yanında özellikle kış aylarında tüketilen ve üzümün şırasından elde edilen pestil, köme, köftür, üzüm tarhanası gibi atıştırmalıklar da üretilmektedir. Oldukça geniş bir ürün yelpazesi olmasına rağmen yapılan çalışmalar daha çok üzüm, pekmez ve şarap üzerinde yoğunlaşmaktadır (Becerikli, 2015; Toker ve Hayaloğlu, 2004; Üstün ve Tosun, 1997).

Üzüm ürünlerinden biri de köftürdür. Köftür; üzüm suyu, nişasta ve unla hazırlanan, özellikle kış aylarında olmak üzere yıl boyu yenilebilen ve yöreden yöreye farklı adlar alan bir çeşit atıştırmalıktır (Becerikli, 2015; Koca, 2014). Özellikle İç Anadolu Bölgesinde Nevşehir ilinde bilinen ve satışı yapılan bu ürün, eylül- ekim aylarında (üzümlerin olgunlaşması döneminde) üretilmektedir. Çoğunlukla geleneksel olarak evlerde üretilirken, sadece Nevşehir ilinde tek bir işletmede, fabrikasyon olarak üretim yapılmaktadır (Yuvallı, 2014). Gerek TSE'de bir standardının olmaması gerekse üretiminin daha çok geleneksel olarak yapılması, elde edilen ürünlerde kalite kriterlerinin belirlenmesini sınırlamaktadır.

Köftür üretiminde kullanılan bileşenler, üzüm, pekmez toprağı, un, nişasta, yumurta olarak sıralanmaktadır. Nevşehir ilinde yetiştirilen üzümlerden göğcek çeşidi, açık renkte ve bol şıra verimi nedeniyle tercih edilmektedir. Çünkü üretilen köftürün açık renkte olması istenilen bir özelliktir (Becerikli, 2015).

Üzüm suyunun asitliğinin giderilmesi için pekmez toprağı kullanılmaktadır. Pekmez toprağı yüksek oranda kalsiyum karbonat içeren, asitliği azaltma yanında izoelektrik noktasına ulaşan kolloitlerin de çökmesini sağlamaktadır (Bilişli, 2013). Şıraya

katılan miktarı 100 kg üzüm şırasına 1-5 kg arası değişmektedir. Pekmez toprağının; preslenmeden önce üzümlerin üzerine serpilmesi, pres edilen şıraya serpilmesi ve kestirilen şıraya serpilmesi şeklinde uygulama metotları bulunmaktadır (Atabey, 2011).

Köftür üretiminde kullanılan un, tip 550'dir. Nişasta olarak ise buğday nişastası kullanılmaktadır. Nişasta ile yapılan köftürler un ile yapılan köftürlere göre daha yumuşak olmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre ise (Göncü vd., 2010) en iyi sonuç yarı yarıya nişasta ve un kullanılarak elde edilmiştir.

Köftür üretiminde yumurtanın kullanım sebebi ile ilgili net bir bilgi veya çalışmaya rastlanmamıştır. Köftür üretiminde yumurta akı ilavesi ısıl işlemden önce, pekmez toprağı ilavesi sonrasında elde edilen berrak şıra içerisine yapılmaktadır. Amaç köftürün rengini açmaktır. Batu ve Yurdagel (1993)'ün belirttiğine göre bu konuda sadece yumurta akı için bilgi mevcuttur, geleneksel olarak üretim yapılan tesislerinde %5 oranında yumurta akı kullanılmaktadır. Yumurta akı daha çok evlerde yapılan köftür üretiminde kullanılmaktadır. Fabrikasyon üretim de ise bu amaçla bentonit tercih edilmektedir (Becerikli, 2015).

Modern ve geleneksel yöntemle köftür üretimi basamakları sırasıyla şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir (Yuvallı, 2014; Becerikli, 2015).

Bu çalışmada geleneksel olarak İç Anadolu Bölgesinde üretimi yapılan köftürün bazı kimyasal özellikleri yanında toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite ve içeriğinin belirlenerek özelliklerinin ortaya koyulması; pekmez, pestil tipi yaygın olarak üretilen üzüm ürünlerine bir yenisinin daha eklenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca Gıda Kodeksinde yer almayan geleneksel bir ürünün standarda kazandırılması için bir kaynak teşkil etmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada Nevşehir ili içerisinde yetiştirilen 15 üzüm çeşidinden ikisi olan Dimrit ve Göğcek üzüm çeşitlerinden, aynı ay içerisinde üretilen

köftür örnekleri kullanılmıştır. Köftür örnekleri unlu, unlu-niştastalı, unlu-yumurtalı olmak üzere 3 tip olarak, 9 paket köftür örneği kullanılmıştır. Köftür örneklerinin üç paketi Nevşehir ilinde üretim yapan bir firmadan, 3 paketi satış yerinden,

kalan 3 paketi ise satış yapan bölge halkından temin edilmiştir. Örnekler kendi kutularında laboratuvara getirilmiş ve +4 °C'de 8 ay kadar saklanmıştır.

Hasat *Harvest* ⇒ Yıkama *Washing*-Sap ayırma *Stalk separation*- Presleme *Pressing*- Üzüm sırası (makinelere) *unfermented grape-juice (with machines)* ⇒ Şıranın süzülmesi (20-25 briks derecesi) *Filtration of unfarmed grape-juice (20-25 brix degree)* ⇒ Şıranın kapalı sistemde ısıtılması (1 atmosfer basınç ve 65 °C'de 38 briks kadar) *Heating the unfarmed grape-juice in closed system (At 1 atmosphere pressure and 65 °C, up to 38 brix)* ⇒ Şıranın 20 °C'a soğutulması ve ardından %10 civarında un (veya un+niştasta) eklenmesi *Cooling of unfarmed grape juice to 20 °C and then adding 10% flour (or flour+starch)* ⇒ Homojenizasyon (karıştırıcı), filtrasyon (plakalı filtreler) *Homogenisation (mixer), filtration (plated filters)* ⇒ Açık kazanlarda ham un tadı gidinceye kadar pişirme *Cooking in boilers until raw taste disappears* ⇒ Tepsilere aktarma (manuel olarak) *Transfer to tray (manually)* ⇒ Dilimleme (kesme sıcaklığında) *Slicing (at slicing temperature)* ⇒ Kurutma (yaklaşık 4 gün) *Drying (about 4 days)* ⇒ Kaplara yerleştirilmesi *Placment in containers* ⇒ Depolama (serin yerde 1-2 ay) *Storage (in cool place, 1-2 months)*

Şekil 1: Modern Yöntem ile Köftür Üretimi
Figure 1: Production of Köftür with modern method

Şıra çıkarma *Extraction of unfarmed grape-juice* ⇒ Süzme (tülbentten) *Filtration (with cheesecloth)* ⇒ Pekmez toprağı ilavesi (bir gece için) *Addition of marl (for a night)* ⇒ Berrak şıranın ayrılması (keççelerle) *Seperation of clear unfarmed grape-juice* ⇒ Yumurta akı ilavesi *Egg whites's addition* ⇒ Pişirme *Cooking* ⇒ Şıra ve pekmez arası kıvamda pişirme durdurulur *Cooking is stopped in consistency between unfarmed grape-juice and molasses* ⇒ Şıranın soğutulması *Cooling of unfarmed grape juice* ⇒ Un veya un+niştasta ilavesi (%10) *Adding flour or flour-starch (%10)* ⇒ Pişirme (koyulaşınca kadar) *Cooking (until dense consistency)* ⇒ Tepsilere aktarım *Transfer to tray* ⇒ Dilimleme *Slicing* ⇒ Kurutma *Drying* ⇒ Küplere aktarım *Placment in containers* ⇒ Depolama (serin yerde, 1-2 ay) *Storage (in cool place, 1-2 months)*

Şekil 2: Geleneksel Yöntem ile Köftür Üretimi
Figure 2: Production of Köftür with Traditional Method

Yöntem

Fizikokimyasal analizler

Toplam kuru madde(%) tayini Uylaşer ve Başoğlu (2014)'e göre, titre edilebilir asitlik, İndirgen şeker tayini (Luff Schrool) ve pH tayini HANNA pH211 pH metresi ile örnekler homojen hale getirildikten sonra Cemeroğlu, 2013'e göre yapılmıştır.

Renk analizi için Minolta CM 3600d model renk ölçüm cihazı kullanılmış, ölçümün daha nitelikli sonuç verebilmesi için, pütürlü yüzeye sahip olan

köftür örnekleri kesilerek iç yüzeyinde renk değerlendirilmesine gidilmiştir.

HMF Tayini

HMF analizi Winkler metoduna göre gerçekleştirilmiş (Winkler, 1995). Bu metoda göre, köftür örneklerinden 2 g alınarak saf su içerisinde çözündürülmüştür. Daha sonra Carrez I ve Carrez II eklenerek çalkalanmış ve filtre edilmiştir. Filtrat üzerine p-toluidin çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra bu çözelti üzerine barbitürik asit eklenerek karıştırılmış ve renk yoğunluğu maksimuma

ulaştığında spektrofotometrede 550 nm'de okuma yapılmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$HMF=(192 \times A \times 10) / \ddot{O}$$

A: Absorbans

192: seyreltme ve yok olma faktörü

Ö: örnek miktarı

Toplam Fenolik içerik ve antioksidan kapasite için ekstraksiyon

Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitenin ekstraksiyonu Kamiloğlu ve Çapanoğlu (2013)'ün yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Buna göre her bir köftür örneğinden 2 g tartılmıştır. Üzerine %0.1 formik asit içeren %75'lik metanol eklenmiştir. 15 dakika ultrasonik su banyosunda bekletildikten sonra 2700 g devirde ve 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar toplandıktan sonra %0.1 formik asit içeren %75'lik metanolden eklenerek aynı işlemler 3 kez daha tekrarlanmıştır. Tüm süpernatantlar toplanarak elde edilen ekstraktlar, -20 °C'de saklanmıştır.

Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde miktarı tayini Naczek ve Shahidi (2004) ve Vitali vd. (2009)'un belirttiği yöntemler modifiye edilerek uygulanmıştır. Buna göre; Deney tüplerine x mL örnek/standart konulmuştur. Üzerine saf su ve Lowry C ilave edilerek karıştırılıp 10 dakika beklenmiştir. Süre sonunda su ile seyreltilmiş Folin reaktifinden ilave edilerek karıştırılmış, karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. 30 dakika sonunda 750 nm dalga boyunda absorbans değerleri Optizen 3220 UV-Mecasys marka spektrofotometrede okunmuştur. Toplam fenolik madde tayini çalışmalarında standart madde olarak gallik asit kullanılmıştır. Sonuçlar mg GAE/100g örnek olarak ifade edilmiştir.

Antioksidan kapasite tayini

Köftür örneği ekstraktlarında antioksidan kapasite tayini, SET mekanizmasına dayanan tayin yöntemlerinden olan CUPRAC yöntemi ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır (Apak vd., 2004). Bu amaçla; Cu (II) klorür çözeltisi, neokuproin alkoldeki çözeltisi, amonyum asetat çözeltileri belirli oranlarda karıştırılmıştır. Üzerine

x mL ekstrakt, (4-x) mL saf su eklenmiştir. 30 dakika sonunda içerisinde antioksidan bulunmayan örneğe karşı 450 nm'de absorbans değerleri Optizen 3220 UV-Mecasys marka spektrofotometrede okunmuştur. Kalibrasyon grafiği için trolox çözeltisi kullanılmış ve sonuçlar µmol trolox/g örnek olarak hesaplanmıştır.

Mineral madde analizi

Köftür örneklerinde Ca, Mg, Fe, Na, K içerikleri ICP-OES (indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi) Perkin Elemer 2100 model (USA) ile axial konumunda kullanılarak belirlenmiştir (Anonymous, 2007a; Anonymous, 2007 b).

Küçük parçalara ayrılan köftür örneklerinden 0,5 g alınıp 6 ml derişik HNO₃ eklenmiştir. Ardından aşağıda verilen programa göre, 6 numuneli bir rotatora sahip ve teflon kapları olan Millestone MLS 1200 (İtalya) mikrodalga yakma fırını ile yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. 50 ml' lik polietilen falcon tüplerde 25 ml' ye deiyonize saf su ile seyreltilmiştir.

Mineral (Na, Mg, K, Ca) için 0.5-10mg/L aralığında standart çözelti, Fe için 0.1-2mg/L aralığında hazırlanan standart çözeltiler ile kalibrasyon eğrisi lineer olarak çizilmiştir. Kontrol Çözeltiler için Sertifikalı Çay, Lahana, Çilek standartları okutulduktan sonra numuneler okutulmuştur.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Köftür örneklerine ait bazı kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

Saptanan ortalama kuru madde oranları en yüksek 82.17 g/100g ile unlu- yumurtalı örnekte belirlenmiş olup onu sırasıyla 80.44 g/100g ile unlu-niştastalı örnek ve 79.17 g/100g unlu örnek takip etmiştir. Örnekler arasında kuru madde miktarlarında istatistiksel açıdan belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Köftür örneklerimizdeki kuru madde oranı, Cangı vd. (2010)'un yaptığı bir çalışmada köftür ile benzerlik gösteren "köfter" örneklerindeki kuru madde oranları (80.03-87.64) ile paralellik göstermektedir. Özer vd. (2010)'un cezerye için yaptıkları toplam kuru madde oranları

%89 ile %86 arasında değişmektedir. Cezeryenin köftür örneklerinden daha ince ve daha kuru

olduğu düşünüldüğünde elde edilen sonuçların birbirini desteklediği görülmektedir.

Çizelge 1. Köftürün kimyasal analiz sonuçları
Table 1. Chemical analysis results of Köftür

Bileşenler Compounds	Unlu Köftür Floury köftür	Unlu-Niştastalı Köftür Floury-starchy köftür	Unlu-Yumurtalı Köftür Floury-egg köftür
Kuru Madde (%) Total solids(%)	79.17 ^a	80.44 ^a	82.17 ^a
Titrasyon Asitliği (%) Titratable acidity (%)	0.08±0.01 ^a	0.04±0.01 ^b	0.05±0.01 ^c
İndirgen Şeker Reducing sugar	40.70±1.04 ^b	47.30±0.01 ^a	45.97±0.58 ^a
pH	5.44±0.14 ^b	5.67±0.04 ^{ab}	5.73±0.15 ^a
L	32.54±1.15 ^b	35.54±0.42 ^a	35.33±0.34 ^a
a	2.54±0.61 ^b	2.73±0.5 ^{ab}	3.67±0.47 ^a
b	10.85±0.85 ^b	12.32±1.25 ^{ab}	13.68±0.11 ^a
HMF (mg/kg)	3.15±0.13 ^a	11.67±0.20 ^b	2.42±0.09 ^a
Toplam Fenolik Madde (mg GAE/100g) Total phenolics (mg gallic acid equivalent/100g)	393.86±12.22 ^a	488.71±49.68 ^a	381.65±101.53 ^a
Antioksidan Kapasite Antioxidant capacity	3552.17±26.93 ^a	3552.17±26.93 ^a	3280.05±210.25 ^b
Na (mg/kg)	339.33±77.36 ^b	243.00±49.52 ^b	1089.67±391.23 ^a
Mg (mg/kg)	393.33±63.62 ^a	278.67±61.07 ^b	302.67±12 ^{ab}
Ca (mg/kg)	1480.00±195.82 ^a	1116.00±258.92 ^a	1318.33±129.87 ^a
K (mg/kg)	10247.67±344.28 ^a	8138.00±2019.48 ^a	7037±984.91 ^a
Fe (mg/kg)	9.47±0.31 ^a	6.16±3.67 ^a	6.02±0.48 ^a

*LSD testinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ($P < 0.05$).

*In the LSD test there is a statistically significant difference among the averages shown different letters.

Köftür örneklerinde pH değerleri 5.44 ile 5.73 arasında bulunmuştur. İstatistiksel olarak pH bakımından örnekler arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Köftür veya köftür benzeri olan cezerye gibi ürünler için bir standart olmadığından, katı üzüm pekmezi tebliğine göre değerlendirildiğinde pH değeri 3.5-5.0 değerlerinden büyük ise ekşi pekmez, 5.0-6.0 değerlerinden küçük veya eşit ise tatlı pekmez olarak sınıflandırılmaktadır. Köftür ürünü de pekmez bazlı bir ürün olduğundan, asitliğine göre değerlendirildiğinde tatlı bir ürün olduğu belirlenmiştir. Cangi vd. (2010), köfter örneklerinde pH değerini 5.37-5.98 aralığında tespit etmiştir. Kullanılan üzüm şirasındaki asit

miktarına; iklim ve toprak yapısı, olgunlaşma zamanı, hasat zamanı gibi pek çok faktör etki etmektedir. Asitlik daha çok tartarik asitten olmak üzere, malik asit ve sitrik asitten oluşmaktadır. Asit gidermede kullanılan CaCO_3 içerikli beyaz toprak sayesinde pekmez toprağındaki Ca^{+2} iyonları, şıradaki tartarik asitle birleşerek kalsiyum tartarat olarak nötralleşmekte, böylece başlangıçta 3.5 civarında olan pH değeri 5.0-6.0 arasında istenilen düzeye yükseltilmektedir (Batu ve Gök, 2006; Karaca, 2009)

Köftür örneklerinde bulunan en yüksek indirgen şeker oranı %47.30 ile unlu-niştastalı örneklerde görülürken; en düşük oranı %40.70 olarak unlu

örneklerde görülmüştür. İstatistiksel anlamda indirgen şeker oranları arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Pekmez ve pekmez bazlı ürünlerde (köftür, pestil vs.) bulunan tüm şekerler glikoz ve fruktoz halinde oldukları için bu basit şekerlerin sindirim sisteminde parçalanmasına gerek yoktur ve kana geçmesi hiç bir enerjiye gerek duyulmaksızın difüzyon ile gerçekleşir. Böylece vücut yaklaşık 30 dakika gibi kısa bir süre içinde enerji kazanmaktadır (Batu, 1993).

Renk analizinde L (parlaklık) değerleri 32.54-35.54 arasında ve a (kırmızılık) değerleri 2.54- 3.67 arasında, b (sarılık) değerleri ise 6.20-10.24 arasında bulunmuştur. L ve a değerleri Cangi ve vd. (2010)'un yaptığı köfter çalışmasına paralellik gösterirken, b değeri daha yüksek çıkmıştır. Bu farklılığın köftür üretiminde kullanılan üzüm çeşidi veya uygulanan standart olmayan ısıl işlemden kaynaklandığı düşünülmektedir. Üretilen köftürlerin açık renkte olması istenmektedir (Becerikli, 2015).

HMF (hidroksimetilfurfural), meyvelerde doğal olarak bulunmamaktadır. Fakat özellikle ısıl işlem gören gıda maddelerinde asidin de etkisiyle monosakkaritlerden oluşan bir bileşiktir, önemli bir kalite kriteridir (Cemeroğlu, 2013). Köftür örneklerinin tamamında HMF oranları birbirinden farklı çıkmasına rağmen aralarında istatistiksel anlamda önemli bir fark bulunamamıştır. Sonuçlara göre en yüksek HMF 27.10 mg/kg ile unlu-nişastalı örnekte tespit edilmiştir. Geleneksel olarak üretilen pekmezlerde pişirme işlemi açık kazanlarda olmasından dolayı HMF oranı yüksek çıkmaktadır (Batu, 1991). Pekmez üzerine yapılan çalışmalardan yola çıkılarak yapılacak genel değerlendirmede köftür örneklerinin HMF oranının da yüksek çıkması beklenirken düşük çıkmıştır. Pekmez için belirlenen HMF kriterinin (75-100 mg/kg) çok altında bir sonuç elde edilmiştir. Benzer bir sonuçta Üstün ve Tosun (1997)'nin pekmezlerin bileşime üzerine yaptıkları bir çalışmada da rastlanmıştır.

Üzüm fenolik bileşenler bakımından çok zengindir. Üzümde bulunan fenolik bileşenlerin büyük çoğunluğunun kabukta bulunduğu ve siyah

üzüm çeşitlerinin ortalama 920 mg/kg fenolik bileşik içerdiği belirlenmiştir (Kanner vd., 1994). Köftür örneklerinde toplam fenolik madde miktarı en yüksek unlu-nişastalı örnekte (488.71 mg GAE/100g) çıkmıştır. Onu sırasıyla unlu örnek (393.86) ve unlu- yumurtalı örnek (381.65) takip etmiştir. Köftüre en yakın ürünlerden biri olan üzüm pestili üzerine yapılan bir çalışmada fenolik madde miktarı 447.63 mg GAE/100g (Candemir vd., 2015) olarak bulunmuştur.

Köftür örneklerinde antioksidan kapasite μmol trolox/g olarak hesaplanmış, en yüksek antioksidan kapasite unlu örneklerde 3552.17 μmol trolox/g olarak bulunmuştur. Onu 3280.05 μmol trolox/g ile unlu yumurtalı örnek takip etmiştir. Unlu nişastalı örnekte ise 3268.38 μmol trolox/g değeri elde edilmiştir. Candemir ve vd. (2015)'in yaptığı çalışmaya göre üzüm pestilinde belirlenen antioksidan kapasite 1.38 mmol TE/L bulunmuştur.

Üzümlerde bulunan başlıca mineral maddeler potasyum, kalsiyum, fosfor, sodyum, demir ve magnezyumdur. Mineral maddeler, üzümde, kabukların % 2-3'ünü ve meyve etinin %1-2'sini oluşturmaktadır (Canbaşı, 2003).

Köftür örnek tiplerinde yapılan mineral analizlerinde büyük farklar elde edilmiştir. Bunun kullanılan üzümün olgunluk durumu dolayısıyla bileşimi, üretim yöntemleri, ekstraksiyon koşulları, kullanılan pekmez toprağının mineral madde içeriği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Köftürün mineral içeriği ile ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu nedenle sonuçlar diğer üzüm ürünleri ile karşılaştırılmıştır. Üzüm pekmezinin mineral içeriği üzerine yapılan bir çalışmada, sodyum 652.6 mg/kg, kalsiyum 1436.6 mg/kg, potasyum 8230.4 mg/kg, demir ise 99.9 mg/kg bulunmuştur (Kayaşoğlu ve Demirci, 2010). Buna göre üzüm pekmezi örneklerine göre, sodyum, unlu-yumurtalı örneklerde yüksek, kalsiyum unlu örneklerde yüksek, potasyum unlu örneklerde yüksek çıkmıştır. Demir ise üzüm pekmezine göre oldukça düşük miktarda belirlenmiştir. Bu farklılığın kullanılan üzüm çeşidi farklılığı, yetiştirilme koşulları ve uygulanan işlemlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, son yıllarda insanların minimum işlem görmüş, daha az katkı içeren ve daha sağlıklı gıdalara yönelmesi, geleneksel gıdalara olan ilginin artmasına neden olmuştur. Kültürel zenginliği oldukça fazla olan ülkemizde yer alan geleneksel gıdaların sayısı da oldukça fazladır. Literatürde sınırlı sayıda kaynak bulunan geleneksel gıdalarımız hakkında daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Üzüm insan sağlığı ve beslenmesi üzerinde son derece önemli role sahiptir. Ürünlerine işlendikten sonra artan yararlılığı üzüm bazlı gıdalar üzerine daha çok yoğunlaşılması gerektiğini göstermektedir.

Geleneksel üzüm bazlı gıdalarımızdan olan köftürün yüksek mineral, antioksidan, fenolik madde içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek şeker içeriği nedeniyle iyi bir enerji kaynağıdır.

Köftür benzeri özelliğe sahip ürünlerin üretimlerinin standardize edilmesi hem kültürel değerlerimizin korunmasına hem de bölgesel gelişimlere katkıda bulunulabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından (KUAP(Z)-2014/9) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Anonymous (2007a). Gıdalarda metalik elementlerin tayini, Türk Standartları Enstitüsü, TS3606.

Anonymous (2007b). Trace elements- As, Cd, Hg, Pb, and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion. *News Nord Comm Food Anal.* NMKL Method No. 186.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agric Food Chem*, 52: 7970-7981.

Atabey, E. (2011). Pekmez ve Pekmez Toprağı. *Popüler Bilim*, 19 (212): 38-45.

Batu, A. (1991). Zile Pekmezi Üretim Teknolojisinin Geliştirilmesi ve Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Cumhuriyet Üniv Tokat Ziraat Fak Der*, 7(1):171-178.

Batu, A., Yurdagel, Ü. (1993). Değişik Katkıların Kullanımıyla Beyaz Katı Kuru Üzüm Pekmezi Eldesi Üzerine Bir Araştırma. *GIDA*, (18):157-163.

Batu, A. (1993). Kuru üzüm ve pekmezin insan sağlığı ve beslenmesi açısından önemi. *GIDA*, 18(5):303-307.

Batu, A., Gök, V. (2006). Pekmez üretiminde HACCP Uygulaması. *GIDA*, (3): 1-18.

Becerikli, F. (2015). Türkiye’de geleneksel bir gıda olan köftürün bazı fiziksel, kimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve mikrobiyolojik olarak incelenmesi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bursa, Türkiye, 58 s.

Bilişli, A. (2013). Üzüm pekmezi. *Özel Gıdalar*. Sidas Medya Ltd.Şti., İzmir, Türkiye, 146 s. ISBN: 978-605-5267-13-1.

Canbaş, A. (2003). Şarap Teknolojisi Ders Notları. Adana, 192 s.

Candemir, A., Güler, A., Soltekin, O., Teker, T. (2015). Üzüm ürünlerinin biyokimyasal özellikleri. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi-A* 27 (Türkiye 8.Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu Özel Sayısı) : (2015) ISSN:1309-0550

Cangi, R., Kaya, C., Sayaslan, A., Yıldız, M., Koyuncu, M., Saraçoğlu, O., Topçu, N. (2010). Karaman üzüm köfterinin bazı özellikleri.1.Uluslararası Adriyatik’ten Kafkaslar’a Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 15-17 Nisan 2010, Tekirdağ, Türkiye, 1092 s.

Cemeroğlu, B.S. (2013). *Gıda Analizleri*. Bizim Grup Basımevi, Ankara, Türkiye, 480 s. ISBN: 978-605-63419-3-9.

Göncü, A., Tokatlı, F., Hayta, M. (2010). Geleneksel Nevşehir köftürü üretimi. 1.Uluslararası Adriyatik’ten Kafkaslar’a Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 15-17 Nisan 2010, Tekirdağ, Türkiye, 1092 s.

- Kamiloğlu, S., Çapanoğlu, E. (2013). In vitro gastrointestinal digestion of polyphenols from different molasses (pekmez) and leather (pestil) varieties. *Int J Food Sci Technol*, 49(4): 1027-1039.
- Kanner, J., Frankel, E.N., Grant, R., German, J.B., Kinsella, J.E. (1994). Natural antioxidants in grapes and wines. *J Agric Food Chem*, 42: 64-69.
- Karaca, İ. (2009). Pekmez örneklerinde vitamin ve mineral tayini. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Türkiye, 115 s.
- Kayıoğlu, S., Demirci, M. (2010). Farklı yöntemlerle üretilen pekmezlerde, depolama süresi ve koşullarının HMF miktarına ve bazı duyuşal özelliklerine etkisinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. 1.Uluslararası Adriyatik'ten Kafkaslara Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 15-17 Nisan 2010, Tekirdağ, Türkiye, 1092 s.
- Koca, İ. (2014). Pekmezden üretilen çerezlerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda Teknolojisi Elektronik Dergisi*, 9(1): 36-39.
- Özer, E.A., Akyıldız, A., Aksay, S., Ağçam, E., Bobuş, G. (2010). Cezerye üretimi ve bazı özellikleri. 1.Uluslararası Adriyatik'ten Kafkaslar'a Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 15- 17 Nisan 2010, Tekirdağ, Türkiye, 1092 s.
- Naczka, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*, 1054: 95-111.
- Toker, A., Hayaloglu, İ. (2004). Şanlıurfa yöresi gün pekmezlerinin üretim tekniğı ve bazı fiziksel-kimyasal özellikleri. *Harran Üniv Ziraat Fak Derg*, 8(2): 67-73.
- Uyulaşer, V., Başoğlu, F. (2014). *Temel Gıda Analizleri*. Dora Basım Yayın, Bursa, Türkiye, 125 s. ISBN: 978-605-4798-57-5.
- Üstün, N.S., Tosun, D. (1997). Pekmezlerin bileşimi. *GIDA*, 22 (6): 303-307.
- Vitali, D., Dragojević, I.V., Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral rawmaterials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chem*, 114(4): 1462-1469.
- Winkler, O. (1955). Detection and determination of hydroxy-methylfurfural in honey. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung*, 102:161-167.
- Yuvalı, İ. 2014. Sözlü Görüşme. Doğanlar Gıda Tur. İnş. İml. San. ve Tic. Ltd. Şti. Aksaray Yolu 15. Km. Nevşehir/Türkiye, Görüşme Tarihi: 23.09.2014.



1. GIDA VE TIP ÖĞRENCİ KONGRESİ; 7 MAYIS 2017*

Gizem Sarı^{1}, Mehmet Özkök²**

¹⁾ Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara, Türkiye

²⁾ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

Sarı, G., Özkök, M. (2018). 1. Gıda ve tıp öğrenci kongresi; 7 Mayıs 2017. *GIDA* (2018) 42 (2): 364-369
doi: 10.15237/gida.GD18036

GİRİŞ

Yaşamsal sürecin sağlıklı ve doğru devamlılığı, yeterli ve dengeli beslenmenin yanı sıra güvenli gıda ile mümkündür. Bu bağlamda gıda, gerek içerdiği yaşamsal öğeler açısından, gerekse taşıyabileceği risklerin neden olabileceği hastalıklar ve ölümler nedeniyle insan sağlığını doğrudan ilgilendiren bir unsurdur. Bu nedenle gıdaların sağlıklı yaşamın yanı sıra hastalıkların oluşumunda/önlenmesindeki yeri tartışmasıdır.

Son dönemlerde nüfusun hızla artması, gıdalardan beklentilerin yükselmesi, yeni teknolojilerin gelişmesi gibi çeşitli etkenlerle birlikte gıdanın sağlık alanındaki yeri ve güvenli gıda kavramı konusundaki tartışmalar da hızla artmaya başlamıştır. Bu durum bilgi kirliliğine ve yanlış yönlendirmelere de neden olmakta ve toplum sağlığı bundan doğrudan etkilenmektedir. Bu kongre ile ilk kez gıda ve tıp alanında eğitim gören öğrenciler bir araya gelerek güncel ve tartışmalı konuları ortak platformda ele alacaktır.

Kongre ile gıda ve sağlık alanında yer alan meslek bireylerinin aynı dili konuşabilme, birbirini tanıyabilme açısından temel başlangıç adımlarının atılması hedeflenmektedir.

Amacı ve vizyonuyla gerçekleştirilen kongremizde birbirinden değerli sunumlar yapılmış ve bunlar Gıda ile Tıp alanında hakemlerce ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda

ilk 3 dereceye giren ve özeti elimize ulaşan sunumlar aşağıda verilmiştir.

SÖZLÜ BİLDİRİLER SAĞLIK ALANI

ST01 Kardiyovasküler Hastalıklar ve İnsan Mikrobiyotası İlişkisi

Can Berk Leblebici

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

ST02 Yeni Doğanlarda Nekrotizan Enterokolitin Önlenmesinde Prebiyotik

Çiğdem Özcan, Demet Bahar

Ankara Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Nekrotizan Enterokolit çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerin %5-10'unda görülmekte kısmi veya tam iskemiyle karakterli olup yeni doğanları etkileyen en ciddi gastrointestinal sistem hastalığıdır. Barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi; patojenlerin aşırı çoğalmasını azaltarak NEK riskini düşürür. Çeşitli çalışmalarda prematürelere yapılan prebiyotik-probiyotik desteğinin olumlu etkileri gösterilmiştir. Bu çalışmada NEK'in önleyici tedavisinde prebiyotik-probiyotik ve bunlardan zengin olan anne sütünün etkilerini açıklanmıştır. Anne sütü içeriği, probiyotikler (Bifidobakteri, Laktobacillus formundakiler)'in ve prebiyotiklerin (oligosakkaritler) kombinasyonudur. Sağlıklı yenidoğanlarda barsak mikrobiyotası doğumdan hemen sonra annenin vajinal mikrobiyotasıyla

* Makale yazarı olarak görülen lisans öğrencileri Gizem Sarı ve Mehmet Özkök, 1. Gıda ve Tıp Öğrenci Kongresi; 2017 etkinliğinin eş başkanları sıfatı ile söz konusu özetleri GIDA Dergisi standartlarına göre düzenlemişlerdir

** Yazışmalardan sorumlu yazar

E-posta: gizemsari95@gmail.com

Tel (+90) 312 297 7113

Faks: (+90) 312 299 2123

kolonize olmaya başlar. Özellikle anne sütüyle beslenen bebeklerde yaşamın başlarında Bifidobakterilerin çoğunluğunu oluşturduğu karmaşık mikrobiyota oluşmaktadır. Ancak prematürelere yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) izlem, antibiyotikler, gecikmiş enteral beslenme, anne sütünün az alımı nedeniyle kısıtlı, farklı organizmalar anormal kolonizasyon oluşturarak NEK riskini arttırmaktadır. Prematürelere oligosakkarit verilmesiyle dışkı pH'sıyla viskozitesi azalabilir, gastrointestinal geçişi hızlanabilir ve mineral emilimini düzelterek NEK'ten korur. Rutin profilaktikprobiyotik desteği preterm bebeklerde NEK sıklığını, mortaliteyi anlamlı ölçüde azaltmıştır. Anne sütündeki oligosakkaritler; glikoz, galaktoz, fukoz, N-asetilglukozamin ve sialik asit içermektedirler. Bifidojenik etki, anne sütündeki oligosakkaritler, laktoferrin, nükleotidler gibi bileşenlere bağlı olabilmektedir ve mikrobiyotada probiyotiklerin büyümesini sağlamaktadır. Çalışmalarda vajinal doğum ve anne sütüyle beslenme sayesinde gram pozitif laktobasiller, bifidobakterilerden oluşan bağırsak mikrobiyotası immüniteye ve bebek sağlığına olumlu katkılarda bulunurken sezeryan doğumla doğan prematürelere ise, anne sütü alabilme şansının azlığı, YBÜ organizmaları, antibiyotikler nedeniyle mikrobiyotanın gelişimi gecikir, patojen bakterilerle kolonizasyon oluşur. Buradan doğumun türüyle NEK oluşma riski arasındaki önemli ilişki anlaşılıyor. Ayrıca antibiyotik tedavisi, mikrobiyal çeşitliliğin azalması ve bebeklerin NEK gelişme riski artışıyla ilişkilendirilmiştir. NEC'in başlangıcından önce dışkı örneklerini analiz eden prospektif çalışmalar hastalığın, tek dominant mikroorganizmaların etkisini arttıran mikrobiyal çeşitliliğin azalmasıyla ilişkili olduğunu ileri sürmektedir. Anne sütünün içeriği ve bir yenidoğan için doğal prebiyotik - probiyotik kaynağı olmasıyla bağırsak mikrobiyotasının dengelenmesinde yararlı etkilerinin olduğu gösterilmektedir. Prematürelere anne sütünün enteral olarak verilmesinin, bebeklerin NEK riskini azaltarak sağlığını belirgin şekilde artırdığını randomize kontrollü çalışmalar göstermiştir. Destek ve katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Arş. Gör. Esmâ Energin Asil'e teşekkürlerimizi sunarız.

ST03 Beslenme ile İlgili Bağırsak Hastalıkları

Yavuz Emre Aktaşoğlu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

SÖZLÜ BİLDİRİLER GIDA ALANI

SG01 Gıda ve Tıp Alanlarında Genel Algı Değerlendirmesi

Amine Beyza Özata¹, Miray Başçavuş², Nurbanu Keleş¹, Melahat Nurhan Koç¹, Pelin İncekırık¹, Şule Özerhan²

¹ Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

² Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yapılan bu çalışmada birbirinden farklı olan iki disiplinin algılarını ortaya koymak ve algı farklılıklarının nedenlerini irdeleyerek beraber çalışmanın, ortak karar vermenin mümkün olabildiğini göstermek amaçlanmıştır. Çalışmada Ankara Tıp Fakültesi'nden ve Hacettepe Gıda Mühendisliği fakültesinden iki farklı sınıftan olmak üzere randomize seçilen bireyler yüz yüze anket yöntemiyle formdaki soruları cevaplamışlardır. Forma verilen sorular nonparametrik yöntemlerle, excelde çapraz filtreleme yöntemle değerlendirilmiştir. Sorulan soruların cevaplarına göre; gıda mühendisliği fakültesindeki öğrencilerde etiket okuma oranı sınıf arttıkça artmaktayken, tıp fakültesindeki öğrencilerde bu durum tam tersidir. Okunan etiketi anlama ve bu bilgiye güvenme oranı tıp fakülteleri öğrencilerinde sınıf arttıkça azalırken gıda mühendisliği öğrencilerinde zıt bir durum gözlenmiştir. Elde edilen bir diğer veri ise gıda sektöründeki risklere karşı duyulan endişe tıp öğrencilerinde artarken gıda mühendisliği öğrencilerinde azalmaktadır. Gıda sektöründeki potansiyel riskler öğrencilerin fakültesine ve sınıfına göre farklılık göstermektedir. Tıp fakültesi öğrencileri GDO kavramını büyük oranda zararlı bulurken, gıda fakültesi öğrencilerinin yararlı ve zararlı bulma oranları birbirine yakındır. Medyada yapılan gıda hakkındaki açıklamaları takip etme ve onaylama yüzdeleri fakülteye ve sınıflara göre değişiklik göstermektedir. Gıda ve sağlık alanında, öğrencilerin en güvendiği meslek grubunun kendi meslek grubu olduğu saptanmıştır. Bu iki meslek grubunun birlikte çalışmasının yararlı olacağı fikri, gıda mühendisliği öğrencilerinde daha olumlu

karşılanmaktadır. Elde edilen veriler ışığında; tıp fakültesinde etiket okuma alışkanlığının azalması etiketlere olan güvenin azalmasıyla ilgili olabileceği düşünülüyor. Gıda mühendisliği öğrencilerinde ise alınan eğitimin etkisiyle etiket okuma alışkanlığının arttığı düşünülüyor. Tıp fakültesi öğrencilerinde gıdanın potansiyel risklerine karşı duyulan endişenin artması kliniğe geçişin etkili olduğu düşünülüyor. Tıp fakültesi öğrencilerindeki birlikte çalışma isteğinin azalmasına yanlış bilgilendirmeler ve önyargılar neden olmuş olabilir.

SG02 Ticari Olarak Satın Alınan Nar Suyunun Antibakteriyel ve Bazı Antibiyotiklerle Sinerjistik Etkisi

Merve Arı¹, Nurcan Erbil²

¹ Ardahan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

² Ardahan Üniversitesi Sağlık Bilimleri YO Hemşirelik Bölümü

Nar suyu günlük hayatımızda tükettiğimiz bir meyve suyu olup, narın sağlık açısından oldukça faydalı olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada ticari olarak satın alınarak tüketilen nar sularının farklı Gr(+) ve Gr(-) bakteriler üzerinde oluşturduğu antibakteriyel aktivitenin ve antibiyotiklerle beraber kullanıldığında oluşabilecek sinerjistik etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla ticari olarak satın alınan %100 nar suyu kullanılmıştır. Çalışmalarda test bakterisi olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ve *Bacillus megaterium* DSM 32 kullanılmış olup; nar suyu, Ampisilin ve Gentamisin'in ayrı ayrı antibakteriyel aktiviteleri çalışılmıştır. Buna ek olarak antibiyotiklerin günlük hayatta nar suyuyla birlikte tüketildiğinde nasıl bir etki yarattığını görebilmek açısından nar suyu her bir antibiyotikle birlikte de ayrıca test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar neticesinde tek başına Ampisilin'in 7.64-9.23 mm; Gentamisin'in 22.26- 22.98 mm; nar suyunun ise 19.07-20.14 mm arasında zon çapı meydana getirdiği görülmüştür. Bakıldığında tek başına nar suyunun Ampisilin'den daha yüksek oranda antibakteriyel aktivite sergilediği görülmektedir. Nar suyu ve Ampicillin beraber uygulandığında 20.11-21.14 mm arasında, nar

suyu ve Gentamisin birlikte uygulandığında ise 26.36-28.94 mm arasında zon çapı oluşturduğu görülmektedir. Bu sonuçlar nar suyunun Gentamisin ile daha fazla olmak üzere her iki antibiyotik ile sinerjistik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, nar suyunun test bakterilerine karşı oldukça iyi düzeyde antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermektedir. Bu durum, zaten sağlıklı bir besin olduğu bilinen narın patojen bakteriler üzerinde de oldukça etkili olduğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca; nar suyunun antibiyotiklerle beraber kullanıldığında sinerjistik etki yaratması da ayrıca bir öneme sahiptir. Bu çalışma 2209A kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

SG03 Süt Endüstrisinde Homojenizasyon ve UHT Süt Uygulamaları

Didem Dal, Özge Nur Özen

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü

Homojenizasyon, kaymaksız yağlı süt ve süt ürünleri üretiminde kullanılan bir teknolojik işlemdir. Homojenizasyonun temel ilkesi, büyük molekül boyutuna sahip yağ globüllerinin boyutlarını küçültmek ve süt içerisinde emülsiyon halinde bulunan yağ globüllerinin yoğunluk farkı nedeniyle yüzeye çıkması ve bir araya gelerek kümelenmesi yani sütün kaymak bağlaması önlenmektedir. Homojenizasyon işlemi ile geniş yüzey alanına ve yüzey aktivitesine sahip çok sayıda küçük yağ globülleri meydana gelmektedir. Endüstriyel düzeyde homojenizasyon genellikle 60-70 °C'de iki aşamalı olarak gerçekleşmekte ve toplam uygulama basıncı 200-220 kg/cm² düzeyinde yer almaktadır. Homojenizasyon işlemi bütünüyle fiziksel bir uygulamadır ve yağ globül boyutu küçültmenin ötesinde uygulama basıncı ve sıcaklığının temel süt bileşenlerinde tersinmez bir dönüşüm meydana getirmemektedir. İçme sütü ve yoğurt üretiminde yaygın olarak tercih edilen homojenizasyon sütün lezzetinin daha yoğun algılanmasına katkı sağlamakla birlikte süt ürünlerinin raf ömürlerinde kısmen azalmaya neden olmaktadır. UHT (Ultra High Temperature) süt ve ürünlerinin raf ömrünü uzatmak amacıyla uygulanan bir ısıl işlem türüdür. UHT uygulaması 138-140 °C'de 1-4 saniye süre ile

sütün buhara veya buharın süte pülverizasyonu veya plakalı/tubular ısı değiştiriciler aracılığı ile gerçekleşmektedir. Klasik pastörize içme sütlerinde sütlerde (72 °C'de 15 saniyelik ısı işlem ile üretilmektedir) raf ömrü 2-3 gün arasında değişirken, UHT sütlerde bu süre oda sıcaklığında 4 aya kadar çıkmaktadır. Pastörizasyon işlemi ile sütte yer alan vejetatif formdaki mikroorganizmaların tamamına yakını inaktive edilirken sporlar varlığını korumaktadır. UHT uygulaması sonrasında ise vejetatif hücreler ile birlikte sporların da %99'un üzerinde inaktivasyonu sağlanmaktadır. UHT uygulaması sırasında sütün temel proteinleri olan kazeinlerde değişim gözlenmezken serum proteinlerinde denatürasyon meydana gelmektedir. Serum proteini denatürasyonu 65-68 °C'den daha yukarıdaki tüm ısı işlem uygulamalarında görülmektedir. Örneğin; hangi şekilde yapılırsa yapılsın yeterli bir fiziksel stabiliteye sahip yoğurt matriksi elde edebilmek için serum proteinlerinin %90'ın üzerinde denatüre olması zorunludur. UHT işlemi sırasında uygulanan basınç son derece düşük olup süt bileşenlerinde yapısal değişimler meydana getirecek düzeyde değildir.

POSTER BİLDİRİLER SAĞLIK ALANI

PT01 Koenzim Q10'nun Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerine Etkileri

Sevinç Genç

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı

Koenzim Q10, vücutta bütün hücrelerde bulunan, insan vücudunda doğal olarak sentezlenen bir bileşiktir. Koenzim Q 10 adı verilen yüksek enerji turnover'lu organ dokularında (kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi) yüksek miktarlarda saptanmıştır. Yapılan araştırmalar doğrultusunda CoQ10 eksikliği bulunan hastalara oral yoldan CoQ10 verildiğinde klinik açıdan iyileşme sağlandığı bildirilmiştir. Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) dünyada olduğu gibi ülkemizde birinci sırada yer alan ölüm nedeni olmaya devam etmektedir. Bu yüzden, bulaşıcı, maternal, neonatal ve nutrisyonel nedenlerle gerçekleşen ölümlerin toplamından daha yüksektir ve kanser nedeni ölümlerin iki katını oluşturmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların etiyopatogenezine

bakılacak olursa bozulmuş mitokondriyal fonksiyon ve oksidatif stres gibi etmenlerinde rol oynadığı düşünülmektedir. Koenzim Q10, plazmada bulunan diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda olmasına rağmen, plazma oksidatif strese maruz kaldığında ilk tepkimeye giren antioksidandır. Koenzim Q10 aynı zamanda diğer antioksidanların rejenerasyonunda görev alır. Koenzim Q10 güçlü bir antioksidan olup, yapılan deneysel ve klinik çalışmalar ile mitokondriyal ATP sentezinde rol oynadığı ve plazma LDL (Düşük Dansiteli Lipoprotein) seviyesini düşürücü etkisiyle kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı saptanmıştır. Mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda CoQ10'un antioksidan özelliklerinin ve merkezi rolünün, konjestif kalp yetmezliği, kardiyomyopati, koroner arter hastalığı, mitral kapak prolapsusu, koroner kalp yetmezliğine yol açan kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde faydalı olabileceği gösterilmiştir. Bununla ilgili deneysel ve klinik çalışmalar çok fazla olmasına rağmen altında yatan etki mekanizmaları hala netlik kazanmış değildir. Bu derlemenin amacı literatürler eşliğinde Koenzim Q10'nun kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki sonuçlarını değerlendirmektir.

PT02 Probiyotiklerin Egzeme Üzerindeki Etkileri

Senem Yıldız

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı

Yunanca "yaşam için" anlamına gelen probiyotikler, besinler veya supleman şeklinde alındığında intestinal mikrobiyel dengeyi geliştiren yararlı mikroorganizmalardır. Probiyotikler; intestinal pH'nın düşürülmesi, zararlı mikroorganizmaların kolonizasyonunun engellenmesi ve immün sistemin düzenlenmesi gibi mekanizmalarla yararlı etkiler sağlamaktadır. Günümüzde probiyotik olarak en yaygın kullanılan başlıca mikroorganizmalar; *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Streptococcus thermophilus* ve *Saccharomyces boulardii*'dir. Egzema eritem, ödem, kaşıntı, kabuklanma ve iyileşme ile karakterize, kronik ve tekrarlayan inflamatuvar bir hastalık olup, olguların % 30-35'de allerjik hastalıklar ile birlikte görülmektedir. Hayvan

tüpleri, polenler, mite, besinler, alkolü ürünler, besin katkı maddeleri ile karşılaşma, temas ya da alınması ile egzema meydana gelmekte veya semptomlar şiddetlenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda egzemada eliminasyon diyetleri, vitamin ve mineral suplemanları ve probiyotik içerikli besinlerin terapötik ajanlar olabileceğine dair bulgular vardır. Egzema'da IgE düzeyleri normalin 3-4 katından fazladır. Allerjik hastalıklar T helper (Th1/ Th2) sitokinlerin aktivasyonunda oluşan dengesizliklerle ilişkilidir. Probiyotikler ise interferon gama (IFN- γ) gibi Th1 helper sitokinlerin üretimini uyararak Th2 sitokinlerin yanıtını azaltabilir. Lactobacillus salivarius'nin atopik duyarlılığın engellendiği ve erken çocukluk döneminde atopik egzamanın görülme sıklığını azalttığı gözlemlenmiştir. probiyotikler inflamasyon üzerinde olumlu etki sağlamaktadır Probiyotikler bağışıklık sisteminde rol oynayan TLR-2 (toll like receptor-2) geni üzerinde düzenleyici role sahiptir. Ayrıca dentrik hücre aktivasyonu ile Th1 cevabın oluşumuna yol açarak inflamasyon üzerinde olumlu etki sağlamaktadır. Probiyotik türüne ve miktarına göre hastalık üzerindeki etkinliği değişmektedir. Son yıllarda yapılan metaanaliz derlemesinde gebelik sırasında annelerin kullandığı probiyotiklerin bebeklerde egzama insidansını azaltabileceği saptanmıştır. Probiyotik ilaveli formüllerin emzirmenin mümkün olmadığı durumlarda alerjik hastalık gelişme riski yüksek olan bebeklerde egzama önlemede etkili olabileceği gösterilmiştir. Bununla ilgili deneysel ve klinik çalışmalar çok fazla olmasına rağmen altında yatan etki mekanizmaları hala netlik kazanmış değildir. Bu derlemenin amacı literatürler eşliğinde probiyotiklerin egzema üzerindeki sonuçları ve altında yatan etki mekanizmalarını değerlendirmektir.

PT03 Glutensiz Diyet: Sağlıklı Bireyler için Gerekli mi?

Gülnaz Çevik

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Gluten; buğday, arpa, çavdar ve yulafta bulunan bir protein olup çeşitli fizyolojik etkileri sayesinde besinlerin kalitesini arttırmaktadır. Son zamanlarda glutensiz diyetle olan ilgi artmış ve

sağlıklı bireyler arasında glutensiz beslenme salgını başlamıştır. Bu salgında, glutensiz diyetin ağırlık yönetimine katkısının olabileceğinin düşünülmesi rol oynamaktadır. Konu ile ilgili yeterli sayıda bilimsel kanıt olmamakla birlikte, glutensiz diyetle beslenen kişilerde sağlanan ağırlık kaybının nedeni gluten içeren hazır yiyeceklerin aynı zamanda yüksek miktarda yağ ve şeker içermesi ile ilişkilidir. Glutensiz diyetle beslenme, enerji içeriği yüksek bu yiyeceklerin tüketimini engelleyerek enerji alımını azaltmakta dolayısıyla ağırlık kaybı sağlayabilmektedir. Bununla birlikte sağlıklı bireylerin bu tarz beslenmesi bir takım sağlık sorunlarına da neden olabilmektedir. Bu sağlık sorunları arasında, yetersiz posa alımına bağlı olarak konstipasyon, vitamin-mineral yetersizlikleri ve bozulmuş bağırsak mikrobiyotası yer alır. Ayrıca Amerikan Kalp Derneği, glutensiz diyetle beslenen kişilerde Tip 2 diyabet gelişme riskinin arttığını, glutenin Tip 2 diyabet gelişme riskini azaltabileceğini bildirmiştir. Özet olarak, sağlıklı bireylerin glutensiz diyet tüketmelerinin olumlu etki gösterdiği kanıtlanmamıştır. Ayrıca, bu diyeti uzun süre uygulayanlarda çölyak tanısı konulabilmesi güçleşmektedir. Bu nedenle sağlıklı bireylerin glutensiz diyet tüketmeleri teşvik edilmemelidir.

POSTER BİLDİRİLER GIDA ALANI

PG01 Spirulina Biyoması ve Unu İçeren Keklerin Bazı Biyokimyasal Parametreleri

Fatma Aydan Karakelle, Kübra Bozacı
Yalova Üniversitesi Armutlu Meslek Yüksekokulu
Gıda Kalite Kontrol ve Analizi

PG02 Sokak Sütü & Paket Süt

Melisa Yalçın, Feride Saliha Karan
Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü

Süt sağımdan tüketiciye ulaşana kadar mikroorganizmalar için iyi bir üreme ortamıdır. Mikroorganizma yükü artan sütün tüketilmesi ise insan sağlığını çok ciddi boyutlarda tehdit edebilmektedir. Kontrollü ısıl işlemler sütün besin değerini azami ölçüde korurken içerisinde bulunabilecek patojen mikroorganizmaların yok edilmesi amacıyla uygulanmaktadır. Ev koşullarında uygulanan kaynatma işleminin

yetersizliği, sokak sütleriyle paket sütlerin mikrobiyal yük ve besinsel değerlerinin karşılaştırılması, tüketicinin bilinçlendirilmesi ve sağlığa en uygun sütün tüketilmesinin sağlanmasıdır.

Sokak Sütü (kaynatma). Amaç: Sütteki zararlı bileşenleri yok etmek ve besinsel değerlere zarar vermemek. Yöntem: 95-100°C 15-20 dakika. Evde yapılan bu yöntem kontrolsüz bir ısıl işlemdir. Sonuç: Süre uzunluğu, ısının yüksekliği, hava ile temas besin değerinde büyük oranda kayba yol açar. Suda çözünen ve ısıya duyarlı olan vitaminlerde %50-100 azalma görülür. Protein değeri düşer ve süt çok kaynatıldığında sağlık açısından olumsuz yapılar oluşur. Çiğ sütte bulunma riski olan antibiyotik vb. kimyasallar yok edilemezler. Zararlı mikroorganizmalar işlem sonunda hâlâ varlığını sürdürebilir. Raf ömrü 3,4 gün.

Pastörize Süt. Amaç: Çiğ sütteki patojenlerin tamamının öldürülmesi, toplam bakteri sayısında yaklaşık % 95-99.9 oranında inhibasyon sağlanırken sütün doğal, biyolojik ve besleyici değerinin korunması. Yöntem: 72-80°C 12-16 saniye uygulanan kontrollü ısıl işlemdir. Sonuç: Toplam canlı sayısında en az %95 azalma. Proteinden vücudun yararlanma oranı yüksektir. Süt yağının ve laktozun besleyici niteliği üzerinde olumsuz etkisi yoktur. Vitamindeki değişim beslenme açısından önemsizdir. Raf ömrü 1,2 gün.

UHT Süt. Amaç: Çiğ sütün kimyasal, fiziksel ve duyuşal özelliklerinde en az değişikliğe yol açacak şekilde tüm mikroorganizmaları (sporlar dahil) yok etmek. Yöntem: 135-145°C 3 saniye uygulanan kontrollü ısıl işlemdir. Sonuç: Protein kazeine (% 80) hiçbir etkisi yoktur. Serum proteini (%20) ise sudaki çözünürlüğünü kaybeder ve bu da sindirimini kolaylaştırır. Kalsiyum, fosfor ve sodyum biyoyararlanımı üzerinde negatif etkisi yoktur. Raf ömrü canlı sayısı kalmadığından ve aseptik paketlenme yapıldığından aylarca saklanması mümkündür.

Sonuç: Paket sütlerde katkı maddesi kullanılmadığı, uygulanan yöntemlerin kısa süreli ve kontrollü ısıl işlem olduğu ve bunun sayesinde

uzun süre depolanabildiği anlatıldı. Kaynatma işleminin ise besin değerini fazlasıyla düşürdüğü ve mikrobiyel yükü tamamen azaltmadığı görüldü.

PG03 Chia Tohumu ile Zenginleştirilmiş Trabzon Hurmasından Krema Üretimi

Mert Can Yıldız Büşra Seyhan

Kilis 7 Aralık Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi/Gıda Mühendisliği Bölümü

Trabzon hurması, ağacının bakımının kolay olması ve yüksek oranda geliri dolayısıyla, avantajlı bir türdür. İçerdiği çeşitli mineral maddeler, vitaminler (özellikle yüksek oranda A ve C vitaminleri) ve kendine özgü bir tat ve aroması olması sebebiyle tüketici açısından da tercih edilen bir meyvedir. Ayrıca dondurularak veya kurutulularak muhafaza edilebilmesi ve değişik şekillerde işlenerek gıda endüstrisi için çok değerli bir hammadde olabilme niteliklerine sahiptir. Chia son yıllarda "süper gıda" olarak popülerleşen bir tohum çeşididir. Chia tohumunun "süper gıda" olarak anılması içeriğinde yüksek oranda faydalı besin bileşenleri bulunmasından dolayıdır. Chia tohumunda yaklaşık % 40 oranında diyet lifi bulunmaktadır. Chia tohumu vitamin ve minerallerce de zengindir. Sütten 6 kat daha fazla kalsiyum, 11 kat daha fazla fosfor, 4 kat daha fazla potasyum içerir. Son yıllarda insanların kanser, diyabet, kalp hastalıkları gibi ölümcül hastalıklara olan farkındalığı artmış; bu farkındalık fonksiyonel gıdaları tüketmeye yöneltmiştir. Bu çalışmadaki amacımız, Trabzon hurmasına daha farklı bir boyut kazandırmak ve fonksiyonel gıda pazarında yer almasını sağlamak, chia tohumunun viskozite özelliğinden faydalanarak, kahvaltılık ve ara öğünlerde daha sağlıklı ve doğal bir ürün elde etmek üzere chia tohumu ile zenginleştirilmiş Trabzon hurmasının krema üretiminin gerçekleştirilmesidir.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Naciye Kutlu, N., Bicak, C., Ekinci, D., Kilic, E., Erdem, N., Isci, A., Sakiyan, O. *Application of response surface methodology to optimize microwave-assisted extraction of total phenolic compounds from Caucasian whortleberry (Vaccinium arctostaphylos) / Likapadan (Vaccinium arctostaphylos) toplam fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu*.....264-272
- Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B., Çakmak, G. A. *Detection of Listeria spp. in raw milk and dairy products retailed in Ankara / Ankara'da satışı sunulan çiğ süt ve süt ürünlerinde Listeria spp. varlığının belirlenmesi*273-282
- Tahmas Kahyaoğlu, D., Çakmakçı, S. *A comparative study on some properties and oxidation stability during storage of butter produced from different animals' milk / Farklı hayvan sütlerinden üretilen tereyağlarının depolama süresince oksidasyon stabilitesi ve bazı özellikleri üzerine karşılaştırmalı bir araştırma*283-293
- Köse, Ş., Ocak, E. *Antimicrobial and antioxidant properties of sirimo (Allium vineale L.), mendî (Chaerophyllum macropodium boiss.) and siyabo (Ferula rigidula DC.) / Sirimo (Allium vineale L.), mendî (Chaerophyllum macropodium boiss.) ve siyabo (Ferula rigidula DC.)'nun antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri*294-302
- Bozkir, H., Rayman Ergun, A., Taştan, Ö., Baysal, T. *Effect of microwave heating on the yield and quality of red bell pepper puree / Kırmızı biber püresinin verim ve kalitesine mikrodalga ısıtmanın etkisi*303-312

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Sarı, K., Yaman, H., Coşkun, H., Akoğlu, A. *Geleneksel Mengen peynirinin mikrobiyal kalitesi, uçucu bileşen profili, tekstürel ve bazı kimyasal özellikleri / Microbial quality, volatile compounds profile, textural and some chemical properties of traditional Mengen cheese*185-196
- Türker, İ., Koç, B., İşleroğlu, H. *Püskürtmeli dondurarak kurutma işleminin maltodekstrinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi / Effect of spray-freeze drying process on physical properties of maltodextrin*197-210
- Süre, E., Ali Oğuz Büyükkileci, A. O. *Kritik altı su ile fındık atıklarından antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu / Extraction of antioxidant compounds from hazelnut wastes using subcritical water* 211-221
- Yüksel, F., Akdoğan, H. B., Çağlar, S. *Keten tohumu ile zenginleştirilmiş eriştelere fizikokimyasal, duyu, pişme özellikleri ve yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi / Determination of physicochemical, sensory, cooking properties and fatty acid composition of noodles enriched with flaxseed* 222-230
- Yıldırım Çelik, S. *Çiğdem (Crocus biflorus) yumrularından proteaz enziminin saflaştırılması ve saflaştırılan enzimin kazeinin koagülasyonunda kullanılabilirliğinin araştırılması / Purification of protease enzyme from çiğdem (Crocus biflorus) tubers and investigation of usability of the purified protease enzyme in coagulation of casein* 231-239
- Arslan Burnaz, N., Hendek Ertop, M., Şeyda Merve Karataş, Ş. M. *Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ile ekmeğin fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi / Enrichment of phenolic content of bread by using of medicinal and aromatic plants* 240-249
- Uzkuç, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. *Lipaz enzimi ve destek kültür kullanımının keçi peynirinin olgunlaşması üzerine etkileri / Effects of lipase enzyme and adjunct culture on goat cheese ripening* 250-263
- Öztürk, F., Gündüz, H. *İzmir'de satışı sunulan su ürünlerinde koagülaz pozitif Staphylococcus aureus'un insidansı ve antibiyotik direnci / The incidence and antibiotic resistance of coagulase positive Staphylococcus aureus in seafoods marketed in İzmir* 313-320
- Gülcük, M., Dağhoğlu, F. *Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol miktarı ve biyoaktif özelliklerde meydana gelen değişimler / Changes in resveratrol content and bioactive properties during production process of red grape juice* 321-332
- Tabar, B., Baştürk, A. *Farklı bitkisel ekstraktların ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri / Effects of different herbal extracts on oxidative stability of sunflower oil* 333-346
- Özlük Çilak, G., Halkman, A. K. *Çeşitli besiyerlerinin Bacillus cereus sporlanmasındaki etkisi üzerine bir araştırma / A research on the effect of various culture media for sporulation strength of Bacillus cereus*347-355
- Becerikli, F., Başoğlu, F. *Geleneksel ürünlerimizden olan köftürün bazı biyoaktif, fizikokimyasal ve kimyasal özellikleri / Some bioactive, physicochemical and chemical properties of köftür as a traditional food*356-363
- Bildiri Özetleri (Türkçe) / Proceedings (Turkish)**
- Sarı, G., Mehmet Özkök, M. 1. Gıda ve tp öğrenci kongresi; 7 Mayıs 2017364-369