

İçerikten / From the content



Tütün Saplarından Kombine Otohizoliz ve Enzimatik Hidroliz ile Ksiloz Üretimi
Xylose Production By Combined Autohydrolysis and Enzymatic Hydrolysis From Tobacco Stalks



Ultrases Ön İşleminin Havuç Dilimlerinin Kuruma Karakteristikleri Üzerine Etkisi
Effect of Ultrasound Pre-Treatment on Drying Characteristics of Carrot Slices



Yeşil Ceviz Kabuklarının Biyoaktif Özelliklerinin FT-IR Spektroskopi Yöntemiyle Tahmin Edilmesi
Prediction of Bioactive Properties of Walnut Green Husks Using FT-IR Spectroscopy



Soğuk Pres Üzüm Çekirdeği Yağı Atığının Düşük Yağlı Yağ / Su Emülsiyonların Reolojik Özelliklerine Etkisi
Effect of Cold Pressed Grape Seed Oil Waste on Rheological Properties of Oil/Water Emulsions



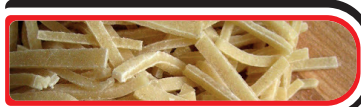
Glütensiz Ekmek Formülasyonlarında Nohut Unu Kullanımının Ekmeğin Kalitesi Üzerine Etkisi
Using Chickpea Flour in Gluten Free Bread Formulation to Effect of Bread Quality



Microbiological Risks Related with Raw Materials in Halva Production and Detection of Microbiological Critical Control Points
Halva Üretiminde Hammade Kaynaklı Mikrobiyolojik Riskler ve Mikrobiyolojik Kritik Kontrol Noktalarının Tespiti

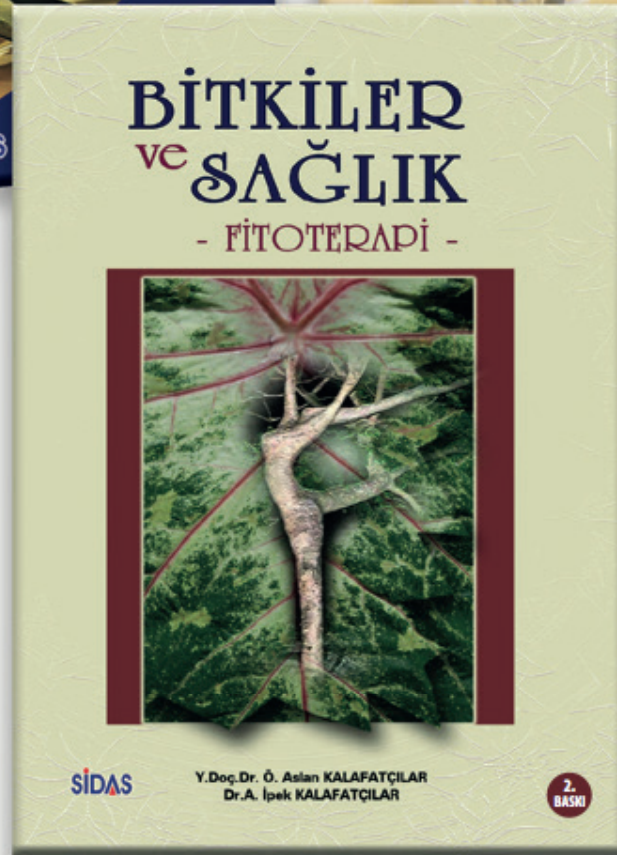


Artvin İlinde Geleneksel Olarak Üretilen Farklı Marmelat Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik Profilleri
Some Physical and Chemical Properties, Antioxidant Activities and Phenolic Profiles of Different Marmalades Traditionally Produced in Artvin, Turkey



İzmir'de Tüketime Sunulan Çeşitli Firmalara Ait Erişte ve Noodle Ürünlerinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Kalite Nitelikleri
Some Chemical and Physical Properties of Egg Pasta (Erişte) and Noodle Samples Sold in Izmir, Turkey

www.gidakitaplari.com



SİDAS MEDYA

Fevzipaşa Bulv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR

Tel: +90 232 441 60 01 (pbx) Fax: +90 0 232 441 61 06

info@akademikgida.com sidasmedya@gmail.com

SİDAS MEDYA

www.academicfoodjournal.com

ISSN Online 2148-015X

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

• Cilt/Volume:16 • Sayı/Number:1 • Yıl/Year:2018

www.akademikgida.com

ACADEMIC FOOD JOURNAL
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

AKADEMİK GIDA®
ACADEMIC FOOD JOURNAL

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

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

Editör / Editor

Oğuz Gürsoy

(Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Özer Kınık (Ege Üniversitesi)

Ramazan Gökçe (Pamukkale Üniversitesi)

Yusuf Yılmaz (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Teknik Editör / Technical Editor

Kübra Kocatürk (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu

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

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

1. Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases
 2. Academic Index
 3. Academic Keys
 4. AgBiotech News and Information
 5. AgBiotechNet
 6. Agricultural Economics Database
 7. Agricultural Engineering Abstracts
 8. Agroforestry Abstracts
 9. Animal Breeding Abstracts
 10. Animal Production Database
 11. Animal Science Database
 12. Biocontrol News and Information
 13. Biofuels Abstracts
 14. Botanical Pesticides
 15. CAB Abstracts
 16. CAB Direct
 17. Cite Factor
 18. Crop Science Database
 19. Dairy Science Abstracts
 20. Directory of Research Journals Indexing (DRJI)
 21. EBSCO
 22. Environmental Impact
 23. Environmental Science Database
 24. Eurasian Scientific Journal Index
 25. Field Crop Abstracts
 26. Food Science and Technology Abstracts (FSTA)
 27. Forest Science Database
 28. Global Health
 29. Google Scholar
 30. Horticultural Science Abstracts
 31. Horticultural Science Database
 32. Impact Factor Services for International Journals (IFSIJ)
 33. International Innovative Journal Impact Factor (IIJIF)
 34. International Institute of Organized Research (I2OR)
 35. İdeal Online
 36. Journal Index Net
 37. Maize Abstracts
 38. Nutrition Abstracts and Reviews Series A: Human and Experimental
 39. Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding
 40. Nutrition and Food Sciences Database
 41. Ornamental Horticulture
 42. Parasitology Database
 43. Plant Breeding Abstracts
 44. Plant Genetic Resources Abstracts
 45. Plant Genetics and Breeding Database
 46. Plant Protection Database
 47. Postharvest Abstracts
 48. Potato Abstracts
 49. Poultry Abstracts
 50. Protozoological Abstracts
 51. Review of Agricultural Entomology
 52. Review of Aromatic and Medicinal Plants (RAMP)
 53. Review of Medical and Veterinary Entomology
 54. Review of Medical and Veterinary Mycology
 55. Review of Plant Pathology
 56. Rice Abstracts
 57. Rural Development Abstracts
 58. Science Library Index
 59. Scientific Indexing Services (SIS)
 60. Seed Abstracts
 61. Soil Science Database
 62. Soils and Fertilizers Abstracts
 63. Soybean Abstracts
 64. Sugar Industry Abstracts
 65. Tropical Diseases Bulletin
 66. The Turkish Academic Network and Information Centre Life Sciences Database (TÜBİTAK-ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veritabanı)
 67. Veterinary Science Database
 68. VetMed Resource
 69. Weed Abstracts
 70. Wheat, Barley and Triticale Abstracts
 71. World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstracts (WAERSA)
-

Akademik Gıda 16 (1) (2018)
İÇİNDEKİLER / CONTENTS

■ Editörden / Editorial

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

Tütün Saplarından Kombine Otohizoliz ve Enzimatik Hidroliz ile Ksiloz Üretimi / Xylose Production By Combined Autohydrolysis and Enzymatic Hydrolysis From Tobacco Stalks / Fatmagül Halıcı Demir, Özlem Akpınar

1-10

Ultrases Ön İşleminin Havuç Dilimlerinin Kuruma Karakteristikleri Üzerine Etkisi / Effect of Ultrasound Pre-Treatment on Drying Characteristics of Carrot Slices / Senem Tüfekçi, Sami Gökhan Özkal

11-19

Yeşil Ceviz Kabuklarının Biyoaktif Özelliklerinin FT-IR Spektroskopi Yöntemiyle Tahmin Edilmesi / Prediction of Bioactive Properties of Walnut Green Husks Using FT-IR Spectroscopy / Pınar Kadiroğlu, Halil Ekici

20-26

Soğuk Pres Üzüm Çekirdeği Yağı Atığının Düşük Yağlı Yağ / Su Emülsiyonların Reolojik Özelliklerine Etkisi / Effect of Cold Pressed Grape Seed Oil Waste on Rheological Properties of Oil / Water Emulsions / Salih Karasu, Bayram Çetin, Ömer Said Toker

27-32

Glütensiz Ekmek Formülasyonlarında Nohut Unu Kullanımının Ekmeğin Kalitesi Üzerine Etkisi / Using Chickpea Flour in Gluten Free Bread Formulation to Effect of Bread Quality / Damla Barışık, Şebnem Tavman

33-41

Microbiological Risks Related with Raw Materials in Halva Production and Detection of Microbiological Critical Control Points / Halva Üretiminde Hammadde Kaynaklı Mikrobiyolojik Riskler ve Mikrobiyolojik Kritik Kontrol Noktalarının Tespiti / Ferid Aydın, Burhan Başaran

42-50

Artvin İlinde Geleneksel Olarak Üretilen Farklı Marmelat Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik Profilleri / Some Physical and Chemical Properties, Antioxidant Activities and Phenolic Profiles of Different Marmalades Traditionally Produced in Artvin, Turkey / Memnune Şengül, Elif Feyza Topdaş, Hanife Doğan, Hüseyin Serencam

51-59

İzmir'de Tüketime Sunulan Çeşitli Firmalara Ait Erişte ve Noodle Ürünlerinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Kalite Nitelikleri / Some Chemical and Physical Properties of Egg Pasta (Erişte) and Noodle Samples Sold in Izmir, Turkey / Kemal Kemahlioğlu, Kemal Demirağ

60-66

■ Derleme Makaleler / Review Papers

Blood Pressure Lowering Effect of Fermented Milk Products / Fermente Süt Ürünlerinin Kan Basıncını Düşürücü Etkisi / Mohamed H. Abd El-Salam, Safinaz El-Shibiny

67-77

Çip-Üstü-Laboratuvar (ÇÜL) Teknolojisinin Gıda Mikrobiyolojisindeki Uygulamaları / Lab-On-A-Chip (LOC) Technology Applications in Food Microbiology / Gamze Düven, Barbaros Çetin, Duygu Kışla

78-87

Gıda Sanayisinde Ultraviyole Işığın Yüzey Uygulamaları / Surface Applications of Ultraviolet Light in Food Industry / Nurcan Koca, Turkuaz Ecem Saatli, Müge Urgan

88-100

Üzümsü Meyvelerdeki Fenolik Bileşiklerin Fermantasyon ile Değişimi / Changes in Phenolic Compounds of Berries during Fermentation / Tarık Çam, Hatice Kalkan Yıldırım

101-108

Fitazlar: Çevreye Etkisi, Beslenme ve Biyoteknolojideki Önemi / Phytases: Their Effects on Environment, Nutritional and Biotechnological Importance / Derya Berikten, Merih Kıvanç

109-119

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors



Sahibi

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

Genel Yayın Yönetmeni

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

Editör

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY
ogursoy@yahoo.com

Yardımcı Editörler

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

Reklam Müdürü

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

Hukuk Danışmanı

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

Abone Sorumlusu

Halil SOLAK

Grafik Tasarım

İrem ŞİMŞEK ÇETİNKAYA

Yönetim Yeri

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 16

Sayı: 79

Ocak - Şubat - Mart 2018

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİME-DYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 16. yayın yılının ilk sayısında sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 8 araştırma ve 5 derleme çalışması olmak üzere toplam 13 makale yer almaktadır.

Dergimiz 2017 yılı birinci sayısından itibaren <http://www.academicfoodjournal.com> adresinin yanı sıra TÜBİTAK ULAKBİM çatısı altında, Türkiye'de yayımlanan akademik dergiler için elektronik ortamda barındırma ve editöryal süreç yönetimi hizmeti sunan DergiPark'ta, <http://dergipark.gov.tr/akademik-gida> adresinde yayımlanmaya başlamıştır. Ancak dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne önümüzdeki yıllarda geçilmesi planlanmaktadır. Dergimizin tüm arşivine DergiPark üzerinden erişiminin sağlanması için gerekli çalışmalar TÜBİTAK ULAKBİM tarafından yapılmakta olup, bu çalışmaların kısa bir süre içerisinde tamamlanması beklenmektedir. Söz konusu çalışmalarla birlikte dergimizde yayımlanan makalelerin ulaşılabilirliğinde de önemli düzeyde artış olması beklenmektedir.

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

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

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

Saygılarımızla.

Prof. Dr. Oğuz Gürsoy
Editör

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

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

4th International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus

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

1st International Food and Medicine Congress

Ankara Üniversitesi ve Hacettepe Üniversitesi işbirliği ile 24-27 Mayıs 2018 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası'nda gerçekleştirilecek olan 1. Uluslararası Gıda ve Tıp Kongresi ile ilgili bilgilere <https://www.internationalfoodandmedicine.org/> adresinden ulaşılabilir.

13th International Conference of Food Physicists

Uluslararası Gıda Fizikçileri Derneği ve Akdeniz Üniversitesi işbirliği ile düzenlenecek olan 13. Gıda Fizikçileri Uluslararası Konferansı 23-25 Ekim 2018 tarihleri arasında Antalya'da gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://icfp2018.org/> adresinden ulaşılabilir.

2nd International Conference on Scientific Actualities and Innovations in Horticulture 2018

Litvanya Ziraat ve Orman Araştırmaları Merkezi Bahçe Bitkileri Enstitüsü (Babtai, Litvanya) tarafından 4-6 Haziran 2018 tarihleri arasında Kaunas'ta düzenlenecek olan sempozyum ile ilgili bilgilere <http://lsdi.lt/saih/> adresinden ulaşılabilir.

3rd International Congress on Food Technology

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

2. International Congress on Food of Animal Origin

Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü tarafından Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde 8-11 Kasım 2018 tarihlerinde Kaya Artemis Otel'de düzenlenecek olan 2. Uluslararası Hayvansal Gıdalar Kongresi ile ilgili bilgilere <http://www.foodanimalcongress2018.com/> adresinden ulaşılabilir.

II. International Joint Science Congress of Materials and Polymers


Kimyagerler Derneği öncülüğünde çok sayıda kuruluşun katkısı ve işbirliği ile ikincisi 9-12 Kasım 2018 tarihleri arasında Arnavutluk'ta düzenlenecek olan kongre ile ilgili bilgilere <http://iscmp.org/> adresinden ulaşılabilir.

Tütün Saplarından Kombine Otohidroliz ve Enzimatik Hidroliz ile Ksiloz Üretimi

Fatmagül Halıcı Demir¹ , Özlem Akpınar²  ¹Trakya Üniversitesi, Arda Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Programı, Gıda Teknolojisi Bölümü, Edirne²Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat

Geliş Tarihi (Received): 27.01.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 15.06.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ozlem.akpinar@gop.edu.tr (Ö. Akpınar)

© 0 356 252 17 29 / 2880-2881  0 356 252 17 29

ÖZ

Tütün sapları, yaprakları alındıktan sonra geride kalan ksilanca zengin, önemli bir ekonomik değeri bulunmayan ancak ksiloz ve ksilitol üretimi için potansiyel bir kaynak oluşturacak bir atıktır. Ksiloz genellikle kimyasal metotlarla üretilir; bu yöntemle asit gibi korozif kimyasalların kullanılması ya da işlem sırasında istenmeyen bileşiklerin oluşması gibi olumsuzluklar görülmektedir. Alternatif olarak, ksiloz enzim hidroliziyle de üretilebilir. Enzimatik hidroliz daha spesifik olduğu gibi, reaksiyon ılımlı koşullarda gerçekleşir ve hidroliz aşamasında istenmeyen bileşikler oluşmaz. Bu çalışmada tütün sapları 160°C'de 1 saatte ekstrakte edilen ksilanca zengin likörden *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile ksiloz üretilmiştir. Hidrolizasyon işlemi cevap yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Optimum substrat ve enzim konsantrasyonu 0.28 g atık/mL KOL ve 228 U/mL olarak bulunmuştur. Optimum koşullar altında yapılan hidrolizasyonunda ise ksiloz %79.8 verimle ve 1.9 g/g seçicilikle üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ksiloz, Ksilanaz, Otohidroliz, Tütün sapı, Optimizasyon

Xylose Production By Combined Autohydrolysis and Enzymatic Hydrolysis From Tobacco Stalks

ABSTRACT

Tobacco stalk remains after the harvest of leaves and is no important economic value but it is rich in xylan that can serve as a potential source for xylose and xylitol production. Generally, xylose is produced by chemical methods, but this method has several disadvantages such as use of corrosive chemicals like acid or the formation of undesired compounds. Alternatively, xylose can be produced by enzyme hydrolysis. Enzymatic hydrolysis is more specific and the reaction takes place at mild conditions and does not produce undesirable compounds. In this study, xylan rich liquors, extracted at 160°C for 1 h from tobacco stalks, were used to produce xylose with *Trichoderma longibrachiatum* xylanase. The optimum substrate concentrations and enzyme activity were 0.28 g waste/mL CAL and 228 U/mL, respectively. Under the optimum condition, xylose yield and selectivity were 79.8% and 1.9 g/g, respectively.

Keywords: Xylose, Xylanase, Autohydrolysis, Tobacco stalk, Optimization

GİRİŞ

Tütün (*Nicotiana sp.*), dünyanın birçok bölgesinde ve Türkiye'nin Ege ve Karadeniz Bölgesinde yetiştirilen

önemli bir endüstriyel bitkidir. Üretime bağlı olarak, yaprakları alındıktan sonra Türkiye'de yıllık 300 000 tondan fazla tütün sapı oluşmaktadır [1, 2]. Oluşan tütün sapları, diğer tarımsal atıklar gibi ya yakılmakta ya da

tarlada çürümeye bırakılmaktadır. Her iki ortadan kaldırma yönteminin de, çevre ve ekosistem için zararı bulunmaktadır. Atıkların yaygın olarak başka bir kullanım şekli hayvan yemi olsa da; bu kullanımın önemli bir ekonomik değeri yoktur. Günümüzde artan çevresel kaygılar, araştırmacıların bu tip tarımsal atıkların gıda ve gıda dışı amaçlar için kullanılarak değerlendirilmesi üzerinde durmasına sebep olmuştur. Bu materyallerin yüksek değerli ürünlere dönüştürülmesiyle, bu atıklar hem doğaya zarar vermeden ortadan kaldırılmış olmasını sağlayacak, hem de kırsal kesimde çiftçiye yeni iş imkanı sunarak çiftçinin ek gelir elde etmesine yardımcı olacaktır [2-9]. Ksilan açısından zengin olan lignoselülozik materyaller, özellikle ksilitol, etanol, 2,3 dibütanol, laktik asit, gibi ürünlerin üretimi için önemli bir ksiloz kaynağıdır [6, 10].

Daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda tütün saplarının ksiloz ve doğal bir tatlandırıcı olan ksilitol üretimi için potansiyel bir kaynak olarak kullanılabilmesi görülmüştür [6,7]; ancak söz konusu çalışmalarda; ksiloz, atıklardan seyreltik asit hidrolizi ile üretilmiştir. Asit hidrolizi özellikle fermantasyon sürecinde mayalar için olumsuz etkisi olan furfural gibi ürünlerin fazla oluşmasına neden olmaktadır, dolayısıyla oluşan hidrolizatın doğrudan fermantasyon amacıyla kullanılması uygun değildir. Ayrıca, fermantasyondan önce, hidrolizatın nötralize edilmesi gerekmekte ve bu işlem fazla miktarda alkali gerektirdiği gibi önemli miktarlarda ve fermantasyondan önce uzaklaştırılması gereken nötralizasyon ürünleri oluşturmaktadır. Tüm bu işlemler düşünüldüğünde pahalı bir ürün olan ksilitol üretim maliyetleri daha da artmaktadır [7-9].

Ksiloz asit hidroliziyle üretildiği gibi enzim hidroliziyle de üretilebilir. Enzimatik hidrolizin, daha spesifik olması ve reaksiyonun ılımlı koşullarda gerçekleşmesinden dolayı, son yıllarda daha dikkat çekmektedir. Fazla enerji gerektirmediği gibi, hidrolizasyon amacıyla asit gibi korozif kimyasallara da ihtiyaç duyulmamakta, ayrıca hidrolizasyon sonunda atıklar veya yan ürünlerde oluşturmamaktadır [4,11].

Lignoselülozik biyoküttele ksilan genellikle ksilan-lignin kompleksi şeklinde bulunduğundan hidrolizasyona karşı dirençlidir; bu nedenle ilk önce ksilanın lignoselülozik biyokütleden izole edilmesi ve bunu takiben ksilanın enzimatik hidrolizinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir [11-13]. Ksilan kimyasal olarak izole edildiği gibi (alkali ekstraksiyon), alternatif olarak hidrotermal olarak da izole edilebilir. Otohizoliz olarak da bilinen yöntemde, biyokütle yüksek sıcaklıklarda (130°C–230°C) su eşliğinde muamele edilmekte, bu esnada suyun otoiyonizasyonu ve ksilan deasetilasyonu (asetik asit üretimi ile ortamdaki hidronyum iyonunun artmasına), ksilanı kısmen parçalayarak çözünür hale geçirmekte ve biyokütleden ayrılmasını sağlamaktadır [14]. Otohizoliz yöntemi ile ksilan hidrolizinde geniş polimerizasyon derecesi aralığında ksilan, ksilan parçalanma ürünleri (ksilooligosakkaritler) ve molekül ağırlığı çok küçük moleküller (monosakkarit) oluşmaktadır [5]. Üretilen ksilan parçalanma ürünlerinin polimerizasyon dereceleri oldukça büyük olduğundan (polimerizasyon derecesi>10); ksilanın yüksek sıcaklıklarda

suyla/buharla ekstraksiyonu ya da otohizoliz yöntemi olarak da bilinir [13, 15].

Literatürde enzimatik hidrolizle bazı atıklardan ksiloz üretimi ile ilgili çalışmalar mevcuttur; fakat tütün saplarından enzimatik olarak ksiloz üretimi ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada tütün saplarından önce ksilan, sıcak su (otohizoliz) yöntemi ile ekstrakte edilmiş ve oluşan ürünler karakterize edildikten sonra konsantre edilen hidrolizat, ksiloz üretim amacıyla *Trichoderma longibrachiatum*'dan elde edilen ksilanazlarla hidrolize edilmiştir. Enzimatik hidrolizasyon koşulları, substrat miktarı ve enzim aktivitesi bakımından optimize edilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Araştırmalarda kullanılacak tütün sapları, Tokat ili ve bağlı yerleşim birimlerinden temin edilerek, işlem öncesi kurutulmuş ve boyutları 0.2-1 cm'ye kadar küçültülmüştür. Endoksilanaz kökeni *Trichoderma longibrachiatum* Danisco (Finlandiya) dan temin edilmiştir. Diğer kullanılan bütün kimyasallar Sigma (Sigma Chemical Company, MO, ABD), Merk (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ya da Alfa Aesar (Alfa Aesar GmbH & Cı KG, Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Aminex HPX87H kolonu Biorad'dan (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, ABD) alınmıştır.

Yöntem

Otohizoliz

Atıklar tamamı 8:1 (g su/g atık) oranında distile su ile karıştırılmış, 160°C'de yüksek basınç (PARR, ABD) reaktöründe 60 dakika hidrolize edilmiştir. Hidrolizasyon işlemi sonucunda elde edilen materyal, filtre edilmiş ve 3 defa her seferinde 6:1 (g su/g atık) oranında su ile yıkanmış ve yıkama suları ve filtrat birleştirildikten sonra, oluşan ksiloz miktarı HPLC'de belirlenmiştir. Daha sonra, hidrolizattan 10 mL alınarak, %4 H₂SO₄ ile 100°C'de 3 saat hidrolize edildikten sonra ksiloz miktarındaki artış hesaplanarak, ekstrakte edilen ksilan miktarı bulunmuştur [16]. Hazırlanan hidrolizat evaporatörde (<50°C'de) konsantre edilmiş ve elde edilen konsantrat, ksiloz üretim için kullanılmıştır.

Analitik Yöntem

Hidrolizasyon sonucu elde edilen katı kısmın lignin, ksilan, nem, kül ve selüloz içeriği kimyasal olarak karakterize edilmiş ve miktarları hesaplanılmıştır. Nem ve kül gravimetrik olarak, lignin miktarı ise; atıkların iki aşamalı sülfürik asit hidrolizasyonuna (%72 H₂SO₄ ve %4 H₂SO₄) tabi tutulmasından sonra gravimetrik olarak belirlenmiştir [17]. Filtratın absorbansı 205 nm'de (absorptivite katsayısı, 110 l/g-cm) spektrofotometrede (Perkin Elmer UV/Vis spectrometer, Lambda EZ 201) ölçülerek asitte çözünür lignin bulunmuştur. İki aşamalı hidrolizasyon işlemi sonucu elde edilen hidrolizat, HPLC'de aşağıda belirtilen yöntem ile analiz edilerek atıkların polisakkarit kompozisyonu bulunmuştur [18].

Üronik asit içeriği m-fenilfenol metodu ile D-glukoronik asit standardı kullanılarak hesaplanmıştır [19]. Furfural miktarı, AOAC Official Method 960,16'ya göre furfural standardı kullanılarak belirlenmiştir. Hidrolizasyon ve konsantrasyon sonunda elde edilen örnekler 1:1 oranında etil alkol ile karıştırılarak spektrofotometrede 277 nm'de okunmuştur [20].

Enzimatik Hidrolizasyon

Kullanılan ezimlerin protein içeriği Bradford metodu ile bovin serum albumun standardı kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir [21]. Ksilanaz aktivitesini belirlemek amacıyla farklı dilusyonlarda hazırlanan enzim çözeltisi (0.1 mL) ticari bir ksilan olan huş ağacı (Birchwood xylan) (%1 konsantrasyonda 1 mL) ile pH 4.6'da 50°C'de 30 dakika inkübe edilmiş ve oluşan indirgen şeker miktarı DNS yöntemi ile belirlenmiştir. Bir ünite (U) enzim aktivitesi 1 dakikada 1 µmol ksiloz eşdeğeri üreten enzim miktarı olarak tanımlanmıştır [22].

Otohidroliz sonucu elde edilen likör, öncelikle enzim hidrolizasyonu için uygun pH'ya (pH 4.6) ayarlamıştır. Farklı konsantrasyonlarda 10 mL otohidroliz likörlerine, farklı aktivitelere 1 mL *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı eklenip 50°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu hidrolizasyon süresi boyunca belli zamanlarda örnekler alınmış ve 5 dakika kaynatılarak enzim inaktive edilmiştir. Hidrolizasyon reaksiyonunun sonucu Dinitrosalisilik asit (DNS) metodu ile indirgen şeker ölçülerek bulunmuştur. Reaksiyon kantitatif olarak HPLC ile analiz edilerek bulunmuştur.

Hidrolizasyonla elde edilen ksiloz, glukoz, arabinoz ve asetik asit miktarları refraktometrik dedektöre (Perkin Elmer Model 200) ve kolon fırınına (Perkin Elmer) sahip Perkin Elmer yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) sisteminde analiz edilmiştir. Kolon olarak Aminex HPX87H (Biorad) kullanılmıştır. Örnekler enjeksiyon öncesi 0.20 µm boyutlu filtreden geçirilerek, hareketli faz olarak 5 mM H₂SO₄ kullanılmıştır ve 45°C'de ve 0.5

mL/dk akış hızı ile 45 dakikalık bir süre zarfında kolondan elüt edilmiştir [23].

Deneysel Tasarım ve Tepki Yüzey Metodu (RSM) ile Hidrolizasyon Koşullarının Optimizasyonu

Hidrolizasyon koşulları substrat ve enzim konsantrasyonu bakımından optimize edilmiştir (Tablo 1). Optimizasyon ile ilgili detaylar aşağıda çıkarılmıştır.

- *Optimizasyon için kullanılan yöntem:* RSM (response surface methodology) (tepki yüzey yöntemi)
- *Kullanılan program:* Design Expert istatistiksel bilgisayar programı
- *Bağımsız değişkenler:* Enzim aktivitesi ve substrat konsantrasyonu doğrudan ksiloz üretimini etkilediğinden bağımsız değişkenler olarak kullanılmıştır. Substrat konsantrasyonu 1 mL konsantre otohidroliz likörü elde etmek için kullanılan atık miktarı olarak (g atık/mL KOL) ifade edilmiştir. Enzim konsantrasyonu ise hidrolizasyon için kullanılan 1 mL de bulunan ünite cinsinden enzim aktivitesi (U/mL) olarak ifade edilmiştir.
- *Bağımlı değişkenler:* Ksiloz verimi (100x Ksi/Ksi_{max}) ve seçicilik (ksiloz/glukoz) ise bağımlı değişkenler olarak alınmıştır. Ksiloz verimi, enzimatik hidrolizasyon sonucu elde edilen ksiloz miktarı enzimatik hidrolizasyon için kullanılan substratta bulunan maksimum ksiloz miktarına (substratın %4 H₂SO₄ ile 100°C'de 3 saat süresince hidroliz edilmesi ile hesaplanan ksiloz miktarı) oranı olarak hesaplanmıştır. Seçicilik ise hidrolizasyon sonucunda hidrolizatta bulunan ksilozun yine hidrolizatta bulunan glukoz miktarına oranı olarak hesaplanmıştır.

Ksiloz verimi ve seçiciliğin yüksek olduğu koşullar optimum hidrolizasyon koşulları olarak seçilmiştir. Optimum koşullar için seçilen model aşağıdaki eşitlikle (Eşitlik 1) açıklanmıştır:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2 \quad (\text{Eş. 1})$$

Eşitlik 1'de Y bağımlı değişkenleri (ksiloz verimi ve hidrolizasyon koşullarının seçiciliği) b₀ sabit, b₁ ve b₂ lineer terimleri, b₁₁ ve b₂₂ kuadratik terimleri ve X₁ ve X₂ bağımsız değişkenleri temsil etmektedir.

Design Expert v. 7 (Stat-Ease Inc., Minneapolis) programı elde edilen dataların regresyon ve grafiksel analizi için kullanılmıştır. Fischer's testi model eşitliğini elde etmek için Student's t-testi, regresyon katsayılarının istatistiksel önemini bulmak için kullanılmıştır.

Tablo 1. Otohidroliz likörünün enzimle hidrolizasyonunda denenen bağımsız değişkenlerin değerleri

Bağımsız Değişkenler	Sembol	-α	-1	0	+1	+α
Substrat Miktarı (g atık/L likör)	X ₁	0.04	0.1	0.25	0.4	0.46
Enzim (U/mL)	X ₂	22.74	60	150	240	277.26

BULGULAR ve TARTIŞMA

Tütün Sapı Otohıdrolizi

Tarımsal atıkların kimyasal kompozisyonları; yetiştirildikleri bölgeye, mevsime, hasat zamanı ve şekline bağlı olarak değişiklik gösterir. Tütün saplarının bileşiminde, glukoz (selüloz) %33 oranı ile ilk sırada bulunmaktadır. Bunu hemiselülozun ana bileşeni olan ksilan (%21), klason lignin (%23) ve diğer bileşenler (üronik asit, kül, asetil gruplar, protein ve asitte çözünür lignin) takip etmektedir [6]. Ksilan oranının yüksek olması, tütün saplarını ksiloz üretimi için ideal bir substrat haline getirmektedir.

Lignoselülozik materyallere sulu ortamda, belli bir süre sıcaklık uygulandığında, suyun otoiyonizasyonundan ve hammaddede bulunan asidik türlerin iyonizasyonundan meydana gelen hidronyum iyonları, hemiselüloz bileşiklerini parçalayarak; ksilan parçalanma ürünleri, monosakkaritler, serbest ve bağlı asetik asitler, diğer şeker oligomerleri, üronik asit oligomerleri, furfural ve diğer bileşenleri oluşturur [24, 25]. Daha önceki çalışmalarda, otohıdroliz işleminin yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmesiyle enzimatik hidrolizi olumsuz yönde etkileyebilen toksik bileşikler (furfural, lignin parçalanma ürünleri) oluşturduğundan, toksik bileşiklerin oluşumunu azaltmak için, otohıdroliz yöntemi ile ksilan üretilirken reaksiyon sıcaklığı 160°C olarak seçilmiştir [15, 26]. Toplam 100 g tütün sapının 160°C'de 1 saat otohıdrolizasyonu sonucu, 42 g çözünmüş substrat elde edilmiştir. Otohıdroliz likörü çoğunluğu ksilooligosakkaritler olmak üzere çeşitli sellüloz ya da heteropolimer olan hemiselülozdanın hidrolizasyonun kaynaklanan monosakkaritler ve asetik asitten oluşmuştur. Ortaya çıkan likör konsantre edilmiş ve bileşimi Tablo 2'de sunulmuştur. Konsantre otohıdroliz liköründe (KOL) 15.17 mg/mL ksilooligomerin yanında, arabinooligomerler ve asetil grubu bağlı oligomerler ve selülozun parçalanma ürünlerinde ileri gelen glukooligomerler bulunmaktadır. Furfural gibi şekerlerin dehidrasyon ürünleri, asit hidrolizle üretime göre düşük seviyede kalmıştır [6].

Tablo 2. Tütün otohıdroliz sonucu elde edilen likörün konsantre edildikten sonra bileşimi

Bileşenler	İçerik (g/L)
Glukoz	10.00±0.75
Ksiloz	13.28±0.74
Arabinoz miktarı	0.94±0.09
Asetik asit	1.68±0.26
Glukooligomer	3.43±0.53
Ksilooligomer	15.17±0.94
Arabinooligomer	1.70±0.00
Bağlı asetil	2.05±0.00
Furfural	0.77±0.09
Üronik asit	0.02±0.00

Otohıdroliz işleminin ardından ksilan ve ksilan parçalanma ürünleri açısından zengin likör alındıktan sonra arta kalan lignince zengin katı kısım elde edilmiş ve kompozisyonu Tablo 3'te verilmiştir. Lignin ön işlemlere karşı stabil olduğundan, ligninin parçalanıp

liköre geçmediği ve işlem sonunda kalan yapının çoğunluğunun lignin ve selülozundan oluşturduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Önışlem görmüş hammaddenin kompozisyonu

Bileşenler	İçerik (g/100 g önışlem görmüş tütün sapı)
Glukoz	41.44±2.21
Ksilan	15.90±0.74
Arabinan	0
Asetil grupları	1.40±0.02
Üronik asit	5.32±0.80
Klason lignin	29.08±0.16
Asitte çözünür lignin	2.41±0.27
Kül	3.25±0.05
Diğerleri	1.2

Enzimatik Hidroliz

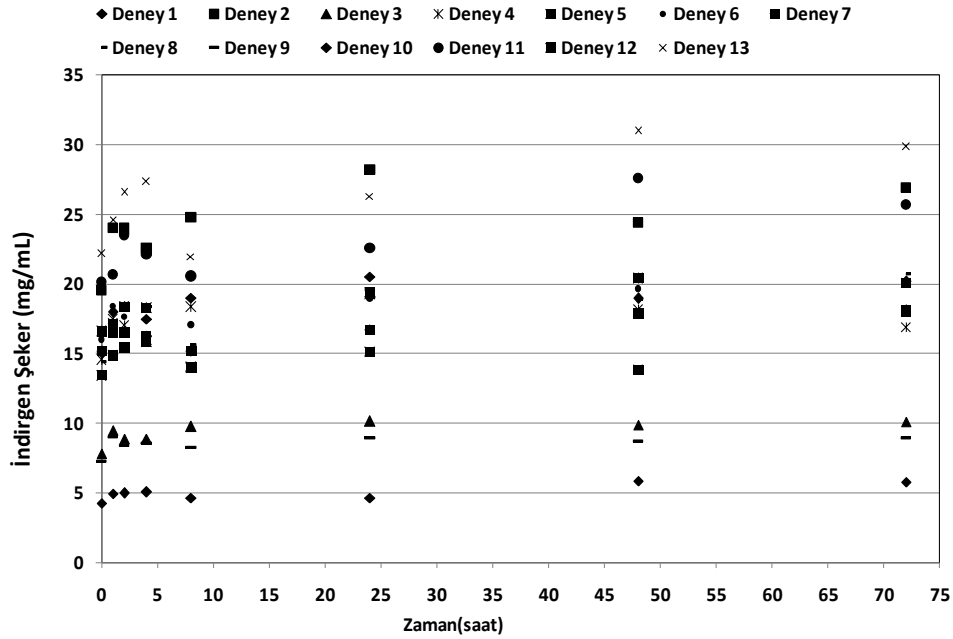
Maksimum oranda ksiloz elde etmek için, tütün sapı KOL'ünün ya asit ya da enzim gibi hidrolitik bir ajanla muamele edilmesi gerekir. Otohıdroliz işlemi hemiselülozu oligomerler halinde çözünür forma geçirdiğinden dolayı, tütün sapı KOL'ü ksilazlarla ksiloz üretimi için ideal bir substrattır. Elde edilen bu substrat *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile pH 4.6'da 50°C sıcaklıkta 72 saat hidrolizasyona tabi tutulmuştur. Bu çalışmada, son ürün olarak ksiloz açığa çıkardığından dolayı GH 10 ailesine ait *Trichoderma longibrachiatum*'dan elde edilen ksilanaz kullanılmıştır. GH 11 ksilanazları son ürün olarak ksilobiyoz ve ksilotrioz açığa çıkarır iken, GH 10 ailesi ksilanazları son ürün olarak ksiloz açığa çıkartmaktadır [27, 28].

Yüksek konsantrasyonda substrat kullanımının, safsızlıklar bakımından zengin olması ve/veya reaksiyon karışımının artan viskozitesi ve yoğunluğu nedeniyle verimi düşürme olasılıkları olması, bununla beraber yüksek oranda enzim kullanımının da maliyetleri artırmasından dolayı; ideal substrat ve enzim konsantrasyonunu bulmak için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda tütün KOL'ü, farklı oranlarda *T. longibrachiatum* ksilanazı ile muamele edilmiştir. Optimizasyonda kullanılan deneysel tasarım ile enzim aktiviteleri ve substrat konsantrasyonları Tablo 1'de verilmiştir.

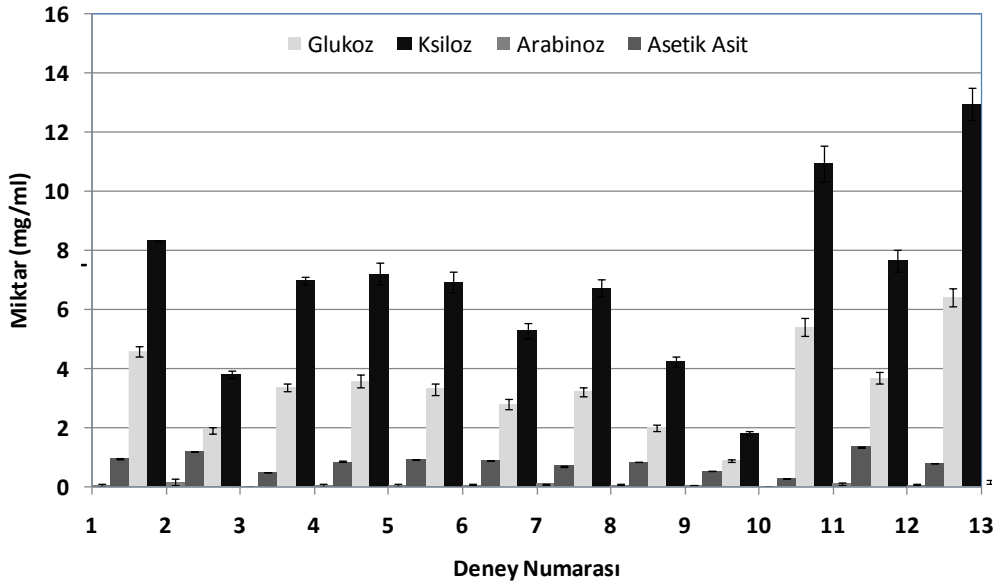
Tütün sapı konsantre otohıdroliz likörlerinden hazırlanmış deneme planına (Tablo 1) göre, *T. longibrachiatum* ksilanazları ile hidrolizasyonu sırasında farklı zaman aralıklarında alınan örneklerde, bulunan indirgen şeker miktarları Şekil 1'de gösterilmiştir. Hidrolizasyon grafiklerinden de görüldüğü gibi, enzimin hidrolizasyon hızı 24. saate kadar hızla ilerlemiş daha sonra yavaşlamış ya da azalmaya başlamıştır. Enzim hidrolizinin 24. saaten sonra yavaşlamasının ya da azalmasının nedeni ise; bulunan substrat miktarın tükenmiş olması veya enzimlerin belli süre sonra aktivitelerini yitirmiş olması veya substratla ürünlerin yarışmalı inhibisyona girerek substratların bağlanmasını engellemesi veya ortamda bulunan başka bileşiklerin hidrolizi engellemesi veya substrat miktarının tükenmiş olması olarak yorumlanmıştır [5, 29]. Bu nedenle 24 saatlik reaksiyon süresinin daha uygun olduğuna karar

verilmiştir. Ayrıca substrat miktarının çok fazla olmasının üretilen indirgen şeker miktarında 24. saatte çok yüksek olacağı anlamına gelmediği, substrat miktarının enzim miktarı ile süresinde birlikte düşünülmesi gerektiği görülmüştür. Tütün sapı KOL'unun *T. longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizinde ise indirgen şeker miktarı en yüksek 31.0 mg/mL ile 13. deneyde (0.34 g atık/mL substrat konsantrasyonu ve 150 U/mL enzim aktivitesi), en düşük indirgen şeker ise deney 10 (0.059 g atık/mL substrat konsantrasyonu ve 150 U/mL enzim aktivitesi) da ölçülmüştür.

Tütün sapı KOL'lerinin farklı enzim ve substrat konsantrasyonlarında *T. longibrachiatum* ksilanazı 24. saatlerdeki hidroliz ürünleri (glukoz, ksiloz, arabinoz, asetik asit) Şekil 2'de sunulmuştur. 24. saatlik hidrolizasyon süresi sonunda ise 12.9 mg/mL ksiloz, 6.4 mg/mL glukoz, 1.6 mg/mL asetik asit, 0.2 mg/mL arabinoz miktarıyla en fazla parçalanma ürünü deney 13'de tespit edilmiştir.



Şekil 1. Tütün sapı konsantre otohizoliz likörü deneme planının *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu



Şekil 2. Tütün sapı konsantre otohizoliz likörünün *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu

İstatistiksel Modelleme

Bağımsız değişkenler X1 substrat (g atık/L likör), X2 enzim (U/mL) bağımsız değişkenler ve deneysel veri aralığı Materyal ve Yöntem bölümünde Tablo 1'de

verilmiştir. Bağımlı değişken Y1 ksiloz verimi (%) ve Y2 hidrolizasyon koşullarının seçiciliği (g/g) Tablo 4'de verilmiştir. Ksiloz üretiminde verim ve seçiciliğin yüksek olması istenmektedir. Otohizoliz liköründe bulunan ksilanın ksiloza dönüştürülmesi oranı, ksiloz verimini

ifade ederken; seçicilik ise hidrolizasyon koşullarının (otohidroliz+enzimatik hidroliz) ksilanı ksiloza dönüştürme yeteneğidir. Verim ve seçiciliğin yüksek olması, ksilan dışındaki diğer bileşiklerin parçalanma oranının düşük, ksilanın ise etkili bir şekilde parçalanarak maksimum düzeyde ksiloz oluşturma yeteneğini ifade etmektedir.

Tütün sapı KOL'ünün deneysel tasarımı ve *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu sonucu elde edilen değerler Tablo 4'de gösterilmiştir. Ksiloz verimi en yüksek deney 12'de (substrat miktarı 0.20 g atık/mL KOL, 150 U/mL enzim aktivitesi) %69.76 olarak, seçicilikte 2.10 g/g ile en yüksek deney 6'da (substrat

miktarı 0.20 g atık/mL KOL, 150 U/mL enzim aktivitesi) bulunmuştur. Tablo 4 incelendiğinde, substrat miktarının tek başına yüksek olmasının (deney 2'de) (substrat miktarı 0.30 g atık/mL KOL, 60 U/mL enzim aktivitesi) ksiloz verimini ve seçiciliğini (%50.58, seçicilik 1.82 g/g) artırmada yeterli olmadığı gözlenmiştir. Enzimatik hidroliz öncesinde tütün sapı KOL'ünde glukoz (10.00 g/L) ve gluklan (3.43 g/L) oranının yüksek olması (Tablo 2) seçicilik değerini düşürmüştür.

Kodlanmış değişkenlere göre kuadratik model eşitlik 2 ve 3'de gösterilmiştir. Y1 ksiloz verimi, Y2 hidrolizasyon koşulları, substrat miktarı (X1) ve enzim (X2) fonksiyonu olarak verilmiştir.

$$Y_1 = 66.2 - 1.3X_1 + 6.2X_2 + 0.9X_1^2 - 5.0X_2^2 + 1.7X_1X_2 \quad \text{Eş.2}$$

$$Y_2 = 2.1 - 0.02X_1 + 0.04X_2 - 0.03X_1^2 - 0.07X_2^2 + 0.06X_1X_2 \quad \text{Eş.3}$$

Tütün KOL'ünün *T. longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu sonucu elde edilen ksiloz verimi ve seçicilik ANOVA ile değerlendirilerek; Tablo 5'de sunulmuştur. Ksiloz verimi ve seçicilik regresyon

katsayıları 0.90 ve 0.92 olarak bulunmuştur ve her iki model de uyum eksikliği göstermemiş ve regresyon %95 güven aralığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Tablo 4. Deneysel tasarım ve tütün sapı konsantrasyonunda otophidroliz likörünün *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu sonucu elde edilen değerler

Deney	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	X ₁ (g atık/mL KOL)	X ₂ (U/mL)	Y ₁ (%)	Y ₂ (g/g)
1	0.20	150	68.47	2.04
2	0.30	60	50.58	1.82
3	0.10	240	69.09	1.98
4	0.20	150	63.53	2.07
5	0.20	277.26	65.61	2.01
6	0.20	150	63.07	2.10
7	0.20	22.74	48.21	1.89
8	0.20	150	66.36	2.09
9	0.10	60	60.13	2.02
10	0.06	150	67.97	2.02
11	0.30	240	66.31	2.02
12	0.20	150	69.76	2.08
13	0.34	150	69.22	2.02

X₁: Substrat (g atık/mL KOL); X₂: Enzim (U/mL); Y₁ (ksiloz verimi)= 100 x (Ksi/Ksi_{max}); Y₂ (seçicilik) = Ksi/Glu, Ksi= hidrolizasyon sonucu elde edilen ksiloz miktarı Ksi_{max}= Kullanılan substratta bulunan maksimum ksiloz miktarı (substratın %4 H₂SO₄ ile 100°C'de 3 saat süresince hidroliz edilmesi ile hesaplanan ksiloz miktarı), Glu = hidrolizasyon sonucu elde edilen glukoz miktarı

Optimizasyon

Optimum substrat ve enzim konsantrasyonu yanıtların kontur eğrilerinin üst üste yerleştirilmesi ile elde edilmiştir (Şekil 4). Ksiloz veriminin %50'den fazla, seçiciliğin 2 g/g (ksiloz/glukoz)'dan fazla olması için program tarafından önerilen veriler arasından, optimum substrat konsantrasyonu olarak 0.28 g atık/mL KOL ve enzim aktivitesi olarak da 228 U/mL seçilmiştir. Seçilen optimum koşullarda (substrat konsantrasyonu ve enzim aktivitesinde) üç tekerrürlü halde yapılan hidrolizasyon sırasında üretilen ksiloz, glukoz, asetik asit, arabinoz miktarları ile ksiloz verimi ve ksiloz/glukoz oranının (seçicilik) zamana göre değişimi Şekil 5'de gösterilmiştir. Arabinoz miktarı en yüksek 8. saatte 0.6 mg/mL, asetik asit miktarı en yüksek 72. saatte 1.5 mg/mL olarak bulunmuştur (Şekil 5A). 24. saatte ksiloz veriminin ve seçiciliğin çok fazla değişmediği görülmüştür.

Hidrolizasyon süresini uzatmanın maliyeti artıracığı için, 24 saatlik hidrolizasyonun yeterli olduğuna karar verilmiştir (Şekil 5B). Tütün saplarının otophidrolizi takiben enzimatik hidrolizi ile; elde edilen ksiloz verimi %79.8, seçicilik ise 1.9 g/g'dır. Tütün sapı KOL'ünde bulunan ksilooligomer/ksilan etkili bir şekilde ksiloza dönüştürülmüştür. Seçicilik değeri çok yüksek değerlere çıkamamıştır, bunun nedeni ise otophidroliz esnasında kullanılan sıcaklık ve süre ile sellülozun kısmen hidrolize olmasıdır. Optimizasyon için kullanılan istatistik programı (Design Expert) tarafından önerilen optimum hidroliz koşullarında yapılan deneylerden bulunan ksiloz verimi ve hidrolizasyon koşullarının seçiciliğinin, program tarafından tahmin edilen veriler (Şekil 4) ile karşılaştırıldığında, ksiloz verimi tahmin edilen verilerden daha yüksek bulunurken, seçicilik değerlerinin ise tahmin edilen verilerden çok da farklı olmadığı bulunmuştur.

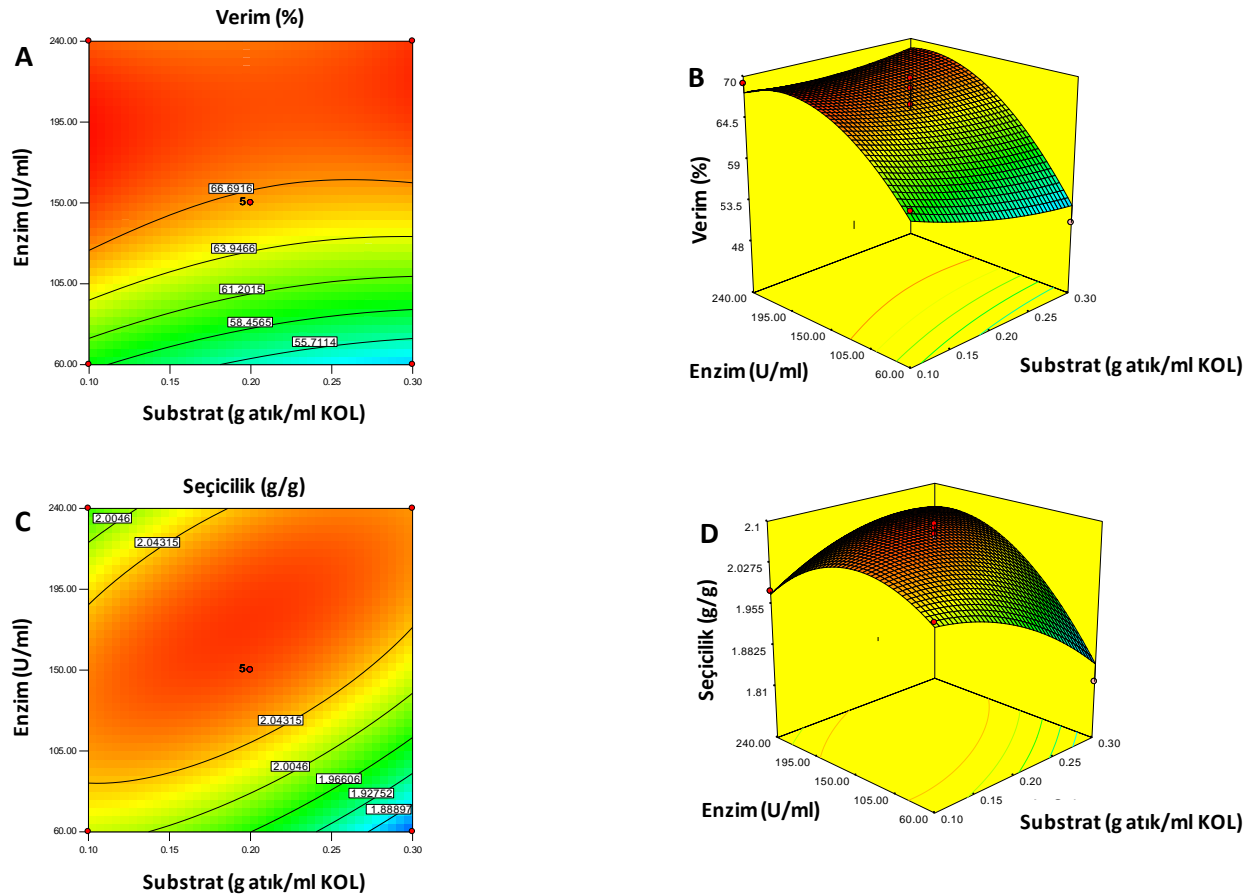
Tablo 5. Konsantre tütün saplarının *T. longibrachiatum* ksilanazı ile ksiloza hidrolizasyonu sonucu elde edilen ksiloz verimi ve seçicilik için ANOVA Tablosu

Kaynak	Kareler toplamı		Serbestlik derecesi		Karelerin ortalaması		F-değeri		P-değeri	
	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂
Model	517.43	0.068	5	5	103.49	0.014	11.57	15.26	0.0028	0.0012
Residual	62.63	0.0063	7	7	8.95	0.00089				
Uyum eksikliği	27.87	0.0047	3	3	9.29	0.0017	1.07	3.95	0.4561	0.1090
Saf hata	34.77	0.0016	4	4	8.69	0.00040				
Toplam	580.06	0.075	12	12						
R ²	0.90	0.92								

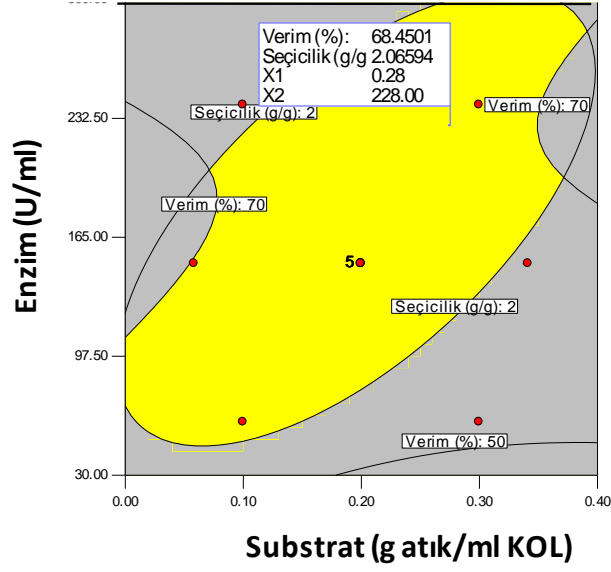
Şekil 3 ksiloz verimi ve seçiciliğini tahmin etmede kullanılan cevap yüzey ve kontur grafiklerini sunmaktadır. Maksimum ksiloz verimi (%69) 0.10 g atık/mL KOL konsantrasyonu ve 194 U/mL enzim aktivitesinde (Şekil 3A ve 3B), maksimum seçicilikte (2.1 g/g) 0.20 g atık/mL KOL konsantrasyonu ve 185 U/mL enzim aktivitesinde (Şekil 3C ve 3D) bulunmuştur.

Bu çalışmada tütün sapı konsantre otohizliköründe teorik olarak bulunabilecek maksimum ksilozun,

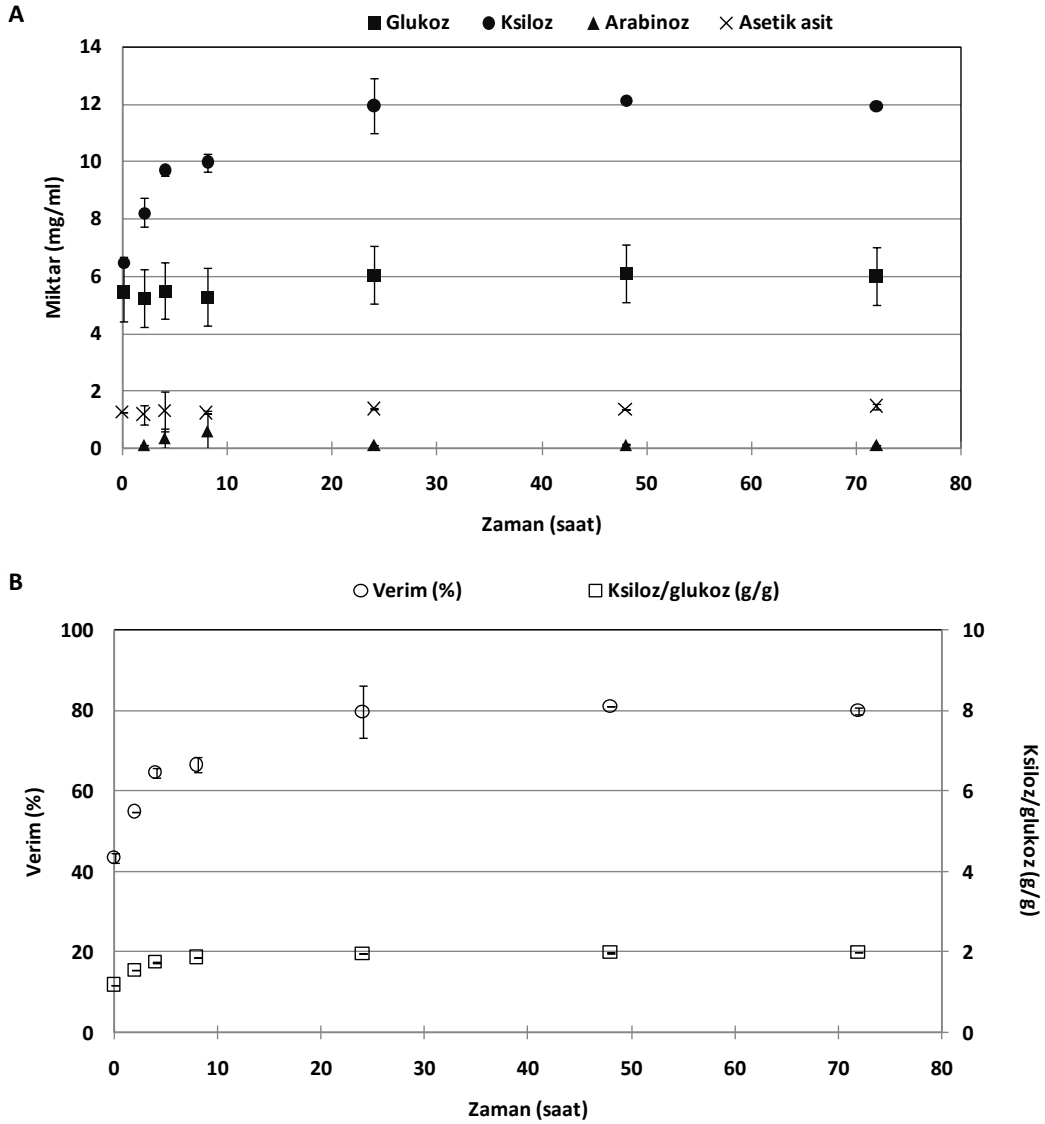
%79.8 serbest ksiloza çevrilmiştir. Hammaddede, tütün sapında, teorik olarak bulunabilecek maksimum ksiloz miktarı düşünüldüğünde, bir başka ifade ile verim başlangıçtaki hammaddeye göre hesaplandığında, ksiloz verimi %21'dir. Lignoselulozik materyallerin yapılarının farklı olması, kullanılan enzim kaynakları, ön işlemlerde ki farklılıklar veya verim hesaplamalarındaki farklılıklardan dolayı, sonuçların literatürde yapılan çalışmalarla karşılaştırılması kolay değildir.



Şekil 3. Tütün sapı konsantre otohizlikörünün *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu sırasında enzim aktivitesi ve substrat konsantrasyonunun ksiloz verimi ve seçiciliğine etkisi. A:Yerim için kontur grafiği; B: Yerim için yüzey grafiği; C:Seçicilik için kontur grafiği; D: Seçicilik için yüzey grafiği



Şekil 4. Optimizasyon için kullanılan her iki modelin yanıtlarının üst üste çizilmiş kontur eğrileri



Şekil 5. Otohırolize edilen tütün sapı konsantre otohıroliz likörünün optimum koşullarda *Trichoderma longibrachiatum* ksilanazı ile hidrolizasyonu

Bununla beraber, yapılan çalışmalar incelendiğinde, 121°C'de 20-80 dakika otohüroliz edilen yağlık palm bitkisi otohüroliz likörünün *T. viride* endo ksilanazı ile 24 saatlik hürolizi sonucu ksiloz veriminin %25.64 [30], mısır kepeğinin 190°C'de 10 dakikalık hürolizinden elde edilen likörünün enzim kokteyli (endoksilanaz, beta ksilobiaz ve arabinofuranozidaz) ile 24 saatlik hürolizi sonucu, yaklaşık %35 oranında ksiloz elde edilmiştir [31]. Her ne kadar ksiloz verimini hammaddenin yapısı büyük oranda etkilese de, burada kullanılan yöntemde gerek elde edilen ksiloz verimi, literatürdeki çalışmalara yakın bulunmuştur. Burada önerilen yöntemle yapılan çalışma, klasik seyreltik asit yöntemi ile ksiloz üretimi ile karşılaştırıldığında ise; ksiloz verimi tütün sapının asit hürolizi ile yapılan çalışmadan (%4.9 H₂SO₄, 133°C ve 27 dakikalık hürolizasyonu sonucu %52 verim) [6] daha düşüktür. Diğer atıkların asit hürolizasyonu çalışmaları incelendiğinde, yağlık palm meyvesi atıklarından (%1 H₂SO₄ konsantrasyonda, 121°C'de 27 dakikalık hürolizasyonu) ksiloz verimi %77.32, aynı atığın %2 H₂SO₄ konsantrasyonunda 119°C'de 60 dakikalık hürolizasyonu sonucunda da ksiloz verimi %91.27 olarak bulunmuştur [33]. Deve dikeninde (*Cynara cardunculus* L.) maksimum ksiloz üretimi için 138.5°C'de %1.28'lik H₂SO₄ 52 dakikalık hürolizasyon işleminde; %86 verimle ksiloz üretilmiştir [34]. Pamuk sapından asit hüroliziyle yapılan çalışmada (140°C'de, %6'lık H₂SO₄, 15 dakika) ksiloz verimi %47.8 olarak tespit edilmiştir [35]. Ayçiçeği sapının %4 H₂SO₄, 120°C ve 30 dakika hürolizasyonu sonucunda ksiloz verimi %36 [6] olarak bulunmuştur [31]. Bu çalışmada, bulunan sonuçlar, enzimatik hürolizasyonla elde edilen ksiloz verimine yakın, literatürde asit hürolizi ile yapılan çalışmalarda bulunan ksiloz veriminden ise düşüktür.

SONUÇ

Tarlalar da çürümeye bırakılan ya da yakılarak çevreye zarar vererek ortadan kaldırılan tütün saplarının; bu çalışma ile bu atıkların çevreye zarar vermeden daha değerli bir ürün olan ksiloza dönüştürülebileceği gösterilmiştir. Önerilen otohüroliz ve takiben enzimatik hürolizasyon yöntemi; ksilan izolasyonu ve hürolizasyonu herhangi bir kimyasala ihtiyaç duymaması açısından çevreye dost bir yöntemdir, süre bakımından uzun olmasına rağmen, nötralizasyon gerektirmemesi (asit hürolizasyonu sonucu oluşan hürolizatın nötralize edilmesi gerekmektedir) ve nötralizasyon ürünleri oluşturulmaması bakımından, ksilozun asit ile üretim yöntemine karşı avantajları bulunmaktadır. Sonuçlar kombine otohüroliz ve enzimatik hüroliz yönteminin, ksiloz üretimi için alternatif bir yöntem olarak kullanılabilceğini göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Bu proje Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: 2013/46) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Anonim, 2007. <http://www.agrowaste-tr.org/abife/index.php> (11.08.2013).
- [2] Erdoğın, K., 2007. Tütün Saplarından Ksilooligosakkarit Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- [3] Öztürk, H.H., Başçetinçelik, A., 2006. Energy exploitation of agricultural biomass potential in Turkey. *Energy Exploration and Exploitation* 24(1): 95-112.
- [4] Bostancı, Ş., 2009. Tarımsal Atıklardan Enzimatik Yolla Ksilooligosakkarit Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- [5] Günay, K., 2010. Lignoselülozik Materyallerden Otohüroliz ve Enzimatik Hürolizle Ksilooligosakkarit Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- [6] Akpınar, O., Levent, O., Sabancı, S., Uysal, R.S., Sapcı, B., 2011. Optimization and comparison of dilute acid pretreatment of selected agricultural residues for recovery of xylose. *Bioresources* 6(4): 4103-4116.
- [7] Uysal, R.S., 2011. Tütün ve Ayçiçeği Sapından Ksilitol Üretimini Optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- [8] Sabancı, S., 2012. Buğday Tarlası Atıklarından Ksilitol Üretim Koşullarının Optimizasyonu ve Ksilitolün Saflaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- [9] Sapcı, B., 2012. Pamuk Saplarından Antioksidan ve Ksilitol Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- [10] Saha, B.C., 2003. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 30: 279-291.
- [11] Erdoğın, K., Akpınar, Ö., 2008. Ksilooligosakkaritlerin önemi, üretimi ve kullanım alanları. *Akademik Gıda* 6(4): 14-20.
- [12] Vazquez, M.J., Alonso, J.L., Dominguez, H., Parajo, J.C., 2000. Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trends in Food Science and Technology* 11: 387-393.
- [13] Moure, A., Gullon, P., Dominguez, H., Parajo, J.C., 2006. Advances in the manufacture, purification and applications of xylo-oligosaccharides as food additives and nutraceuticals. *Process Biochemistry* 41: 1913-1923.
- [14] Vegas, R., Luque, S., Alvarez, R., Alonso, J.L., Dominguez, H., Parajo, J.C., 2006. Membrane-assisted processing of xylooligosaccharide-containing liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5430-5436.
- [15] Garrote, G., Dominguez, H., Parajo, J.C., 2002. Autohydrolysis of corncob: study of non-isothermal operation for xylooligosaccharide production. *Journal of Food Engineering* 52: 211-218.
- [16] Garrote, G., Dominguez, H., Parajo, J.C., 1999. Mild autohydrolysis: an environmentally friendly technology for xylooligosaccharide production from wood. *Journal of Chemical and Biotechnology* 74: 1101-1109.

- [17] ASTM, 1993. Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials (04.09). Philadelphia, PA
- [18] Browning, L., 1967. Determination of sugars, Methods of Wood Chemistry, Inter-Science Publishers, New York.
- [19] Melton, L.D., Smith, B.G., 2001. Determination of the Uronic Acid Content of Plant Cell Walls Using a Colorimetric Assay. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Edited by R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F., Shoemaker, D. Smith and P Sporns, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- [20] William, S., 1997. Furfural in Distilled Liquors (9.097). In AOAC official methods of analysis Arlington, VA.
- [21] Bradford, M.A., 1976. A rapid and sensitive method for quantification of micro gram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- [22] Bailey, M.J., Biely, P., Poutanen, K., 1992. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *Journal of Biotechnology* 23: 257-270.
- [23] Canettieri, E.V., Moraes Rocho, G.J., Carvalho, Jr, K.A., Almeida e Silva, J.B., 2007. Optimization of acid hydrolysis from the hemicellulosic fraction of *Eucalyptus grandis* residue using response surface methodology. *Bioresource Technology* 98: 422-428.
- [24] Parajo, J.C., Garrote, G., Cruz, J.M. Dominguez, H., 2004. Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science and Technology* 15 (3-4): 115-120.
- [25] Girio, F.M., Fonseca, C., Carvalheiro, L.C., Duarte, S., Marques, R., Bogel-Lukasik, R., 2010. Hemicelluloses for fuel ethanol. *Bioresource Technology* 101: 4775-4800.
- [26] Yuan, Q.P., Zhang, H., Qian, Z.M., Yang, X.J., 2004. Pilot-plant production of xylooligosaccharides from corncob by steaming, enzymatic hydrolysis and nanofiltration. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79: 1073-1079.
- [27] Collins, T., Gerday, C., Feller, G., 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 3-23.
- [28] Berrin, J.G., Juge, N., 2008. Factors affecting xylanase functionality in the degradation of arabinoxylans. *Biotechnology Letters* 30 (7): 1139-1150.
- [29] Akpınar, Ö., Ak, Ö., Kavas, A., Bakır, U., Yılmaz, L., 2007. Enzymatic production of xylooligosaccharides from cotton stalk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 5544-5551.
- [30] Sabiha- Hanim, S., Noor, M.A.M., Rosma, A., 2011. Effect of autohydrolysis and enzymatic treatment on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) frond fibres for xylose and xylooligosaccharides production. *Bioresource Technology* 102: 1234-1239.
- [31] Agger J, Vikso-Nielsen, A, Meyer, A.S., 2010. Enzymatic xylose release from pretreated corn bran arabinoxylan: differential effects of deacetylation and deferuloylation on insoluble and soluble substrate fractions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 58: 6141-6148.
- [32] Roberto, C.I., Mussatto, I.S. Rodrigues , C.L.B.R., 2003. Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor. *Industrial Crop and products* 17: 171-176.
- [33] Rahman, S.H.A., Choudhury, J.P., Ahmad, A.L., Kamaruddin, A.H., 2007. Optimization studies on acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch fiber for production of xylose. *Bioresource Technology* 98: 554-559.
- [34] Shatalov, A.A., Pereira, H., 2012 Xylose production from giant reed (*Arundo donax* L.): modeling and optimization of dilute acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers* 87: 210-217.
- [35] Akpınar, Ö., Erdoğan, K., Bostancı, Ş., 2009. Enzymatic production of xylooligosaccharide from selected agricultural wastes. *Food and Bioproducts Processing* 87: 145-151.

Ultrases Ön İşleminin Havuç Dilimlerinin Kuruma Karakteristikleri Üzerine Etkisi

Senem Tüfekçi¹ , Sami Gökhan Özkal²  ¹Pamukkale Üniversitesi, Acıpayam Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Denizli²Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli

Geliş Tarihi (Received): 23.11.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 17.07.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sgozkal@pau.edu.tr (S.G. Özkal)

☎ 0 258 296 31 19 📠 0 258 296 32 62

ÖZ

Sıcak hava öncesi uygulanan ultrasonik ön işlemin havuç dilimlerinin kurutma karakteristikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Ön işlem için 20 kHz frekansa sahip ultrases üreten bir prob kullanılmış olup ön işlem süresi 20, 40, 60 dakika ve ultrases genliği %55 ve %100 olarak seçilmiştir. Kurutucunun hava hızı 0.3 m/s olup, kurutma sıcaklığı 50°C ve 60°C olarak seçilmiştir. Artan ön işlem sürelerinde ve genliklerde havuç dilimlerinin kuruma hızları artarken, kuruma zamanı kısalmıştır. Havuç dilimlerinin kuruma kinetiğini açıklayan en uygun modellerin Page ve Modifiye Page modelleri olduğu saptanmıştır. Artan genlikle beraber havuç dilimlerinin dokusunda meydana gelen zarar taramalı elektron mikroskobu görüntülerinde belirgin bir şekilde görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Havuç, Kurutma, Ultrases, Ön işlem, Matematiksel modelleme

Effect of Ultrasound Pre-Treatment on Drying Characteristics of Carrot Slices

ABSTRACT

The effects of ultrasound pre-treatment prior to hot air drying on drying characteristics of carrot slices were investigated. For pre-treatments an ultrasonic generator with 20 kHz frequency connected to an ultrasonic probe was used, time and amplitude values were chosen as 20, 40, 60 minutes, and 55 or 100%, respectively. The air velocity was 0.3 m/s and the drying air temperatures were selected as 50 and 60°C. Drying time of carrot slices decreased, and drying rate increased by the application of ultrasound pre-treatment with increasing pre-treatment time and amplitude. The Page and Modified Page models were the most suitable models for describing the drying characteristics of carrot slices. Tissue damage occurred by increasing the amplitude of ultrasound was observed clearly in scanning electron microscopy images of dried samples.

Keywords: Carrot, Drying, Ultrasound, Pre-treatment, Mathematical modelling

GİRİŞ

Havuç (*Daucus carota* L.) hoş aroması, yüksek lif, vitamin, antioksidan içeriği ve birçok sağlığa faydalı etkisi ile insan beslenmesinde taze ve kurutulmuş olarak yaygın şekilde tüketilen sebzelerden biridir [1, 2]. Yaş bazda yaklaşık olarak %90 su içeren havucun uzun süreli muhafazası ve kullanımı için kurutma uygun bir

metottur. Kurutulmuş havuçların çorba, sos, hazır öğün ve sağlıklı atıştırmalık üretiminde kullanımı yüksek karetonoid içeriklerinin son yıllarda fark edilmesine bağlı olarak giderek artmaktadır [3, 4].

Kurutma eş zamanlı olarak gerçekleşen ısı ve kütle transferine bağlı olarak gıdadan suyun uzaklaştırılması olarak tanımlanan en eski ve yaygın gıda muhafaza

yöntemlerinden biridir [5-7]. Kurutma işlemiyle hasat sonrası kayıplar azaltıldığı gibi kurutulmuş ürünler direkt olarak tüketilebilmekte veya gıda üretim proseslerinde kullanılmaktadır [8]. Günümüzde yeni kurutma teknikleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır ve bu yeni tekniklerden biri de ultrases enerjisinin kullanımı olmuştur.

Yüksek şiddetli ses alanı yani ultrases etkisiyle bir materyalden suyun uzaklaştırılması işlemine 'akustik kurutma' denir [9]. Ultrases enerjisi; yüksek genlikteki titreşimler sayesinde gıda içindeki ısı ve kütle transferini konsantrasyon gradyanında, difüzyon katsayılarında ve sınır tabakalarında değişimler meydana getirerek arttırmaktadır ve bu özelliği ile de gıdaların kurutulmasında kullanım olanağı sunmaktadır [10]. Ultrases enerjisi tek başına uygulanabildiği gibi sıcak hava, ışınlama, dondurularak kurutma, yüksek basınç, ozmotik kurutma gibi farklı kurutma yöntemleri birlikte eş zamanlı veya ön işlem sırasında uygulanabilmektedir [11].

Literatürde havucun eş zamanlı uygulanan ultrases destekli konvektif kurutulması [12-14], ultrases enerjisi ile vakum kurutma tekniğinin kombine edilmesi [3], ultrases destekli dondurularak kurutma [15], ultrasonik destekli osmotik kurutma ön işlemi sonrası sıcak hava ile kurutma [4, 16], sıcak hava ile kurutma öncesi ultrasonik banyo ile ön işlem [17] çalışmalarına rastlanmıştır. Bu çalışmada ise silindirik havuç örnekleri ultrasonik prob ile su içerisinde ön işlem uygulandıktan sonra sıcak hava ile kurutulmuştur.

Çalışmanın amacı sıcak hava ile kurutulması öncesinde uygulanan ultrases ön işleminin havucun kuruma karakteristikleri üzerine etkisini belirlemek, kurutma davranışını modellemek ve havuç dokusunda meydana gelen değişimleri gözlemlemektir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan havuç örnekleri Denizli piyasasından temin edilmiş ve örnekler kurutma denemelerinde kullanıncaya dek +4°C'de buzdolabı koşullarında bekletilmiştir. Örnekler başlangıç nem içeriklerinin belirlenebilmesi için 105°C sıcaklıktaki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Örnekler kurutma işleminden önce elektronik sebze doğrayıcı (Moulinex Fresh Express, Moulinex, Ecully, Fransa) ile sabit çap (3.2 cm) ve kalınlıkta (0.5 cm) silindirik olarak dilimlenmiştir.

Metot

Ultrases Ön İşlemi

Ön işlemler; 1:4 (w/w) ürün/su oranında 400 mL'lik beher içerisinde 25°C'de saf su ile 20 kHz frekansta çalışan Bandelin marka (Sonoplus HD 2200, Bandelin Berlin, Almanya) ultrases cihazının TT13 numaralı titanyum ucu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ultrases ön işlemi için kullanılan süre ve genlik değerleri sırasıyla 20, 40, 60 dakika ile %55 ve %100 olarak seçilmiştir.

Kurutma Denemeleri

Kurutma denemeleri Yücebaş Makine Tic. Ltd. Şti. (İzmir) tarafından üretilip, bölüm laboratuvarına kurulan tepsili kurutma kabini gerçekleştirilmiştir. Örnekler iki farklı kurutma sıcaklığında (50 ve 60°C) ve 0.3 m/s hava hızında sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Kurutma süresince örneklerdeki ağırlık değişimleri ilk yarım saat için her beş dakikada bir, daha sonra her 30 dakikada bir kaydedilmiştir. Tüm denemeler 2 paralel ve 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Ön işlem ve kurutma koşulları ile örnek kodları Tablo 1'de sunulmuştur.

Matematiksel Modelleme

Havuç örneklerinin nem içeriği (Denklem 1), boyutsuz nem oranı (Denklem 2) ve kuruma hızı (Denklem 3) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$M_t = \frac{m - KM}{KM} \quad (1)$$

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (2)$$

$$DR = \frac{M_{t+dt} - M_t}{dt} \quad (3)$$

Burada, M_t herhangi bir t anındaki nem içeriği (g su/g kurumadde), m örneğin ağırlığı (g), KM örneğin içerdiği kurumadde miktarı (g), M_e denge anındaki nem içeriği (g su/g kurumadde), M_0 başlangıç nem içeriği (g su/g kurumadde), M_{t+dt} herhangi bir t+dt anındaki nem içeriği (g su/g kurumadde), t kuruma zamanı (dakika) olarak tanımlanmıştır [5]

Ürünlerin kurutulması sırasında elde edilen nem oranı değerlerinin kuruma zamanı ile değişimini içeren deneysel verilerin Tablo 2'de yer alan beş ince tabaka kuruma modeline uygunluğu araştırılmıştır.

Tablo 1. Ön işlem ve kurutma koşulları ile örnek kodları

Örnek Kodu	Ultrasonik Ön İşlem Koşulları		Kuruma Sıcaklığı (°C)
	Süre (dakika)	Genlik (%)	
50°C kontrol	-	-	50
50°C-20 dakika-%55 genlik	20	55	50
50°C-40 dakika-%55 genlik	40	55	50
50°C-40 dakika-%100 genlik	40	100	50
50°C-60 dakika-%55 genlik	60	55	50
60°C kontrol	-	-	60
60°C-40 dakika-%55 genlik	40	55	60

Tablo 2. Deneysel verilere uygunluğu araştırılan matematiksel modeller

Model No	Model ismi	Model denklemi	Kaynaklar
1	Lewis	$MR = \exp(-kt)$	[5]
2	Henderson-Pabis	$MR = a \exp(-kt)$	[18]
3	Page	$MR = \exp(-kt^n)$	[19]
4	Modifiye Page	$MR = \exp(-(kt)^n)$	[6]
5	Logaritmik	$MR = a \exp(-kt) + c$	[20]

İstatistiksel Analizler

Havuç örneklerinin kuruma kinetiğini en iyi açıklayan modelin belirlenmesinde korelasyon katsayısı (R^2), tahmini standart hata (RMSE) ve indirgenmiş ki-kare (χ^2) değerleri kullanılmıştır.

RMSE ve χ^2 değerleri Denklem 4 ve 5 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{tahmini,i} - MR_{deneysel,i})^2 \right]^{1/2} \quad (4)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{deneysel,i} - MR_{tahmini,i})^2}{N-n} \quad (5)$$

Burada N deneysel veri sayısı, n kullanılan modeldeki katsayı sayısı olarak tanımlanmıştır [21]

Doku Değişimi

Ultrasonik ön işlemin havuç dilimlerinin mikro yapısında meydana getirdiği değişimler FEI Quanta 250 FEG taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile 250×, 1000×, 5000× büyütme oranlarında görüntüler alınarak gözlemlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kuruma Karakteristikleri

Havuç örneklerinin kuruma karakteristiklerinin belirlenmesi amacıyla nem oranının kuruma zamanına bağlı değişimi ile kuruma hızının nem oranına bağlı değişiminin grafikleri incelenmiştir (Şekil 1-3).

Ultrasonik Ön İşlem Süresinin Etkisi

%55 genlikteki ultrases ile farklı sürelerde ön işleme tabi tutulduktan sonra 50°C'de kurutulan örnekler ile ön işleme tabi tutulmadan 50°C'de kurutulan kontrol örneğinin kuruma eğrileri Şekil 1'de verilmiştir. Genel olarak, ultrasonik ön işlem süresi arttıkça havuç örneklerinin kuruma süreleri azalmış ve kuruma hızları artmıştır. Kurumanın 150. dakikasında kontrol örneği 0.20 nem oranına sahip iken bu oran 20, 40 ve 60 dakika süreyle %55 genlikteki ultrases ön işlemine tabi tutulmuş örnekleri için sırasıyla 0.15, 0.16 ve 0.05 olarak tespit edilmiştir (Şekil 1A). 60 dakika süreyle ultrasonik ön işleme tabi tutulmuş havuç örneğinin kuruma hızı, 0.2

nem oranında kontrol örneği ile kıyaslandığında yaklaşık olarak 2 kat artmıştır (Şekil 1B). Ultrasonik ön işlem süresinin kurutma performansını arttırdığı daha önceki çalışmalarda ananas [22] ve patates [23] için de bildirilmiştir.

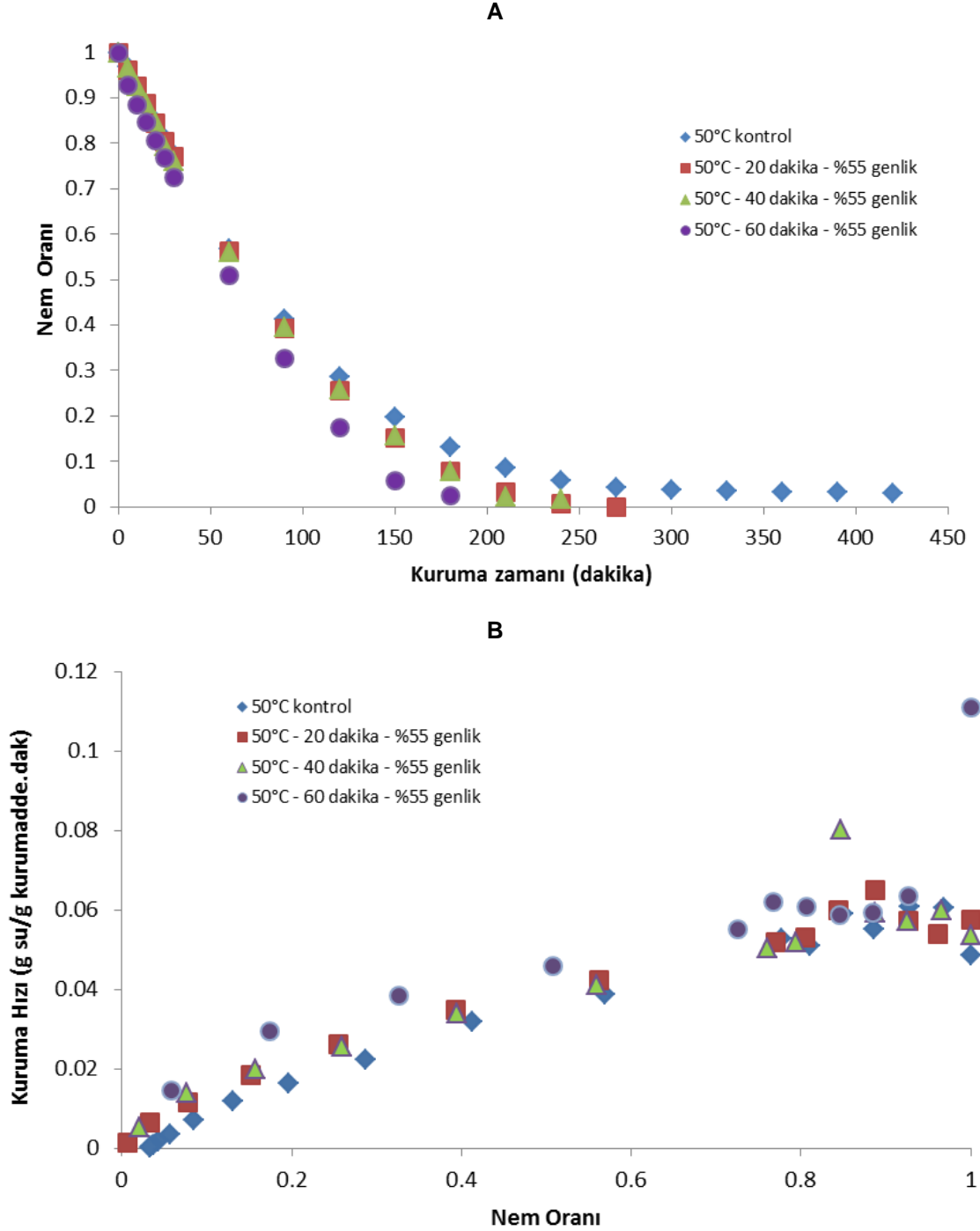
Ultrases Genliğinin Etkisi

Ultrases genliğinin etkisinin belirlenmesi için örnekler 40 dakika boyunca %55 ve %100 olacak şekilde farklı iki genlikte ön işlem uygulanmış ve sonrasında örnekler 50°C sıcaklıkta kurutulmuştur. Ultrases genliğinin artması ile kuruma süresinin kısaldığı, en hızlı kurumanın 40 dakika süreyle %100 genlikteki ultrases ön işlemine tabi tutulmuş havuç örneklerinde meydana geldiği tespit edilmiştir. Diğer yandan 0.16 nem oranına 40 dakika süreyle %55 ve %100 genlikteki ultrases ön işlemine tabi utulmuş örnekler sırasıyla kurumanın 150. ve 120. dakikalarında ulaşmışlardır. Bu orana kontrol örneği ise 170. dakikada ulaşmıştır (Şekil 2A).

Kurutmanın başlangıcında 40 dakika süreyle %100 genlikteki ultrases ön işlemine tabi tutulmuş havuç örneğinin kuruma hızı (0.1107 g su/g kurumadde.dakika); kontrol (0.0487 g su/g kurumadde.dakika) ve %55 genlikteki ultrases ön işlemine tabi tutulmuş örneğin kuruma hızının (0.0537 g su/g kurumadde.dakika) yaklaşık iki katı olarak gözlemlenmiş, kurutmanın ilerleyen aşamalarında bu fark azalmıştır (Şekil 2B).

Kurutma Sıcaklığının Etkisi

Kurutma sıcaklığının ön işlem uygulanmamış kontrol örneğinin ve 40 dakika %55 genlikte ultrases ön işlemi uygulanmış örneğin kurutma eğrilerine etkisi Şekil 3'te verilmiştir. Şekil 3A incelendiğinde kurutma sıcaklığındaki artışın kuruma süresini kısalttığı görülmektedir. Kurutmanın 120. dakikasında 50 ve 60°C kontrol örneklerini nem oranları sırasıyla 0.29 ve 0.14 olarak tespit edilmiştir. Diğer yandan kurutma sıcaklığı ultrasonik ön işleme tabi tutulmuş örnekler için kontrol örneklerine kıyasla kuruma süresi üzerine daha etkili olduğu bulunmuştur. Örneğin; 40 dakika süreyle %55 genlikte ultrases ile ön işleme tabi tutulduktan sonra 50°C'de kurutulan örnek için 120. dakikadaki nem oranı 0.26 iken 60°C'de kurutulan örnek için 0.05'tir. Ön işlem uygulanmış ve uygulanmamış havuç örneklerinde, kurutma sıcaklığının 50°C'den 60°C'ye yükselmesiyle kuruma hızları yaklaşık olarak 2 kat artmıştır (Şekil 3B).

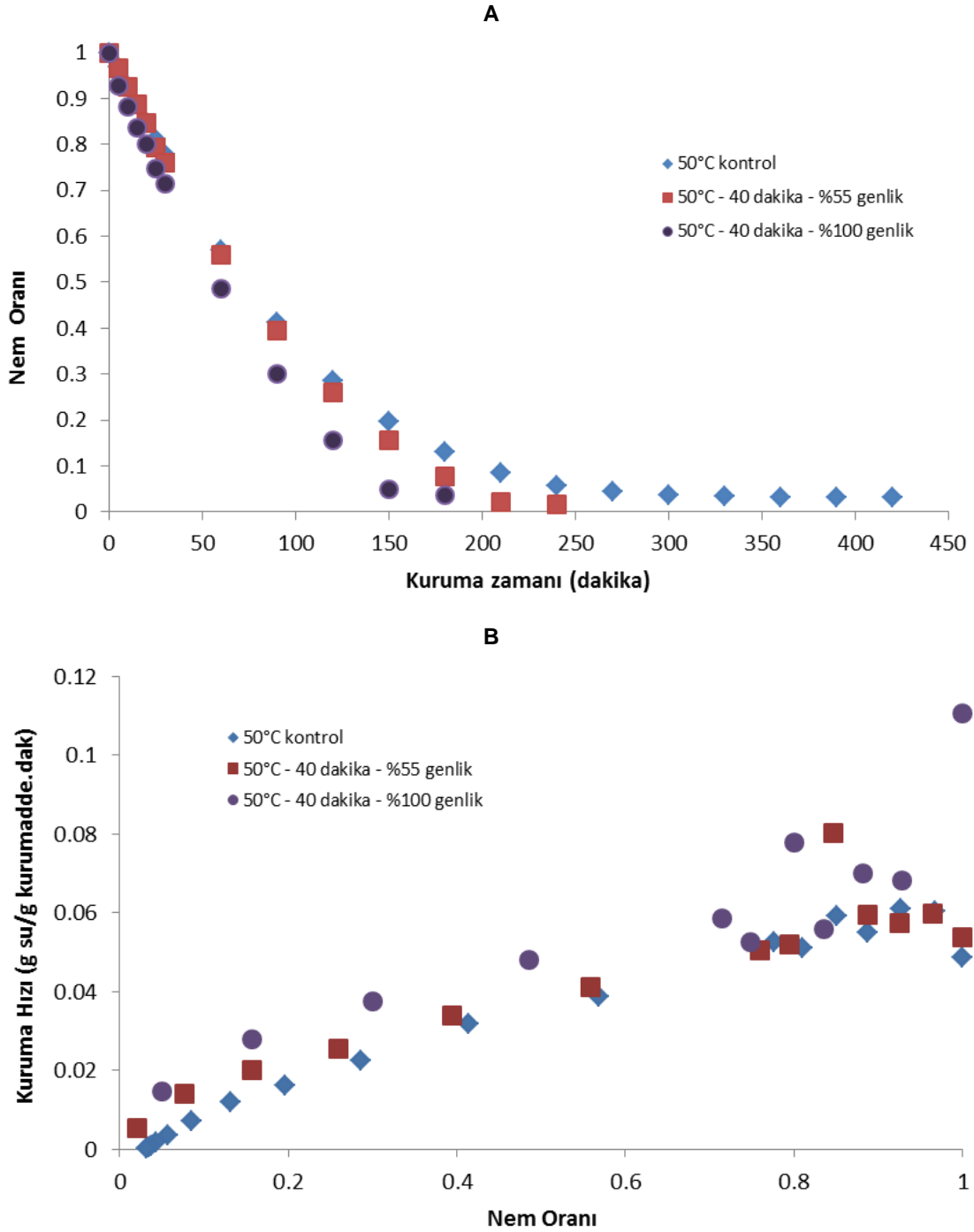


Şekil 1. %55 genlikte ultrasese farklı ön işlem sürelerinde tabi tutulmuş havuç örneklerinin kuruma eğrileri; A) Nem oranının kuruma zamanına bağlı değişimi, B) Kuruma hızının nem oranına bağlı değişimi

Matematiksel Modelleme

Farklı koşullarda ultrasonik ön işleme tabi tutulmuş havuç örneklerinin tepsili kurutma fırınında kurutulması sırasında elde edilen nem oranı değerlerinin kuruma zamanı ile değişimini içeren deneysel veriler beş ayrı ince tabaka kurutma modeli ile modellenmiştir. Matematiksel modellere ait katsayı ve sabitleri ile istatistiksel veriler Tablo 3'te verilmiştir. Elde edilen verilerden, yüksek R^2 ile düşük χ^2 ve RMSE değerlerine sahip Page ve Modifiye Page modellerin havuç

örneklerinin kuruma kinetiğini açıklayan en iyi modeller olduğu saptanmıştır. R^2 , χ^2 ve RMSE değerleri Page ve Modifiye Page modeller için sırasıyla 0.9856-0.9982, 0.0003-0.0028 ve 0.0037-0.0141 aralığında bulunmuştur. Benzer şekilde, havucun 50, 60, 65, 70°C'lerde kabin kurutucuda sıcak hava ile kurutulduğu diğer bir çalışma ile [1], direkt ultrasese ile kurutulduğu çalışmada da kuruma kinetiğini en iyi şekilde ifade eden modelin Page model olduğu rapor edilmiştir [9].

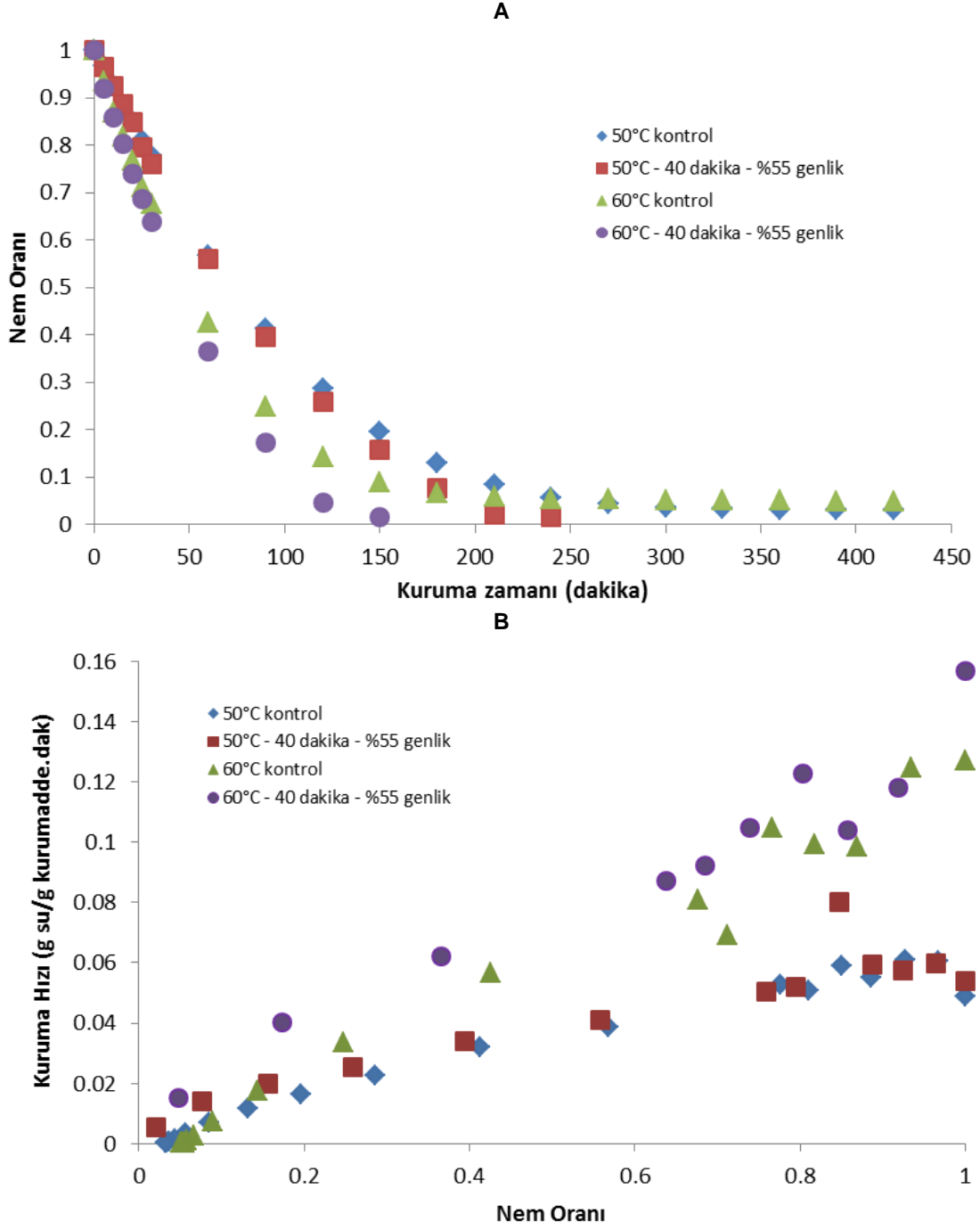


Şekil 2. 40 dakika süreyle farklı genliklerde ultrases ön işleme tabi tutulmuş havuç örneklerinin kuruma eğrileri; A) Nem oranının kuruma zamanına bağlı değişimi, B) Kuruma hızının nem oranına bağlı değişimi

Doku Değişimi

Ön işlem uygulanmamış, 20 dakika süreyle %55 ve %100 genlikteki ultrases ön işleme tabi tutulup 50°C'de kurutulmuş havuç örneklerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş ve havuç örneklerinin dokusunda meydana gelen değişim Şekil 4'de verilmiştir. Ön işlem uygulanmamış havuç örneğinde, ön

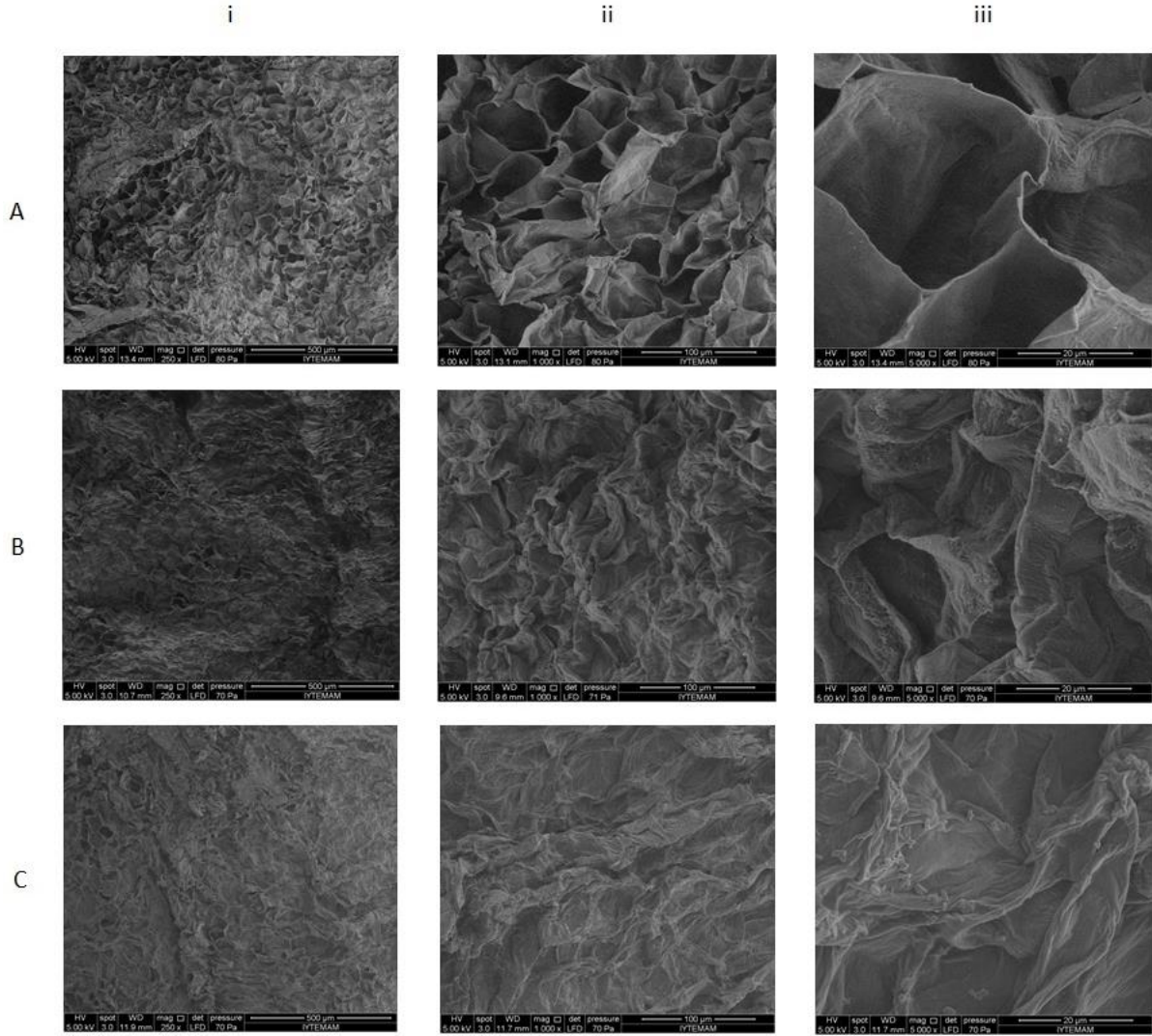
işleme tabi tutulmuş örnekler göre hücre bütünlüğünün korunduğu tespit edilmiştir. Ultrases etkisiyle oluşan kaviteasyonun sonucunda hücre yapısında bozulma ve parçalanmanın gerçekleştiği, ayrıca artan genlikle birlikte şiddeti artan kaviteasyonun hücrelerde uzama ve yassılaşıma meydana getirdiği saptanmıştır. Benzer sonuçlar elma [24], papaya [25] ve ananas [22] için de belirtilmiştir.



Şekil 3. Farklı kuruma sıcaklıklarında kurutulan havuç örneklerine ait kuruma eğrileri; A) Nem oranının kuruma zamanına bağlı değişimi, B) Kuruma hızının nem oranına bağlı değişimi

Tablo 3. Kurutulmuş havuç örnekleri için kullanılan modellerin istatistiksel parametreleri ve model katsayıları

Örnek Kodu	Model No	Model Katsayıları			R ²	RMSE	χ ²
50°C kontrol	1	k = 0.0100			0.9558	0.005262	0.000583
	2	k = 0.0097	a = 1.0805		0.9590	0.009818	0.002142
	3	k = 0.0062	n = 1.0929		0.9943	0.003813	0.000323
	4	k = 0.0096	n = 1.0929		0.9943	0.003813	0.000323
	5	k = 0.0182	a = 1.4368	c = 0.0309	0.9750	0.038520	0.034913
50°C 20 dakika %55 genlik	1	k = 0.0139			0.9688	0.018159	0.005299
	2	k = 0.0150	a = 1.1782		0.9590	0.018981	0.006235
	3	k = 0.0049	n = 1.1887		0.9958	0.005036	0.000439
	4	k = 0.0114	n = 1.1887		0.9958	0.005036	0.000439
	5	k = 0.0151	a = 1.1790	c = 0.0004	0.9683	0.019166	0.006887
50°C 40 dakika %55 genlik	1	k = 0.0125			0.9711	0.013907	0.002916
	2	k = 0.0134	a = 1.1090		0.9796	0.012872	0.002706
	3	k = 0.0052	n = 1.1704		0.9982	0.005119	0.000428
	4	k = 0.0111	n = 1.1704		0.9982	0.005119	0.000428
	5	k = 0.0143	a = 1.1123	c = 0.0164	0.9718	0.015111	0.004069
50°C 40 dakika %100 genlik	1	k = 0.0141			0.9805	0.011733	0.001802
	2	k = 0.0148	a = 1.0574		0.9854	0.011245	0.001821
	3	k = 0.0120	n = 1.0140		0.9896	0.011309	0.001842
	4	k = 0.0128	n = 1.0140		0.9896	0.011309	0.001842
	5	k = 0.0165	a = 1.0402	c = 0.0364	0.9782	0.013981	0.003128
50°C 60 dakika %55 genlik	1	k = 0.0132			0.9793	0.012697	0.002111
	2	k = 0.0139	a = 1.0522		0.9839	0.012236	0.002156
	3	k = 0.0122	n = 0.9937		0.9856	0.014096	0.002861
	4	k = 0.0119	n = 0.9937		0.9856	0.014096	0.002861
	5	k = 0.0148	a = 1.0383	c = 0.0236	0.9800	0.013718	0.003011
60°C kontrol	1	k = 0.0101			0.9364	0.016628	0.005821
	2	a = 1.4128	k = 0.0088		0.9708	0.067927	0.102536
	3	k = 0.0181	n = 0.9162		0.9930	0.008962	0.001781
	4	k = 0.0125	n = 0.9162		0.9930	0.009002	0.001801
	5	a = 1.0159	k = 0.0200	c = 0.0497	0.9914	0.007112	0.001180
60°C 40 dakika % 55 genlik	1	k = 0.0181			0.9823	0.012156	0.001788
	2	k = 0.0192	a = 1.0618		0.9886	0.011295	0.001715
	3	k = 0.0139	n = 1.0406		0.9921	0.010018	0.001349
	4	k = 0.0167	n = 1.0406		0.9921	0.010018	0.001349
	5	k = 0.0201	a = 1.0531	c = 0.0174	0.9862	0.012682	0.002433



Şekil 4. 50°C'de kurutulmuş havuç örneklerine ait SEM görüntüleri: i) 250×, ii) 1000×, iii) 5000× büyütme oranları; A) ön işlemsiz, B) 20 dakika süreyle %55 genlikteki ultrases ön işlemine tabi tutulmuş, C) 20 dakika süreyle %100 genlikteki ultrases ön işlemine tabi tutulmuş örnekler.

SONUÇ

Sıcak hava ile kurutma öncesinde uygulanan ultrases ön işleminin havucun kurutma karakteristikleri üzerine etkisi araştırılmış ve artan ön işlem süresi, ultrases genliği ve kurutma sıcaklığı ile kuruma süresinin kısaldığı, kuruma hızının ise arttığı tespit edilmiştir. Havucun kuruma kinetiğini en iyi açıklayan modeller Page ve Modifiye Page modeller olmuştur. Ayrıca ultrases genliğinin artması ile havuç örneklerinin dokusundaki değişimin arttığı gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Doymaz, İ., 2004. Convective air drying characteristics of thin layer carrots. *Journal of Food Engineering* 61(3): 359-364.
- [2] Gamboa-Santos, J., Montilla, A., Soria, A.C., Villamiel, M., 2012. Effects of conventional and ultrasound blanching on enzyme inactivation and carbohydrate content of carrot. *European Food Research and Technology* 234(6): 1071-1079.
- [3] Chen, Z.G., Guo, X.Y., Wu, T., 2016. A novel dehydration technique for carrot slices implementing ultrasound and vacuum drying methods. *Ultrasonics Sonochemistry* 30: 28-34.
- [4] Kowalski, S.J., Szadzinska, J., Pawlowski, A., 2015. Ultrasonic-assisted osmotic dehydration of carrot followed by convective drying with continuous and intermittent heating. *Drying Technology* 33(13): 1570-1580.
- [5] Dadalı, G., Kılıç Apar, D., Özbek, B., 2007. Microwave drying kinetics of okra. *Drying Technology* 25(5): 917-924.
- [6] Akpınar, E.K., Biçer, Y., Yıldız, C., 2003. Thin layer drying of red pepper. *Journal of Food Engineering* 59(1): 99-104.
- [7] Cemeroglu, B., 2013. Meyve Sebze İşleme Teknolojisi, 2. Cilt, Bizim Grup Basımevi, Kızılay, Ankara, Turkey.
- [8] Fernandes, F.A.N., Gallão, M.I., Rodrigues, S., 2008. Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre-treatment on cell structure: Melon dehydration. *LWT-Food Science and Technology* 41(4): 604-610.

- [9] Kantaş, Y. 2007. Effect of Ultrasound on Drying Rate of Selected Produce. PhD Thesis, Middle East Technical University, Ankara, Turkey.
- [10] Jambrak, A.R., Mason, T.J., Paniwyk, L., Lelas, V., 2007. Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *Journal of Food Engineering* 81(1): 88-97.
- [11] Topdaş, E.F., Başlar, M., Ertugay, M.F., 2011. Elmaların ozmotik kurutulması üzerine ultrases işleminin etkisi. *Akademik Gıda* 9(5): 6-10.
- [12] Aversa, M., Van der Voort, A.J., Heij, W., Tournois, B., Curcio, S., 2011. An Experimental Analysis of Acoustic Drying of Carrots: Evaluation of Heat Transfer Coefficients in Different Drying Conditions. *Drying Technology* 29(2): 239-244.
- [13] Carcel, J.A., Garcia-Perez, J.V., Reira, E., Mulet, A., 2011. Improvement of convective drying carrots by applying power ultrasound - Influence of mass load density. *Drying Technology* 29(2): 174-182.
- [14] Denglin, L., Juan, L., Yuhonh, L., Guangyue, R., 2015. Drying characteristics and mathematical model of ultrasound assisted hot-air drying of carrots. *International Journal of Agricultural & Biological Engineering* 8(4): 124-132.
- [15] Dai, C., Zhou, X., Zhang, S., Zhou, N., 2016. Influence of ultrasound-assisted nucleation on freeze-drying of carrots. *Drying Technology* 34(10): 1196-1203.
- [16] Lui, Y., Wu, J., Chong, C., Miao, S., 2014. Ultrasound assisted osmotic dehydration as pretreatment for hot-air drying of carrot. *Food Science and Technology Research* 20(1): 31-41.
- [17] Nowacka, M., Wedzik, M., 2016. Effect of ultrasound treatment on microstructure, colour and carotenoid content in fresh and dried carrot tissue, *Applied Acoustics* 103: 163-171.
- [18] Toğrul, İ.T., Pehlivan, D., 2004. Modelling of thin layer drying kinetics of some fruits under open-air sun drying process. *Journal of Food Engineering* 65(3): 413-425.
- [19] Özdemir, M., Devres, O.Y., 1999. The thin layer drying characteristics of hazelnuts during roasting, *Journal of Food Engineering* 42(4): 225-233.
- [20] Ertekin, C., Yaldız, O., 2004. Drying of eggplant and selection of a suitable thin layer drying model, *Journal of Food Engineering* 63(3): 349-359.
- [21] Sacilik, K., Eliçin, A.K., 2006. The thin layer drying characteristics of organic apple slices. *Journal of Food Engineering* 73(3): 281-289.
- [22] Fernandes, F.A.N., Gallão, M.I., Rodrigues, S., 2009. Effect of osmosis and ultrasound on pineapple cell tissue structure during dehydration. *Journal of Food Engineering* 90(2): 186-190.
- [23] Ozuna, C., Carcél, J.A., Garcia-Perez, J.V., Mulet, A., 2011. Improvement of water transport mechanisms during potato drying by applying ultrasound, *Journal of Science Food and Agriculture* 91(14): 2511-2517.
- [24] Deng, Y., Zhao, Y., 2008. Effect of pulsed vacuum and ultrasound osmopretreatments on glass transition temperature, texture, microstructure and calcium penetration of dried apples (Fuji). *LWT-Food Science and Technology*, 41(9): 1575-1585.
- [25] Fernandes, F.A.N., Oliveira, F.I.P., Rodrigues, S., 2008 Use of ultrasound for dehydration of papayas. *Food Bioprocess Technol* 1(4): 339-345.
-

Yeşil Ceviz Kabuklarının Biyoaktif Özelliklerinin FT-IR Spektroskopi Yöntemiyle Tahmin Edilmesi

Pınar Kadiroğlu¹, Halil Ekici^{1,2}¹Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana²Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kilis

Geliş Tarihi (Received): 17.07.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 27.03.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): pkadiroglu@adanabtu.edu.tr (P. Kadiroğlu)

☎ 0 322 455 00 00– 2120 📠 0 322 455 00 09

ÖZ

Ceviz (*Juglans regia* L.) sağlık ve beslenme açısından çok değerli yağlı tohumlardan biridir. Dünya ceviz üretiminde ilk sıralarda yer alan ülkelerden Çin, İran ve ABD'den sonra 180.000 tonluk üretimiyle Türkiye gelmektedir. Ceviz zengin besleyici öğelere sahip olmakla birlikte sağlık üzerine faydalı özellikleri bakımından da önemi artarak anlaşılan bir üründür. Cevizin iç kısmının önemi bilinmekle birlikte ceviz kabuğu genellikle atılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, farklı çözümler kullanılarak kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarından ekstraktlar elde edilmesi ve bu ekstraktların biyoaktif, antimikrobiyal özelliklerinin ve antioksidan kapasitesinin belirlenerek Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi ile tahmin edilmesidir. Farklı ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$). Antimikrobiyal analiz sonuçlarına göre ceviz kabuklarının sulu ekstraktları *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerine etkinliği daha fazla bulunmuştur. FT-IR spektral verinin kısmi en küçük kareler (PLS) regresyon analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin açıklama (belirtme) katsayısı $> 97\%$, kalibrasyon ve çapraz geçerlilik hatalarının ortalama karekökü değerleri 3.03 ile 5.35 aralığında bulunmuştur. Elde edilen bulgular PLS analizi ile oluşturulan modellerin iyi tahmin etme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil ceviz kabuğu, Ekstraksiyon, İnfrared spektroskopi, Kemometri

Prediction of Bioactive Properties of Walnut Green Husks Using FT-IR Spectroscopy

ABSTRACT

Walnut is a widely consumed, nutritive and healthy crop in the world. China, the US, and Iran are the leading countries of walnut production, and Turkey is among the main producers ranking fourth with 180.000 tons of production rate. Walnut green husk is a valuable agricultural by-product that is commonly used in traditional medicine for alleviating pain and treating skin diseases related to its antioxidant properties and health benefits. This study aimed to find the effect of solvent type on extraction of bioactive compounds and to predict the extraction effects in rapid and reliable method such as Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. Solvent efficiency was evaluated using different polarity solvents such as water, methanol, ethanol, acetone and aqueous solutions of methanol, ethanol and acetone for the extraction of walnut green husks. Analysis of variance results revealed that there was a significant difference among the total phenolic contents and antioxidant activities of different extracts. Antimicrobial activity analysis demonstrated that water extracts showed higher activity against *Staphylococcus aureus*. According to the results of partial least squares (PLS) regression analysis to predict the total phenol content and antioxidant capacity of extracts, R^2 values of calibration and cross validation models were higher than 97% with root mean square error of calibration (RMSEC) and root mean square error of cross validation (RMSECV) values ranging from 3.03 to 5.35. It can be concluded that PLS models had high predictive capability.

Keywords: Green walnut husks, Extraction, Infrared spectroscopy, Chemometrics

GİRİŞ

Ceviz (*Juglans regia* L.), *Juglandaceae* familyası ve *Juglans* cinsinde yer almaktadır. *Juglans* cinsine ait olan türler içerisinde özellikleri tanımlanmış ve yüksek kaliteli meyveye sahip olan tür *J. regia* olarak belirlenmiştir. Dünyadaki ceviz üretimi 1.5 milyon tonun üzerindedir. Dünya ceviz üretiminde ilk sıralarda Çin, ABD ve İran yer almaktadır [1, 2]. Türkiye 180.000 tonluk üretimiyle diğer meyve türlerinde olduğu gibi cevizin de anavatanları arasında bulunmaktadır [2]. Ceviz sağlık ve beslenme bakımından çok önemli bir üründür. Ceviz ağacının yan ürünlerinin birçok uygulama alanı bulunmaktadır. Yeşil ceviz kabukları, çekirdekleri, iç kabuk ve yaprakları kozmetik ve ilaç sanayisinde kullanılmaktadır [3]. Ceviz yan ürünlerinin fenolik karakterizasyonu üzerine birçok çalışma bulunmaktadır [4, 5]. Fenolik bileşiklerden juglone bütün ceviz ve yan ürünlerinde bulunmaktadır ve antimikrobiyal etkisinin olduğu bilinmektedir [3]. Bitkisel yan ürünler antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabilir [6, 7]. Tüketicilerin kimyasal koruyucuları kullanmayı tercih etmemeleri gibi nedenlerle doğal antimikrobiyal maddelerin kullanımına olan ilgi artmıştır. Bu nedenle, ceviz ve yan ürünlerinin ve atık ürünlerinin doğal antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanımı artırılmalıdır ve önemi vurgulanmalıdır. Gıdalardan elde edilen maliyeti düşük atık ürünlerin tekrar kullanılmaları çevresel ve ekonomik yararları açısından önemlidir.

FT-IR spektroskopisi örneklerin makromoleküler yapısında bulunan fonksiyonel grupların titreşimlerinden kaynaklanan yapısal, kompozisyonel ve fonksiyonel farklılıkların belirlendiği bir yöntemdir. Spektral data, analiz edilerek kalitatif ve kantitatif olarak pik pozisyonlarındaki değişimler, bant genişliklerindeki ve bant yoğunluklarındaki değişimler incelenerek analiz edilen örnek hakkında yapısal bilgiler edinilmektedir. FTIR spektroskopisi, örnek yapısına zarar vermeden, hızlı, kolay uygulanabilen ve hassas bir yöntem olması bakımından avantajlıdır [8]. FT-IR biyolojik sistemlerin analizinde moleküler değişimleri izlemek için de kullanılan bir yöntemdir. Elde edilen veriler fonksiyonel gruplara yakın veya aynı seviyedeki yağlar, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi hücrel bileşiklerdeki değişimlerin belirlenmesi için kullanılabilir [9, 10]. FT-IR ile madde içerisindeki molekül ve atomların infrared ışığı absorpsiyonu ve spektral veri tabanları ile karşılaştırılması ile tanımlanan parmakizine benzer spektrumlar elde edilir [11]. FT-IR yönteminin çok değişkenli data analiz yöntemleri ile birlikte gıdaların sınıflandırılmasında ve kalite kontrolünde kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda FT-IR yöntemi gıdalarda taşıyıcı analizlerinde [12, 13], meyvelerin organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesinde [14], zeytinyağı analizlerinde [15, 16, 17], meyvelerin polifenol içeriklerinin belirlenmesinde [18] kullanılmıştır. Ceviz yağının kullanıldığı bir çalışmada, FT-IR analizi ceviz yağının karakterizasyonunda ve soya yağı ilave edilerek taşıyıcının tespitinde kullanılmış ve FT-IR yöntemi ile %10 saptama limitinde soya yağı taşıyıcı tespit edilebilmiştir [19]. Ceviz atıklarının ya da yan ürünlerinin FT-IR ile analiz edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, FT-IR yönteminin farklı çözümler kullanılarak elde edilen yeşil ceviz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi biyoaktif özelliklerinin tahmin edilmesinde hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılma potansiyeli araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Ekstraktların Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan 2016 yılı mahsulü olan yeşil cevizlerden (*Juglans regia* L.) elde edilen ceviz kabukları kuru olarak temin edilmiş, ekstraksiyon işleminden önce karıştırıcı yardımıyla öğütülmüştür. Sulu ekstraktın hazırlanması sırasında, 200 g'lık örnek içerisinden 5 g toz örnek tartılarak 250 mL kaynamış su içerisinde 45 dakika süresince karıştırılmış ve Whatman no:4 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Metanol, etanol, aseton, metanol-su %50 (v/v), etanol-su %50 (v/v), ve aseton-su %50 (v/v) ekstraksiyonu için 1.5 g örnek tartılarak 25 mL çözümler içerisinde 45 dakika oda sıcaklığında karıştırılmış ve Whatman no:4 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Çözümler vakum altında Büchi R-210 marka rotary evaporatör içerisinde 80°C'de uçurulmuş ve ekstraktlar su içerisinde 50 mg/mL son konsantrasyon olacak şekilde çözdürülmüş ve 4°C'de saklanmıştır. Ekstraksiyon işlemi 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir [20].

Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarında toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi [21] tarafından bildirilen yöntemin değiştirilerek kullanılmasıyla belirlenmiştir. Farklı çözümler ile ekstrakte edilen örneklerden 1 mL alınarak üzerine 2 mL (%7,5 w/v) sodyum karbonat çözeltisi ve 1 mL %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiş ve 90 dakika karanlık ortamda bekletildikten sonra çözümlerin absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazı (Cary 60, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) ile ölçülmüştür. Standart çözelti için 0-100 mg/L arasında hazırlanan gallik asit çözümleri kullanılmıştır. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı standartlardan elde edilen kalibrasyon grafiği ($R^2=0.99$) kullanılarak hesaplanan sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L olarak hesaplanmıştır [20].

Antioksidan Aktivite Tayini

Kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarında antioksidan aktivite analizleri, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikalinin mor renginin açılmasına dayanan yöntemle yürütülmüştür [22]. Analiz için 0.3 mL ekstrakt alınarak 2.7 mL metanol içerisinde hazırlanan DPPH çözeltisi (6×10^{-5} M) içerisine eklenmiştir. Çözelti 60 dakika karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında bekletilmiş, inkübasyon sonunda 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri Cary 60 UV-Vis spektrofotometre cihazı (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin antioksidan kapasitesi Trolox standardından elde edilen

kalibrasyon grafiği ($R^2=0.99$) yardımıyla hesaplanarak sonuçlar $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri} (TE)/L$ olarak verilmiştir.

Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Kurutulmuş yeşil ceviz kabuğu örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri agar difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bakteriler triptik soy agar üzerinde 35°C 'da 18-24 saat inkübasyon sonunda aktifleştirilmiş ve bakteri çözeltilisinin bulanıklığı 0.5 McFarland birimi olacak şekilde steril tuzlu su çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. 0.5 McFarland birimine denk olan koloni sayısı triptik soy agar besiyerine ekim yapılarak 35°C 'de 18-24 saat inkübasyon sonucunda belirlenmiştir. Bakteri kültürleri $45-50^\circ\text{C}$ 'ye soğutulan Muller Hinton Agar içerisine %1 oranında inokule edilmiştir. Ceviz kabuğu ekstraktları $0.22 \mu\text{m}$ gözenek çapındaki membran filtrelerden geçirilerek steril hale getirilmiştir. Besiyeri üzerinde açılan kuyucuklar içerisine hazırlanan ekstraktlar $20 \mu\text{l}$ olacak şekilde eklenmiştir. 35°C for 18-24 saat inkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür [23].

FT-IR Analizleri

FT-IR analizleri için örneklerden $25 \mu\text{L}$ alınarak kristal ATR (Attenuated Total Reflectance) üzerine damlatılmıştır. FT-IR absorpsiyon spektrumu FT-IR spektrometresi (Perkin-Elmer Spectrum Two™, Waltham, MA, ABD) kullanılarak $4,000$ ve 450 cm^{-1} dalga boyu aralığında, 0.5 cm^{-1} spektral rezolusyonda ve 4 tarama sayısı sonucunda elde edilmiştir. Her bir örnek için en az 3 spektrum elde edilmiştir.

Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçları Minitab17 (Minitab Inc., State College, ABD) istatistik programı kullanılarak ANOVA testi ile örnekler arasındaki farklılıkların önem derecesi Fisher'in en küçük anlamlı fark (LSD) yöntemi ile $P<0.05$ düzeyinde belirlenmiştir. PLS regresyon analizleri SIMCA paket programı (Umetrics, İsveç) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. FT-IR spektral datasının $3000-950 \text{ cm}^{-1}$ arasında taranan tüm bölgeler analiz için kullanılmıştır. Spektral data kullanılan program ile otomatik olarak standardize edilmiş ve ortalama merkezleştirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Örneklerin Biyoaktif ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Yapılan analiz sonuçlarına göre kurutulmuş yeşil ceviz kabuğu ekstraktlarında çözgen tipine göre toplam fenolik madde miktarı $146.30 - 44.04 \text{ mg GAE/L}$ değişmektedir. Ceviz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir. Sonuçlara göre en yüksek toplam fenolik madde miktarı su ile elde edilen ekstraktlarda bulunmuştur. DPPH aktivite sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite aseton ile en düşük aktivite metanol ile yapılan ekstraktlarda elde edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı tayinine göre ise en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı su ile yapılan ekstraktlarda, en düşük toplam fenolik bileşik miktarı ise metanol ile yapılan ekstraktlarda elde edilmiştir. Çalışmamızda toplam fenolik madde miktarı ceviz kabuklarının su ekstraktlarında Fernandez Agulló ve ark. [20] tarafından bildirilen çalışmada bulunan sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada bildirilen antioksidan aktivite sonuçlarına göre su ekstraktlarının DPPH aktivite sonuçları çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar ile paralellik göstermiş fakat etanol ve metanol ekstraktlarının sonuçları çalışmamızda daha düşük bulunmuştur. Genel olarak toplam fenolik bileşik miktarları ile antioksidan aktiviteleri ilişkili çıkmıştır. Antimikrobiyal aktivite analizleri sonucunda su ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. *S. aureus* bakterisinin test edilen diğer mikroorganizmalara göre antimikrobiyal aktivite değerlerine göre ceviz kabuğu ekstraktlarına karşı daha hassas olduğu tespit edilmiştir. Ajaiyeoba ve Fadare [24] yaptıkları çalışmada, Afrikan cevizinin kabuk, yaprak, iç kısmı gibi farklı kısımlarının metanol, hekzan, kloroform ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal etkilerini incelemişler ve Gram pozitif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkinin daha fazla olduğunu ve konsantrasyona bağlı olarak antimikrobiyal etkinin değiştiğini bildirmişlerdir. Test edilen mikroorganizmalar üzerine en fazla antimikrobiyal etki yaprak ekstraktında bulunmuştur. Fernandez Agulló ve ark. [20] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı çözgenlerin yeşil ceviz kabuklarının antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri üzerine durulmuştur. Su, metanol, etanol ve %50 metanol çözeltileri denenmiştir. Antioksidan özelliklerin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği bildirilmiş, antimikrobiyal aktivitenin Gram pozitif bakteriler üzerine daha fazla olduğu sonucu elde edilmiştir. Çalışmamızın antimikrobiyal aktivite analizleri sonucunda bildirilen çalışma ile paralel olarak en yüksek aktivite *S. aureus* üzerine bulunmuştur. Pereira ve ark. [4] tarafından bildirilen bir çalışmada farklı çeşit ceviz yapraklarının fenolik bileşikleri, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. Ceviz yapraklarının yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır. Yaprakların antimikrobiyal aktivite analizleri sonucunda Gram pozitif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin yüksek olduğu ve en hassas olan bakterinin *Bacillus cereus* olduğu sonucu elde edilmiştir.

Tablo1. Ceviz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri

Çözgen Adı	Antioksidan Aktivite	Toplam Fenolik Madde Miktarı	Antimikrobiyel Aktivite [inhibisyon alanları (mm)]		
	DPPH (% inhibisyon)	(mg GAE/L)	<i>Staphylococcus aureus</i> *	<i>Escherichia coli</i> *	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **
Su	69.57 ^e	146.30 ^a	+++	+	-
Etanol	1.74 ^f	70.56 ^d	-	-	-
Metanol	0.51 ^f	44.04 ^e	-	-	-
Aseton	83.28 ^a	122.53 ^c	++	-	-
Etanol-su (%50)	78.38 ^c	117.33 ^c	++	-	-
Metanol-su (%50)	79.88 ^b	123.92 ^c	+++	-	+
Aseton-su (%50)	77.12 ^d	137.54 ^b	++	-	-

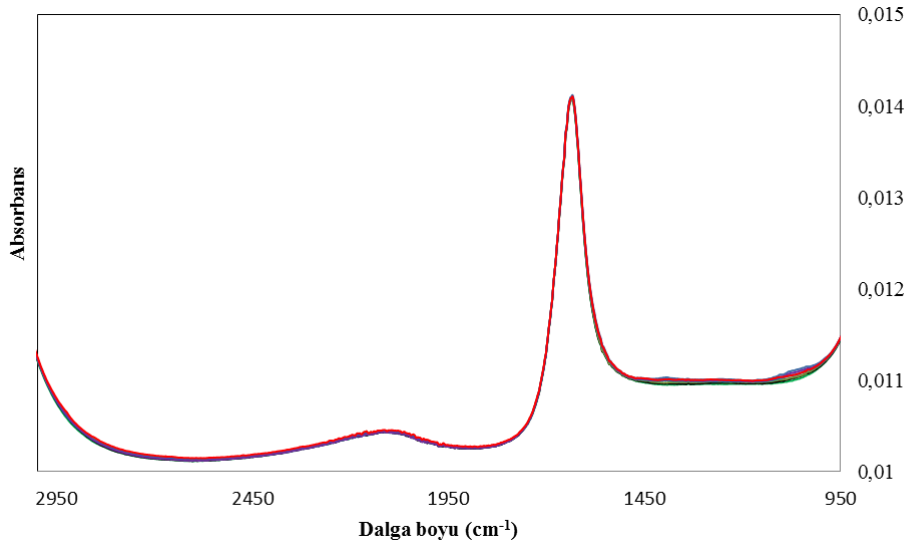
*Antimikrobiyal aktivite için zon inhibisyon alanı >8,0 mm; (+), >10.00 mm; (++) ve >13.00 mm; (+++) ile gösterilmiştir.

^{a-f} Aynı kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli bir fark olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

FT-IR Analizleri

Bu çalışmada FT-IR yöntemi farklı çözümler kullanılarak ekstrakte edilen kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarının toplam fenolik madde miktarını, antioksidan

kapasitesini belirlemede hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmamızda elde edilen ekstraktların FT-IR spektrumu Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Ekstraktların FT-IR spektrumu

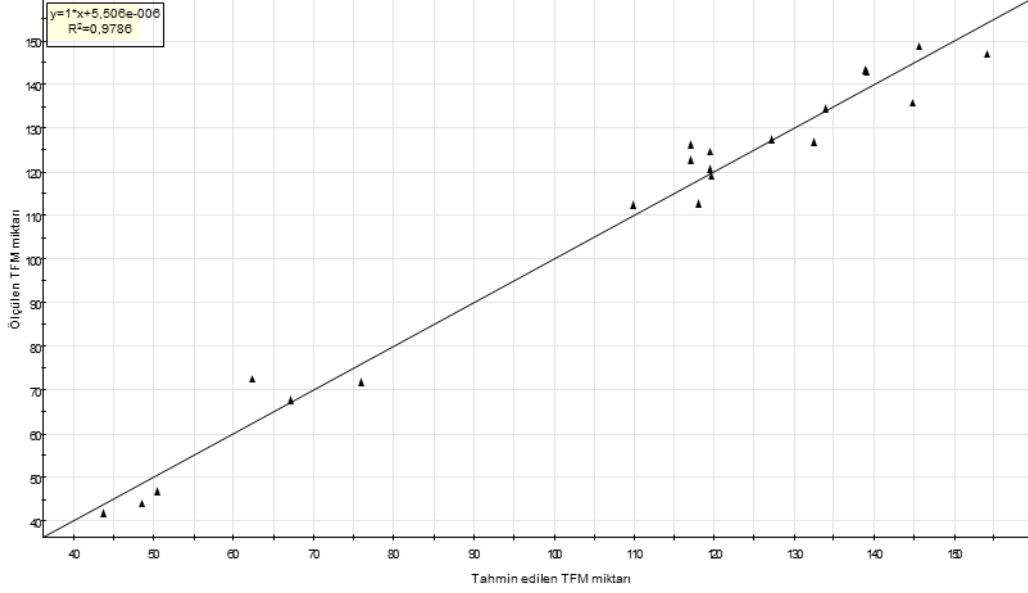
Ekstraktların FT-IR spektroskopisi ile analizi sonucunda elde edilen spektrumda sudan gelen pik 4000 ile 3000 cm^{-1} dalgaboyu arasında tespit edildiğinden bu dalgaboyu aralığı istatistiksel analizlerden çıkarılmış ve 3000 ile 950 cm^{-1} dalgaboyu arasındaki bölge incelenmiştir. Spektrum incelendiğinde 1630 cm^{-1} dalgaboyunda görülen keskin pik benzen halkası olarak tayin edilmekte [25], 1405 cm^{-1} 'deki pik CH_3 asimetric deformasyonu nedeniyle oluşmaktadır [26]. 1200 ile 950 cm^{-1} dalgaboyu arasındaki bölge karbonhidratlardan kaynaklı fonksiyonel grupları içermektedir [27]. $\text{C}\equiv\text{C}$ üçlü bağları 2100 ile 2260 cm^{-1} bölgesinde absorpsiyon piki vermektedir [28].

PLS regresyon analizinden faydalanılarak FT-IR analiz sonuçları ile ekstraktların antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde miktarları tahmin edilmeye çalışılmıştır. Regresyon analizinde oluşturulan denklemin ne derece iyi bir tahminleyici olduğunu belirleyen oran belirlilik katsayısı olarak ifade edilir ve R^2 ile gösterilir. Ölçülen toplam fenolik madde miktarı ile FT-IR verisi kullanılarak elde edilen tahmini toplam

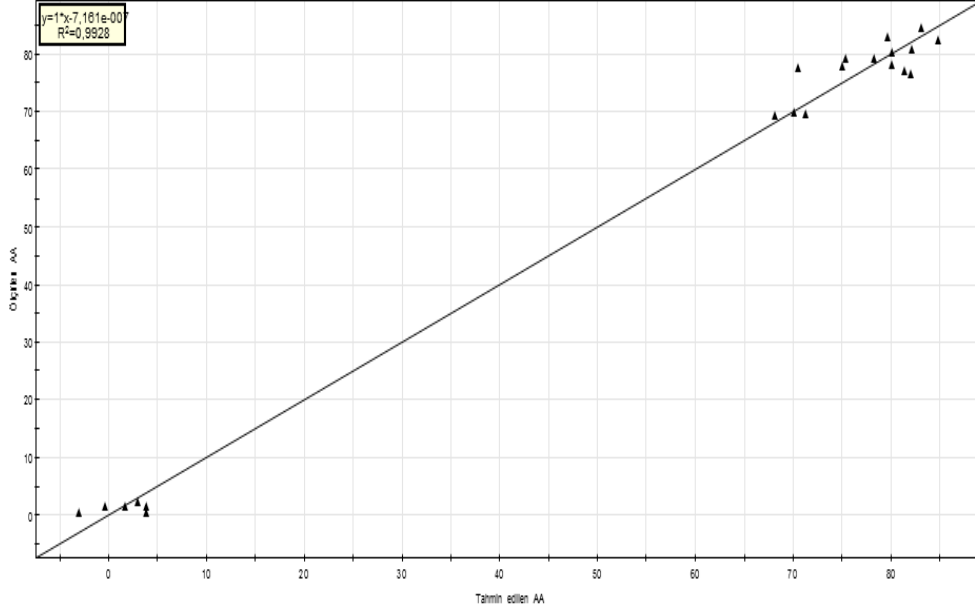
fenolik madde miktarları birbirine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde elde edilen regresyon eğrisinin R^2 değeri 0.979 bulunmuştur. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde miktarlarının birbirine karşı grafiği Şekil 2'de verilmiştir. PLS modeli 5 bileşenle oluşturulmuştur. R^2 değeri 1'e yakın olduğu için modelin iyi bir tahminleyici olduğu söylenebilmektedir. RMSECV değeri 5.35 olarak hesaplanmıştır. RMSEC değeri 5.21 bulunmuştur. Bu iki değer arasındaki fark küçük olmalıdır ve 0'a yakın olmalıdır. Bu çalışmada bu iki değer arasındaki fark 0.14 olarak hesaplanmıştır. Ölçülen antioksidan aktivite değerleri ile FT-IR verisi kullanılarak elde edilen tahmin edilen antioksidan aktiviteleri birbirine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde elde edilen regresyon eğrisinin R^2 değeri 0.993 bulunmuştur. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin birbirine karşı grafiği Şekil 3'de verilmiştir. PLS modeli 5 bileşenle oluşturulmuş, RMSEC değeri 3.03, RMSECV değeri 3.10 olarak bulunmuştur. Bu iki değer arasındaki fark 0.07 olarak

hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite değerleri için de R^2 değerleri 1'e yakın olduğu için oluşturulan modelin iyi bir tahminleyici olduğu sonucuna varılmaktadır. FT-IR yöntemi ceviz yağında taşışın belirlenmesi amacıyla kemometrik yöntemler ile birlikte uygulanmış, soya yağının ceviz yağındaki taşış oranı %5 limitte belirlenebilmiştir [19]. Lu ve ark. [25] tarafından bildirilen bir çalışmada soğan çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri FT-IR spektroskopisi

ile tahmin edilmeye çalışılmış R^2 değeri 0.95'den yüksek, kalibrasyonun standart hata değeri 0.45 bulunmuştur. Diğer bir çalışmada FT-IR spektroskopisi minimum işlenmiş ve depolanmış nar örneklerinin mikrobiyolojik kalitesini tahmin etmek amacıyla kullanılmıştır. PLS regresyon analizi sonucunda R^2 değeri 0.85'den büyük bulunmuştur. RMSE değerleri toplam canlı sayımı için 0.7, maya ve küf sayımı için 1.117 bulunmuştur [29].



Şekil 2. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde miktarlarının birbirine karşı grafiği



Şekil 3. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin birbirine karşı grafiği

SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan farklı çözgen çeşitlerinin (su, etanol, metanol, aseton ve etanol, metanol, asetonun %50 sulu ekstraktlarının) kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarının toplam fenolik madde içeriği, antioksidan

kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Aynı zamanda FT-IR yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, çözgen tipi değiştiğinde ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri, antioksidan aktivitelerinde istatistiksel olarak

önemli bir fark ($P<0.05$) belirlenmiştir. Bununla birlikte ceviz kabuklarının su ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri daha yüksek bulunmuştur. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre su, aseton ve etanol, metanol ve asetonun %50 sulu ekstraktları *S. aureus* bakterisi üzerine daha fazla antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. FT-IR spektroskopisi kullanılarak tahmin edilen toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri ile ölçülen değerlerin PLS regresyon analizleri sonuçları FT-IR yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak başarılı bir şekilde uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 16103016 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Amini, M., Ghoranneviss, M., 2016. Effects of cold plasma treatment on antioxidants activity, phenolic contents and shelf life of fresh and dried walnut (*Juglans regia* L.) cultivars during storage. *LWT - Food Science and Technology* 73: 178-184.
- [2] Akça, Y., 2005. Ceviz Yetiştiriciliği. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı Matbaası, Ankara.
- [3] Stampar, F., Solar, A., Hudina, M., Veberic, R., Colaric, M., 2006. Traditional walnut liqueur – cocktail of phenolics. *Food Chemistry* 95: 627–631.
- [4] Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinhoa, L., 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 45(11): 2287–2295.
- [5] Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wua, J., Wang, Z., 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry* 113: 160–165.
- [6] Kavak, D.D., Altiok, E., Bayraktar, O., Ülkü, S., 2010. Pistacia terebinthus extract: as a potential antioxidant, antimicrobial and possible glucuronidase inhibitor. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 64: 167–171.
- [7] Zivković, J., Zeković, Z., Mujčić, I., Vidović, S., Cvetković, D., Lepojević, Z., Nikolić, G., Trutić, N., 2010. Scavenging capacity of superoxide radical and screening of antimicrobial activity of *Castanea sativa* Mill. extracts. *Czech Journal of Food Science* 28(1): 61–68.
- [8] Davis, R., Mauer, L.J., 2010. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Applied Microbiology* 1: 1582-1594.
- [9] Baran, Y., Ceylan, C., Camgoz, A., 2013. The roles of macromolecules in imatinib resistance of chronic myeloid leukemia cells by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 67: 221-227.
- [10] [1] Lahlali, R., Jiang, Y., Kumar, S., Karunakaran, C., Liu, X., Borondics, F., Hallin, E., Bueckert R., 2014. ATR–FTIR spectroscopy reveals involvement of lipids and proteins of intact pea pollen grains to heat stress tolerance. *Frontiers in Plant Science* 5: 747-757.
- [11] Wenning, M., Breitenwieser, F., Konrad R., Huber, I., Busch U., Scherer S., 2014. Identification and differentiation of food-related bacteria: A comparison of FTIR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods* 103: 44-52.
- [12] Vardin, H., Tay, A., Ozen, B., Mauer, L., 2008. Authentication of pomegranate juice concentrate using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry* 108: 742–748.
- [13] Jaiswal, P., Narayan Jha, S., Borah, A., Gautam, A., Grewal, M.K., Jindal, G., 2015. Detection and quantification of soymilk in cow–buffalo milk using attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 168: 41–47.
- [14] Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J.M., Renard, C.M.G.C., 2009. Application of ATR-FTIR for a rapid and simultaneous determination of sugars and organic acids in apricot fruit. *Food Chemistry* 115: 1133–1140.
- [15] Gürdeniz, G., Özen, B., 2009. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry* 116: 519–525.
- [16] Mata, P., Dominguez-Vidal, A., Bosque-Sendra, J.M., Ruiz-Medina, A., Cuadros-Rodríguez, L., Ayora-Cañada, M. J., 2012. Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. *Food Control* 23: 449-455.
- [17] Hirri, A., Bassbasi, M., Platikanov, S., Tauler, R., Oussama, A., 2016. FTIR Spectroscopy and PLS-DA classification and prediction of four commercial grade virgin olive oils from Morocco. *Food Analytical Methods* 9: 974–981.
- [18] Park, Y.S., Cvikrová, M., Martincová, O., Ham, K.S., Kang, S.G., Park, Y.K., Namiesnik, J., Rombolà, A.D., Jastrzebski, Z., Gorinstein, S., 2015. In vitro antioxidative and binding properties of phenolics in traditional, citrus and exotic fruits. *Food Research International* 74: 37–47.
- [19] Li, B., Wang, H., Zhao, Q., Ouyang J., Wu Y., 2015. Rapid detection of authenticity and adulteration of walnut oil by FTIR and fluorescence spectroscopy: A comparative study. *Food Chemistry* 181: 25–30.
- [20] Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M.S., Valentão, P., Andrade, P.B., González-Álvarez, J., Pereira, J.A., 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products* 42: 126–132.
- [21] Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144–158.
- [22] Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in

- licorice root: their relative astringency and scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 36: 2090–2097.
- [23] Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Ozcan, N., Yalcin, H., 2015. Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT - Food Science and Technology* 63: 144–151.
- [24] Ajaiyeoba, E.O., Fadare, D.A., 2006. Antimicrobial potential of extracts and fractions of the African walnut – *Tetracarpidium conophorum*. *African Journal of Biotechnology* 5(22): 2322-2325.
- [25] Schulz, H., Baranska, M. 2007. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy* 43(1): 13-25.
- [26] Agarwal R., Tandon P., Gupta V.D., 2006. Phonon dispersion in poly (dimethylsilane). *Journal of Organometallic Chemistry* 691(13): 2902-2908.
- [27] Lu, X., Wang J., Al-Qadiri, H.M., Ross, C.F., Powers, J.R., Tang, J., Rasco, B.A. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 129(2): 637-644.
- [28] Graham Solomon, T.W., Craig Fryhle, S.S., 2014. Families of Carbon Compounds. In *Organic Chemistry* (p. 86–98). John Wiley & Sons Singapore Pte. Ltd. ISBN 978- 975-8431-87-8.
- [29] Adiani, V., Gupta, S., Ambolikara, R., Variyar, P.S., 2018. Development of rapid method to assess microbial quality of minimally processed pomegranate arils using FTIR. *Sensors and Actuators B: Chemical* 260: 800-807.
-
-

Soğuk Pres Üzüm Çekirdeği Yağı Atığının Düşük Yağlı Yağ/ Su Emülsiyonların Reolojik Özelliklerine Etkisi

Salih Karasu¹ , Bayram Çetin² , Ömer Said Toker¹ ¹Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalürji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul²Kırklareli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kırklareli

Geliş Tarihi (Received): 03.02.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 05.04.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): bayram.cetin@klu.edu.tr (B. Çetin)

☎ 0 288 214 05 15 📠 0 288 214 05 16

ÖZ

Bu çalışmada soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığının, yağı azaltılmış emülsiyonların üretiminde kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla üzüm çekirdeği yağı atığı ve yağ oranının emülsiyonların akış davranış, dinamik ve 3ITT reolojik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Yağ oranı %10 ve %30 olan iki farklı kontrol örnekleri hazırlanmış, %2 ve %4 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren emülsiyonlar üretilmiştir. Örneklerin akış davranış reolojik özellikleri, *Hershel-Buckley* model ile modellenmiş ve kıvam katsayısı (K), akış davranış indeksi (n) ve akma gerilimi (σ) değerleri hesaplanmıştır. Örneklerin K değerlerine, yağ ve atık oranının etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Örneklerin K değerleri 1.39 ile 3.39 Pas^n arasında tespit edilmiş ve en düşük K değeri yağı azaltılmış örnekten elde edilmiştir. %2 ve %4 üzüm çekirdeği yağı atığı ilavesiyle, örneklerin K değerlerinde önemli bir iyileşme gözlemlenmiştir. Örneklerin dinamik reolojik özelliklerine, yağ oranı ve üzüm çekirdeği yağı atığı oranının etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Bütün örneklerin G' değeri G'' değerlerinden yüksek çıkmıştır, yani tüm örnekler viskoelastik katı karakter sergilemiştir. Örneklerin geri toparlanma özellikleri, 3-ITT reolojik özellikleri test edilerek belirlenmiştir. Örnekler 40 s boyunca yüksek düzeyde (150 s^{-1}) kayma hızına maruz bırakılmış ve sonraki zaman aralığında geri toparlanma eğilimleri gözlemlenmiştir. Bu araştırma sonuçları, üzüm çekirdeği yağı atıklarının, yağı azaltılmış emülsiyonlarda yapıyı güçlendirici olarak kullanılabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Yağı azaltılmış emülsiyon, Reoloji, 3-ITT, Soğuk pres yağ, Atık

Effect of Cold Pressed Grape Seed Oil Waste on Rheological Properties of Oil/Water Emulsions

ABSTRACT

In the present study, the potential use of cold-pressed grape seed oil waste in a reduced-fat emulsion was determined. For this purpose, effects of cold-pressed grape seed oil waste on flow behavior, dynamic and 3-ITT rheological properties of the emulsions were investigated. Two different control samples with 10 or 30% oil content were prepared, and two different emulsions with 2 or 4% grape seed oil waste were produced. The flow behavior properties of samples were modeled by *Hershel-Buckley* model, and consistency coefficient (K), flow behavior index (n) and yield stress (σ) values were determined. The effect of oil and waste content on the K values of samples was significant ($p<0.05$). The K values of samples were between 1.39 and 3.39 Pas^n , and the lowest K value was obtained from the reduced-oil emulsion. A significant improvement in the K values of samples was observed by the addition of 2 or 4% grape seed oil waste. Oil and grape seed oil contents significantly influenced dynamic rheological properties of samples ($p<0.05$). G' values of all samples were higher than G'' in the whole frequency range, indicating that all samples showed viscoelastic solid character. Recovery properties of samples were investigated by 3-ITT test. The samples were subjected to high level of shear rate (150 s^{-1}) in the second interval, and recovery trends were observed

in the third interval. The results of this study suggested that cold-pressed grape seed oil waste could be used as a fat replacer in a reduced fat emulsion.

Keywords: Low-fat emulsions, Rheology, 3-ITT, Cold pressed oil, Waste

GİRİŞ

Son yıllarda yaşamsal kalitenin artması ile birlikte tüketici tercihi, salata gibi minimal işlem görmüş gıdalarda yoğunlaşmıştır. Bu durumun sonucu olarak, salata ile birlikte tüketilen salata sosu ve mayonez gibi emülsiyon ürünlerin tüketiminde ciddi bir artış gözlenmiştir. Ancak bu ürünler yüksek oranda yağ içerdiğinden, kardiyosküler hastalıklar, yüksek kan basıncı, yüksek kolesterol, obezite gibi sağlık sorunlarıyla bu ürünler arasında sıkı bir ilişki kurulmaktadır [1]. Bu olumsuz durum, bu ürünlerin üretilmesinde bir takım alternatiflerin geliştirilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. Tüketiciler daha az yağ içeren ve yapısal olarak aynı özelliklere sahip ürünlere yönelmektedir. Bu tip emülsiyonlarda yağ azaltmak tüketici tercihinin bu açıdan karşılığı olsa da, düşük yağ içeren emülsiyonlarda aynı yapısal özelliklere sahip ürünlerin üretilmesi oldukça güç bir durumdur [2]. Çünkü yağ, emülsiyon içerisinde önemli ölçüde yapıyı güçlendirmekte, viskoelastik katı karakterin artmasında önemli rol almaktadır. Yağ oranının düşmesiyle birlikte viskoelastik katı karakterde azalma gözlenmekte, termodinamik olarak stabilitesi kaybolmaktadır [3]. Bu kusuru telafi etmek için formülasyonda yeni arayışlara yönelinmektedir. Emülgatörler ve stabilizatörler bu tip emülsiyon ürünlerde kıvam artışı sağlayıp viskoelastik özellikleri iyileştirmek amacıyla kullanılan maddelerin başında gelmektedir. Ksantan gam, guar gam, keçi boynuzu gamı, nişasta, mikrokristalin selüloz, pektin, karregen, jelatin ve agar gibi maddeler bu amaçla kullanılan maddelere sayılabilecek örneklerdir [2-4]. Özellikle ksantan gam bu maddeler içerisinde ısı stabilitesinin olması, düşük konsantrasyonlarda reolojik özelliklerde önemli ölçüde iyileşme sağlaması gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilen bir katkı maddesidir. Fakat günümüzde bu maddelerin gerek fiyatlarının fazla olması, gerekse elde edilebilirliklerinin kolay olmaması nedeniyle farklı özellikteki doğal bileşenlere yönelim artmıştır [5].

Soğuk pres yağlar üretimleri sırasında yüksek düzeyde ısı işlem ve çözgen muamelesine maruz kalmadıkları için, rafine yağlara göre biyoaktif bileşenlerde daha az değişim görülmekte ve tüketici tercihi bu yağlarda yoğunlaşmaktadır [6, 7]. Kimyasal muamelesine maruz kalmadıklarından ve yapılarındaki gıda bileşenleri korunduğu için soğuk pres yağ üretimi sonrası ortaya çıkan atıkların, gıda kaynağı olarak kullanım potansiyelleri yüksektir [8]. Soğuk pres yağ üretiminde kullanılacak olan tohum ve çekirdekler üretim öncesi kurutma gibi bir ısı işleme maruz kalmakta ve nem içeriği tohum çeşidine bağlı olarak düşürülmektedir. Yağ ekstraksiyonundan sonra elde edilen atıkta ise kuru maddeyi büyük çoğunlukla proteinler ve polisakkaritler oluşturmaktadır [8]. Bu açıdan bakıldığında soğuk pres yağ atıkları, yapısındaki yüksek miktarda protein ve polisakkarit içeriğinden dolayı, yağı azaltılmış ürünlerde

reolojik özellikleri iyileştirmek amaçlı kullanım potansiyeline sahiptir. Üzüm çekirdeği yağından elde edilen soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığı da, yapısındaki yüksek miktardaki lif ve polisakkarit içeriğinden dolayı yapıyı güçlendirici özelliği ve fenolik maddece zengin olduğundan dolayı da oksidatif stabiliteyi artırıcı özelliğinden dolayı, emülsiyon ürünlerde kullanım potansiyeli yüksektir [9]. Bu çalışmada soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığı kullanılarak, yağı azaltılmış emülsiyon üretimi amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmamızda kullanılan soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığı Neva Gıda Maddeleri ve Baskı Malzemeleri Sanayi Dış Ticaret Limited Şirketi'nden (Esenyurt, İstanbul) temin edilmiştir. Örneklerin hazırlanmasında kullanılan rafine ayçiçeği yağı ise piyasadan temin edilmiştir. Soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığının kuru madde içeriği %93.47, kuru maddede protein, yağ ve ham lif değerleri sırasıyla %9.38, %4.82 ve %45.83 olarak bildirilmiştir [8].

Metot

Emülsiyonların Üretimi

Bu çalışmada %10 yağ içeren (C1), %10 yağ içeren ve %2 (U2) ve %4 (U4) soğuk pres üzüm çekirdeği atığıyla zenginleştirilen ve %30 (C2) yağ içeren emülsiyonlar üretilmiştir. Emülsiyonların üretilmesinde şu yöntem izlenmiştir: Öncelikle %0.4 oranında guar gam oda sıcaklığında suda çözüldürüldükten sonra hidrasyonun tamamlanması için 6 saat manyetik karıştırıcıda 1000 rpm'de karıştırılmıştır. Bu işlemi takiben emülgatör (yumurta sarısı tozu) ve belirlenen oranlarda (%2 ve %4) soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığı ilave edilmiş ve 10000 rpm de ULTRA-TURAKS (Daihan HG15A, Gangwondo, Kore) yardımıyla homojenizasyon işlemi yapılmıştır.

Reolojik Özellikler

Elde edilen emülsiyonların akış davranış, dinamik ve 3-ITT reolojik özellikleri, stres ve sıcaklık kontrollü peltier ısıtma sistemine sahip bir reometre (Anton Paar, MCR 302, Avusturya) ile belirlenmiştir. Tüm reolojik analizler 25 °C'de gerçekleştirilmiştir.

Akış Davranış Reolojik Özellikler

Örneklerin akış davranış reolojik özellikleri paralel plate konfigürasyonu kullanılarak 0-100 kayma hızı (s^{-1}) aralığında belirlenmiş ve prop plaka arasında 0.5mm

boşluk ayarı yapılmıştır. Kayma hızına karşılık gelen kayma gerilimi ve görünür viskozite değerleri kaydedilmiştir. Akış davranış reolojik özelliklere ait parametreler *Hershe-Buckley* model ve doğrusal olmayan regresyon kullanılarak tespit edilmiştir;

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Eşitlikte τ ifadesi kayma gerilimini (Pa), K kıvam katsayısını ($Pa s^n$), $\dot{\gamma}$ kayma hızını (s^{-1}) ve n ise akış davranış indeksini göstermektedir.

Dinamik Reolojik Analizler

Salata sosu örneklerinin dinamik reolojik analizleri, paralel plate konfigürasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle lineer viskoelastik bölgeyi belirlemek için stres taraması testi %0.1 ve %100 strain aralığında gerçekleştirilmiştir. Lineer bölge %1 strain olarak bulunmuş ve bu değer baz alınarak frekans taraması testi, 0.1-64 (ω) açısal hız aralığında yapılmıştır. Açısal hız ve frekans değerine karşılık depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G'') değerleri ölçülmüştür. Dinamik reolojik özellikler ile ilgili parametreler Üssü Yasa model ve lineer olmayan regresyon kullanılarak belirlenmiştir;

$$G'' = K'(\omega)^{n'} \quad (2)$$

Eşitlikte G' değeri depolama modülünü (Pa), G'' değeri kayıp modülü (Pa), ω açısal hız değerini (s^{-1}), K' , K'' kıvam katsayısı değerlerini ($Pa s^{n'}$) ve n' , n'' değerleri ise akış davranış indeksi değerlerini ifade etmektedir [10].

3 -ITT (3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test)

Emülsiyonların 3-ITT reolojik özellikleri sabit kayma hızı değeri olarak $0.5 s^{-1}$ ve değişken kesme hızı değeri olarak $150 s^{-1}$ değeri seçilmiştir. Bu değer emülsiyonların lineer viskoelastik bölgeleri baz alınarak belirlenmiştir. Üç zaman aralık test uygulamasında birinci zaman aralığında $0.5 s^{-1}$ kayma hızı değerine 100 s tabi tutulmuştur. İkinci zaman aralığında ise $150 s^{-1}$ gibi yüksek bir kayma hızı değeri uygulanmıştır. Üçüncü zaman aralığında ise ürün tekrar ilk zaman aralığındaki düşük kesme hızı seviyesine maruz bırakılarak, örneğin G' değerine bakılarak geri toparlanma eğilimi test edilmiştir [11].

İstatistiksel Analizler

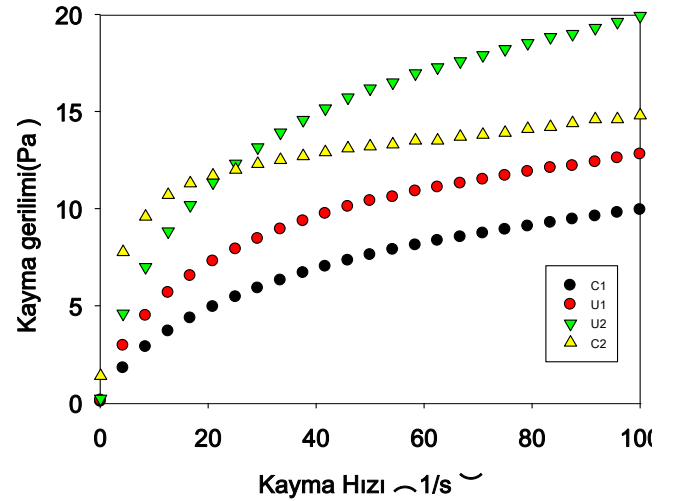
Emülsiyonlar 3 tekerrürlü olacak şekilde üretilmiş ve üretilen örneklerde analizler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Reolojik analizlerden elde edilen veriler varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve Duncan çoklu karşılaştırma testi %5 güven aralığında uygulanmıştır. İstatistiksel uygulamaların yürütülmesinde ise SPSS paket bilgisayar programı (IBM, ABD) kullanılmıştır. Akış davranış ve dinamik reolojik analizlerin *Herschel-Bulkley* ve Üssü Yasa model parametreleri lineer olmayan regresyon analizleri yardımıyla hesap edilmiştir. Lineer olmayan regresyon

analizlerin yapılmasında Statistica (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, ABD) yazılım programından faydalanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Akış Davranış Reolojik Özellikler

Düşük yağlı yağ/su emülsiyonlarının genel özellikleri belirli bir akma gerilimine sahip, artan kayma hızına bağlı olarak viskozitelerinde azalan bir artışın gözlemlendiği Newton tipi olmayan akış davranış tipidir. Yani *Herschel-Buckley* akış davranış tipi bu tip emülsiyon ürünlerde istenen bir akış davranış özelliğidir [12]. Çalışmamızda hazırlanan örneklerin akış davranış reolojik özellikleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü üzere örneklerin artan kayma hızına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinde azalan artış göstermiştir. Diğer bir ifadeyle örneklerin kayma hızı artışıyla birlikte viskozitelerindeki azalma gözlenmiştir. Farklı yağ içeriğine sahip emülsiyonlar için bu tip akış davranış özelliği daha önce yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir [13, 14]. Şekil 1'e bakarak %10 yağ içeren ve atık ile zenginleştirilmeyen örneğin viskozite değerlerinin, diğer öneklere göre belirgin bir şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum yağ/su emülsiyonlarında yağ içeriğinin örneklerin viskozite, kıvam gibi akış özelliklerinde çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Atık ile zenginleştirilen örneklerin reolojik özellikleri ise yağı azaltılmamış emülsiyonun reolojik özelliklerine benzer bir durum sergilemiştir. Bu sonuçlar %2 ve %4 üzüm çekirdeği atığı kullanarak, %20 oranında yağı azaltılmış yağ/su emülsiyonlarının üretilebileceğini göstermektedir.



Şekil 1. Örneklerin akış davranış reolojik özellikleri (C1:%10 yağ içeren örnek, C2:%30 yağ içeren örnek, U1:%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek, U2: %2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek.)

Örneklerin kayma hızına karşılık kayma gerilimi değerleri *Herschel-Bulkley* model ile modellenerek K , n ve τ_0 değerleri elde edilmiştir. Bu değerler Tablo 1 gösterilmiştir. *Herschel-Bulkley* modelin örneklerinin akış davranış reolojik özelliklerinin modellenmesinde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini söyleyebiliriz ($R^2 > 0.95$).

Tablo 1. Emülsiyon örneklerinin akış davranış ve dinamik reolojik özelliklerine ait model parametreleri

Örnekler	K (Pas ⁿ)	n	σ_0 (Pa)	R	K'	n'	R	K''	n''	R
C1	1.39±0.01	0.462±0.006	0.90±0.01	0.9763	1.30±0.00	0.088±0.001	0.9963	1.20±0.00	0.352±0.02	0.9944
C2	3.01±0.01	0.290±0.005	1.15±0.00	0.9855	5.83±0.03	0.202±0.001	0.9994	3.87±0.01	0.258±0.00	0.9555
U1	3.17±0.01	0.395±0.001	1.18±0.01	0.9841	6.47±0.00	0.198±0.001	0.9554	3.73±0.03	0.215±0.01	0.9945
U2	3.39±0.01	0.279±0.007	1.85±0.02	0.9996	7.63±0.01	0.158±0.002	0.9766	5.17±0.05	0.165±0.05	0.9844

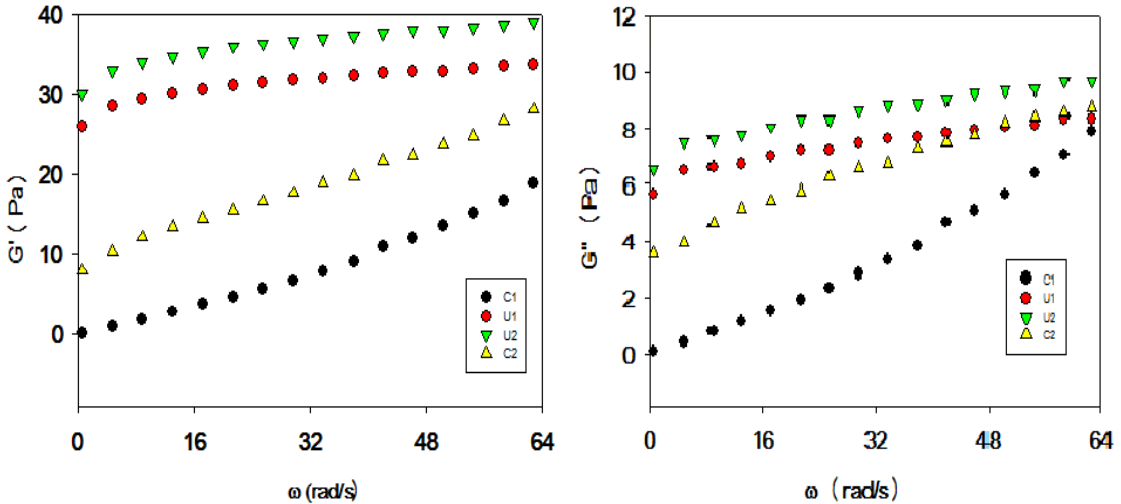
C1:%10 yağ içeren örnek, C2:%30 yağ içeren örnek, U1:%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek, U2: :%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek

Örneklerin K ve n değerleri arasında yağ içeriği ve atık ilavesinin etkisinin önemli olduğunu görmekteyiz. En yüksek K değerini, %4 üzüm çekirdeği atığı ilave edilmiş düşük yağ içeren örnek göstermiştir. %2 atık içeren örneğin K değeri ile, tam yağlı örneğin K değerleri ise birbirine benzer çıkmıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada soğuk pres üzüm çekirdeği atığının önemli oranda lif ve protein içerdiği bildirilmiştir [8]. Üzüm çekirdeği atığındaki yüksek lif ve protein içeriği sayesinde sürekli faz konumundaki suyun tutulması sağlanmış ve yağ oranının almasıyla azalan viskozite ve kıvam tekrar kazanılmıştır. Bu sonuçlar soğuk pres üzüm çekirdeği atığının yağ azaltılmış emülsiyonlarda

yapının güçlendirilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Dinamik Reolojik Özellikler

Salata sosu ve mayonez gibi yağ/su emülsiyonlarında viskoelastik katı karakter istenen bir özelliktir ve G' değeri bu özelliği gösteren en önemli parametredir. Örneklerin dinamik reolojik özellikleri Şekil 2a ve 2b de gösterilmiştir. Her örneklerin tamında tüm frekans değerleri boyunca G' değerleri G'' değerinden daha yüksek çıkmıştır. Bu durum örneklerin viskoelastik katı davranış gösterdiğine işaret etmektedir.



Şekil 2. Örneklerin açısal hız değerlerine karşılık G' ve G'' değerleri (C1:%10 yağ içeren örnek, C2:%30 yağ içeren örnek, U1:%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek, U2: :%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek)

Örneklerin G' değerlerine baktığımızda en yüksek değerlere sahip örneğin %4 atık ile zenginleştirilmiş yağ azaltılmış örnek olduğu, %2 atık ürünle zenginleştirilen ürüne sahip G' değerleri ise %30 yağ içeriğine sahip ürünün G' değerlerine yakın olduğu görülmektedir. Yağ azaltılmış kontrol örneğinin G' değerinin ise %30 yağlı ürüne göre oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum yağ içeriğinin viskoelastik katı karakterin oluşmasında oldukça öneme sahip olduğunu göstermektedir. Bu tip emülsiyonlarda yağ fraksiyonunun artışıyla birlikte G' ve G'' değerlerindeki artış daha önce yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir [15]. Yağ fraksiyonunun artmasıyla özellikle G' değerindeki artış emülsiyon içindeki sabit faz konumundaki yağ moleküllerinin birbirleri arasındaki uzaklığın azalmasıyla oluşan güçlü sterik itme gücü ve hareketli fazı oluşturan

su fraksiyonunun azalmasıyla açıklayabiliriz. Bu durumda yağ damlacıkları emülsiyon içerisinde daha kompakt bir şekilde disperse olmuştur. Bu tür ürünlerde yağ oranına bağlı olarak gözlenen artış farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir [15, 16].

Dinamik reolojik analizler sonucunda açısal hıza karşılık elde edilen G' ve G'' değerleri üssü yasa modeli ile modellenmiş K' , K'' , n' ve n'' değerleri elde edilmiştir. K' ve K'' üssü değerlerinin diğer örneklerde daha yüksek çıkması örneğin daha kompakt bir yapıya sahip olduğunu, K' değerinin K'' değerinden daha yüksek çıkması ise örneğin viskoelastik katı karaktere sahip olduğunu göstermektedir [17]. Bu değerler Tablo 1 de gösterilmiştir. Tablodan görüleceği üzere örneklerin K' , K'' , n' ve n'' değerlerine yağ içeriği ve atık içeriği önemli

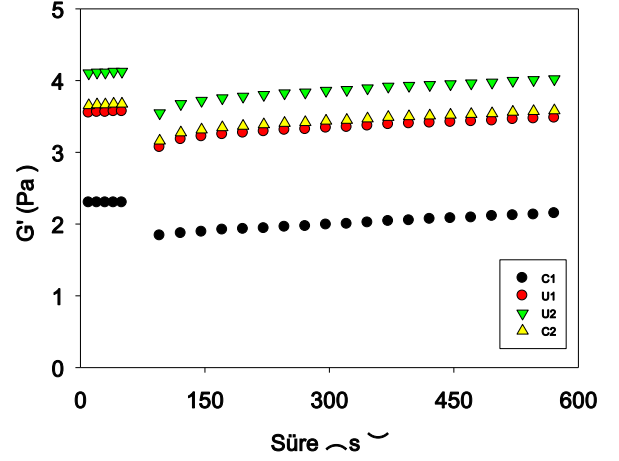
derecede etki göstermiştir ($p < 0.05$). En düşük K' , K'' değerleri sırasıyla C1 ve U2 örneklerinden elde edilmiştir. C2 ve U1 örneklerinin K değerleri arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir. Bu durum yağ içeriği ile birlikte yapıdan gözlenen zayıflamanın üzüm çekirdeği atığı ilavesiyle düşük güçlendirilebileceğini göstermektedir. Böylece düşük yağ içeriği değerinde bile, aynı viskoelastik özelliklere sahip ürünlerin üretilebileceği görülmektedir.

3-ITT Reolojik Özellikler

Yağ/su emülsiyonları gerek üretim sırasındaki yüksek hızda karıştırma ve homojenizasyon gibi bazı prosesler sırasında, gerekse tüketim sırasında bazı deformasyonlara maruz kalabilmektedir. Özellikle düşük ve orta derecede yağ içeren salata sosu ve diğer soslarda bu deformasyonun kalıcı olması istenmez. Bu durumda ürünün kaybettiği viskoelastik özelliklerini belirli bir zaman sonrasında tekrar kazanması beklenir (geri toparlanma). 3-ITT analizi özellikle emülsiyonlarda geri toparlanmayı çok iyi bir şekilde gösteren bir reolojik analizdir. 4 farklı emülsiyonun 3-ITT reolojik özellikleri Şekil 3 de gösterilmiştir. Şekilden de görüleceği üzere, 40 s kayma hızı uygulandıktan sonra belirli bir deformasyon göstermiş ve belirli bir zaman sonra toparlanma eğilimine geçmiştir. U1 ve C2 örneklerinden elde edilen geri toparlanma grafiklerinin birbirlerine benzer oldukları şekilden açıkça görülmektedir. Bu sonuç yağı azaltılan örneklerde üzüm çekirdeği atığının emülsiyonun geri toparlanma özelliğini iyileştirdiğini göstermektedir. U2 örneğinin grafiğine baktığımızda ise 40 s'lik deformasyon sonucunda hızlıca toparlandığını görmekteyiz. C1 örneğinde ise toparlanmanın diğer örneklerle göre daha yavaş olduğu gözlenmektedir. Bu durumu yağ içeriği düşmesiyle birlikte, azalan kuru madde neticesinde hareketli fazın miktarının artması, viskoelastik özelliğin azalması ve böylece ani deformasyonla birlikte geri toparlanma eğiliminin azalmasıyla açıklayabiliriz. Ayrıca yağ moleküllerinin emülgatör ve stabilizatör gibi maddelerle interaksyona geçmesi yapının daha güçlü olmasında diğer bir etkidir. Üzüm çekirdeği atığında bulunan lif ve proteinlerin suyu tutması ve hareketli fazın kontrol edilmesini sağlaması ve yağ, stabilizatör ve emülgatörlerle interaksyona geçmesini, ürünün geri toparlanmasında en önemli etken olarak açıklayabiliriz.

SONUÇ

Bu çalışmada soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığının, düşük yağ yağlı emülsiyon ürünlerde kullanım olanağı araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda üzüm çekirdeği yağı atığı içeren emülsiyonlar üretilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar soğuk pres üzüm çekirdeği yağı atığı ilavesinin örneklerin akış davranış, dinamik ve 3-ITT reolojik özelliklerinde önemli derecede iyileşme sağlayacağını göstermektedir. Böylece üzüm çekirdeği yağı atığı, yağı azaltılmış ürünlerin formülasyonlarında doğal bir yağ azaltıcı ajan olarak kullanılabilir ve soğuk pres yağ üretiminde ortaya çıkan bu atık ürünün değerlendirilmesinde önemli bir olanak sağlanacaktır.



Şekil 3. Örneklerin 3-ITT reolojik özellikleri (C1:%10 yağ içeren örnek, C2:%30 yağ içeren örnek, U1:%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek, U2: :%2 üzüm çekirdeği yağı atığı içeren örnek)

KAYNAKLAR

- [1] Mozafari, H.R., Hosseini, E., Hojjatoleslami, M., Mohebbi, G.H., Jannati, N., 2017. Optimization low-fat and low cholesterol mayonnaise production by central composite design. *Journal of Food Science and Technology* 54(3): 591-600.
- [2] Ma, Z.Boye, J.I., 2013. Advances in the design and production of reduced-fat and reduced-cholesterol salad dressing and mayonnaise: a review. *Food and Bioprocess Technology* 6(3): 648-670.
- [3] Dickinson, E., 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17(1): 25-39.
- [4] Dickinson, E., 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids* 23(6): 1473-1482.
- [5] Naji, S., Razavi, S.M.A., Karazhiyan, H., 2012. Effect of thermal treatments on functional properties of cress seed (*Lepidium sativum*) and xanthan gums: A comparative study. *Food Hydrocolloids* 28(1): 75-81.
- [6] Symoniuk, E., Ratusz, K., Krygier, K., 2017. Oxidative stability and the chemical composition of market cold-pressed linseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119(11): 1-9.
- [7] Al Juhaimi, F., Özcan, M.M., 2018. Effect of cold press and soxhlet extraction systems on fatty acid, tocopherol contents, and phenolic compounds of various grape seed oils. *Journal of Food Processing and Preservation* 42(1): 1-8
- [8] Karaman, S., Karasu, S., Tornuk, F., Toker, O.S., Geçgel, Ü., Sagdic, O., Ozcan, N., Gül, O., 2015. Recovery potential of cold press byproducts obtained from the edible oil industry: physicochemical, bioactive, and antimicrobial properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63(8): 2305-2313.
- [9] Mirbagheri, V.S., Alizadeh, E., Yousef Elahi, M., Esmailzadeh Bahabadi, S., 2018. Phenolic content and antioxidant properties of seeds from

- different grape cultivars grown in Iran. *Natural Product Research* 32(4): 425-429.
- [10] Yoo, B., Rao, M.A., 1996. Creep and dynamic rheological behavior of tomato concentrates: effect of concentration and finisher screen size. *Journal of Texture Studies* 27(4): 451-459.
- [11] Toker, O.S., Karasu, S., Yilmaz, M.T., Karaman, S., 2015. Three interval thixotropy test (3ITT) in food applications: A novel technique to determine structural regeneration of mayonnaise under different shear conditions. *Food Research International* 70(Supplement C): 125-133.
- [12] Diftis, N.G., Biliaderis, C.G., Kiosseoglou, V.D., 2005. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate-dextran mixture. *Food Hydrocolloids* 19(6): 1025-1031.
- [13] Fernandez, V.E., Palazolo, G.G., Bosisio, N.A., Martínez, L.M., Wagner, J.R., 2012. Rheological properties and stability of low-in-fat dressings prepared with high-pressure homogenized yeast. *Journal of Food Engineering* 111(1): 57-65.
- [14] Bortnowska, G., Balejko, J., Tokarczyk, G., Romanowska-Osuch, A., Krzemińska, N., 2014. Effects of pregelatinized waxy maize starch on the physicochemical properties and stability of model low-fat oil-in-water food emulsions. *Food Hydrocolloids* 36: 229-237.
- [15] Tadros, T., 2015. Viscoelastic properties of sterically stabilised emulsions and their stability. *Advances in Colloid and Interface Science* 222(Supplement C): 692-708.
- [16] Pero, M., Emam-Djomeh, Z., Yarmand, M.S., Samavati, V., 2014. Stability and Rheological Properties of Model Low-Fat Salad Dressing Stabilized by Salep. *Journal of Dispersion Science and Technology* 35(2): 215-222.
- [17] Sikora, M., Badrie, N., Deisingh, A.K., Kowalski, S., 2008. Sauces and dressings: a review of properties and applications. *critical reviews in Food Science and Nutrition* 48(1): 50-77.
-

Glütensiz Ekmek Formülasyonlarında Nohut Unu Kullanımının Ekmeğin Kalitesi Üzerine Etkisi

Damla Barışık¹, Şebnem Tavman²¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova İzmir²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova İzmir

Geliş Tarihi (Received): 09.08.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 02.12.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): damlabrsk@gmail.com (D. Barışık)

☎ 0 232 388 23 95 📠 0 232 342 75 92

ÖZ

Çalışma kapsamında farklı oranlarda nohut unu kullanımının üretilen pirinç bazlı glütensiz ekmeklerin kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Pirinç bazlı glütensiz ekmekler direk hamur fermantasyon metoduyla elde edilmiştir. Nohut unu (%10.59 nem, %19.11 protein, %2.84 kül) ve esmer pirinç unu (%15.79 nem, %4.94 protein, %1.44 kül); diyet lifi, protein ve mineralce zengin olması nedeniyle kullanılmıştır. Glütensiz ekmek örneklerinin kalite karakteristiği % pişme kaybı, özgül hacim, protein, kül, renk, doku profil ve SEM analizi metotlarıyla değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, glütensiz ekmek formülasyonlarında nohut unu miktarındaki artış, ekmek özgül hacim ve pişme kaybını azaltırken kül, protein ve CIE L*, a*, b* değerlerini arttırdığı bulunmuştur (p<0.05). Aynı zamanda, ekmek formülasyonlarında nohut unu miktarı ve depolama süresi artmasıyla sertlik değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir (p<0.05). Duyusal analiz sonuçlarına göre en beğenilen ekmeğin %40 nohut unlu ekmek örneği olduğu belirlenmiştir (p<0.05).

Anahtar Kelimeler: Nohut unu, Ekşi maya, Reoloji, Çölyak hastalığı

Using Chickpea Flour in Gluten Free Bread Formulation to Effect of Bread Quality

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of using different amounts of chickpea flour on quality characteristics of rice-based gluten free bread. Rice-based gluten free breads were produced by straight dough fermentation procedure. Chickpea flour (10.59% moisture, 19.11% protein, 2.84% ash) and brown rice flour (15.79% moisture, 4.94% protein, 1.44% ash) were used because of their high contents of dietary fiber, minerals and especially protein. The quality characteristics of gluten free breads were determined by performing % baking loss, specific volume, protein, ash, color, texture profile analysis and SEM. As a result of the analyses, increasing the amount of chickpea flour in gluten-free bread formulations decreased the specific volume and baking loss while increasing ash, protein and CIE L*, a*, b* values of gluten-free bread samples (p<0.05). Meanwhile, it has been observed that increasing the amount of chickpea flour in breads and duration time increased the hardness value of gluten-free bread samples (p<0.05). According to the results of the sensory analysis, the most liked bread sample was gluten-free bread sample including 40% chickpea flour.

Keywords: Chickpea flour, Sourdough, Rheology, Celiac disease

GİRİŞ

Küreselleşmenin etkileri ve teknolojinin hızlı bir biçimde gelişmesi sonucunda toplumların sosyal ve ekonomik yapılarından bireylerin beslenme alışkanlıklarına kadar pek çok değişim meydana gelmektedir. Ancak bu değişime rağmen beslenme konusunda tahıl ve ürünlerinin Türkiye ve dünyada hala önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir [12, 26, 53, 59, 62]. Son yıllarda bazı tahıllar çeşitli katkı maddeleri yardımıyla diyet lifi ile zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdalar üretmek amacıyla kullanılmaktadır [60]. Tahıl bazlı fonksiyonel gıdaların insan sağlığını olumlu yönde etkilemesi nedeniyle tahıl kullanılarak yeni gıda ürünlerinin geliştirilmesi önemli bir yer tutmaktadır [44]. Besleyici özelliğinin yanı sıra tahılların ekonomik olması da dünya nüfusunun kullandığı temel gıda maddesi olmasını etkilemektedir [12, 58, 59]. Bunların yanı sıra dünya popülasyonunun %1-2'sinde çölyak hastalığının görülme sıklığı bulunması sonucunda glutensiz gıdalara olan ilgi artmakta ve tahıllı gıdaların üretimi için alternatif yöntemler araştırılmaktadır [4, 17, 28, 29, 31, 36, 43, 49, 61].

Buğday, mısır, çavdar, çeltik, arpa, yulaf gibi tanelerin tümünü ifade etmek için tahıl terimi kullanılmaktadır [59]. Buğday (*Triticum aestivum*) ise ekmek yapımında kullanılmakta ve tüm dünyada hasat edilen, kökeni güneybatı Asya ve Akdeniz bölgesine dayanan ek yıllık otsu bitki cinsi olup, Poaceae familyasının bir türü olarak tanımlanmıştır [57]. Buğdayın yapısında yer alan glutenin protein fraksiyonu viskoelastik hamur oluşumdan sorumludur ve bu hamur daha sonra ekmek, makarna ve diğer gıda ürünlerine işlenmektedir [20]. Bu protein fraksiyonu çölyak hastaları tarafından tolere edilememektedir [29]. Çölyak hastalığı, genetik yatkınlığın da etkili olduğu ve gıdalardaki glutenin varlığı sonucu ortaya çıkan bir enteropati [67]; buğday ve diğer tahıllarda bulunan gluten ve glutene benzer proteinlerin vücuda alınması sonucunda ortaya çıkan ve diğer ismiyle glutene hassas bağırsak sistem olarak bilinen bir gıda intoleransı [58] ya da buğday gliadin fraksiyonuna ve çavdar (sekalin), arpa (hordein) ve yulaf (avidin) prolaminlerine karşı ömür boyu intolerans [22, 24, 44, 46, 50, 55] olarak tanımlanmaktadır. Glüten intoleransına karşı tek tedavi metodunun glutensiz beslenme olduğu, diğer tedavi alternatifleri arasında ilk sırada gluten ön sindirimini sağlayan glutenaz kullanımı olduğu öne sürülmektedir [11]. Çölyak hastalığının Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Avustralya yanı sıra Hindistan, Orta Doğu ve Kuzey Afrika gibi bölgelerde de görülmeye başladığı bildirilmektedir [35].

Çölyak hastalarının sayısının artışı ile glutensiz ürünlere duyulan gereksinimin artması ve çeşitli tahıl unlarının sağlık açısından faydaları nedeniyle çeşitli glutensiz unların nişasta, hayvansal ve bitkisel protein kaynakları ve hidrokolloidler ile çeşitli oranlarda bileşimleri sayesinde glutensiz ekmek yapımı konusunda çalışmalar bulunmaktadır [23, 34, 40, 41, 42, 52, 54]. Doğun ağız hissi, iyi düzeyde kabul edilebilirlik ve uzun raf ömrü gibi olumlu yönleriyle nohut unu (*Cicer arietinum* L.) [3, 37, 39], esmer pirinç unu [27, 41, 49] ve patates nişastası [42, 45] gibi önemli alternatif

bileşenlerin yapısal özellikleri glutensiz fırıncılık ürünlerinin hazırlanması ve geliştirilmesinde kullanılabilirlerdir.

Bu çalışma esnasında *S. cerevisiae* içeren glutensiz ekmek üretimi yapılacaktır. Çalışmada; glutensiz ekmek tüketenlere özellikle de çölyak hastalığına sahip kişilere sağlıklı, arzulanabilir niteliklerde bir ürün sunabilmek hem de ürün çeşitliliğini arttırabilmek amacıyla esmer pirinç ekmeğine belirli oranlarda eklenmiş nohut unu kullanılacaktır. Nohut unu kullanılmasının temel nedeni ise nohutunun; protein (22.39g/100g), lif (10.8g/100g) ve mineral içeriği (Ca, Fe, Mg, P, K, Na, Zn miktarları sırasıyla 45mg; 4.86mg; 166mg; 318mg; 846mg; 64mg; 2.81mg/100g) bakımından zengin olmasıdır [60].

MATERYAL ve METOT

Materyal

Glutensiz ekmek üretimi için kullanılan hammaddeler; nohut unu (Doğalsan Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti, Ankara Türkiye), esmer pirinç unu (Değirmen Tic., İzmir, Türkiye), patates nişastası (Hasal Tarım Ur. San. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye), şeker, tuz, sıvı yağ, kuru maya (Pakmaya, İzmir, Türkiye) ve ksantan gamdır (Sigma-Aldrich). Esmer pirinç unu, 0.5 mm'lik elekten geçebilecek şekilde laboratuvar tipi çekiçli değirmende (Armfield, UK) öğütülmüştür.

Metot

Kimyasal Kompozisyon

Kullanılan unların protein [2] LECO Nitrojen/Protein Analizörü FP-528 cihazıyla (Leco, St. Joseph, Mich., ABD), nem [10], kül [30], pH [1], su aktivitesi TESTO-AG 400 (Almanya) su aktivitesi ölçüm cihazıyla ve renk [21] değerleri belirtilen metotlar baz alınarak iki tekerrürlü ve iki paralelli olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca un örneklerine SEM analizi x2500 büyütme oranında Quanta FEG 250 (FEI, ABD) markalı taramalı elektron mikroskopu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nohut ve esmer pirinç ununun protein değerleri sırasıyla 6.25 [5, 33, 56] ve 5.69 [19] nitrojen dönüşüm faktörü kullanılarak belirlenmiştir.

Pişirme Prosedürü

Glutensiz nohut unu katkılı ekmeklerin üretimi Tablo 1'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bileşen yüzdeleri, 100g un üzerinden ifade edilmektedir. Ekmek formülasyonları, [6] tarafından kullanılan formül baz alınarak modifiye edilmiş ve tüm ekmeklerdeki su oranı sabit tutulmuştur. Glutensiz ekmek üretiminde un ve nişasta karışımının % 0-20-40-60'luk kısmında nohut unu kullanılmakta ve bu karışımın geriye kalan kısmını Tablo 1'de gösterildiği şekilde %50 esmer pirinç unu ve %50 patates nişastası oluşturmaktadır. Hamur; un karışımı, nişasta, tuz, şeker, ayçiçeği yağı, kuru maya ve suyun 8 dk. boyunca 4. kademe ve daha sonradan ksantan gum ekleyip aynı kademe 2 dakika daha karıştırılmasıyla elde edilmektedir (Kitchen Aid, 5KSM, Elk Grove Village, ABD). Elde edilen hamur 30°C'de

%70-75 relatif rutubette 15 dakika fermantasyona tabi tutulmaktadır (Inoksan FGM 100, Türkiye). Hamur homojenize edilip ekmek panlarına 400g'lık kesilerek aynı koşullarda 20 dakikalık ikinci bir fermantasyona tabi tutulmaktadır. Glütensiz ekmekler, 220°C'de 30 dakika

boyunca Vestel marka bir konveksiyonel fırında pişirilmiş ve soğumak üzere 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüm analizler pişirme işlemini takiben 24 saat sonra gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Nohut Unu Katkılı Ekmek Üretiminde Kullanılan Bileşenler (%)

İçindekiler (%)	Nohut Unu Oranı* (%)			
	0	20	40	60
Nohut unu	-	20	40	60
Esmer pirinç unu	50	40	30	20
Patates nişastası	50	40	30	20
Tuz ¹	2	2	2	2
Şeker ¹	6	6	6	6
Ayçiçek yağı ¹	4	4	4	4
Maya ¹	3	3	3	3
Ksanthan gum ¹	1	1	1	1
Su ¹	90	90	90	90

*Nohut unu ikamesi esmer pirinç unu+patates nişastası üzerinden % olarak yapılmıştır. ¹Bileşenlerin her biri nohut unu+esmer pirinç unu+ patates nişastası üzerinden % olarak uygulanmıştır.

Ekmek Analizleri

Glütensiz ekmeklerin kalite karakteristiklerini belirlemek amacıyla % pişme kaybı, spesifik hacim [20], renk [21], tekstür profil analizi ve SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Spesifik hacim; 25°C'de pişirmeden bir gün sonra kolza

tohumu yer değiştirme metoduna baz alınarak yapılmış; spesifik hacim değeri, ekmek hacmi/ ağırlığı (cm³/g) ve % pişme kaybı ise aşağıdaki formülasyonla hesaplanmaktadır [63]. Ölçümler her bir ekmek örneği için üç kez tekrar edilmiştir.

$$\text{Pişme Kaybı (\%)} = (\text{Başlangıç Hamur Ağırlığı} - \text{Ekmeğin Soğuduktan Sonraki Ağırlığı}) \times 100 / \text{Başlangıç Hamur Ağırlığı}$$

Doku analizi ise her bir ekmek örneğinin orta kısmından üç parça alınarak 1. ve 3. günlerde gerçekleştirilmiştir [8, 37]. Her bir ekmek dilimi 25 mm kalınlığında kesilmiş ve analiz öncesi ekmeğin kabuk kısmı kesilerek uzaklaştırılmıştır. Analiz; 25 mm çaplı alüminyum silindirik prob ve 10 kg ağırlıklı TA_XTEExpress tekstür analiz cihazı (Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) ile gerçekleştirilmiştir. Prob; test öncesi, test ve test sonrası hızları 2 mm/s, trigger kuvveti 20 g ve ekmek kalınlığının %40'ını sıkıştırarak şekilde (10 mm) ayarlanmış, sertlik, yapışkanlık, esneklik değerleri ölçülmüştür.

Ekmek örneklerinin L* (parlaklık; L*=100, beyaz; L*=0, siyah), a* (+a), kırmızılık; (-a), yeşillik), b* (+b), sarılık; (-b), mavilik) renk değerleri Konica Minolta CM 700D (Japonya) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Kabuk renk ölçümü beş farklı noktadan; ekmek içi renk ölçümü ise ekmek merkezine yakın dört farklı dilim kullanılarak elde edilmiştir. Glütensiz ekmek örneklerinin su aktivitesi değerlerinin belirlenmesinde TESTO-AG 400 (Almanya) su aktivitesi ölçüm cihazı kullanılmıştır.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Glütensiz ekmek örneklerinin gözenek yapısını incelemek amacıyla Quanta FEG 250 (FEI, ABD) markalı taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Analiz öncesinde ekmek örnekleri yaklaşık 1 cm³ boyutunda kesilmiş ve 3 saat boyunca -40°C'deki liyofilizatörde (Armfield, FT 33 Vacuum Freeze Drier, İngiltere) kurutulmuştur. Örneklerin büyütme oranları

ekmek örnekleri için x1000 ve un örnekleri için x2500 olarak alınmıştır.

Duyusal Analiz

Duyusal değerlendirme için; sıralama testi uygulanmıştır. Panelistler Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki öğretim elemanı ve lisansüstü öğrencilerinden seçilmiştir. Üretilen glütensiz ekmekler dilimlenerek daha önceden yarı eğitilmiş 20 panelist tarafından ekmek içi rengi, ekmek içi sertliği, lezzet ve genel beğeni tercihlerini 1 (en az veya en açık) ile 4 (en çok veya en koyu) arasında sıralaması istenmiştir [7].

İstatistiksel Analiz

SPSS 20.0 (SPSS Inc., ABD) paket programıyla %95 güven aralığında varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kimyasal Kompozisyon

Nohut unu, esmer pirinç unu ve patates nişastasının kimyasal kompozisyonu Tablo 2, renk değerleri (L*, a* ve b*) değişimi Tablo 3'te verilmiştir. Literatürde nohut unu için kül miktarı %2.72-2.91 ve protein miktarı %18.5-24.3 [15, 32] nem miktarı %7.26-8.47 [25] olarak belirtilmiş kül ve protein değerlerinin literatürle uyumlu olduğu nem değerinin ise daha yüksek olduğu

gözlemlenmektedir. Esmer pirinç unu için literatürde kül miktarı %1.27-1.54 [16] nem miktarı %14.92-15.98 [65] protein miktarı %7.3-9.06 [14, 69] olarak belirtilmiş, kül ve nem değerlerinin literatürde belirtilen değerlerle uyumlu olduğu protein değerinin ise daha düşük olduğu gözlemlenmektedir. Patates nişastası kül miktarı %0.20-0.30 [47] olarak bulunmuş ve Tablo 2 ile kıyaslandığında elde edilen değerlerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Ravi ve Harte, nohut unu L değerini 86.90-87.43, a değerini 0.74-1.23 ve b değerini 17.37-17.92 olarak belirtmişlerdir [51]. Aguilar ve ark. nohut unu $L^*=86.94$, $a^*=-2.47$, $b^*=22.11$ olduğunu bulmuşlardır [2]. Literatürde bulunan sonuçlar Tablo 3 ile kıyaslandığında nohut unu L^* ve a^* değerlerinin daha düşük b^* değerinin ise daha yüksek olduğu gözlemlenmektedir.

Tablo 2. Un ve nişasta örneklerinin kimyasal kompozisyonları*

	Nohut Unu	Esmer Pirinç Unu	Patates Nişastası
Nem (%)	10.59	15.79	16.75
Kül ^a (%)	2.84	1.44	0.33
Protein ^{a,b} (%)	19.11	4.94	-
pH	6.63	6.68	7.03
Su aktivitesi (a_w)	0.618	0.707	0.621

a: kuru maddede; b: nohut unu için: 6.25, esmer pirinç unu için: 5.69

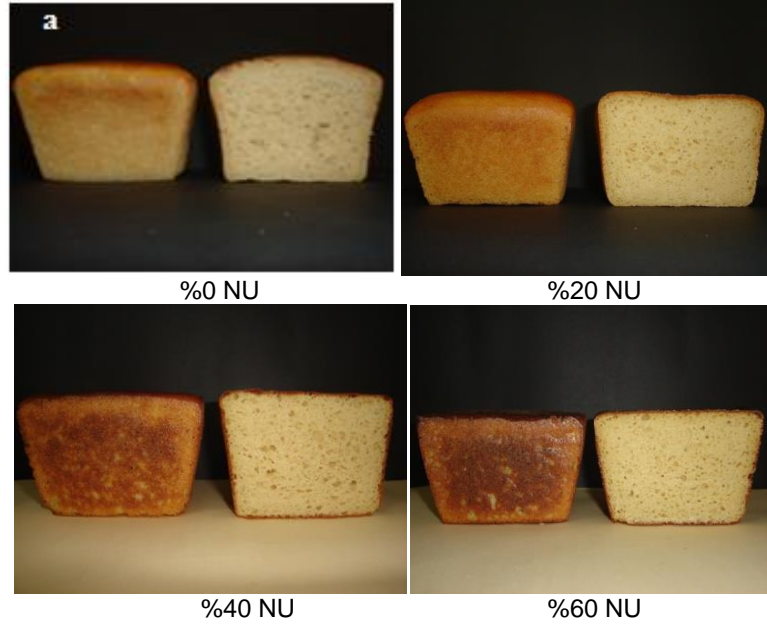
Tablo 3. Un ve nişasta örneklerinin renk değerleri

Renk Parametresi	Nohut Unu	Esmer Pirinç Unu	Patates Nişastası
L^*	83.46	82.68	93.77
a^*	0.60	1.04	-0.45
b^*	23.88	11.11	2.43

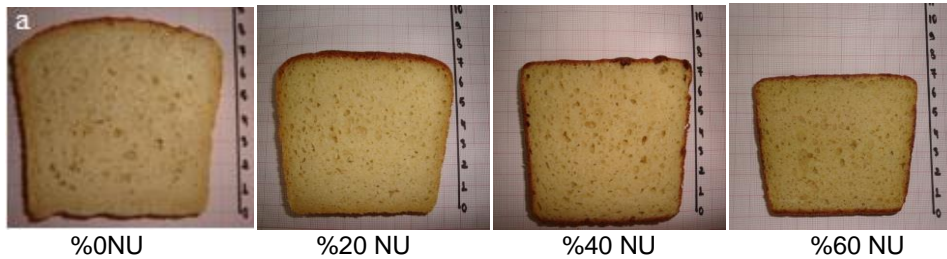
Ekmek Denemeleri Sonuçları

Nohut unu ilaveli glutensiz ekmek örneklerinin somun ve dilim görüntüleri sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2'de; pişme

kayı, özgül hacim, nem, su aktivitesi, protein ve kül değerleri Tablo 4'de verilmiştir.



Şekil 1. Nohut unu ilaveli glutensiz ekmeklerin somun görüntüleri.



Şekil 2. Nohut unu ilaveli glutensiz ekmeklerin dilim görüntüleri.

Farklı oranlarda nohut unu içeren glütensiz ekmeklerin pişme kaybı, özgül hacim, protein, kül, nem ve su aktivitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Ekmek örneklerinin nem içerikleri %49.83-51.09 arasında değişmektedir. En yüksek nem miktarı, esmer pirinç unu ve patates nişastasından oluşan %0 NU (kontrol) grubu ekmeğinde gözlenmektedir, en düşük nem değeri ise %40 NU ekmek örneklerinde bulunmuştur. Glütensiz ekmek örneklerinde nohut unu miktarındaki artış nem değerlerinde (%40 NU hariç) azalmaya; protein ve kül değerlerinde artmaya

neden olmuştur ($p<0.05$). Glütensiz ekmeklerdeki protein ve kül değerlerindeki artış, ekmek içeriğindeki nohut unu miktarının artmasıyla ilişkilidir. Özgül hacim değeri en yüksek %0 NU ekmek örneğinde bulunmuş hacim değerinin nohut unu oranı artmasıyla azaldığı ve %40 NU ve %60 NU ekmek örneklerinin aynı özgül hacim değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Diğer araştırmalarda da [13, 38, 39, 66, 68] ekmek örneklerinde nohut unu miktarı arttıkça özgül hacim değerlerinde azalma gözlemlendiğini bulmuşlardır ($p<0.05$).

Tablo 4. Nohut unu ilaveli glütensiz ekmeklerin pişme kaybı, özgül hacim, nem, su aktivitesi, protein ve kül analizi sonuçları

Ekmek Çeşidi	Pişme kaybı (%)	Özgül hacim (cm ³ /g)	Nem (%)	Su aktivitesi	Protein (%) [*]	Kül (%) [*]
% 0 NU (Kontrol)	14.86 ^c	1.73 ^c	51.09 ^b	0.949 ^b	4.44 ^a	1.62 ^a
% 20 NU	13.46 ^b	1.43 ^b	50.89 ^b	0.949 ^a	7.33 ^b	1.93 ^{a,b}
% 40 NU	13.89 ^b	1.28 ^a	49.83 ^a	0.948 ^{a,b}	9.88 ^c	2.18 ^{b,c}
% 60 NU	12.18 ^a	1.28 ^a	50.35 ^a	0.934 ^a	13.37 ^d	2.45 ^c

^{a-d}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Tablo 5. Nohut unu ilaveli glutensiz ekmeklerin ekmek içi ve ekmek kabuğu renk analizi sonuçları

Ekmek Tipi	Ekmek İçi			Ekmek Kabuğu		
	L [*]	a [*]	b [*]	L [*]	a [*]	b [*]
%0 NU (Kontrol)	65.012 ^a	-1.302 ^a	12.208 ^a	40.044 ^d	12.890 ^b	16.480 ^b
%20 NU	66.25 ^{a,b}	-0.686 ^b	19.520 ^b	38.252 ^c	11.390 ^a	10.328 ^a
%40 NU	67.612 ^b	0.580 ^c	22.202 ^c	36.824 ^b	13.342 ^b	11.724 ^a
%60 NU	68.56 ^c	2.244 ^d	23.728 ^c	31.178 ^a	16.752 ^d	15.622 ^b

^{a-d}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Nohut ununun glütensiz ekmeklerin ekmek içi ve ekmek kabuğu renk değişimleri üzerine etkisi Tablo 5'de görülmektedir. Ekmek örneklerinin ekmek içi ve kabuğu renk değerleri istatistiksel olarak farklı ($p<0.05$) olmakla birlikte glütensiz ekmek örneklerine nohut unu eklenmesi hem ekmek içi hem de ekmek kabuğu renk değerlerini önemli düzeyde etkilemektedir. Özellikle nohut unu miktarındaki artış ekmek örneklerinin sarılık değerlerini arttırmaktadır. Ekmek örneklerinde nohut unu miktarı arttıkça ekmek içi L^{*} ve a^{*} değerlerinde artma ve ekmek kabuğu L^{*} değerlerinde azalma a^{*} ve b^{*} değerlerinde ise doğrusal bir artış olmadığı belirtilmiş ve bunun nedeni olarak da nohut ununun yüksek lizin oranı sonucu pişme işlemi sırasında Maillard reaksiyonunun artması olarak belirtmekte ve elde edilen sonuçlar ekmek içi beyazlık (L^{*}) değeri hariç literatür ile uyum gösterdiği bulunmuştur [3, 18, 39].

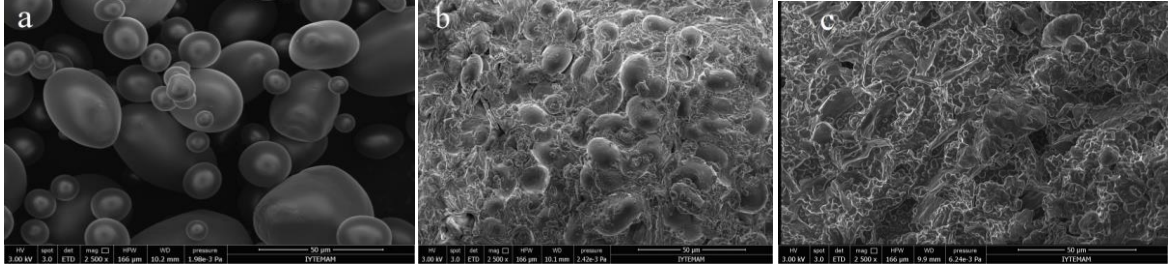
Doku Profil Analizi

Glütensiz ekmek örneklerinin 1. ve 3. gün doku profil analizi sonuçları Tablo 6'da verilmiştir. Ekmek içi sertlik ve çignenebilirlik değerleri hem depolama süresi hem de nohut unu miktarı arttıkça artmakta ve en düşük ekmek içi sertlik ve çignenebilirlik değeri %0 NU ekmeğinde gözlemlenmektedir. 1. ve 3. günler ayrı ayrı değerlendirildiğinde üretilen glütensiz ekmekler kontrol ekmeğiyle kıyaslandığında sertlik (N), yapışkanlık ve çignenebilirlik (N) değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmakla birlikte ($p<0.05$), esneklik değerinde önemli düzeyde farklılık tespit edilememiştir ($p>0.05$). Nohut unu artışının ekmek içi sertlik değerini arttırdığı belirtilmiştir [9, 66]. Miñarro ve ark. [37] nohut unu kullanarak ürettikleri ekmeklere 1, 3 ve 5. gün doku profil analizi gerçekleştirmişler ve depolama süresinin artmasıyla ekmek içi sertlik değerinin arttığını, yapışkanlık değerinin azaldığını fakat esneklik değerinde doğrusal bir değişim eğilimi olmadığını belirtmişlerdir ($p<0.05$).

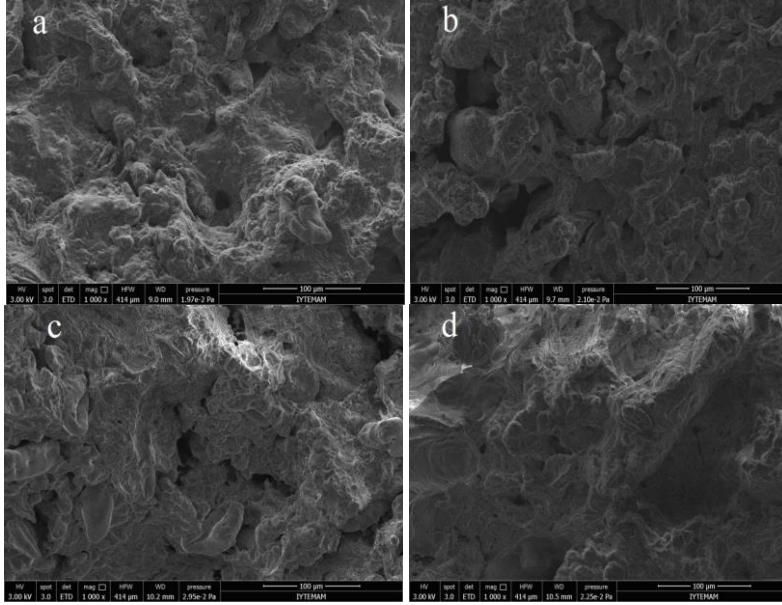
Tablo 6. Nohut unu ilaveli glütensiz ekmeklerin TPA 1. ve 3. gün analiz sonuçları

Gün	Ekmek Çeşidi	Sertlik (N)	Çignenebilirlik (N)	Esneklik	Yapışkanlık
1.Gün	%0 NU	9.54 ^a	3.54 ^a	0.98 ^a	0.38 ^a
	%20 NU	10.76 ^b	4.36 ^b	0.97 ^a	0.42 ^b
	% 40 NU	18.65 ^c	7.59 ^c	0.97 ^a	0.42 ^b
	%60 NU	28.71 ^d	11.86 ^d	0.94 ^a	0.44 ^b
3.Gün	%0 NU	9.54 ^a	4.32 ^a	1.00 ^a	0.45 ^b
	%20 NU	21.52 ^b	8.48 ^b	0.97 ^a	0.41 ^a
	% 40 NU	31.57 ^c	12.92 ^c	0.99 ^a	0.41 ^a
	%60 NU	51.21 ^d	23.16 ^d	0.97 ^a	0.47 ^b

^{a-d}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)



Şekil 3. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri, a) patates nişastası, b) nohut unu, c) esmer pirinç unu.



Şekil 4. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri
a) %0 NU, b) %20 NU, c) %40 NU, d) %60 NU

Glütensiz ekmeklerin üretimi için kullanılan un ve nişasta örneklerinin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 3'de görülmektedir. Karşılaştırma yapabilmek için tüm örnekler aynı oranda büyütülmüştür. Patates nişastasının oval yapıda, nohut unu ve esmer pirinç ununun düzensiz yapıda olduğu; partikül çapı büyüklüğünün en fazla patates nişastasında onu nohut unu ve esmer pirinç unu takip etmektedir.

Glütensiz ekmek örneklerinin ekmek içi taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 4'de görülmektedir. Kontrol grubu ekmekleri gözenekli ve pürüzlü yapıdayken, nohut unu miktarındaki artışın ekmek yapısını daha düzenli hale getirdiği gözlemlenmiştir.

Duyusal Analiz

Glütensiz ekmek örneklerinin farklı kalite kriterlerinin duyu analizi değerlendirilmesi sıralama testi yapılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçları Tablo 8'de verilmiştir. %40 NU hem lezzet hem de genel beğeni yönünden istatistiksel olarak en yüksek puanı alırken %0 NU (kontrol) ekmeği en düşük değerleri almıştır. %60 NU; ekmek içi sertlik değeri daha fazla, renk değeri daha koyu ve lezzet değerinin daha düşük olması sebebiyle tüketici tarafından genel beğenisi %40 NU'a göre daha düşük bulunmuştur. Duyusal test sonucu elde edilen ekmek içi sertlik ve ekmek içi renk değerleri ile enstrümantal olarak elde edilen değerler birbirleriyle uyum göstermektedir. Nohut unu miktarının artmasıyla ekmek içi koyuluk değerinin arttığı hem duyu analizi hem de enstrümantal olarak belirlenmiş ve sarılığın artması panelistler tarafından daha çok beğenilmiştir.

Tablo 8. Nohut unu ilaveli glütensiz ekmeklerin duyu analizi değerlendirme verilerinin varyans analizi sonuçları

Ekmek Çeşidi	Lezzet	Ekmek İçi Rengi	Ekmek İçi Sertlik	Genel Beğeni
%0 NU (Kontrol)	1.90 ^a	1.00 ^a	1.45 ^a	1.65 ^a
%20 NU	2.70 ^b	2.05 ^b	1.75 ^a	2.80 ^b
%40 NU	2.85 ^b	3.30 ^c	3.20 ^b	2.90 ^b
%60 NU	2.55 ^{a,b}	3.65 ^c	3.60 ^b	2.65 ^b

^{a-c} aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir. Duyusal analiz puanlaması 1 (en az veya en açık)- 4(en çok veya en koyu) aralığında değişmektedir.

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında, esmer pirinç unu ve patates nişastası içeren glutensiz ekmekler nohut unu ile zenginleştirilmiştir. Üretilen glutensiz ekmekler kimyasal kompozisyon, renk, tekstürel ve duysal özellikler açısından değerlendirilmiştir. Nohut unu ilavesi glutensiz ekmek örneklerinin kimyasal kompozisyonu (protein ve kül miktarını arttırmış) iyileştirmiştir. Çalışma sonucunda %40 nohut unu içeren glutensiz ekmek örnekleri hem ekmek kalitesi açısından hem de duysal olarak tüketiciye hitap etmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı (2014-3) kapsamında TÜBİTAK ve Ege Üniversitesi 15-MÜH-064 numaralı Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] AACC (American Association of Cereal Chemists), 2000. Approved methods of the AACC. 10th ed., St. Paul, MN: (Method 02-52).
- [2] AACC (American Association of Cereal Chemists), 2000. Approved methods of the AACC. 10th ed., St. Paul, MN: (Method 46-30).
- [3] Aguilar, N., Albanell, E., Miñarro, B., Capellas, M., 2015. Chickpea and tiger nut flours as alternatives to emulsifier and shortening in gluten-free bread. *LWT-Food Science and Technology* 62(1): 225-232.
- [4] Aider, M., Sirois-Gosselin, M., Boye, J.I., 2012. Pea, lentil and chickpea protein application in bread making. *Journal of Food Research* 1(4): 160-173.
- [5] Alajaji, S.A., El-Adawy, T.A., 2006. Nutritional Composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 806-812.
- [6] Alaunyte, I., Stojceska, V., Plunkett, A., Ainsworth, P., Derbyshire, E., 2012. Improving the quality of nutrient-rich Teff (*Eragrostis tef*) breads by combination of enzymes in straight dough and sourdough breadmaking. *Journal of Cereal Science* 55(1): 22-30.
- [7] Altuğ-Onoğur, T., Elmacı, Y., 2011. Gıdalarda duysal değerlendirme, Sidas, İzmir, Türkiye, 50s.
- [8] Alvarez-Jubete, L., Auty, M., Arendt, E.K., Gallagher E., 2010. Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *Journal European Food Research and Technology* 230: 437-445.
- [9] Angioloni, A., Collar, C., 2012. High legume-wheat matrices: an alternative to promote bread nutritional value meeting dough viscoelastic restrictions. *European Food Research and Technology* 234(2): 273-284.
- [10] AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1995a. Official methods of analysis, 16th ed., Gaithersburg, MD: (Method 925.10).
- [11] Artan, R., 2012. Çölyak hastalığında gelişmeler. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrival Sciences* 8(1): 48-55.
- [12] Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Canterob, D., Webba, C., 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International* 36(3): 527-543.
- [13] Bojnanská, T., Francáková, H., Lísková, M., Tokár, M., 2012. Legumes-The alternative raw materials for bread production. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 1: 876-886.
- [14] Cao, X., Wen, H., Li, C., Gu, Z., 2009. Differences in functional properties and biochemical characteristics of congenetic rice proteins. *Journal of Cereal Science* 50(2): 184-189.
- [15] de Almeida Costa, G.E., da Silva Queiroz-Monici, K., Reis, S.M.P.M., de Oliveira, A.C., 2006. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry* 94(3): 327-330.
- [16] Deepa, G., Singh, V., Naidu, K. A., 2008. Nutrient composition and physicochemical properties of Indian medicinal rice-Njavara. *Food Chemistry* 106(1): 165-171.
- [17] Fasano, A., Catassi, C., 2001. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 120(3): 636-651.
- [18] Fenn, D., Lukow, O.M., Humphreys, G., Fields, P.G., Boye, J. I., 2010. Wheat-legume composite flour quality. *International Journal of Food Properties* 13(2): 381-393.
- [19] Fujihara, S., Sasaki, H., Aoyagi, Y., Suguhara T., 2008. Nitrogen to protein conversion factors for some cereal products in Japan. *Journal of Food Science* 73(3): 204-209.
- [20] Gallagher, E., Kunkel, A., Gormley, T.R., Arendt, E.K., 2003. The effect of dairy and rice powder addition on loaf and crumb characteristics, and on shelf life (intermediate and long-term) of gluten-free breads stored in a modified atmosphere. *European Food Research and Technology* 218(1): 44-48.
- [21] Gallagher, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K., 2003. Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering* 56(2): 153-161.
- [22] Gallagher, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K., 2004. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology* 15(3): 143-152.
- [23] Gambus H., Nowotna A., Ziobro R., Gumul D., Sikora M., 2001. The Effect of Use of guar gum with pectin mixture in gluten-free bread. *Electronic Journal Polish Agricultural University* 4(2): 1-13.
- [24] García-Manzanares, Á., Lucendo, A.J., 2011. Nutritional and dietary aspects of celiac disease. *Nutrition in Clinical Practice* 26: 163-173.
- [25] Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C.M., Pando, V., Fernández, E., 2008. Studies on cake quality made

- of wheat–chickpea flour blends. *LWT-Food Science and Technology* 41(9): 1701-1709.
- [26] Graham, P.H., Vance C.P., 2003. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology* 131(3): 872-877.
- [27] Gujral, H.S., Rosell, C.M., 2004. Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International* 37: 75–81.
- [28] Gularte, M.A., de la Hera, E., Gómez, M., Rosell, C.M., 2012. Effect of different fibers on batter and gluten-free layer cake properties. *LWT-Food Science and Technology* 48(2): 209-214.
- [29] Hager, A.S., Wolter, A., Jacob, F., Zannini, E., Arendt, E.K., 2012. Nutritional properties and ultrastructure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science* 56: 239-247.
- [30] ICC (International Association for Cereal Science and Technology), 1990. Determination of Ash in Cereals and Cereal Products. 104/1, Vienna.
- [31] Iqbal, A., Khalil, I.A., Ateeq, N., Khan, M.S., 2006. Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry* 9(2): 331-335.
- [32] Kaur, M., Singh, N., 2005. Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemistry* 91(3): 403-411.
- [33] Khan, M.A., Akhtar, N., Ullah, I., Jaffery, S., 1995. Nutritional evaluation of desi and kabuli chickpeas and their products commonly consumed in Pakistan. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 46(3): 215-223.
- [34] Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N. Biliaderis, C.G., 2007. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering* 79: 1033–1047.
- [35] Malekzadeh, R., Sachdev, A., Ali, A.F., 2005. Coeliac disease in developing countries: Middle East, India and North Africa. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 19(3): 351-358.
- [36] Mariotti, M., Lucisano, M., Pagani, M.A., Ng, P.K.W., 2009. The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and psyllium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. *Food Research International* 42: 963–975.
- [37] Miñarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B., Capellas, M., 2012. Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *Journal of Cereal Science* 56: 476-481.
- [38] Mohammed, I., Ahmed, A.R., Senge, B., 2014. Effects of chickpea flour on wheat pasting properties and bread making quality. *Journal of Food Science and Technology* 51(9): 1902-1910.
- [39] Mohammed, I., Ahmed, A.R., Senge, B., 2012. Dough rheology and bread quality of wheat–chickpea flour blends. *Industrial Crops and Products* 36: 196-202.
- [40] Moore, M., Bello, F.D., Arendt, E.K., 2008. Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. *European Food Research and Technology* 226: 1309–1316.
- [41] Moore, M., Heinbockel, M., Dockery, P., Ulmer, H., Arendt, E.K., 2006. Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chemistry* 83: 28-36.
- [42] Moore, M., Schober, T., Dockery, P., Arendt, E.K., 2004. Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. *Cereal Chemistry* 81: 567-575.
- [43] Nunes, M.H.B., Moore, M.M., Ryan, L.A.M., Arendt, E.K., 2009. Impact of emulsifiers on the quality and rheological properties of gluten-free breads and batters. *European Food Research Technology* 228: 633–642.
- [44] Olexova, L., Dovičovičová, L., Švec, M., Siekel, P., Kuchta, T., 2006. Detection of gluten-containing cereals in flours and “gluten-free” bakery products by polymerase chain reaction. *Food Control* 17(3): 234-237.
- [45] Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., Lindhauer, M.G., 2011. Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch. *LWT-Food Science and Technology* 44(3): 681-686.
- [46] Ortiz-Sánchez, J.P., Cabrera-Chávez, F., de la Barca, A.M.C., 2013. Maize prolamins could induce a gluten-like cellular immune response in some celiac disease patients. *Nutrients* 5(10): 4174-4183.
- [47] Osundahunsi, O.F., Fagbemi, T.N., Kesselman, E., Shimoni, E., 2003. Comparison of the physicochemical properties and pasting characteristics of flour and starch from red and white sweet potato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(8): 2232-2236.
- [48] Özcan, T., Delikanlı, B., Akın, Z., 2015. Bioactive components of soybeans and their health effects. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 3(6): 350-355.
- [49] Phimolsiripol, Y., Mukprasirt, A., Schoenlechner, R., 2012. Quality improvement of rice-based gluten-free bread using different dietary fibre fractions of rice bran. *Journal of Cereal Science* 56(2): 389-395.
- [50] Pruska-Kedzior, A., Kedzior, Z., Goracy, M., Pietrowska, K., Przybylska, A., Szychalska, K., 2008. Comparison of rheological, fermentative and baking properties of gluten-free dough formulations. *European Food Research and Technology* 227: 1523–1536
- [51] Ravi, R., Harte, J.B., 2009. Milling and physicochemical properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(2): 258-266.
- [52] Ribotta, P.D., Ausar, S.F., Morcillo, M.H., Pérez, G.T., Beltramo, D.M., León, A.E., 2004. Production of gluten-free bread using soybean flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(14): 1969-1974.
- [53] Rubiales D, Mikic A., 2015. Introduction: legumes in sustainable agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34: 2-3.

- [54] Schober, T.J., Bean, S.R., Boyle, D.L., 2007. Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological, and microstructural background. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55: 5137-5146.
- [55] Schuppan, D., Dennis, M. D., Kelly, C. P., 2005. Celiac disease: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and nutritional management. *Nutrition in Clinical Care* 8(2): 54-69.
- [56] Singh, U., Jambunathan, R., 1980. Evaluation of rapid methods for the estimation of protein in chickpea. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 31: 247-254.
- [57] Singh, N., Verma, P., Pandey, B.R., 2012. Therapeutic potential of organic *Triticum aestivum* linn. (wheat grass) in prevention and treatment of chronic diseases: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 4(1): 10-14.
- [58] Singh, R.J., Chung, G.H., Nelson, R.L., 2007. Landmark Research in Legumes. *Genome* 50(6): 525-537.
- [59] Tangüler, H., Eleroğlu, H., Özer, E.A., Işıklı, N.D., 2015. Our traditional dessert which is to be forgotten: UĞUT. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 3(7):604-609.
- [60] Tharanathan, R.N., Mahadevamma, S., 2003. Grain Legumes-a boon to human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* 14(12): 507-518.
- [61] Trinidad, T.P., Mallillin, A.C., Valdez, D.H., Loyola, A.S., Askali-Mercado, F.C., Castillo, J.C., Encabo, R.R., Masa, D.B., Maglaya, A.S., Chua, M.T., 2006. Dietary fiber from coconut flour: A functional food. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7(4): 309-317.
- [62] Türksoy, S., Özkaya B., 2006. Gluten ve Çölyak hastalığı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, 2006, Bolu, Türkiye, 807-810s.
- [63] Uluöz, M., 1965. Buğday Un ve Ekmek Analiz Metotları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:29, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.
- [64] USDA, <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4859?fg=&man=&facet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=chickpeas>: Erişim Tarihi: Kasım, 2015.
- [65] Xu, J., Zhang, H., Guo, X., Qian, H., 2012. The impact of germination on the characteristics of brown rice flour and starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(2): 380-387.
- [66] Yamsaengsung, R., Schoenlechner, R., Berghofer, E., 2010. The effects of chickpea on the functional properties of white and whole wheat bread. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 610-620.
- [67] Yayla, D., Çakmak, S. K., Artüz, F., Tamer, E., Köseoglu, T., Yozgatli, A., 2015. Çölyak hastalarında mukokütanöz bulguların sıklığı. *Turkderm* 49(4): 253-256.
- [68] Zafar, T.A., Al-Hassawi, F., Al-Khulaifi, F., Al-Rayyes, G., Waslien, C., Huffman, F.G., 2015. Organoleptic and glycemic properties of chickpea-wheat composite breads. *Journal of Food Science and Technology* 52(4): 2256-2263.
- [69] Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., Blanchard, C., 2002. Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science and Technology* 37(8): 849-868.

Microbiological Risks Related with Raw Materials in Halva Production and Detection of Microbiological Critical Control Points

Ferid Aydın¹ , Burhan Başaran² ¹ Department of Food Engineering, Agricultural Faculty, Atatürk University, Erzurum, Turkey² Ardeşen Vocational School, Recep Tayyip Erdoğan University, Rize, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 28.01.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 24.04.2017

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): feray@atauni.edu.tr (F. Aydın)

☎ 0 442 231 24 79 📠 0 442 231 58 78

ABSTRACT

A few studies in the literature reported that infections were developed due to the consumption of some halva products exported from Turkey. In this respect, this research aims to monitor and evaluate the microbiological risks originating from raw material in tahini halva production unit of a food company implementing ISO 22000. For this purpose, 12 different samples were taken from different sampling points in halva production processes and analyses have been performed. Results evaluated according to the decision tree method indicated that *Salmonella* spp. was present in sesame, and pistachio was unsuitable in terms of mould and yeast load. Sesame Roasting and Viscous Cooking steps were defined as critical control points as the temperature-time based treatments in these steps eliminate the microbiological risks arising from raw-materials. Furthermore, cocoa powder and pistachio raw-materials input validation operations were also defined as critical control points.

Keywords: *E. coli*, Halva, ISO 22000, Sesame, *Salmonella*

Helva Üretiminde Hammadde Kaynaklı Mikrobiyolojik Riskler ve Mikrobiyolojik Kritik Kontrol Noktalarının Tespiti

ÖZ

Literatür taramasında Türkiye'den ihraç edilen bazı helvalarının tüketimine bağlı enfeksiyonlar görüldüğü bildirilmiştir. Bu araştırmanın amacı; ISO 22000 standardının uygulandığı bir gıda işletmesinin tahin helvası üretim biriminde hammadde kaynaklı mikrobiyolojik riskleri belirlemek ve tespit etmektir. Bu amaçla helva üretiminin farklı proses basamaklarından 12 farklı numune alınmış ve analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları karar ağacı yöntemiyle değerlendirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, susam *Salmonella* spp., antep fıstığı ise maya ve küf varlığı açısından uygunsuz olarak tespit edilmiştir. Susam Döner Kavrurma ve Ağda Pişirme proses basamaklarında uygulanan sıcaklık-süre işlemleri hammadde kaynaklı mikrobiyolojik riskleri elimine ettiği için kritik kontrol noktası olarak tanımlanmıştır. Ayrıca kakao tozu ve Antep fıstığı hammaddelerinin girdi kabul kontrol işlemleri de kritik kontrol noktası olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, Helva, ISO 22000, Susam, *Salmonella*

INTRODUCTION

Tahini Halva is defined as a solid and homogenous product with a thin fibrous structure prepared according

to a specified technique by means of making the sugar syrup, which is produced through cooking sugar, potable water, and citric acid/tartaric acid, or edible glucose syrup is also added to the combination when necessary,

viscous and then is whitened with soapwort extract (*Radix saponariae Albae sive L.*) and/or with modified proteins. The mixture is then combined with tahini and condiments also (nuts, pistachio etc. each of which is added by 8% at least) can be added [1].

Microbiological quality in halva is closely related with the raw material and the production technique. Watering the raw materials used in the production of halva with contaminated water containing faecal sourced microorganisms, inconvenient environmental conditions during various process steps such as moulding, cooling, mellowing, packing or storage, and other factors like personnel and machinery all directly influence the microbiological quality of halva [2-5]. The sesame in the product is primarily held responsible for *Salmonella* contaminations not only in Halva, but in all sesame-based products [5, 6]. The most important risk in pistachio is aflatoxin [7].

It is reported that *Salmonella typhimurium* DT 104 infection was identified among consumers in Sweden, England, and Australia after the consumption of tahini and halva that were imported from Turkey [2, 8, 9]. Brockmann et al. [3] identified *Salmonella* in 11 of the 117 food samples (among which Halva was also present) with sesame content. Şengün et al. [10], reported that mould value in pistachio halva is higher than that of the other halva types. Gök and Var [4] examined 102 pieces of originally packed Turkish product halva. Out of 34 pistachio halvans, 21 pieces were inconvenient in mould quantity, and 33 in Coliform Bacteria; out of 34 cocoa halvans, 9 pieces were inconvenient in *E.coli*; and finally, out of 34 plain halvans, 4 pieces were inconvenient in yeast quantity [4]. Torlak and Özfidan [11], detected *Salmonella* in 1 of 33 plain halva samples that were obtained from various sales points around Konya region. Kaya and Ergönül [12], reported that the halva sold in open air in Manisa are microbiologically reliable yet potential health risks should still be taken into consideration.

Food faces a variety of risks throughout its production process. It is therefore essential to ensure, monitor, and evaluate adequate and effective controls in all phases of food chain. A lot of countries and companies convene and develop standards for safe food supply in this respect. One of these developed standards is ISO 22000. The basic approach in this standard is to efficiently inspect the stages of production process and to eliminate the potential risks that might occur against consumer health or at least reduce them to acceptable levels. ISO 22000:2005 covers all individuals and corporations throughout the food chain, from the primary producer to the end customer.

The purpose of this research is to monitor and evaluate the raw material-sourced microbiological risks at tahini production unit of a food establishment in which ISO 22000 standard is applied by also taking the control measures in the current HACCP plan into consideration, and to determine whether there are any microbiologically critical control points in the production

steps through which these microbiological risks are eliminated or reduced to the acceptable level.

MATERIALS and METHODS

Materials

The data was collected in a private halva production premise in the Central Anatolia Region of Turkey. The establishment, which surrounds 5400 sqm closed area and employs 40 personnel, reports its halva production capacity as 2200 tons/year, its domestic sales as 1500 tons/year, and foreign sales as 600 tons/year. The plant was certified with ISO 22000 in 2006 by Sistemler Uluslararası Belgelendirme ve Dış Ticaret San. Tic. Ltd. Şti. (Sistemler International Certification and Foreign Trade Ltd.), and this was followed by follow-up inspections, the most recent of which was made in 2013. In accordance with the research purpose, the ISO 22000 documentation system of the establishment and the raw material used in halva production were adopted as the research materials.

Halva Production Process

The basic halva raw materials are sesame, tahini, sugar, and soapwort. Cocoa powder and pistachio are the raw materials that are added in accordance with the product type. The production process of halva is made up of three main processes, the third of which is the actual combination of the outputs of the previous two. The very first step of the production is obtaining tahini out of sesame. The last process involves mixing of halva and the viscous in 1 to 1 proportion. Figure 1 displays the halva production process diagram of the firm.

ISO 22000 Documentation System of the Establishment

According to the hazard and risks analyses performed by the food safety team of the firm founded on the basis of ISO 22000 practices, no microbiological critical control points have been determined in halva production process.

Raw Materials Used in Halva Production

Table 1 shows the information regarding raw materials used in halva production that was carried on under controlled conditions.

Methods

Microbiological Sampling Points (SP) and Sampling

In order to determine the process steps in which raw-material-sourced microbiological risks are eliminated or decreased to an acceptable level, three different processes in the production of the end product are considered separate and 12 different microbiological sampling points are ascertained. While ascertaining the critical control points, the practices realized within the scope of ISO 22000 and the related literature were considered. Sampling points are explained in Figure 1 and the reasons are given in Table 2.

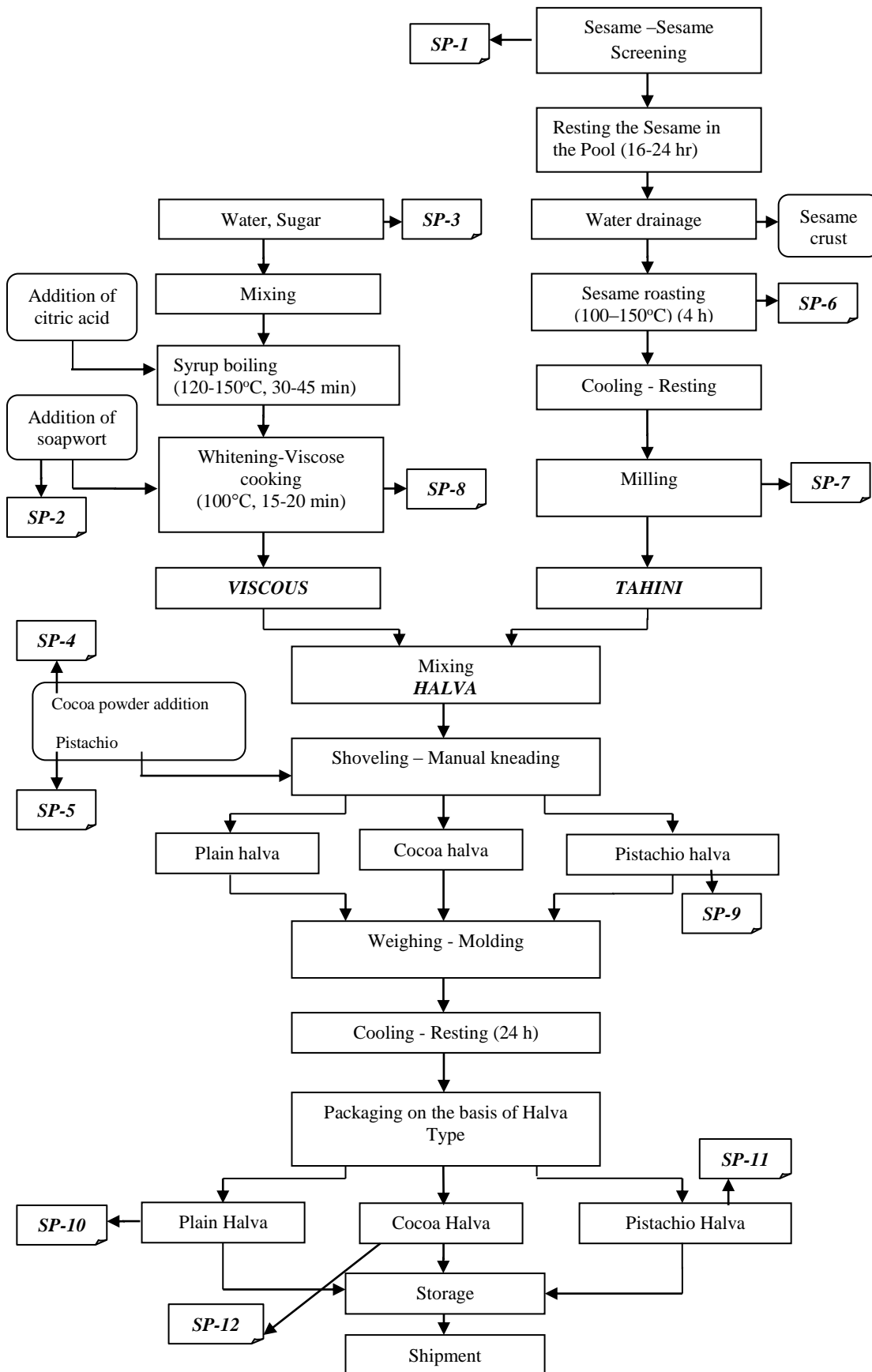


Figure 1. Tahini, viscous, halva production flow-process diagram

Table 1. Raw materials used in halva production

Raw material	Production date	Date of expiry	Batch number	Origin	Date of arrival in the plant
Sesame	09/2013	09/2014	-	Kanu/Nigeria	18/12/2013
Pistachio	12/11/2013	12/05/2015	12122013	Kahramanmaraş/ Turkey	23/12/2013
Cocoa powder	05/03/2013	04/03/2014	BEM0254	Malaysia	28/08/2013
Soapwort extract	04/10/2013	04/10/2015	2409	Tekirdağ/Turkey	07/10/2013
Sugar	2013	2014	2013K	Yozgat/Turkey	19/12/2013

All raw material samples were taken from their natural packages from their actual storage environments. In the production steps, samples were obtained separately under aseptic conditions and placed into sterile glass jars with two parallels (jars are filled almost 1/2).

Microbiological Criteria

Three types of Halva are produced in the halva process of this establishment: Plain Halva, Cocoa Halva, and Pistachio Halva. Since the main purpose of this research is to identify the microbiologically critical control points in the halva production process, the parameters set by the legal authorities regarding the halva product constitute the main basis to be referred to.

The microorganisms that should be sought and counted in halva according to the Turkish Food Codex Microbiological Criteria Communique are shown in Table 3. Also Table 4 shows the microorganisms that should be specifically sought and counted with regards to the addition of cocoa and pistachio as condiments.

Analyses

Salmonella spp. analyses and inventory in raw materials, production steps and end-product samples were performed according to ISO 6579:2002 [16]. Mould-yeast analyses and inventory were made in conformity with ISO 21527-2: 2008 [17] and *E.coli* analysis and inventory were based on ISO 16649-2:2001 [18] and aflatoxin analysis was done according to the AOAC Official Method 991.31 [19].

Decision tree

In order to determine the critical control points, the study benefited from the results of the analyses and the decision tree method [20].

RESULTS and DISCUSSION

Microbiological analysis results of the samples are shown in Table 5 displayed in Table 6 and the results of the decision tree are. The results are discussed under 4 headings. Tahini Production Stage analysis results are explained and discussed in the 1st section while Viscous Production Stage analysis results in the 2nd and Halva Production Stage analysis results in the 3rd section and results of end product in the 4th section. The results of

the decision tree are explained and discussed in the 5th section.

Section 1

In sesame raw material (which is also defined as SP-1), *E.coli*, mould, yeast, and *Salmonella* analyses were made. Findings were compared with the microbiological limits that are shown on Table 3. *E.coli* was below the critical limit. However, *Salmonella* presence has been detected in the sesame and the mould and yeast analyses results were found to be 7.8×10^4 kob/g, which exceeds the critical limit. Consequently, the sesame used in the analyses was not proper.

Salmonella, *E.coli*, mould and yeast analyses were made in sesame roasting (SP-6) and milling (SP-7) process steps. The *E.coli* counting results in SP-6 and SP-7 are found to be <10 kob/g. As this result is compared with the initial *E.coli* in sesame, it can be said that there is no actual difference present. The yeast and mould counting corresponds to <10 kob/g. The analysis regarding *Salmonella* presence shows no signs of *Salmonella*.

Section 2:

E.coli, mould and yeast analyses were made on granulated sugar samples (SP-3) and on the soaproot extract (SP-2) and the analyses results suggested that the values were below the critical limits.

Analysis results of the samples taken from Viscous Cooking (SP-8) are <10 kob/g for *E.coli* and <10 kob/g for mould and yeast. It can therefore be claimed that Viscous Cooking (SP-8) does eliminate the mould and yeast values (especially the soaproot extract-sourced mould and yeast values) or reduce those to acceptable levels.

Section 3:

E.coli, mould and yeast analyses were performed on cocoa powder. The results showed that the values were below the critical limits as it suggested in Table 3.

Table 2. Sampling points and the reasons they were selected

1.Raw material	Sampling point (SP)	Reason
1.1 Sesame	SP-1	In order to monitor the microbiological risks that source from the raw materials in the halva process and to detect the CCP M, it is first essential to take samples from the raw materials which are shown on Table 1 and which are to be used in production.
1.2 Soapwort extract	SP-2	
1.3 Granulated sugar	SP-3	
1.4 Cocoa powder	SP-4	
1.5 Pistachio	SP-5	
2. Production stages		
2.1 Sesame roasting	SP-6	A series of treatments were applied to the sample sesame. The sample was pneumatically brought to the production area and taken to the rotary roasting line. The duration through which the sesame was processed at the rotary roasting was around 3.5 hours. The heat temperature may increase up to 150°C during this process. As the inhibiting effect of heat and duration on the living creatures that pose the microbiological risks is known, the roasting process as a specific stage of heat practice on the sesame was chosen as a sampling point as it would enable the researcher to compare the microbiological load of the sesame before and after the roasting. On et al. [5] reported that no particular study regarding the influence of sesame roasting process on <i>Salmonella</i> potential in sesame seeds, it is unclear whether this might result from inadequate processing, or normal processing being insufficient. Brockmann et al. [3] reported that they detected <i>Salmonella</i> in roasted sesame samples. They explained that this is either caused by inadequate heat and/or duration practice during roasting or by post-roasting contamination. Torlak et al. [13] found that after injecting the Salmonella to the sesame seeds, the roasting process of sesame seeds which was realized under different temperatures (110, 130 and 150°C) and different time durations (30, 50 and 60 minutes) was effective to inactivate the Salmonella.
2.2 Milling	SP-7	During the milling of the cooled sesame, the friction between the mill notches causes a release of a specific amount of heat. It was predicted that this heat could reduce the microbiological load when the primary heat & duration practice with rotary roasting remained inadequate to reduce the same. In addition, transfer for exhibition following the stage of rotary roasting included contamination potential due to the work environment conditions, contact with the personnel, and similar factors.
2.3 Viscous cooking	SP-8	Since the syrup boiling process included the application of high temperature (100°C) and duration (15-20 minutes), it was thought that this stage would eliminate the microbiological risks resulting from water and sugar or reduce those risks to acceptable levels.
2.4 Manual kneading (Pistachio Halva)	SP-9	The viscous and tahini were mixed in accordance with the specified technique. Right before the kneading stage commenced, the condiments that specified the type of the product (cocoa powder and pistachio) were added in. The products manufactured by use of the same raw materials followed the same process and were processed in separate tanks in the kneading process. It was at this stage that 3 different products appeared: Plain Halva, Cocoa Halva and Pistachio Halva. The dough of each product was taken to a separate and disinfected kneading tank yet all of the three were kneaded by the same personnel. The hands and arms of this employee were cleaned and disinfected before the kneading. The good hygiene practices that were used throughout the entire production were followed at this stage, too so the employee also used a bonnet and a mask. The manual kneading stage is a critical stage in terms of microbiological risk since it can only be carried out with manpower. After this stage, there is no heat and duration practice by which a possible remaining microbiological risk can be eliminated. Therefore, the samples of the dough obtained after manual kneading were taken to figure out if there had occurred any personnel-sourced contamination. Since the raw material, the entire production process, and the kneading stage were all identical, it was decided that no sample would be taken from plain tahini halva or the cocoa halva, and sample would only be taken from the pistachio halva.
2.5 Plain halva	SP-10	After the manual kneading, the product was and then spilled onto the machine belt. The product passed through the cooling tunnel to then be cut into convenient sizes by pre-arranged knives for packing. By the eventual process of defining the actual date and batch information onto the package where the product was placed in, the end products of plain halva, cocoa halva, and pistachio halva were obtained. The product obtaining order was plain halva, pistachio halva, and cocoa halva. Cocoa halva was obtained last in case its flavour might spread onto the next product (pistachio halva) if it would be followed by another type. Between the manual kneading and the eventual composition of the end product, there exist microbiological risk sources such as machinery, work environment, personnel, and packaging. Moreover, the end products must be examined in terms of their conformity with the legal criteria.
2.6 Pistachio	SP-11	
2.7. Cocoa halva	SP-12	

Table 3. Microbiological criteria in halva products [14]

Food/Microorganism	Sampling plan		Limits		
	n	c	m	M	
Tahini halva	Yeast and mould	5	2	10 ² kob/g	10 ³ kob/g
	<i>E. coli</i>	5	0	<10 ¹ kob/g	
Cocoa and cocoa products	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL	

n: number of samples chosen randomly and independently from the party; c: maximum number of samples between m and M (maximum number of samples which can be identified as m value); m: maximum microbiological value that can be found in (n-c); M: number of microorganisms which indicate the unsuitable and unacceptable values in case c number of samples exceeds this value.

Table 4. Aflatoxin limits for pistachio [15]

Aflatoxin	Maximum Limit (µg/kg)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
Pistachio (which should be sorted out or taken into other physical processes prior to its release to human consumption or prior to usage as a food ingredient)	12.0	15.0	—

Table 5. Microbiological analysis results of the samples

Sampling points	<i>E. coli</i> (kob/g)	*Mould and Yeast (kob/g)	<i>Salmonella</i> spp. (/25 g)	*Total Aflatoxin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) (µg/kg)
SP-1 Sesame	< 10	7.8 x 10 ⁴	Detected	NAM
SP-2 Soaproot extract	< 10	1.0 x 10 ³	NAM	NAM
SP-3 Granulated Sugar	< 10	< 10	NAM	NAM
SP-4 Cocoa powder	< 10	< 10	Not found	NAM
SP-5 Pistachio	< 10	2.0 x 10 ³	NAM	0,34
SP-6 Sesame Roasting	< 10	< 10	Not found	NAM
SP-7 Milling	< 10	< 10	Not found	NAM
SP-8 Viscous Cooking	< 10	< 10	NAM	NAM
SP-9 Manual Kneading	< 10	1.0 x 10 ³	Not found	NAM
SP-10 Plain Halva	< 10	< 10	Not found	NAM
SP-11 Pistachio Halva	< 10	8.0 x 10 ³	Not found	Not detected
SP-12 Cocoa Halva	< 10	1.0 x 10 ²	Not found	NAM

NAM :No Analysis Made *Analyses are accredited.

The analysis on pistachio revealed the aflatoxin and *E. coli* results were below the critical limits. However, mould and yeast results (2.0x10³ kob/g) exceeded the critical limit (1.0x10³ kob/g). When the results were compared to the criteria in Table 3, the comparison suggested that all the values were within the critical limits. While in the tahini and viscous cooking processes, mould and yeast values were <10 kob/g, in the manual kneading process the values increased to 1.0x10³ kob/g. This result can be explained with the pistachio added in this process.

Results for manual kneading (SP9) was <10 kob/g for *E.coli*, 1.0x10³ kob/g for mould and yeast, and no *Salmonella* was detected. When the results are compared to Table 3, it is clear that all the values are within the limits. Although mould and yeast values were <10 kob/g in tahini and viscous processes, the values increased to 1.0x10³ kob/g in manual kneading. This change is considered interrelated to pistachio addition in this process.

Section 4:

When the plain halva analysis results (SP-10) are compared to the legal limits, all the values were either

below the limits or at acceptable levels rendering the end product appropriate for consumption. Results showed that no microbiological contamination was taken place in the processes of mixing viscous and tahini, kneading and packaging.

In pistachio halva (SP-11), *E.coli*, *Salmonella*, and total aflatoxin values are below legal or acceptable limits. On the other hand, the result for mould and yeast was quite higher than legal limits (8.0x10³ kob/g). Until pistachio was added into the mixture, the mould and yeast values were at acceptable levels (in the tahini and viscous processes). The mould and yeast values were founded inappropriate in the initial analysis results for pistachio. These analyses showed that the inappropriate values in the end-product in terms of mould and yeast were because of pistachio. Another point supporting this statement is that the mould and yeast values for plain halva were appropriate considering legal limits. Because all the steps and processes were performed same in plain and pistachio halva productions, except for adding pistachio as a condiment.

Table 6. Data obtained through the decision tree method for halva processing

Process Step	Are the control measures that are considered against the hazard convenient and adequate?	Can this process eliminate the hazard or reduce it to an acceptable level?	Can smearing occur at unacceptable level(s) or can it rise to unacceptable level(s)?	Can the next process step eliminate the identified hazard or reduce it to an acceptable level?	CCP
Sesame (SP-1)	Y	N	Y	Y	-
Soapwort extract (SP-2)	Y	N	Y	Y	-
Granulated sugar (SP-3)	Y	N	Y	Y	-
Cocoa powder (SP-4)	Y	N	Y	N	CCP-M ¹
Pistachio (SP-5)	Y	N	Y	N	CCP-M ²
Sesame roasting (SP-6)	Y	Y	-	-	CCP-M ³
Milling (SP-7)	Y	N	N	-	-
Viscous cooking (SP-8)	Y	Y	-	-	CCP-M ⁴
Manual kneading (SP-9)	Y	N	Y	N	CCP-M ⁵
Plain halva (SP-10)	Y	N	Y	N	CCP-M ⁶
Pistachio halva (SP-11)	Y	N	Y	N	CCP-M ⁷
Cocoa halva (SP-12)	Y	N	Y	N	CCP-M ⁸

Y:Yes N:No

The analysis results of cocoa halva (SP-12) show that all values of this product type are below the legal critical limits. In the light of these data, it can be said that cocoa halva is an appropriate end product for consumption. The mould and yeast value of the cocoa halva being 1.0×10^2 kob/g was yet found meaningful. All details that are explained above for pistachio halva regarding mould and yeast are true for cocoa halva, too. It is therefore apparent that the mould and yeast load in the cocoa halva originated from the pistachio halva which passed through the same line right before the cocoa halva.

Section 5: Decision Tree

Taking the analysis results of sesame (SP-1), soapwort extract (SP-2), and granulated sugar (SP-3) into consideration, it can be said that the microbial risks they bear are eliminated at latter production stages (Sesame Roasting, Viscous Cooking). Therefore, it cannot be considered as a CCP-M.

According to decision tree, there are not any process steps that can eliminate or minimize the raw-material-sourced microbiological risks after cocoa powder and pistachio are included in halva production process. Therefore cocoa powder (SP-4) should be defined as CCP-M¹ and the pistachio (SP-5) as CCP-M².

Sesame roasting (SP-6) and viscous cooking (SP-8) processes reduce the raw material sourced microbial risks to acceptable levels. No other production step follows these in the process flow that can achieve that

effect. Therefore, sesame roasting should be defined as CCP-M³ and Viscous Cooking as CCP-M⁴.

In tahini milling process (SP-7) heating happens as a result of the friction of the millstones. However, the heating occurring here cannot be considered as a systematic temperature-time treatment. This temperature cannot be measured and interfered when necessary. It cannot be considered as a systematic technique and consequently as a CCP-M.

Manual kneading phase (SP-9) is the process in which the materials are mixed and no other treatment is practiced in this step that can eliminate or minimize the possible microorganisms that can arise from cocoa powder, pistachio or tahini and viscous processes. Mix is carried out by personnel. According to the decision tree, there is no other eliminating step by which personnel-induced microbiological risks in the process. Thus, Manual kneading phase should be described as CCP-M⁵.

The last phase of halva production processes are Plain (SP-10), pistachio (SP-11) and cocoa halvas (SP-12). There is no other eliminating step by which personnel-induced and business-driven microbiological risks in the process of final product. Thus, plain halva, pistachio halva and cocoa halva must be described as CCP-M⁶, CCP-M⁷ and CCP-M⁸, respectively.

CONCLUSION

Halva is a traditional Turkish food and mostly consumed at breakfast in Turkey as well as in many Middle Eastern and Asian countries. In the literature, halva studies are mostly aimed to determine microbiological load of the halva products put on the market. Halva production process has not been investigated in details as well as there are few studies on food safety risk analysis in the literature. On the other hand, *Salmonella* spp. infection has been reported to occur due to the consumption of products exported to Europe.

This study is conducted at one of the halva production company in order to determine the critical microbiological control points in the process of halva production. Result from the study is as follows:

Input control operations of Sesame, soapwort extract and granulated sugar that are bought for company is not CCP-M. Still, the input control operations of these materials should define. Within the scope of plan, every batch should be inspected, their microbiological analysis certificates should be requested, and the suppliers of these materials should be periodically audited.

The fact that cocoa powder is an export product and pistachio is an agricultural product is the potential source of microbiological hazard. These two materials are directly used in halva production without going through an initial process beforehand. Moreover, It is clear from Figure 1 and decision tree that cocoa powder (SP-4) should be defined as CCP-M¹ and the pistachio (SP-5) as CCP-M².

Tahini Milling Process (SP-7) cannot be considered as a CCP-M. On the other hand, it is an important process step as it shows whether there happens any contamination in the related processes.

Manual kneading, plain halva, pistachio halva and cocoa halva are indicated as CCP-M⁶, CCP-M⁷ ve CCP-M⁸ respectively in the decision tree. Operation in these process steps do not include any operation that can eliminate microbial load or reduce to acceptable level. At this stage, operations for microbial load determination are conducted. Personnel-induced microbiological risks during the manual kneading process exist and it is almost impossible to track it with CCP. Determining the end product analysis as CCP is a contradiction with the system approach for safe food production using effective periodic maintenance. Thus, determining these steps as CCP is not a realistic approach. Effective control point should be determined for these process steps and systematic operations including release systems must be conducted. The efficiency of the system should be increased by periodic maintenance and sanitation of all the machinery, effective implementation of swap analyses, personnel training and check-ups.

The establishment has been practicing ISO 22000 Food Safety Management System since 2006. However, it is clearly seen that the system established and applied in

the establishment is inaccurate. Therefore, the company was recommended to revise its system and then to contract with another certification authority.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was accepted as a master's thesis at Ataturk University by the Institute of Science. Additionally, a part of this study was presented at Turkey Natural Diet and Lifelong Health Summit as a poster presentation.

REFERENCES

- [1] TGK (Türk Gıda Kodeksi), 2008. Türk Gıda Kodeksi Tahin Helvası Tebliği. Tebliğ no: 2008/6. 26807 sayılı Resmi Gazete.
- [2] Andersson, Y., De Yong, B., Hellström, L., Stamer, U., Wollin, R., Giesecke, J., 2001. *Salmonella* Typhimurium outbreak in Sweden from contaminated jars of helva (Halva). *Eurosurveillance Weekly*, 5, 29. Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=1715>. Access: 15.11.2016.
- [3] Brockmann, S.O., Piechotowski, I., Kimming, P., 2004. *Salmonella* in sesame seed products. *Journal of Food Microbiology* 67(1):178-180.
- [4] Gök, F., Var, I., 2005. Piyasadan sağlanan tahin helvalarının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi ve *Salmonella* spp. izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Adana.
- [5] On, S., Lake, R., King, N., Cressey, P., Gilbert, S., 2010. *Salmonella* (Non Typhoidal) in high lipids foods made from sesame seeds, peanuts or cocoa beans. Available at: <http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/salmonella-in-high-lipid-foods.pdf>. Access: 01.11.2016.
- [6] Willis, C., Little, C.L., Sagoo, S., de Pinna, E., Threlfall, J., 2009. Assessment of the microbiological safety of edible dried seeds from retail premises in the United Kingdom with of focus *Salmonella* spp. *Food Microbiology* 26: 847-852.
- [7] Çeliktaş, M., Dağlıoğlu, F., 2008. Kuru meyvelerde aflatoksin riski. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, May 21-23, 2008, Erzurum, Turkey, Book of Proceedings, 237-240p.
- [8] Little, C., 2001. International outbreak of *Salmonella typhimurium* DT 104 – update from The United Kingdom. *Eurosurveillance Weekly*, Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=1700>. Access: 15.11.2016.
- [9] O'Grady, K.A., 2001. *Salmonella* Typhimurium DT 104-Australia, Sweden: ProMED mail. Available at: http://www.promedmail.org/?p_filename=20010730.1494&p_year=2001&p_month=07. Access: 15.11.2016.
- [10] Şengün, I.Y., Hancıoğlu, O., Karapınar, M., 2005. Microbiological profile of helva sold at retail markets in İzmir city and the survival of *Staphylococcus aureus* in this product. *Food Control* 16(10): 840-844.
- [11] Torlak, E., Özfidan, C., 2012. Tahin helvalarında *Salmonella* kontaminasyonu. 3. *Geleneksel Gıdalar*

- Sempozyumu*, May 10-12, 2012, Konya, Turkey, Book of Proceedings, 54-55p.
- [12] Kaya, B., Ergönül, B., 2012. Manisa'da açıkta satışa sunulan tahin helvaların mikrobiyolojik özellikleri. 3. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, May 10-12, 2012, Konya, Turkey, Book of Proceedings 299-300p.
- [13] Torlak, E., Sert, D., Serin, P., 2013. Fate of *Salmonella* during sesame seeds roasting and storage of tahini. *International Journal of Food Microbiology* 163(2): 214-217.
- [14] TGK, 2011a. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Tebliğ no: 2011/12. 28157 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- [15] TGK, 2011b. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Tebliğ no: 2011/12. 28157 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- [16] ISO (International Organization for Standardization), 2002. *ISO 6579:2002*. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
- [17] ISO, 2008. *ISO 21527-2:2008*. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -- Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95.
- [18] ISO, 2001. *ISO 16649-2:2001*. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff- Horizontal Method for Enumeration of β -glucuronidase Positive *Escherichia coli* - Part 2: Colony - Count Technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide.
- [19] AOAC, 1995. Official Method 991.31. Aflatoxins in Corn, Raw Peanuts and Peanut Butter Immunoaffinity (Aflatest) Method First Action 1991. Final Action 1994, *AOAC Official Methods of Analysis Supplement* March 1995, chapter 49 p: 20-21.
- [20] FAO (Food and Agriculture Organization), 1997. Hazard analysis and critical control point (HACCP) system guidelines for its application. CAC/RCP 1e1969, Rev.3.
-

Artvin İlinde Geleneksel Olarak Üretilen Farklı Marmelat Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik Profilleri

Memnune Şengül¹ , Elif Feyza Topdaş¹ , Hanife Doğan¹ , Hüseyin Serencam² 

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

²Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bayburt

Geliş Tarihi (Received): 23.12.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 05.04.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): efeyza.topdas@atauni.edu.tr (E.F. Topdaş)

☎ 0 442 231 27 29 📠 0 442 236 09 58

ÖZ

Bu çalışmada, Artvin ili'nde yetişen kuşburnu (*Rosa canina* L.), kızılcık (*Cornus mas* L.), çakal eriği (*Prunus spinosa*) ve Ahlat armudu (*Pyrus elaeagrifolia*) meyvelerinden geleneksel olarak üretilen marmelatların toplam ve suda çözünür kuru madde, titrasyon asitliği, glikoz, früktoz, sakaroz, toplam şeker ve hidroksimetilfurfural (5-HMF) miktarları, pH, renk ve su aktivitesi değerleri ile antioksidan aktivite ve fenolik bileşen kompozisyonları belirlenmiştir. Araştırmada, tüm marmelat örneklerinin toplam ve suda çözünür kurumadde içeriklerinin %55, su aktivitesi değerlerinin 0.79, toplam şeker içeriklerinin 47 g/100g'ın üzerinde olduğu; HMF içeriklerinin ise 10.95 ile 1094.11 mg/kg arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Örnekler farklı oranlarda gallik asit, kateşin, epikateşin, vanillin, klorojenik asit, kafeik asit, kumarik asit, *p*-kumarik asit, hesperidin, rutin, elajik asit ve kuersetin içermektedir. Marmelat örneklerinin fenolik madde içeriklerinin 64.67-205.75 µg GAE/g arasında değiştiği; kızılcık marmelatının en yüksek DPPH radikal giderme aktivitesi (%3.72±0.09) gösterdiği tespit edilmiştir. Çeşitli fenolik maddeleri yüksek miktarlarda içermeleri ve antioksidan aktivitelerinin yüksek olması nedeniyle kuşburnu, çakal eriği, kızılcık ve Ahlat armudu marmelatlarının insan sağlığı açısından önemli oldukları ve çeşitli fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesinde kullanılabilecekleri düşünülmektedir. Ayrıca, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatlarında belirlenen yüksek HMF miktarının ürünlerin geleneksel üretimi sırasında yüksek sıcaklıkta uzun süre kaynatma işlemine maruz kalmaları nedeniyle oluştuğu düşünülmekte olup, halkımızın bu konuda bilinçlendirilmesinin faydalı olacağı anlaşılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, Fenolik madde profili, Çakal eriği, Ahlat armudu, Kuşburnu, Kızılcık

Some Physical and Chemical Properties, Antioxidant Activities and Phenolic Profiles of Different Marmalades Traditionally Produced in Artvin, Turkey

ABSTRACT

In this study, some physiochemical properties (color, pH, total and soluble solid, titratable acidity, glucose, fructose and total sugar content, water activity, hydroxymethyl furfural (5-HMF) as well as antioxidant activity and phenolic composition of traditionally produced rosehip (*Rosa canina* L.), cornelian cherry (*Cornus mas* L.), blackthorn (*Pyrus elaeagrifolia*) and Ahlat pear (*Pyrus elaeagrifolia*) marmalades were determined. In research, the following data were determined that all marmalade samples' total and water soluble dry matter contents were over 55%; water activity and total sugar contents were over 0.79 and 47 g/100g and HMF contents were found between 10.95 and 1094.11 mg/kg. All samples contained gallic acid, catechin, epicatechin, vanillin, chlorogenic acid, caffeic acid, coumaric acid, *p*-coumaric acid, hesperidin, routine, ellagic acid and quercetin in different ratios. Phenolic substance values of marmalade samples were between 64.67-205.75 µg GAE/g. The highest DPPH radical scavenging activity

belonged to the cornelian cherry marmalade (%3.72±0.09). Because of the high phenolic composition and antioxidant activities of rosehip, blackthorn, cornelian cherry and Ahlat pear marmalades besides their significant health benefits may be used for developing functional foods. High HMF contents in blackthorn and Ahlat pear marmalades could be due to long processing time and boiling process at high temperature during conventional production, and consumers should be aware of this problem.

Keywords: Antioxidant activity, Phenolic profile, Blackthorn, Ahlat pear, Rosehip, Cornelian cherry

GİRİŞ

Son yıllarda daha bilinçli hale gelen tüketiciler meyve, sebze ve bunların işlenmesi ile elde edilen ürünlerin tüketiminde aroma veya lezzetin yanı sıra antioksidan aktivite, vitamin ve mineral içeriği gibi faktörleri de dikkate almaktadırlar. Dolayısıyla, meyvelerin işlenmesiyle elde edilen reçel, marmelat ve pekmez gibi ürünlerin fenolik bileşenler, antioksidan aktivite ve vitamin içeriğinin meyveye kıyasla ne derece değiştiği önem arz etmektedir.

Meyvelerin işlenmesi ile elde edilen bir ürün olan marmelat; sap, yaprak, çekirdek ve parçalarından temizlenmiş, yıkanmış, sağlam ve olgun meyvelerden elde edilen sürülme kıvamında bir üründür. Marmelat ve reçel arasındaki fark meyve parçalarının iriliğine dayanmaktadır [1]. Türk Gıda Kodeksi Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği [2] marmelatları; marmelat ve geleneksel marmelat olarak sınıflandırmaya tabi tutmuş ve geleneksel marmelatı; Meyve pulpu, püre, meyve suyu ve sulu ekstraktlarının veya bitkilerin kök, yaprak, çiçek gibi yenilebilir kısımlarına gerektiğinde şekerler ve su ilave edilerek sürülme kıvamına getirilmiş karışım olarak tanımlamıştır.

Marmelat taze meyvelerden yapılabildiği gibi kuru meyvelerden de üretilmektedir. Taze şeftali, kayısı gibi yumuşak meyveler direkt marmelat yapılabilirken; elma ve armut gibi yumuşak etli olmayan meyvelerin kolayca ezilebilmesi için önce haşlanmaları gerekmektedir. Kuru meyvelerden marmelat üretilirken ise meyveler 8–10 saat su içinde ıslatılıp yumuşayınca kadar haşlandıktan sonra ezme haline getirilmektedirler [3].

Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre; Türkiye’de çeşitli meyvelerden reçel, meyve marmelatı, meyve veya sert kabuklu yemişlerin püre ve ezmeleri sektöründe faaliyet gösteren 119 firma bulunmakta ve bu firmalar yılda yaklaşık 113241 ton reçel, marmelat, püre ve ezme üretimi yapmaktadırlar [4]. Ancak evlerde ve merdiven altı olarak tabir edilen yerlerde geleneksel olarak ne kadar üretim yapıldığı bilinmemektedir.

Gıdalara uygulanacak herhangi bir proses seçilirken dikkat edilmesi gereken en önemli husus, gıdaların besin değerini, kalitesini optimum düzeyde koruyacak yöntemin uygulanmasıdır [5]. Geleneksel olarak üretilen marmelatlar, kıvam artırıcı herhangi bir katkı maddesi ilave edilmeksizin yüksek sıcaklık derecelerinde uzun süre kaynatılarak kıvamları artırılmaya çalışıldığından içeriğindeki meyvelerin antioksidan aktivitelerinin yanı sıra besin değerlerinde de kayıplar olmaktadır. Dolayısıyla, reçel, marmelat, püre ve ezme gibi

geleneksel olarak üretilen ürünlerde, uzun süre ısı işlemlerini uygulamaları yerine vakumda pişirme ve standart kalitede üretim gibi konular çözülmesi gereken problemlerin başında gelmektedir.

Gerek geleneksel olarak gerekse teknolojik olarak birçok meyveden marmelat üretilmektedir. Yapılan bu araştırmada da materyal olarak Artvin İli’nde geleneksel olarak üretilen kuşburnu, kızılıçık, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatları kullanılmıştır. Kuşburnu; reçel, marmelat, şurup, meyve suyu ve bitki çayı şeklinde tüketimi oldukça yaygın olan bir meyvedir. Bu meyve, C ve E vitaminleri gibi antioksidanların, likopen ve β-karoten gibi karotenoidlerin, flavonoid, glikozit ve proantosiyanidin aglikon gibi fenolik bileşiklerin önemli bir kaynağı olarak bilinmektedir [6]. Erik meyvesi, A ve B vitaminleri ile potasyum ve magnezyum mineralleri açısından oldukça zengindir. Eriğin taze tüketimi yanında, meyve suyu ve konserve endüstrisinin gelişmesi ile komposto, reçel, ezme, pestil, marmelat ve meyve suyu yapımında kullanıldığı [7], ayrıca kurutulularak da pazarlandığı ve tüketildiği [8] bilinmektedir. Armut; kendine özgü tat, gevreklik, koku ve aromasından dolayı tüketiciler tarafından tercih edilen bir meyvedir. Ülkemizde genelde taze olarak veya kurutulularak tüketilirken, çok az kısmı da püre, konsantre, nektar, berrak armut suyu, pulplu meyve suyu karışımları üretiminde kullanılmaktadır [9]. Kızılıçık meyvesi ise, halk tarafından kurutulmuş ve taze olarak tüketilebilmekte; ayrıca reçel, marmelat, şurup, pestil ve meyve suyu üretiminde de kullanılmaktadır. Bu meyve, kolay hazımlanabilir şekerler, glikoz, früktoz, organik asitler, glikozit, früktozit, aromatik bileşikler, fenolik madde, salisilik asit, pektin ve mineral maddeler, askorbik asit, kateşin, flavonoid gibi biyolojik aktif maddeler [10] ile antioksidan etkiye sahip bileşenler olan antosiyaninleri de önemli miktarda ihtiva etmektedir [11].

Bu araştırma, Artvin İli’nde geleneksel olarak üretilen kuşburnu, kızılıçık, çakal eriği ve ahlat armudu marmelatlarının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanı sıra antioksidan aktivite ve fenolik bileşen profillerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Yapılan literatür taramalarında; kızılıçık marmelatının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile C vitamini içeriği [12], kuşburnu marmelatının biyoaktif ve reolojik özellikleri [13], kuşburnu ve kızılıçık marmelatı ilaveli set ve karıştırılmış tip yoğurtların bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri [14], kızılıçık meyvesi ve marmelatının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan aktivite ve antosiyanin profilinin belirlendiği [15] görülmüş ancak geleneksel olarak üretilmiş marmelatlar ile erik ve armut marmelatları üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu

açından yapılan araştırmanın literatüre önemli düzeyde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada Artvin İli'nde geleneksel olarak üretilen kuşburnu, kızılıçık, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatları kullanılmıştır. Marmelat örnekleri doğrudan üreticiden alınarak laboratuvara getirilmiş ve analiz edilinceye kadar $4\pm 1^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

Marmelat örneklerinin toplam kuru madde miktarları vakumlu kurutma dolabı (Daihan Wiseven, WOV-30, China), suda çözünür kuru madde içerikleri refraktometre (Abbe Zeiss, Almanya), titrasyon asitliği (%malik asit cinsinden) ve pH değerleri pH metre (Ohaus, starter 3100, ABD) kullanılarak AOAC (Association of Official Agricultural Chemists) [16] standart metoduna göre belirlenmiştir. Renk Tayini, üç boyutlu renk ölçümü esasına göre çalışan renk ölçme cihazı (Minolta CR-400) ile yapılmıştır. Renk okumadan önce cihaza ait standart kalibrasyon skalası ile cihaz kalibre edilmiş ve ardından örnekler beyaz bir zemine konularak renk ölçümü yapılmıştır (L; 0=siyah, 100=beyaz (koyuluk /açıklık), a; +a kırmızı, -a yeşil, b; +b sarı, -b mavi renk yoğunluklarını göstermektedir). Ayrıca C ve H° değerleri de Eşitlik 1 ve 2 yardımıyla hesaplanmıştır [17]:

$$C = (a^2 * b^2)^{1/2} \quad (1)$$

$$H^\circ = \tan^{-1}(b/a) \quad (2)$$

H° değerlerinin 0° , 90° , 180° , 270° ve 360° olması sırasıyla; kırmızı, sarı, yeşil, mavi ve kırmızı rengi ifade etmektedir [18].

Örneklerin su aktivitesi, su aktivitesi cihazı (Novasina, Lab touch- aw, İsviçre) ile AOAC [19] metoduna göre; HMF miktarları ise Tornuk ve ark. [20]'a göre HPLC cihazı (Schimadzu LC 20A, Japonya) ve C-18 (Zorbax Eclipse, XDB-C18) kolon kullanılarak tespit edilmiştir. Kolon boyutları 4.6x150 mm, kolon iç çapı 5 µm ve kolon sıcaklığı 25°C 'dir. Kromatogramlar Diode Array Detector (DAD)'da 284 nm dalga boyunda tespit edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL'dir. Hareketli faz olarak, ultra saf su (%1'lik asetik asit içeren): asetonitril (95:5, v/v) karışımı kullanılmıştır. Hareketli fazın akış hızı 1 mL/dakikadır.

Marmelatların şeker profil analizleri, uluslararası IHC [21] metodunda bazı modifikasyonlar ile yapılmıştır. 100 mL saf suda çözündürülen marmelat örnekleri 0.45 µm'lik membran filtrelerden geçirilerek viallere alınmıştır. Hareketli faz olarak, asetonitril: su (80:20, v/v) karışımı kullanılmıştır. Kullanılan kolon; 4.6x250 mm boyutlarında ve aminden modifiye edilmiş 5–7 µm partikül büyüklüğüne sahip dolgu maddesi içermektedir (Inertsil HPLC kolon, GL Sciences, Japonya). Örneklerde şeker analizi için otomatik örnekleyiciye sahip HPLC (Schimadzu LC 20A, Japonya) cihazı ve Refraktif İndeks Dedektörü (RID) kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde, fenolik bileşen profili ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla öncelikle

örneklerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, santrifüj tüplerine 5'er g tartılan örneklerin üzerine 25'er mL metanol:su (50:50 v/v) karışımından eklenmiştir. Ultrasonik su banyosunda 10 dakika boyunca muamele edilen örnekler mekanik bir çalkalayıcı yardımıyla 15 dakika karıştırılmıştır. Soğutmalı santrifüjde 4°C 'de 8500 devir/dakika hızda 20 dakika santrifüj edildikten sonra santrifüj tüplerinin üstünde kalan berrak kısım toplanmış ve analizler yapılana kadar amber cam şişelerde -20°C 'de muhafaza edilmiştir. Elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi Soares ve ark. [22]'a göre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl serbest radikal (DPPH•) giderme aktivitesi belirlenerek elde edilmiştir. Sonuçlar % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı ise Folin-Ciocalteu reaktifi ile Singleton ve ark. [23] metodunda bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Buna göre, 1000 µL ekstrakt saf su ile 46 mL'ye tamamlanmış ve üzerine sırasıyla 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra da %3'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 3 mL ilave edilmiş ve toplam hacim 50 mL'ye tamamlanmıştır. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalanmış daha sonra numunelerin absorbansı 720 nm'de saf suya karşı okunmuştur. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edilmiş ve sonuçlar µg/GAE g şeklinde ifade edilmiştir. Antioksidan aktivitede kullanılan ekstraktlar fenolik bileşen profilinin belirlenmesinde de kullanılmıştır. Örneklerin fenolik bileşen profili Karaaslan ve ark. [24] e göre HPLC (Schimadzu LC 20A, Japonya) cihazı ile C18 (250x4mm) kolonu kullanılarak belirlenmiştir. Hareketli faz olarak, su:formik asit (95:5, v/v) karışımı kullanılmıştır. Hareketli fazın akış hızı 1 mL/dakikadır. Analiz 25°C 'de gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın istatistik analizleri SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen ham verilere çoklu varyans analizi uygulanmış ve verilerin ortalamaları $P < 0.05$ önem seviyesinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Geleneksel olarak üretilmiş olan kuşburnu, kızılıçık, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatlarına ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler Tablo 1'de verilmiştir. Marmelat örneklerinin toplam kuru madde içerikleri marmelat çeşidine göre istatistik olarak önemli düzeyde ($p < 0.05$) farklı bulunmuş olup, kuşburnu, kızılıçık, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatlarında sırasıyla %56.45, %66.76, 61.12 ve %64.75 olarak belirlenmiştir. Daha önce marmelatlar üzerine yapılan çalışmalarda ise kuru madde miktarları, kuşburnu marmelatında %51.6 [6], kızılıçık marmelatında depolamanın başlangıcında %62.33 [25] ve erik marmelatında %65.2 [26] olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçların verilen literatürler ile uyumlu olduğu görülmüş olup, literatürde armut marmelatı ile ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanmadığı için armut marmelatında tespit edilen bileşenlerin miktarları literatür ile kıyaslanamamıştır. Araştırmada marmelatların suda çözünür kuru madde miktarlarının %55.40-%64.80 arasında değiştiği ve sonuçların marmelat çeşitleri arasında istatistik olarak $p < 0.05$ düzeyinde farklılık arz

ettikleri tespit edilmiştir. Reçel, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği'nde [2] geleneksel marmelatlarda suda çözünür kuru madde içeriğinin %55'in altında olmaması gerektiği vurgulanmakta ve analiz edilen marmelat numunelerinin söz konusu değerler açısından tebliğe uygun olduğu görülmektedir.

Cemeroğlu ve ark. [1] reçel, marmelat ve jöle gibi ürünlerde iyi bir jel oluşumu için pH değerinin ürünün kuru madde içeriğine bağlı olarak 2.8–3.2 arasında bulunması gerektiğini, pH derecesinin 3.5'un altına düştüğünde jel kıvamında artış yani katılaşmanın görülebileceğini; pH derecesinin belli bir noktanın altına düştüğünde ise jelde sinerez yani su salmanın ve cıvıklaşmanın olabileceğini kaydetmişlerdir. Reçel, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği'nde [2] ise pH derecesinin 2.8-3.5 olması gerektiği vurgulanmaktadır. Marmelat örneklerinden kızılıçık ile çakal eriği marmelatlarının pH değerlerinin 3.5'in altında olduğu görülmektedir. Kızılıçık marmelatının kuşburnu ve Ahlat armudu marmelatlarına kıyasla daha katı ve kıvamlı halde olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, pH derecesi 3.5'in altında olmasına rağmen çakal eriği marmelatının daha cıvık olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun çakal eriği marmelatında meydana gelen sinerez olayından meyvenin içerdiği pektin miktarı ve niteliğinden veya Cemeroğlu ve ark. [1] tarafından da belirtildiği gibi; şeker oranı ve pH derecesine bağlı olarak pektinin güçlü bir jel oluşturamamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Örneklerin toplam şeker miktarlarına bakıldığında, 47.24g/100g ile 61.41g/100g arasında değişim gösterdiği ve en düşük toplam şeker miktarının çakal eriği marmelatında belirlendiği görülmektedir. Ayrıca, Tablo 1'de kızılıçık ve çakal eriği marmelatlarında sakaroz bulunmadığı dikkat çekmektedir. Kızılıçık ve çakal eriği marmelatlarında sakarozun bulunmaması, üretim esnasında uygulandığı düşünülen yüksek sıcaklık derecelerindeki ısı işlem ve örneklerin asidik karakterde (örneklerin pH dereceleri sırasıyla 3.22 ve 2.96'dır) olmalarından dolayı sakarozun tamamen parçalandığını düşündürmektedir. Marmelat örneklerinin glikoz ve früktoz miktarları ise sırasıyla 9.68 ile 32.58 g/100 g ve 10.56 ile 30.98 g/100 g arasında değişim göstermektedir (Tablo 1). Reçel, marmelat vb. ürünlerde iyi bir jel oluşumu şeker konsantrasyonunun artması, yani su aktivitesinin düşmesi ile olmaktadır [1]. En kıvamlı örnek olan kızılıçık marmelatının, diğer örneklerle kıyasla şeker konsantrasyonunun en yüksek (61.41 g/100 g) su aktivitesi değerinin ise en düşük olduğu gözlemlenmektedir (0.79).

Tablo 1'de görüldüğü gibi marmelatların titrasyon asitliği değerlerinin %malik asit cinsinden %0.82-1.96 arasında olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada titrasyon asitliğinin marmelat çeşitlerine göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ seviyesinde farklı olduğu tespit edilmiştir. En yüksek titrasyon asitliği miktarının çakal eriği marmelatında, en düşük titrasyon asitliği miktarının ise Ahlat armudu marmelatında bulunduğu belirlenmiştir.

Isıl işlem uygulanan gıdalarda önemli bir kalite faktörü olan HMF bakımından marmelat örnekleri değerlendirildiğinde, marmelatların 10.95 ± 0.14 - 1094.11 ± 2.85 mg/kg HMF içerdikleri ve marmelatlarda

bu miktarın oldukça geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir (Tablo 1). Araştırmada kuşburnu ve kızılıçık marmelatlarının HMF miktarlarının birbirine oldukça yakın olduğu, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatlarının kuşburnu ve kızılıçık marmelatlarına göre oldukça yüksek miktarda HMF içerdikleri tespit edilmiştir. Maillard reaksiyonunun bir ara ürünü olan HMF, meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunmayıp, oluşumu üretim ve depolama sırasında uygulanan ısı işlemin şiddetine (sıcaklık derecesi ve süre); pH, nem, reaksiyona giren bileşiklerin çeşidi ve konsantrasyonu, gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir [27]. Birçok şekerli üründe bulunan HMF'nin miktarı, üretim sırasında ürüne uygulanan ısı işlem ve depolama düzeyinin bir ölçütü olarak değerlendirilmektedir [28, 29]. Bu yüzden birçok ülkede ve birçok üründe HMF sınırları belirlenmiştir. Ancak, ülkemizde yayınlanan Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği'nde [2] HMF sınırlandırmasına rastlanmamaktadır. Yapılan çalışmada çakal eriği ve ahlat armudu marmelatlarında gözlenen yüksek miktarlardaki HMF değerlerinin (sırasıyla 975.20 ± 3.03 mg/L ve 1094.11 ± 2.85 mg/L) uygulanmış olabilecek yüksek sıcaklık ve uzun süreli ısı işlem sırasında meydana gelen Maillard reaksiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bir gıdanın tüketiciler tarafından kabulünde en önemli faktörlerden biri olan renkle ilgili sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Koyuluk/açıklığın göstergesi olan L değerinin marmelat çeşitleri arasında istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde farklılık arz ettiği ve 19.79 ± 0.06 - 30.50 ± 0.09 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre analiz edilen marmelatlar arasında Ahlat armudu marmelatının en koyu renkli olduğu tespit edilmiştir. Aynı örnekte HMF değerinin de yüksek çıkması, bu marmelatın üretimi sırasında uzun süre yüksek sıcaklık uygulandığını göstermektedir. +a değeri kırmızı, -a ise yeşil rengin göstergesi olup, tüm marmelat örneklerinin a değerleri +değerli olarak ölçülmüştür. Marmelat çeşitleri arasında a değerlerinin istatistiksel olarak farklı olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiş ve en yüksek a değeri 14.45 ± 0.05 olarak kızılıçık marmelatında belirlenmiştir. Bu durum kızılıçığın; kuşburnu, çakal eriği ve Ahlat armuduna göre daha kırmızı olmasından kaynaklanmaktadır. +b değeri sarı rengi ifade etmekte olup, marmelat örneklerin b değerleri $+1.70 \pm 0.08$ ile $+6.36 \pm 0.07$ arasında değişmektedir. En düşük değer Ahlat armudu marmelatında gözlemlenirken, marmelat çeşitleri arasında b değerlerinin istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde farklılık arz ettikleri tespit edilmiştir. Renk doygunluğunu ifade eden C değerinin, en yüksek kızılıçık marmelatında (15.76 ± 0.12), en düşük çakal eriği marmelatında (10.49 ± 0.16) olduğu görülmektedir. Örnekler renk veya ton açısı olarak bilinen H° değerleri bakımından incelendiğinde, değerlerin 8.23 ± 0.25 ile 23.73 ± 0.14 arasında değiştiği görülmektedir. H° değerleri 0° - 90° arasında olduğundan örneklerin tamamı kırmızı-sarı bölgede ama kırmızıya daha yakın değerlerde oldukları tespit edilmiştir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi marmelatların toplam fenolik madde miktarları kuşburnu, kızılıçık, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatları için sırasıyla 581.89 ± 2.36 ,

64.67±1.57, 70.78±0.79 ve 205.75±0.33 µg/GAE g olarak bulunmuştur. Marmelat çeşitlerinin toplam fenolik madde değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0.05$) ve en yüksek toplam fenolik madde miktarının kuşburnu marmelatında bulunduğu belirlenmiştir. Sağdıç ve ark. [13] tarafından yapılan bir çalışmada geleneksel olarak üretilen kuşburnu marmelatının biyoaktif özelliklerini belirlemek için kullanılan direkt yöntem ve ekstraksiyon yöntemi ile bulunan toplam fenolik madde miktarları sırasıyla; 21.14 ve 38.49 GAE/g olarak bulunmuştur. Ercişli [30]'ye göre kuşburnu meyvesinin toplam fenolik madde içeriği kuru ağırlık üzerinden 96 mg GAE/g kuru ağırlıktır. Yoo ve ark. [31] kuşburnu meyvesinin toplam fenolik madde içeriğini, ekstraksiyonda %70'lik metanol çözeltisi kullanılması durumunda 818.5 mg GAE/100 g olarak bulurken; %50'lik aseton ve %80'lik metanol kullanılıncaya sırasıyla 5.09 ve 2.57 mg GAE/g olarak bulmuştur. Barros ve ark. [32] ise kuşburnu üzerine yaptıkları bir çalışmada toplam fenolik madde içeriğini 143.17 GAE/g olarak belirlemiştir. Araştırmalarda toplam fenolik madde değerlerinde görülen farklılıkların sebebinin; kullanılan meyvelerin çeşitleri, olgunluk dereceleri ve farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraksiyonda kullanılan farklı çözeltiler olabileceği düşünülmektedir. Chrubasik ve ark. [33] kuşburnu meyvesinin fenolik bileşen ve C vitamini bakımından oldukça zengin olduğunu bildirmektedir. İçerdiği fenolik bileşenler sebebiyle, insan sağlığı açısından kuşburnu marmelatının günlük tüketimi oldukça faydalıdır [13]. Günümüzde daha çok geleneksel olarak üretilen bu marmelatın fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi için işleme şartlarının (ısı işlem sıcaklık ve süresi) iyileştirilmesi ve böylece biyoaktif bileşenlerin marmelat üretimi esnasında mümkün olduğunca az zarar görmesinin sağlanması gerekmektedir.

Yapılan çalışmada marmelat örneklerinin antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla DPPH• radikali giderme metodu kullanılmıştır. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en sık kullanılan metotlardan biri olan DPPH• radikali giderme metodunun [34] esası; hidrojen veren gruplara sahip antioksidan maddelerin varlığında, alkolde çözünen DPPH• radikallerinin redüksiyonuna dayanmaktadır [35]. Bu metot kullanılarak belirlenen antioksidan aktivite sonuçları %inhibisyon değerleri cinsinden Tablo 1'de görülmektedir. Araştırmada kızılçık marmelatının en yüksek DPPH• radikali giderme aktivitesi 3.72±0.09 gösterdiği belirlenmiştir. Hassanpour ve ark. [36] taze kızılçık meyvesinin toplam antioksidan aktivitesini %38.98 ile %82.37 aralığında bulmuşlardır. Tural ve Koca [11] ise kızılçığın antioksidan aktivitesini FRAP yöntemi ile 16.21–94.43 mmol/g ve DPPH• yöntemi ile 0.29–0.69 mg/mL olarak tespit etmişlerdir. Kızılçık meyvesinin işlenmesi sırasında uygulanan prosese bağlı olarak antioksidan aktivitede azalma olmaktadır. Çünkü antioksidan etki gösteren birçok bileşik sterilizasyon,

pastörizasyon, dehidrasyon, depolama ve pişirme gibi gıda işleme aşamalarında önemli ölçüde parçalanmakta ve antioksidan etkilerinde azalma olmaktadır [5].

Tablo 1'de de görüldüğü gibi bazı örneklerde (Ahlat armudu marmelatı hariç) toplam fenolik madde miktarı ile DPPH radikal giderme aktivitesi paralellik göstermemektedir. Bu durum, gıdaların antioksidan aktivitesi üzerine fenolik bileşiklerin yanı sıra; karotenoidler, C ve E vitaminleri, Cu, Zn, Se, Fe gibi mineraller, aminoasitler, melanoidinler, sülfidler, fitatlar, glukonatlar, kumarinler, terpenler, ligninler, indoller, izosiyanatlar ve fitalidlerin de etki etmesinden kaynaklanabilmektedir [37]. Dolayısıyla örneklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi arasındaki bu negatif korelasyonun hangi bileşiklerden kaynaklandığının belirlenmesi daha ayrıntılı bir çalışma yapılmasını gerektirmektedir. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarının paralellik teşkil etmediği farklı bir çalışma ise Ballesteros et al. [38] tarafından artık kahve tozlarından fenolik ve antioksidan etkili diğer bileşiklerin geri kazanımı üzerine yapılmış ve toplam fenolik madde miktarı en yüksek 200°C'de 50 dakika ekstraksiyon sonucu 39.29±0.83 mg GAE/g olarak bulunurken; en yüksek DPPH radikal giderme aktivitesi ise 200°C'de 50 dakika ekstraksiyonda değil; 180°C'de 30 dakika ekstraksiyona tabi tutulmuş kahve tozlarında 29.79±0.40 mg TE/g olarak bulunmuştur.

Literatürlerle kıyaslandığında yapmış olduğumuz çalışma sonuçlarında da görüldüğü gibi geleneksel yolla yapılan üretimlerde, hem uygulanan sıcaklık hem de işlem süresinin artışına bağlı olarak antioksidan aktivitenin düştüğü görülmektedir. Yapılan çalışmada kızılçık meyvesinin antioksidan aktivitesi belirlenmemiş olmakla birlikte, daha önce yapılan araştırmalarda belirlenen taze kızılçık meyvesine ait antioksidan aktivite değerlerinin mevcut araştırmada marmelatla belirlenen değerlerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Antioksidan aktivitenin marmelatlarda daha düşük olmasının, geleneksel yolla marmelat üretimi sırasında uygulanan kontrolsüz ısı işlem şartlarından kaynaklandığı söylenebilir.

Eser [15] kızılçık marmelatı üzerine yaptığı bir çalışmada linoleik asidin oksidasyonuna dayanan β-karoten ağartma metodunu kullanmış ve başlangıçta %89.49-96.50 arası olan antioksidan aktivite değerlerinin 2 aylık depolama sonucu %81.47-88.22 aralığına düştüğünü tespit etmiştir. Yapılan çalışmada tespit edilen sonuçların daha önce yapılan araştırma sonuçlarından farklı çıkmasının sebebi, kızılçık genotipi, meyvenin yetiştirildiği yörenin ekolojik koşulları, yetiştirme tekniği, kültürel önlemler, olgunluk düzeyi, taşıma, depolama, marmelatların üretimindeki farklılıklar ve ekstraksiyonda kullanılan yöntemlerin farklılığı gibi faktörlerden kaynaklanabilir.

Tablo 1. Marmelat örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan kapasiteleri

Parametre	Marmelat Örnekleri			
	Kuşburnu	Kızılıcık	Çakal Eriği	Ahlat Armudu
Toplam Kuru Madde (%)	56.45±0.40a	66.76±0.36c	61.12±0.52b	64.75±0.23c
Suda Çözünür Kuru Madde (%)	55.40±0.24a	64.80±0.14d	60.20±0.32b	63.70±0.28c
pH	4.12±0.04c	3.22±0.10b	2.96±0.07a	4.10±0.05c
Titrasyon Asitliği (% Malik Asit)	1.32±0.14c	1.22±0.12b	1.96±0.09d	0.82±0.07a
Su Aktivitesi (25°C)	0.90±0.08d	0.79±0.11a	0.83±0.10c	0.81±0.07b
HMF (mg/kg)	10.95±0.14a	13.63±0.61a	975.20±3.03b	1094.11±2.85c
Glikoz (g/100g)	9.68±0.11a	32.58±0.12d	26.61±0.08c	21.08±0.15b
Früktöz (g/100g)	10.56±0.13a	28.82±0.25c	20.49±0.21b	30.98±0.32d
Sakaroz (g/100g)	29.00±0.14a	-	-	4.13±0.11b
Toplam Şeker (g/100g)	49.24±0.13b	61.41±0.10d	47.10±0.12a	56.20±0.15c
L	23.59±0.03c	30.50±0.09d	20.57±0.05b	19.79±0.06a
a	14.22±0.14c	14.45±0.05c	10.18±0.08a	11.75±0.06b
b	5.76±0.11c	6.36±0.07c	2.55±1.02b	1.70±0.08a
H°	21.98±0.11c	23.73±0.14d	13.98±0.11b	8.23±0.25a
C	15.32±0.13c	15.76±0.12d	10.49±0.16a	11.84±0.09b
DPPH (%İnhibisyon)	3.17±0.26b	3.72±0.09c	2.45±0.16a	3.56±0.18d
Toplam Fenolik Madde (µg/GAE g)	581.89±2.36d	64.67±1.57a	70.78±0.79b	205.75±0.33c

* Aynı satır üzerinde görülen farklı küçük harfler istatistiksel olarak p<0.05 düzeyinde fark olduğunu göstermektedir.

Tablo 2. Marmelat örneklerinin fenolik bileşen (mg/kg) profili*

Marmelat Çeşidi	Gallik Asit	(+) Kateşin	(-) Epikateşin	Klorojenik Asit	Kafeik Asit	p-Kumarik Asit	Hesperidin	Rutin	Elajik Asit	Kuersetin
Kuşburnu	7.62±0.08d	68.10±0.11d	10.68±0.14b	0.39±0.05b	0.16±0.03a	15.65±0.13b	2.57±0.30b	0.99±0.10	2.09±0.13a	0.81±0.16b
Kızılıcık	2.58±0.04c	1.22±0.07b	31.50±0.12d	-	8.91±0.15d	-	-	-	2.40±0.07b	-
Çakal Eriği	1.46±0.03a	2.46±0.09c	21.49±0.08c	2.35±0.10c	5.95±0.11c	15.39±0.20a	0.34±0.04a	-	2.43±0.11c	0.87±0.13c
Ahlat Armudu	2.28±0.03b	1.07±0.10a	0.37±0.03a	0.32±0.02a	0.21±0.05b	15.63±0.17b	2.78±0.18c	-	3.85±0.19d	0.79±0.14a

*: Aynı sütun üzerinde görülen farklı küçük harfler istatistiksel olarak p<0.05 düzeyinde fark olduğunu göstermektedir.

Kuşburnu, çakal eriği, kızılıcık ve Ahlat armudundan elde edilmiş marmelat örneklerinin HPLC ile belirlenen fenolik bileşen profili Tablo 2' de görülmektedir. Tüm örnekler gallik asit, kateşin, epikateşin, vanillin, kafeik asit ve elajik asit içerirken; klorojenik asit, o-kumarik asit, p-kumarik asit, hesperidin, rutin ve kuersetinin bazı örneklerde buldukları belirlenmiştir. Fenolik bileşikler, gıdaların görünüş, tat ve lezzet gibi tüketim açısından önemli olan kalite özellikleri üzerine etkileri ve doğal antioksidan olarak insan sağlığı üzerine olumlu etkileri nedeniyle önemli bileşenlerdir. Bitkilerin meyve, tohum, çiçek veya yaprak gibi kısımlarında bulunan fenolik bileşikler, ikincil metabolizma ürünleri olup; aynı zamanda meyve-sebzelerde renk, aroma, koku, acılık, burukluk ve oksidatif stabilite üzerinde etkilidirler [39]. Sağlık açısından, yapay antioksidanların toksik ve kanserojenik etkiler göstermeleri nedeniyle doğal antioksidan özelliği gösteren fenolik bileşiklere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Fenolik bileşikler, antioksidan aktiviteleri sayesinde; kanser, kalp-damar hastalıkları, katarakt, göz hastalıkları, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan bazı dejeneratif hastalıkları engelleyebilmektedir [40].

Marmelat örneklerinin gallik asit miktarları 1.46±0.03 mg/kg ile 7.62±0.08 mg/kg arasında değişmekte ve marmelat çeşidine göre istatistiksel olarak p<0.05 düzeyinde farklılık göstermektedir. Gallik asit içeriği en yüksek marmelat çeşidinin kuşburnu marmelatı olduğu görülmektedir (Tablo 2). Tüm marmelat örneklerinde belirlenen gallik asit, yenilebilir veya yenilemeyen

bitkilerde yaygın olarak bulunan; güçlü antimutajenik, antitümör, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler sergileyen bir bileşendir [41]. Gallik asit, birkaç OH-grubunun eksikliğinden ötürü antioksidan aktivitesi hesperidin veya kateşin gibi polifenoller kadar güçlü olmayan bir bileşiktir. Ancak, toksik olmaması, diğer polifenollere kıyasla daha iyi absorbe edilebilmesi ve kullanımı konusunda hiçbir sınırlamanın olmaması sebebiyle meyve suları gibi pek çok uygulamada tercih edilebilir[42].

Flavanoller içerisinde sınıflandırılan kateşinler (+)kateşin, (-)epikateşin, (-)epikateşin gallat, (-) epigallokateşin ve (-)epigallokateşin gallat) oksidatif enzimleri inhibe edici, reaktif oksijen tutucu ve redoks aktif metal çelatlayıcı etkilerinin olduğu kanıtlanmış fenolik bileşiklerdir [43-45]. Tablo 2'de marmelatların kateşin miktarlarının oldukça geniş bir aralıkta değişmekte olduğu (1.07±0.10-68.10±0.11 mg/kg arasında) ve kuşburnu marmelatının en yüksek (+)kateşin içeriğine sahip olduğu görülmektedir. (-) Epikateşin açısından örnekler değerlendirildiğinde ise; kızılıcık marmelatının en yüksek miktarda (31.50±0.12 mg/kg) (-)epikateşin içerdiği belirlenmiştir. Diğer örneklerle kıyasla kuşburnu ve kızılıcık marmelatları daha yüksek miktarda kateşin içermektedir. Yapılan literatür taramasında kuşburnu meyvesinin kateşin içeriği üzerine herhangi bir araştırma yapılmadığı görülmüştür. Kızılıcık meyvesinde ise toplam (-)epikateşin içeriği Çapanoğlu ve ark. [46] tarafından 35.5±4.5 mg/100g olarak belirlenmiştir. Bu durum, taze meyveden

marmelata işleme sırasında kızılçık meyvesinin önemli miktarda (-)epikateşin kaybına uğradığını göstermektedir.

Kuersetin ve rutin gibi flavonoidler keton grubu içermemeleri dolayısıyla kateşinlerden ayrılmaktadırlar [47]. Kuersetin, rutin'in bağırsak mikroflorası tarafından hidrolizi sonrası oluşan aglikon kısmıdır [48]. Marmelat örnekleri kuersetin ve rutin açısından değerlendirildiğinde, rutin'in yalnızca kuşburnu marmelatında bulunduğu (0.99 ± 0.10 mg/kg); kızılçık marmelatının ise hiç kuersetin içermediği görülmektedir (Tablo 2).

Önemli bir biyoflavonoid olan hesperidin'in güçlü anti-inflamatuar, anti-kanserojen ve antioksidan aktivite gösterdiği yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla belirlenmiştir [49]. Özellikle narenciyelerin epikarp, mezokarp ve endokarp kısımlarında bulunan hesperidin'in [50] kızılçık marmelatında hiç bulunmadığı, Ahlat armudu marmelatında en yüksek miktarda (2.78 ± 0.18 mg/kg) bulunduğu belirlenmiştir.

Erik, elma, kayısı, böğürtlen, bekaşi üzümü, ahudu gibi birçok meyvede bir hidroksisanimik asit türevi olan klorojenik asit bulunduğu bildirilmiştir [51]. Marmelat örneklerine bakıldığında yalnızca kızılçık marmelatında klorojenik asit bulunmadığı görülmektedir.

Kafeik asit, birçok meyvede en baskın hidroksisanimik asittir ve erik, elma, kayısı, yaban mersini ve domateste bulunan toplam hidroksisanimik asidin %75'ini oluşturmaktadır [52]. Tablo 2'de de görüldüğü gibi marmelatların kafeik asit miktarı 0.16 ± 0.03 ile 8.91 ± 0.15 mg/kg arasında değişmekte ve en düşük miktarda kuşburnu marmelatında en yüksek miktarda ise kızılçık marmelatında bulunduğu belirlenmiştir.

Elajik asit; nar, ceviz ve pekan cevizinin yanı sıra çilek, böğürtlen ve ahududu gibi kırmızı meyveler ile diğer bitkisel gıdalarda doğal olarak oluşan bir fenolik lakton bileşimidir [53]. Bünyesinde bulunan hidroksil grubunun antioksidan aktiviteyi artırdığı ve hücreleri oksidatif hasardan koruduğu belirlenmiştir [54]. Günümüzde de oldukça dikkat çeken bu fenolik bileşiğin, marmelat örneklerinden en fazla ahlat armudu marmelatında bulunduğu tespit edilmiştir (3.85 ± 0.19 mg/kg).

p-kumarik asit günlük olarak tüketilen gıdalarda yaygın şekilde bulunan doğal bir polifenoldür [55, 56]. Henüz mekanizması tam olarak çalışılmamış olmasına rağmen bu bileşiğin akrilamid oluşumunu engelleyebileceği düşünülmektedir [57]. Tablo 2 incelendiğinde p-kumarik asidin en fazla Ahlat armudu marmelatında bulunduğu (15.63 ± 0.17 mg/kg), kızılçık marmelatında ise hiç bulunmadığı görülmektedir (Tablo 2).

SONUÇ

Bu çalışmada, Artvin ilinde yetişen kuşburnu (*Rosa canina* L.), kızılçık (*Cornus mas* L.), çakal eriği ve Ahlat armudu meyvelerinden geleneksel olarak üretilen marmelatların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan aktivite ve fenolik bileşen kompozisyonları

belirlenmiştir. Araştırmada, çakal eriği ve Ahlat armudu marmelatlarının HMF içeriklerinin çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu duruma, geleneksel yöntemde marmelat üretiminde kontrolsüz olarak uygulanan ısı işleminin neden olduğu söylenebilir. Ayrıca, örneklerin farklı oranlarda gallik asit, kateşin, epikateşin, vanillin, klorojenik asit, kafeik asit, kumarik asit, p- kumarik asit, hesperidin, rutin, elajik asit ve kuersetin içerdiği belirlenmiştir. Kuşburnu marmelatının toplam fenolik madde miktarının diğer örneklere göre daha yüksek olduğu, kızılçık marmelatının ise en yüksek DPPH radikal giderme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; ısı işlem, depolama ve diğer birçok proses, gıdaların kalite parametreleri üzerine etkili faktörlerdendir. Gıdaların sahip oldukları bazı besin öğeleri bu gibi proseslerden fazlaca etkilenmekte ve bu da gıdaların besin değerlerinin azalmasına neden olmaktadır. Günümüzde daha çok geleneksel olarak üretilen marmelatların işleme şartlarının (ısı işlem derecesi ve süresi) iyileştirilmesi, böylece biyoaktif bileşenler ve diğer besin öğelerinin marmelat üretimi esnasında mümkün olduğunca az zarar görmesinin veya optimum düzeyde korunmasının sağlanması mümkün olabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Cemeroğlu, B., Karadeniz, F., Özkan M., 2009. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Dergisi Yayınları No:34, Ankara.
- [2] Anonim, 2006. Türk Gıda Kodeksi Reçel, Jöle Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği, Resmi Gazete, Tarih: 30.12.2006, Sayı: 26392, Ankara.
- [3] Tokbaş, H., 2009. Karadur Meyvesinin (*Morus Nigra* L.) Reçel ile Marmelata İşlenmesi ve Ürünlerin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- [4] Anonim, 2014. Sanayi ürünleri yıllık üretim ve satış istatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1066.
- [5] Sağlam, S., 2007. Antosyanince Zengin Dut, Kiraz ve Gilaburu Meyvelerindeki Fenolikler ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Reçel Yapım İşleminin Etkisi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [6] Zeytun, E., 2007. Kuşburnu Marmelatı İlavesiyle Üretilen Probiyotik Biyoyoğurdun Depolama Süresince Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [7] Özçağırın, R., Ünal, A., Özeke, E., İsfendiyaroğlu, M., 2011. Ilıman İklim Meyve Türleri: Sert Çekirdekli Meyveler Cilt-I. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Bornova, İzmir.
- [8] Özgüven, A.I., Küden, A., Yılmaz, C., 2000. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Erik Yetiştiriciliği. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, Adana.
- [9] Özyayın, A.G., Özçelik, S., 2014. Ankara armudunun bazı fizikokimyasal özellikleri üzerine

- fırında kurutma işleminin etkisi. *Akademik Gıda* 12(4): 17-26.
- [10] Türk, R., Erken, S. ve Yalçinkaya, E., 2003. Bazı önemli kızılçık (*Cornus mas* L.) tiplerinin morfolojik ve fenolojik özellikleri. Türkiye IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 8-12 Eylül 2003, Antalya, 289-291s.
- [11] Tural, S. and Koca, I., 2008. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae* 116: 362–366.
- [12] Kökosmanlı, M., Keleş, F., 2000. Erzurum’ da yetiştirilen kızılçık meyvesinin marmelat ve pulpa işlenerek değerlendirilmesi. *Gıda* 25(4): 289-298.
- [13] Sağdıç, O., Toker, O.S., Polat, B., Arıcı, M., Yılmaz, M.T., 2015. Bioactive and rheological properties of rose hip marmalade. *Journal of Food Science and Technology* 52(10): 6465–6474.
- [14] Alzamara, L., 2015. Antioksidanca Zengin Kuşburnu Ve Kızılçık Meyvelerinden Yapılan Marmelatlar İlave Edilerek Üretilen Meyveli Yoğurtların Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [15] Eser, Z., 2010. Kızılçık Meyvesi Ve Marmelatının Bazı Kimyasal, Fiziksel Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi ve Antosiyanin Profilinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [16] AOAC, 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. (Edited by P. Cunniff), Published by AOAC International, Virginia, USA, Arlington.
- [17] Mendoza, F., Dejmek, P., Aguilera, J.M., 2006. Calibrated colour measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology* 41: 285–295.
- [18] Chunthaworn, S., Achariyaviriya, S., Achariyaviriya, A., Namsanguan, K., 2012. Colour kinetics of longan flesh drying at high temperature. *Procedia Engineering* 32: 104–111.
- [19] AOAC, 1990. Official methods of analysis AOAC International, 15th ed., Published By AOAC International, Virginia, USA, Arlington.
- [20] Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O.S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M., Kayacier, A., 2013. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products* 46: 124–131.
- [21] IHC, 2009. Harmonised Methods of the International Honey Commission. 1-63.
- [22] Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P., Ameida, L.M., 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research* 26: 469-478.
- [23] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152–178.
- [24] Karaaslan, N.M., İnce, O.K., İnce, M., 2014. Fenolik bileşiklerin HPLC-DAD ile tayini için metot geliştirilmesi ve validasyonu, VII. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 1-5 Eylül, Kahramanmaraş, Türkiye.
- [25] Kökosmanlı, M., Keleş, F., 2000. Erzurum’da yetiştirilen kızılçık meyvesinin marmelat ve pulpa işlenerek değerlendirilmesi. *Gıda* 5(4): 289-298.
- [26] Yurdagül, E., 2007. Erik Bazlı Karışık Meyveli Geleneksel Marmelat Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [27] Spana, N., Casula, L., Panzanelli, A., Pilo, M.I., Piu, P.C., 2006. An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey: The case of strawberry tree honey. *Talanta* 68: 1390-1395.
- [28] Mendoza, M.R., Olano, A., Villamiel, M., 2002. Determination of hydroxymethylfurfural in commercial jams and in fruit-based infant foods. *Food Chemistry* 79(4): 513–516.
- [29] Mendoza, M.R., Sanz, M.L., Villamiel, M., 2004. Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chemistry* 85(4): 605–609.
- [30] Ercişli, S., 2007. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry* 104:1379–1384.
- [31] Yoo, K.M., Lee, C.H., Lee, H., Moon, B., Lee, C.Y., 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry* 106: 929–936.
- [32] Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R., 2010. Strawberrytree, blackthorn and rose fruits: detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry* 120: 247–254.
- [33] Chrubasik, C., Roufogalis, B.D., Muller-Ladner, U., Chrubasik, S., 2008. A systematic review on the *Rosa canina* effect and efficacy profiles. *Phytotherapy Research* 22: 725–733.
- [34] Özcelik, B., Lee, J.H., Min, D.B., 2003. Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants. *Journal of Food Science* 68: 487-490.
- [35] Göçer, H., 2011. Kafeik Asit Fenetil Esterinin (Cape) Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesive İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (Hca-I Ve Hca-II) Üzerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [36] Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J., Adlipour, M., 2011. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae* 129(3): 459–463.
- [37] Veliöğlu, S., 2000. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *Gıda* 25(3):167-176.
- [38] Ballesteros B.L., Ramirez, M.J., Orrego, C.E., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I., 2017. Optimization of autohydrolysis conditions to extract antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Journal of Food Engineering* 199: 1-8.
- [39] Naczki, M., Shahidi, F., 2006 Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41: 1523-1542.
- [40] Nizamoğlu, N.M., Nas, S., 2010. Meyve ve Sebzelelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve

- Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 5(1):20-35.
- [41] Liu, T., Liu, X., Huang, L., 2010. Study on the application of gallic acid. ETP-Engineering Technology Press, Hong Kong.
- [42] Daglia, M., Di Lorenzo, A., Nabavi, S., Talas, Z., Nabavi, S., 2014. Polyphenols: Well beyond the antioxidant capacity: Gallic acid and related compounds as neuroprotective agents: You are what you eat! *Current Pharmaceutical Biotechnology* 15(4): 362–372.
- [43] Higdon, J.V., Frei, B., 2003. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43(1): 89–143.
- [44] Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., Exon, J.H., 2006. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46(2): 161–183.
- [45] Rathore, K., Wang, H.C., 2012. Green tea catechin extract in intervention of chronic breast cell carcinogenesis induced by environmental carcinogens. *Molecular Carcinogenesis* 51(3): 280–289.
- [46] Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D., de Vos, R.C.H., Hall, R.D., Beekwilder, J., 2011. Procyanidins in fruit from Sour cherry (*Prunus cerasus*) differ strongly in chainlength from those in Laurel cherry (*Prunus lauracerasus*) and Cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Berry Research* 1: 137-146.
- [47] Gadkari, P.V., Balaramana, M., 2015. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. *Food and Bioproducts Processing* 9(3): 122–138.
- [48] Shen, S.C., Lee, W.R., Lin, H.Y., Huang, H.C., Ko, C.H., Yang, L.L., Chen, Y.C., 2002. In vitro and in vivo inhibitory activities of rutin, wogonin, and quercetin on lipopolysaccharide induced nitric oxide and prostaglandin E2 production. *European Journal of Pharmacology* 446: 187–194.
- [49] Roohbakhsh, A., Parhiz, H., Soltani, F., Rezaee, R., Iranshahi, M., 2015. Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Life Science* 124: 64–74.
- [50] Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L., Singla, A., 2001. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research* 15(8): 655–669.
- [51] Artık, N., Anlı, E., Konar, N., Vural, N., 2016. Gıdalarda Bulunan Fenolik Bileşikler. 2. Bölüm: Fenolik Bileşiklerin Yapıları. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir.
- [52] Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J., 1990. Fruit Phenolics. Phytotherapy Research, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA.
- [53] Umesalma, S., Sudhandiran, G., 2010. Chemomodulation of the antioxidative enzymes and peroxidative damage in the colon of 1,2-dimethyl hydrazineinduced rats by Ellagic acid. *Phytotherapy Research* 24: 114–119.
- [54] Pari, L., Sivasankari, R., 2008. Effect of ellagic acid on cyclosporine a-induced oxidative damage in the liver of rats. *Fundam Clinical Pharmacology* 22: 395–401.
- [55] Fuentes, E., Carle, R., Astudillo, L., Guzmán, L., Gutiérrez, M., Carrasco, G., Palomo, I., 2013. Antioxidant and antiplatelet activities in extracts from green and fully ripe tomato fruits (*Solanum lycopersicum*) and pomace from industrial tomato processing. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ID 867578.
- [56] Mahmood, S., Bashir, S., Farzana, K., Akram, M.R., Abrar, M.A., 2012. Differential inhibition of common bacterial species by extracts of three fruits using different solvents. *The Philippine Agricultural Scientist* 95: 169–174.
- [57] Xu, X., An, X., 2016. Study on acrylamide inhibitory mechanism in Maillard model reaction: Effect of p-coumaric acid. *Food Research International* 84: 9–17.

İzmir'de Tüketime Sunulan Çeşitli Firmalara Ait Erişte ve Noodle Ürünlerinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Kalite Nitelikleri

Kemal Kemahlioğlu¹, Kemal Demirağ²¹Ege Üniversitesi, Ege Meslek Yüksekokulu, Bornova, İzmir²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 14.04.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 17.05.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): kkemahlioglu@yahoo.com (K. Kemahlioğlu)

☎ 0 232 311 14 60 📠 0 232 388 75 99

ÖZ

Bu çalışmada İzmir'de tüketime sunulan çeşitli firmaların erişte ve yağda kızarmış çabuk erişte (noodle) örneklerinin bazı kimyasal ve fiziksel kalite özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, erişte örneklerinin rutubet, kül, protein, yağ, tuz ve a_w değerlerinin sırasıyla %10.36-12.96; %0.49-1.30; %11.45-13.55; %0.27-2.11; %0.06-0.61 ve 0.479-0.662 aralığında, noodle örneklerinin ise rutubet %4.42-5.71; kül %1.0-2.42; protein %9.65-10.95; yağ %17.15-23.59; tuz %0.36-0.58 ve a_w değerlerinin 0.284-0.418 aralığında olduğu saptanmıştır. Fiziksel özelliklerden renk değerlerinin erişte örnekleri için L 54.08-77.99; a 3.49-10.44; b 19.58-43.91 olduğu belirlenirken, noodle örnekleri için ölçülen L 70.91-75.27; a 2.23-6.56; b 25.48-32.34 renk değerleri arasında değiştiği ve eriştelere göre daha açık renkli oldukları belirlenmiştir. Pişmiş eriştelerin sertlik değerleri 252.95-997.63 gf arasında değişirken, pişmiş noodle örnekleri için ölçülen 242.20-336.91 gf sertlik değerine göre daha sert oldukları saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Erişte, Noodle, Yağda kızarmış çabuk erişte, Kimyasal özellikler

Some Chemical and Physical Properties of Egg Pasta (Erişte) and Noodle Samples Sold in Izmir, Turkey

ABSTRACT

In this study, some chemical and physical properties of egg pasta (erişte) and instant fried noodle samples of different brands available in Izmir market were determined. According to results, samples of egg pasta moisture, ash, protein, fat, salt and a_w varied within the range of 10.36-12.96%; 0.49-1.30%; 11.45-13.55%; 0.27-2.11%; 0.06-0.61% and 0.479-0.662, respectively. Similarly for the samples of instant fried noodle, results were calculated as follows: 4.42-5.71% for moisture; 1.30-2.42% for ash; 9.65-10.95% for protein; 17.15-23.59% for fat; 0.36-0.58% for salt and 0.284-0.418 for a_w values. Color values of egg pasta samples varied from 54.08 to 77.99 for L value; from 3.49 to 10.44 for a value; from 19.58 to 43.91 for b value, and for noodle samples L values were in the range of 70.91-75.27; a value 2.23-6.56; b value 25.48-32.34. Apparently noodles were lighter in color than egg pasta. The firmness values of cooked samples were 252.95-997.63 gf and 242.20-336.91 gf, respectively while the firmness of egg pastas was higher than that of noodle samples.

Keywords: Egg pasta, Noodle, Instant fried noodle, Chemical properties

GİRİŞ

Dünyada yaygın tüketimi olan makarna çeşitleri, yüzyıllardan beri temel öğün yemeği olarak sevilerek tüketilmekte ve günümüzde düşük fiyatlarla, paketlenmiş şekilde kolay hazırlanabilir veya tüketime hazır (instant) formlarda da üretilmektedir. Sanayi tipi makarnalar temel olarak, belli bir rutubet derecesindeki irmik hamuruna şekil verilerek kurutulması ile elde edilirken, ev tipi makarnalar ise genellikle bölgesel olarak üretilen çeşitli tipteki sert ve yumuşak buğday ununa kimi zaman bazı tahıl unlarının yanı sıra yumurta katılmasıyla elde edilen hamurun yufkalar halinde açılması, kesilmesi doğal olarak kurutulması ile elde edilmektedir. Bu nedenle sanayi tipi üretim ile elde edilen makarna çeşitleri ev tipi üretimden elde edilen ürünlere göre kalite özellikleri açısından daha homojen ve stabil özellikler göstermektedir [1-6]. Yakın geçmişten başlayarak günümüze kadar hızla kentleşen ülkemizde, sanayi tipi üretime bağlı olarak değişen beslenme kültürüne karşın bazı bölgelerde ev tipi makarna üretiminin hala sürdürüldüğü de görülmektedir [7].

TS 12950 Erişte (Noodle) Standardı'nda erişte; buğday ununa, tuz, tipine göre alkali tuzlar (sodyum karbonat, potasyum karbonat ve sodyum fosfat gibi) ve yumurta katıldıktan sonra içilebilir nitelikteki su ile hazırlanan hamurun yoğrularak, tekniğine uygun bir şekilde işlenmesiyle kurutulmuş, kaynatılarak pişirilmiş, buharda pişirilmiş veya doğrudan tüketime hazır bir ürün olarak tanımlanmaktadır. Yine aynı standarda göre; "Sade erişte, hiçbir çeşni maddesi içermeyen eriştendir. Çeşnili erişte, tekniğine uygun olarak hazırlanan erişte hamuruna diğer tahıl unları, sebze unları, baklagil unları ve benzeri maddelerin ilavesiyle elde edilen eriştendir. Zenginleştirilmiş erişte ise erişte hamuruna katılmasına izin verilen, vitamin ve mineral madde ilavesiyle hazırlanarak elde edilen eriştendir." şeklinde tanımlanmaktadır [8].

Gittikçe ürün çeşitliliğinin arttığı dünya gıda pazarında, erişte ve noodle çeşitlerinin popülaritesi, basit hazırlama süreci, hızlı ve kolay pişirilmesi, duysal özellikleri ve uzun raf ömrü ve besleyici özellikleri nedenleriyle sürekli artmaktadır ve çeşitli tahıl unlarının da katılarak formüle edilen bu tip ürünlerin üretimi üzerine araştırma çalışmaları da yapılmaktadır. Erişterle ilgili araştırmalarda çeşitli tahıl unlarının (yulaf, arpa, tritikale, pirinç, nohut), yanında kayısı çekirdeği ununun ilavesinin erişterlerin kimyasal, fiziksel, besinsel ve pişme özellikleri üzerine etkilerinin de incelendiği görülmektedir [7, 9-14]. Genel olarak tahıl ve çeşitli çekirdek unlarının ilave oranı artıkça protein ve kül miktarlarında artış [11-14], renk değerlerinde koyulaşma [9, 10, 14] ve pişme kaybının arttığı [7, 9] gözlenmektedir.

Kodeks Alimentarius Komisyonu (C.A.C.) [15] tarafından yayınlanan 2006-249 sayılı "Instant Noodle" standardına göre; ana hammadde olarak buğday, pirinç ve diğer unlar veya nişasta ve bazı katkı maddeleri kullanılarak ve gerektiğinde bazı alkali maddelerin kullanıldığı, ön jelatinizasyon işlemi ile karakterize edilen ve kızartılarak veya kızartılmadan diğer yöntemler ile dehidre edilen, kızartılmış veya kızartılmamış ürünler olarak

tanımlanmaktadır. Bu standartta kalite kriterleri olarak, organoleptik özelliklerden görünüş, doku, renk, aroma ve tat özelliklerine işaret edilirken, kimyasal özelliklerden sadece rutubet değerine ve yağda kızarmış çabuk erişterlerden ekstrakte edilen yağın asiditesine işaret edilmektedir. C.A.C. standardı temel alınarak yayınlanan TSE K 215 yağda kızartılmış çabuk erişte (instant fried noodle) standardında verilen tanıma göre "Buğday ununa yumurta, içilebilir nitelikteki su, tuz ve mevzuatında katılmasına izin verilen katkı maddelerinin eklenmesinin ardından hamurun tekniğine uygun bir şekilde yoğurulmasından, buharda pişirilerek jelatinleşme öncesi hazırlılığının sağlanmasından sonra, tekniğine uygun şekilde bitkisel yağda kızartma işleminden geçirilerek elde edilen mamul" şeklinde tanımlanmaktadır [6]. Bu tanım C.A.C.'den farklı olarak TS 12950'de verilen tanıma temel alınarak kalite nitelikleri açısından C.A.C.'de verilen nitelikleri ön plana çıkarmaktadır.

Noodle'lar farklı kültür, iklim, bölge ve üretilen ülkedeki tüketici tercihlerindeki farklılıklara bağlı olarak çeşitlenmektedir. Başta Uzakdoğu ülkeleri olmak üzere birçok ülkede tüketilmekte olan noodle'lar sade olarak tüketilmesinin yanı sıra farklı gıdalar ile (et, tavuk, deniz ürünleri, sebze, peynir vb.) de hazırlanabilmekte, ayrıca çeşitli baharatlardan ve yağlardan oluşan soslarla da lezzetlendirilebilmektedir. Günümüzün hızlı yaşam koşullarında, ülkemizde de yemeye hazır (instant) bir gıda olarak hem paket, hem de bardakta zengin sunumları bulunmaktadır.

Noodle üretiminde ürün niteliklerini değiştiren ana hammadde unun yanı sıra son ürün kalitesini değiştiren su, tuz, yumurta ve emülgatörler gibi pek çok bileşen mevcuttur. Bu bileşenlerin yapısı ve miktarına bağlı olarak ürünün kimyasal, fiziksel ve duysal kalitesi üzerine etkileri farklı olmakta ve farklı tipteki noodle'ların ortaya çıkmasına neden olduğu çeşitli araştırmalarda belirtilmektedir. Temel bileşen unun kaliteye etkisi dikkate alındığında; yüzey görünüşü, tekstür, renk, pişme özellikleri gibi kalite özelliklerini doğrudan etkilediği ifade edilirken kül miktarı, protein miktarı ve kalitesinin, renk ve tekstür üzerine, zedelenmiş nişasta miktarının, reolojik özellikler (farinograf, miksograf, ekstensograf vb. değerleri) üzerine ve un partikül boyutunun çirişlenme gibi özelliklere etki ettiği gözlenmektedir [2, 3, 16-19].

Noodle'lar ve erişterler parlak renkli olmalı ve üretimden sonra renk solması yavaş gerçekleşmelidir. Unun protein içeriği ile eriştenin parlaklığı arasında negatif, renk pigmentlerinin (ksantofil) miktarı ile pozitif bir korelasyon vardır. (Yüksek proteinli unlardan yapılan noodle ve erişterlerde, protein ve nişasta arasındaki kuvvetli bağ nedeniyle ışığın daha az yansması sonucu pişmemiş erişterler yarı şeffaf görünürken, unda doğal olarak bulunan sarı renk pigmentlerinin oranı, eriştenin rengi ile yüksek oranda bağlantılıdır.) Ayrıca unun kül miktarı, erişte rengini etkileyen bir diğer önemli faktördür ve genellikle daha yüksek kül miktarlı unun rengi, daha düşük kül miktarlı unun rengine göre daha koyu olmakta ve undaki kül miktarı artıkça, erişte ve noodle rengi koyulaşmakta ve dolayısıyla olumsuz yönde

etkilenmektedir [7,9]. Yüksek kaliteli parlak renkli erişte ve noodle elde edebilmek için düşük kül içerikli (%0,35–0,40) un kullanılması önerilmektedir. Erişte ve noodle renginde esmerleşmenin bir diğer nedeni de polifenol oksidaz enzimidir. Polifenol oksidaz enzimi, taze noodle ve eriştelerde enzimatik kahverengileşmeye neden olurken, renk koyulaşması, kaynatma ya da buharlamayla enzim inaktivasyonu sayesinde durdurulabilmektedir. Ayrıca erişte üretiminde kullanılan suyun sertlik, alkalite ve pH değeri; unun su hidrasyonunu, hamurun laminasyon özelliklerini, nişasta jelatinizasyonunu ve bitmiş ürünün tekstürünü etkilemektedir. Tuz, noodle üretiminde çok önemli bir bileşendir. Tuzun ilave edilme oranına bağlı olarak noodle hamurunu kuvvetlendirmekte ve noodle'ların yapışkanlığı azalmaktadır. Tuzun hamur gluteni üzerinde takviye edici ve sıkılaştırıcı etkisi, lezzet ve tekstür özelliklerini geliştirme, enzim aktivitesini ve mikroorganizma gelişmesini inhibe etme gibi özellikler göstermektedir [2, 3, 18, 21]. Noodle hamurlarına ilave edilen yumurta noodle'lara daha sarı bir renk verirken, yumurta akı ise daha sağlam, daha elastik bir tekstür oluşturmada ayrıca besin değerini arttırmaktadır. Yumurta kullanımı büyük ölçüde noodle tipine ve üretilen ülkeye bağlı olmakla birlikte genellikle Asya ülkelerinde yumurta kullanılmazken, Amerika'da ise temel hammaddelerinden birini de yumurta oluşturmaktadır [2].

Ülkemizde tüketilen erişte geleneksel ev tipi bir ürün olmakla birlikte günümüzde marketlerde hem ev tipi hem de endüstriyel bir ürün olarak yer almaktadır. Geleneksel tarzda hazırlanan eriştelerin yanı sıra hızla hazırlanabilen yağda kızarmış çabuk erişte tipi ürünlerde tüketiciye farklı bir ürün çeşidi olarak sunulmaktadır. Bu çalışmada İzmir piyasasında satışı sunulan çeşitli firmalara ait erişte ve yağda kızarmış çabuk erişte (noodle) örneklerinin bazı kimyasal özellikleri, renk değerleri, suya geçen madde ve pişmiş ürün sertliği gibi özelliklerin belirlenmesi ile ürünler arası farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada İzmir piyasasındaki hipermarketlerden farklı zamanlarda farklı firmalara ait olmak üzere satın alınan 12 adet (8 farklı firma) erişte ve 11 adet (3 farklı firma) noodle olmak üzere 23 adet örnek çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Farklı firmalara ait örnekler ardışık olarak numara verilerek kodlanarak değerlendirilmiştir. Örnekler oda sıcaklığında ve hava geçirmez kavanozlarda muhafaza edilerek analizlenmiş, analizler üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalama değerleri sonuç olarak verilmiştir.

Yöntem

Piyasadan temin edilen erişte ve noodle örneklerinin kimyasal özelliklerinden rutubet miktarı TS 1135 ISO 712, kül miktarı TS 1511 ISO 2171, protein miktarı TS 1620, ham yağ miktarı C.A.C. 2006-249, tuz miktarı AACC Metot No. 40-18'ye göre analiz edilmiştir [4, 8,

15, 22]. Erişte ve noodle örnekleri öğütülerek, su aktivitesi değerleri su aktivitesi ölçüm cihazı Testo 645 (Lenzkirch, Almanya) ile 20°C'de 30 dakika süre ile denge nemine gelmesinden sonra belirlenmiştir. Fiziksel özelliklerinden renk analizi AACC Metot No. 14-22'ye göre renk ölçüm cihazı (HunterLab Colorflex CFLX 45-2, Reston, VA, USA) kullanılarak ölçülmüştür [22]. Suya geçen madde miktarı TS 1620 Makarna Standardı'nda belirtilen yöntemle göre gerçekleştirilmekle beraber erişte örneklerinde 20 dakika, noodle örneklerinde ise 10 dakikalık (yaklaşık pişme sürelerinin iki katına karşılık gelen) pişirme sonucunda belirlenmiştir [4]. Pişmiş erişte ve noodle örneklerinin doku özelliklerinden sertlik (firmness) özelliği TA-XT Plus (Stable Microsystems, Surrey, İngiltere) cihazı kullanılarak AACC Metot no:16-50'ye göre, pişmiş makarna kalite dayanıklılık donanımı A/LKB-F sondası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemde belirtilen beş adet çubuk spagetinin genişliğine karşılık gelecek şekilde 3, 4 veya 5 adet erişte ve 8 adet noodle çubuğu kullanılarak ölçümler yapılmıştır [22].

İstatistiksel Değerlendirme

Veriler SPSS (version 20.0) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçları varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiş olup ve gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile istatistiksel olarak %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada, erişte ve noodle örneklerine uygulanan kimyasal analiz sonuçları Tablo 1 ve 2'de, renk analizi sonuçları Tablo 3'te ve suya geçen madde, sertlik tayini analizleri sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 1'den görüldüğu gibi farklı firmalara ait erişte örneklerinin rutubet değerlerinin %10.36-12.96; kül değerlerinin %0.49-1.30; protein değerlerinin %11.45-13.55; yağ değerlerinin % 0.27-2.11; tuz değerlerinin %0.06-0.61 ve su aktivitesi değerlerinin ise 0.479-0.662 arasında değiştiği görülmektedir. Erişte örneklerinin rutubet değerlerinin TS 12950'de belirtilen sınır değeri olan en çok %13 değerinin altında ve uygun olduğu saptanmakla birlikte, rutubet değerlerine uygulanan varyans analizi sonuçlarına göre örneklerin rutubet değerleri arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Örnekler kül değerleri açısından incelendiğinde TS 12950 standardına uygun ancak kül değerleri için saptanan ortalama kuru maddede %0.80 değerinin geleneksel veya tahıl unları katılarak üretilen erişte örneklerine göre düşük olduğu belirlenmiştir [7, 9-14]. Diğer taraftan erişte örneklerinin protein yüzdeleri standartta belirtilen kuru maddede en az %10.5 değerinin üzerinde ve uygun olduğu Özkaya vd. tarafından yapılan çalışmada geleneksel yöntemler ile üretilen erişteler için belirlenen protein değerleri (%11.0-15.4) ve Ergin tarafından çölyak hastaları için özel olarak ürettiği erişte örnekleri protein değerleri (%10.11-12.21) ile uyumlu olduğu gözlenmektedir [7, 13]. Aynı tablodan yağ, tuz ve su aktivitesi değerlerinin örnekler için son derece düşük olduğu, tuz değerinin standartta

belirtilen en çok %2 değerine uyumlu olduğu görülmektedir. Söz konusu analiz verilerine uygulanan

varyans analizi sonuçlarına göre ise örnekler arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir ($p < 0.05$).

Tablo 1. Erişte örneklerine uygulanan kimyasal analiz sonuçları

Erişte	Rutubet %	Kül %***	Protein %***	Yağ %	Tuz %	Su aktivitesi
1	11.42±0.02 ^{e,f}	0.72±0.07 ^c	11.45±0.04 ^a	0.27±0.06 ^a	0.07±0.00 ^b	0.531±0.001 ^h
2	11.16±0.05 ^{d,e}	0.85±0.03 ^{d,e}	12.45±0.04 ^c	0.40±0.07 ^a	0.08±0.00 ^c	0.511±0.001 ^g
3	11.64±0.04 ^f	0.60±0.01 ^b	11.45±0.06 ^a	0.68±0.02 ^b	0.10±0.00 ^c	0.570±0.004 ⁱ
4	11.40±0.17 ^{e,f}	0.87±0.08 ^{e,f}	11.70±0.05 ^b	0.86±0.14 ^b	0.08±0.00 ^c	0.533±0.003 ^h
5	11.30±0.18 ^e	0.70±0.02 ^c	11.46±0.03 ^a	0.35±0.07 ^a	0.08±0.00 ^c	0.507±0.001 ^f
6	10.86±0.03 ^{c,d}	0.79±0.03 ^d	12.63±0.06 ^{c,d}	0.46±0.15 ^a	0.09±0.00 ^d	0.501±0.002 ^e
7	10.52±0.10 ^{a,b}	0.82±0.04 ^{d,e}	13.55±0.11 ^e	0.72±0.08 ^b	0.11±0.00 ^e	0.493±0.001 ^c
8	12.65±0.42 ^g	0.49±0.01 ^a	11.87±0.38 ^b	1.78±0.17 ^e	0.11±0.00 ^e	0.511±0.001 ^g
9*	10.78±0.09 ^{b,c}	0.60±0.01 ^b	11.69±0.03 ^b	1.14±0.07 ^c	0.06±0.00 ^a	0.497±0.001 ^d
10*	10.36±0.13 ^a	0.66±0.03 ^{b,c}	12.67±0.08 ^{c,d}	1.97±0.07 ^{e,f}	0.14±0.00 ^f	0.479±0.000 ^a
11*	12.96±0.26 ^h	1.30±0.05 ^g	12.52±0.04 ^{c,d}	1.52±0.21 ^d	0.61±0.01 ^g	0.662±0.002 ^j
12**	10.91±0.04 ^{c,d}	0.93±0.01 ^f	12.72±0.11 ^e	2.11±0.12 ^f	0.08±0.00 ^c	0.483±0.001 ^b

*Yumurtalı ; **Tam buğday; ***Kuru madde üzerinden; Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. Farklı harfler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre örnekler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Tablo 2. Noodle örneklerine uygulanan kimyasal analiz sonuçları

Noodle	Rutubet %	Kül %***	Protein %***	Yağ %	Tuz %	Su aktivitesi
1	4.42±0.42 ^a	2.20±0.12 ^c	10.40±0.07 ^b	22.37±0.47 ^e	0.57±0.00 ^f	0.363±0.001 ^g
2	5.42±0.05 ^c	2.28±0.09 ^c	10.12±0.20 ^b	23.59±0.25 ^f	0.58±0.00 ^g	0.418±0.001 ^j
3	4.47±0.01 ^{a,b}	2.39±0.04 ^d	10.15±0.24 ^b	20.29±0.49 ^c	0.57±0.00 ^f	0.345±0.001 ^e
4	4.57±0.14 ^{a,b}	2.42±0.02 ^d	10.39±0.13 ^b	22.28±0.26 ^e	0.58±0.00 ^g	0.284±0.000 ^a
5	4.75±0.23 ^b	2.28±0.04 ^c	10.21±0.12 ^b	21.85±0.45 ^e	0.52±0.00 ^e	0.374±0.001 ^h
6	5.71±0.20 ^c	1.32±0.08 ^a	10.80±0.16 ^c	18.67±0.32 ^b	0.36±0.00 ^a	0.383±0.001 ⁱ
7	5.50±0.05 ^c	1.30±0.01 ^a	10.95±0.07 ^c	18.60±0.31 ^b	0.36±0.00 ^a	0.330±0.001 ^g
8	5.51±0.06 ^c	1.30±0.01 ^a	10.80±0.08 ^c	17.15±0.25 ^a	0.39±0.01 ^b	0.296±0.001 ^b
9	5.53±0.04 ^c	1.79±0.02 ^b	9.82±0.19 ^a	20.47±0.31 ^c	0.48±0.00 ^d	0.356±0.001 ^f
10	5.66±0.03 ^c	1.75±0.04 ^b	9.65±0.22 ^a	21.33±0.32 ^d	0.47±0.00 ^c	0.340±0.001 ^d
11	5.69±0.04 ^c	1.78±0.02 ^b	9.66±0.11 ^a	18.92±0.19 ^b	0.47±0.00 ^c	0.362±0.001 ^g

***Kuru madde üzerinden; Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. Farklı harfler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre örnekler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Noodle örnekleri için Tablo 2'de verilen kimyasal analiz sonuçları incelendiğinde, rutubet değerlerinin %4.42-5.71; kül değerlerinin %1.30-2.42; protein değerlerinin %9.65-10.65; yağ değerlerinin %17.15-23.59; tuz değerlerinin %0.36-0.58 ve su aktivitesi değerlerinin 0.284-0.418 arasında değiştiği görülmektedir. Noodle örneklerinin rutubet değerleri dikkate alındığında, TSE K 215 yağda kızarmış çabuk erişte (instant fried noodle) standardında belirtilen en çok %10 rutubet değerine uygun olduğu görülmektedir. Aynı standartta noodle için diğer kimyasal özellikler açısından herhangi bir belirleme yapılmamış olmakla birlikte genel olarak erişte örnekleriyle kıyaslandığında noodle örneklerinin kül değerlerinin yaklaşık iki kat yüksek, protein değerlerinin biraz daha düşük, yağ değerlerinin üretimin gereği olarak çok yüksek, tuz değerlerinin daha yüksek, su aktivitesi değerlerinin ise daha düşük olduğu görülmektedir. Noodle örnekleri için belirlenen rutubet, kül, protein, yağ, tuz ve su aktivitesi değerlerine uygulanan varyans analizi sonuçlarına göre örnekler arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Protein değerleri açısından erişte örnekleri için

hesaplanan ortalama %12.18 değerine karşılık noodle örnekleri ortalama %10.27 protein değerinde olması, eriştelerin proteince zengin, noodle'ların ise proteince daha zayıf unlardan üretildiğini düşündürmektedir. Nitekim birçok çalışmada belirtildiği gibi noodle üretiminde ürün niteliklerini değiştiren ana hammadde unun yanı sıra su, tuz, yumurta ve emülgatörler gibi pek çok bileşenin yapısına ve miktarına bağlı olarak son ürünün kimyasal, fiziksel ve duyu kalitesi üzerine etkili olduğu ve farklı tipteki noodle'ların ortaya çıkmasına neden olduğu belirtilmektedir [2, 16-19, 23, 24].

Gerek TS 12950 erişte, gerek ise TSE K 215 yağda kızarmış çabuk erişte standardında eriştelerin renk özellikleri duyu terimlerle ifade edilirken, çalışmada erişte ve noodle örnekleri için makarnalarda renk tayini amacıyla kullanılan AACC Metot No. 14-22 kullanılmıştır. Tablo 3'de verilen renk değerlerinin incelenmesi açısından, AACC Metot No. 14-22'de renk ölçümleri için kırmızılık değerinin dikkate alınmadığı görülse de çalışmada erişte ve noodle'ların

karşılaştırılması için a kırmızılık değeri dikkate alınmıştır [22]. Buna göre erişte örneklerinin L aydınlık değerlerinin 54.08-77.99 arasında, noodle örneklerinin L aydınlık değerlerinin 70.91-75.27 arasında değiştiği ve eriştelere göre daha açık renkli oldukları görülmektedir. Örnekler a kırmızılık ve b sarılık değerleri açısından değerlendirildiğinde ise erişte örnekleri için ölçülen 3.49-10.44 a değerlerinin, noodle örnekleri için ölçülen 2.23-6.56 a değerlerine göre kırmızı rengin daha baskın olduğu, b sarılık değerleri itibarıyla da erişte örneklerinde sarı rengin daha baskın olduğu, eriştelere için ölçülen 19.58-43.91 b sarılık değerlerine karşılık noodle örnekleri için ölçülen 25.48-32.34 b sarılık değerlerinden anlaşılmaktadır. Bu değerlere göre noodle örneklerinin erişte örneklerine göre çok daha açık sarı

renkli oldukları belirlenmiş olup, bu durum gözleme ile de kolaylıkla anlaşılmaktadır. Noodle örneklerinin erişte örneklerine göre çok daha açık renkli olmaları üretimde kullanılan buğdayın çeşidi ve unun tipine (protein, nişasta, kül değeri vb. özellikler) bağlı olduğu birçok kaynakta ifade edilmekte, bu sebeple unun parlak renkli, düşük kepek oranına sahip, nişastası az zarar görmüş ve ince partiküllü olmasının önemli olduğu belirtilmektedir [18-20, 23]. Nitekim Güvendi [14] tarafından yapılan çalışmada buğday ununa farklı oranlarda tritikale, kavuzsuz arpa ve yulaf onların katılarak geleneksel yöntem ile üretilen eriştelere için ölçtüğü renk değerlerinin katkılı örneklerde kontrol örneğine göre daha koyu olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3. Erişte ve noodle örneklerine uygulanan renk analizi sonuçları

Erişte	L	a	b	Noodle	L	a	b
1	61.56±0.08 ^{d,e}	8.63±0.01 ^e	40.65±0.03 ^h	1	70.91±0.56 ^a	6.56±0.32 ^d	32.34±0.87 ^f
2	57.33±0.66 ^b	9.63±0.11 ^h	37.17±0.25 ^e	2	73.72±0.39 ^b	5.89±0.11 ^c	29.98±0.08 ^{a,b}
3	60.82±0.17 ^{c,d}	10.44±0.03 ^j	43.91±0.11 ^j	3	73.89±0.36 ^b	5.87±0.19 ^c	30.22±0.30 ^{c,d}
4	60.23±0.86 ^c	9.17±0.10 ^{f,g}	39.09±0.41 ^f	4	75.27±0.79 ^c	5.84±0.36 ^c	30.26±0.84 ^{c,d}
5	62.55±0.46 ^e	9.33±0.12 ^g	41.82±0.32 ⁱ	5	73.83±1.01 ^b	5.64±0.10 ^c	30.04±0.38 ^c
6	62.08±0.79 ^e	9.06±0.03 ^f	39.85±0.35 ^g	6	73.70±0.29 ^b	2.42±0.20 ^a	31.28±0.82 ^{d,e,f}
7	68.42±0.55 ^g	8.16±0.24 ^d	28.15±0.68 ^d	7	73.74±0.64 ^b	2.23±0.13 ^a	31.92±0.64 ^{e,f}
8	68.25±0.78 ^g	7.44±0.11 ^c	21.93±0.28 ^b	8	73.60±0.16 ^b	2.57±0.11 ^a	31.10±0.39 ^{c,d,e}
9*	65.01±0.48 ^f	8.50±0.14 ^e	38.48±0.55 ^f	9	73.95±0.17 ^b	3.40±0.15 ^b	27.61±0.70 ^b
10*	72.74±0.56 ^h	6.81±0.07 ^b	25.85±0.42 ^c	10	74.08±0.24 ^b	3.28±0.15 ^b	25.89±0.36 ^a
11*	77.99±0.33 ⁱ	3.49±0.09 ^a	19.58±0.30 ^a	11	74.05±0.15 ^b	3.38±0.03 ^b	25.48±0.87 ^a
12**	54.08±1.19 ^a	10.16±0.27 ⁱ	27.74±0.50 ^d	-	-	-	-

*Yumurtalı; ** Tam buğday; Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. Farklı harfler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre örnekler arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Tablo 4. Pişmiş erişte ve noodle örnekleri suya geçen madde ve sertlik analizi sonuçları

Erişte	SGM %	Sertlik (gf)	Noodle	SGM %	Sertlik (gf)
1	6.23±0.47 ^a	654.18±7.52 ^{d,e}	1	24.75±1.97 ^c	310.80±13.34 ^{e,f}
2	11.71±0.82 ^c	413.15±23.88 ^b	2	25.06±0.37 ^c	301.30±9.97 ^{d,e,f}
3	11.13±0.47 ^c	642.34±27.77 ^{c,d,e}	3	23.99±0.96 ^c	298.94±10.45 ^{c,d,e}
4	12.00±0.35 ^c	406.59±24.80 ^b	4	22.39±0.58 ^b	284.04±15.19 ^{b,c,d}
5	7.54±0.26 ^a	567.88±21.06 ^c	5	21.33±0.89 ^b	282.52±23.08 ^{b,c,d}
6	11.37±0.48 ^b	252.95±15.99 ^a	6	18.30±0.37 ^a	336.91±7.22 ^g
7	6.92±0.45 ^a	698.57±23.35 ^e	7	18.60±0.58 ^a	319.76±5.62 ^{f,g}
8	22.29±1.50 ^d	687.17±8.27 ^e	8	18.86±0.42 ^a	242.20±2.03 ^a
9*	8.89±0.23 ^b	788.71±45.83 ^f	9	19.60±0.92 ^a	286.70±6.19 ^{b,c,d}
10*	12.59±2.20 ^c	600.08±28.72 ^{c,d}	10	19.60±0.23 ^a	274.05±1.63 ^b
11*	12.76±2.36 ^c	971.75±107.24 ^g	11	19.53±0.18 ^a	278.74±4.08 ^{b,c}
12**	9.00±0.12 ^b	997.63±74.84 ^g	-	-	-

*Yumurtalı; ** Tam buğday SGM: Suya geçen madde; Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. Farklı harfler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre örnekler arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Tablo 4 incelendiğinde suya geçen madde yüzdelерinin erişte örneklerinde %6.23-22.29; noodle örneklerinde %18.30-25.06 arasında değiştiği görülmektedir. TS 12950 erişte standardında suya geçen madde yüzdesinin en çok %10 olacağı belirtilmekte dolayısıyla elde edilen veriler itibarıyla 2, 3, 4, 6, 8, 10 ve 11 nolu örneklerin bu sınırlamaya uymadığı anlaşılmaktadır.

Noodle örneklerinin suya geçen madde miktarlarının eriştelere göre yüksek olduğu ve örnekler içerisinde yer alan yassı tipteki noodle örneklerinde (1-5) daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Pişmiş erişte örneklerinin sertlik değerlerinin 252.95 gf ile 997.63 gf arasında oldukça geniş bir dağılım aralığı

gösterdiği, buna karşı noodle örneklerinin sertlik değerlerinin minimum 242.20 gf ve maksimum 336.91 gf değerleri arasında dağılımı daha dar ve eriştelere göre daha tekdüze bir dağılım özelliği ortaya koyduğu görülmektedir. Eriştelere için saptanan bu durumun yumurta içeren (9-11) ve tam buğday unundan (12) imal edilmiş örnekler için ölçülen yüksek sertlik değerlerinden kaynaklandığı kolaylıkla anlaşılmaktadır. Yine aynı tablodan genel anlamda erişte örnekleri için ölçülen sertlik değerlerinin noodle örnekleri için ölçülen sertlik değerlerine göre daha yüksek olduğu da görülmektedir. Bu durumun noodle'lardaki diğer kalite özelliklerinde meydana gelen değişimlerde olduğu gibi üretimde kullanılan ana hammadde unun yanısıra su, tuz, yumurta ve emülgatörler gibi bileşenlere bağlı olarak su hidrasyonu, hamur incelme özellikleri, nişasta jelatinizasyonu ve ürünün tekstür özelliklerinin etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Su içerisindeki minerallerin ve özellikle ilave edilen tuzun hamur gluteni üzerinde takviye edici ve sıkılaştırıcı etkisi, lezzet ve tekstür özelliklerini geliştirme, enzim aktivitesini ve mikroorganizma gelişmesini inhibe etme gibi özellikler gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [18, 19]. Ayrıca erişte ve noodle örneklerinin suya geçen madde ve sertlik değerlerine uygulanan varyans analizi sonuçlarına göre ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark olduğu da belirlenmiştir ($p < 0.05$).

SONUÇ

Çalışmada elde edilen veriler dikkate alındığında farklı firmalara ait erişte ve noodle örneklerinin kalite niteliklerindeki değişkenliklerin fazla olduğu, bu değişkenliklerin kullanılan hammadde ve üretim teknolojilerindeki farklılıklardan ortaya çıktığı anlaşılmaktadır. Bu doğrultuda tüketici tercihi açısından farklı tiplerde ve lezzetlerde üretilmiş noodle'lar üzerine ürün geliştirme (inovasyon) çalışmalarının yapılması büyük önem gösterecektir. Özellikle gerek ülkemizde ve gerek ise dünyada sert buğday üretiminin yeterli olmaması, noodle üretiminde kullanılan *Triticum aestivum* gibi daha yumuşak buğdayların önemini daha da artıracak ve ticari açıdan verimlilik sağlayacaktır. Çalışmanın geliştirilecek yeni ürünler ile bu konuda çıkarılan standartların düzenlenmesinde faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Hosenev, R.C., 1994. Principles of Cereal Science and Technology (2nd Ed). St Paul. Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- [2] Hou, G., Kruk, M., 1998. Asian Noodle Technology. Technical Bulletin. *American Institute of Baking Research*. 20(12): 1-10.
- [3] Fu, B.X., 2008. Asian noodles: History, classification, raw materials and processing. *Food Research International*. 41(9): 888-902.
- [4] Anonymous, 2002. TS 1620 Makarna. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara. 14s.
- [5] Anonymous, 2002. *Türk Gıda Kodeksi Makarna Tebliği*. Tebliğ no:2002/20. 3s.
- [6] Anonymous, 2014. TSE K 215 Yağda Kızarmış Çabuk Erişte. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara. 9s.
- [7] Özkaya, B., Özkaya, H., Büyükkiz, E., 2001. The cooking properties of "eriste" (Turkish noodle) produced by traditional methods. *Getreide Mehl Und Brot* 55: 120-125.
- [8] Anonymous, 2003. TS12950 Erişte. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara. 11s.
- [9] Eyidemir, E., 2006. Kayısı Çekirdeği İlavesinin Eriştenin Bazı Kalite Kriterlerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya. 73s.
- [10] Demi, B., Bilgiç, N., Elgün, A., Demi, M.K., 2010. Effects of chickpea flours and whole egg on selected properties of erişte. *Turkish noodle. Food Sci. Technol. Res.* 16(6): 557-564.
- [11] Aydın, E. 2009. Yulaf Katkısının Eriştenin Kalite Kriterlerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bursa. 63s.
- [12] Akilloğlu, H.G., Yalcin, E., 2010. Some quality characteristics and nutritional properties of traditional egg pasta (erişte). *Food Science and Biotechnology* 19(2):417-424.
- [13] Ergin, A., 2011. Çölyak Hastalarına Özel Bisküvi. Erişte ve Pide Üretimi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Denizli. 66s.
- [14] Güvendi, Ö., 2011. Besinsel Lif Ve Antioksidanca Zengin Tahıllardan Geleneksel Yöntem İle Erişte Üretimi. Yüksek Lisans Tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bolu. 144s.
- [15] Anonymous, 2006. *Codex Standard For Instant Noodles*. CODEX STAN 249-2006. 9p
- [16] Kruger, J.E., 1996. Noodle quality –What can we learn from the chemistry of bread making? In J. E. Kruger. R. B. Matsuo. & J. W. Dick (Eds.). *Pasta and Noodle Technology* (pp. 157-167). St Paul. Minnesota. USA: American Association of Cereal Chemists. Inc.
- [17] Nagao, S., 1996. Processing technology of noodle products in Japan. In J. Kruger. R. Matsuo. & J. Dick (Eds.). *Pasta and noodle technology* (pp. 169-194). St Paul. Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- [18] Yu, L.J., Ngadi, M.O., 2004. Textural and other quality properties of instant fried noodles as affected by some ingredients. *Cereal Chemistry*. 81(6): 772-776.
- [19] Gulia, N., Khatkar, B.S., 2013. Relationship of dough thermomechanical properties with oil uptake cooking and textural properties of instant fried noodles. *Food Science and Technology International* 20(3):171-182.
- [20] Gulia, N., Dhaka, V., Khatkar, B.S., 2014. Instant noodles: Processing, quality and nutritional aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54:1386-1399.
- [21] Kim, S.K., 1996. Instant noodle technology. *Cereal Foods World*. 41(4): 213-218.
- [22] AACC. 2000. Approved Methods of the AACC: Method 14-22. 16-50. 40-18. (10th ed.). St. Paul. Minnesota: AACC International.

- [23] Hatcher, D.W., Anderson, M.J., Desjardins, R.G., Edwards, N.M., Dexter, J.E., 2002. Effects of flour particle size and starch damage on processing and quality of white salted noodles. *Cereal Chemistry*. 79(1): 64-71.
- [24] Ding, S., Yang, J., 2013. The influence of emulsifiers on the rheological properties of wheat flour dough and quality of fried instant noodles. *LWT - Food Science and Technology* 53: 61-69.
-

Blood Pressure Lowering Effect of Fermented Milk Products

Mohamed H. Abd El-Salam , Safinaz El-Shibiny 

Dairy Department, National Research Centre, El-Behos St., Dokki, Cairo, Egypt

Received (Geliş Tarihi): 07.11.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 10.01.2018

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): mo_salam38@yahoo.com (M.H. Abd El-Salam)

☎ +202 333 71 362 📠 +202 333 70 931

ABSTRACT

Hypertension (HTN) is a major risk factor for the development of cardiovascular diseases. Therefore, there is a need to lower blood pressure (BP) to reduce the risk of these degenerative diseases. Fermented milks contain several potential factors that can lower BP including calcium and microbial metabolites particularly the angiotension-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides and γ -aminobutyric acid. Animal studies clearly demonstrated the BP lowering effect of fermented milk while results from clinical trials were controversial due to a large number of variables that should be considered in clinical trials. An overview on the antihypertensive effect of fermented milk products is presented and discussed in this review.

Keywords: Fermented milks, Hypertension, Calcium, ACE-inhibitory peptides, γ -Aminobutyric acid

Fermente Süt Ürünlerinin Kan Basıncını Düşürücü Etkisi

ÖZ

Hipertansiyon (HTN), kardiyovasküler hastalıkların oluşumu için önemli bir risk faktörüdür. Bu nedenle, söz konusu dejeneratif hastalıkların riskini azaltmak için kan basıncını düşürme ihtiyacı vardır. Fermente edilmiş sütler, kalsiyum ve mikrobiyal metabolitler, özellikle de anjiyotensin-dönüştüren enzim (ACE) inhibitörü peptitler ve γ -aminobütirik asit dahil olmak üzere, kan basıncını azaltabilen birkaç potansiyel faktör içerir. Hayvan çalışmaları, fermente edilmiş sütün kan basıncını azaltma etkisini açıkça gösterirken, klinik çalışmalarda elde edilen sonuçlar, klinik çalışmalarda dikkate alınması gereken çok sayıda değişkenden dolayı tartışmalıdır. Bu makalede fermente süt ürünlerinin antihipertansif etkisine genel bir bakış sunulmakta ve tartışılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fermente sütler, Hipertansiyon, Kalsiyum, ACE-inhibitörü peptitler, γ -aminobütirik asit

INTRODUCTION

Hypertension (HTN) is a persistent elevation of blood pressure which is not caused by underlying cardiac, endocrine, or renal disease [1]. It is a major risk factor for the development of cardiovascular diseases including stroke, coronary heart disease, heart failure, and end-stage renal disease. For this reason, there is a need to lower blood pressure (BP) in order to reduce the risk of cardiovascular diseases. Hypertension is divided into two stages; stage 1 includes patients with systolic blood pressure (SBP) 140–159 mmHg or diastolic blood

pressure (DBP) 90–99 mmHg, and stage 2 includes patients with SBP \geq 160 mmHg or DBP \geq 100 mmHg. HTN is widely prevalent in Egypt [2] and worldwide [3]. The use of antihypertensive agents aims to bring and to stabilize blood pressure to as close to as possible the normal BP range. Even with small decrease in SBP as 6 mmHg a significant decrease in the potential risk of stroke (14%) was reported [4]. The role of food and food constituents in ameliorating HTN has been the subject of extensive research during the past decades. Evidences have been clearly presented about the relation between some foods and food constituents and

hypertension. For example, the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) provided evidence that nutrients, food groups, and whole eating patterns can influence blood pressure [4]. This trial adapted a diet high in fruits and vegetables; or a combination diet with high fruits, vegetables and low-fat dairy products to reduce the incidence of HTN. The greatest benefits for clinically significant decreases in SBP and DBP were obtained with combination diet group, which include 2 to 3 servings of low-fat dairy products per day.

Recent studies gave evidence that consumption of dairy products is involved in the regulation of blood pressure [5]. The potential benefits of dairy food have generally been ascribed to the major nutrients provided by dairy including calcium, potassium, magnesium and vitamin D. The Framingham Heart Study [6] with approximately 15 years of follow-up showed an inverse association of dairy intake with the annual change of the average BP and long-term development of incident HTN. A reduction of 6% (95% CI 1.10) in risk incidence of HTN was reported to be associated with each additional serving of yogurt. Therefore, consumption of dairy products may have the potential benefit control of BP and prevention or delay the onset of HTN.

A special and growing interest in fermented milk has been witnessed during the last decade as food that exhibit several potential health effects including lowering

BP and reducing the incidence of HTN. This has been attributed mainly to the release of inhibitory peptides against angiotension converting enzymes (ACE) from milk proteins by microbial fermentation [7].

The present review aims to give an overview and update on the relation between the consumption of fermented milks and BP and incidence of HTN.

POTENTIAL FACTORS RESPONSIBLE FOR BLOOD PRESSURE LOWERING EFFECT OF FERMENTED MILKS

The potential BP lowering effect of fermented milks arises from the combined effects of BP lowering milk constituents (calcium, potassium and magnesium) and bacterial metabolites (Fig 1). Fermented milks contain all the milk calcium but mainly in the soluble form of calcium lactate with the same bioavailability of calcium in milk [8]. Also, fermented milks contain all the milk potassium and magnesium contents known with their BP lowering effect. Milk proteins are rich sources of bioactive peptides and during fermentation and storage several BP lowering peptides are released which play an important role in BP lowering effect of fermented milks. Other bacterial metabolites such as gamma-aminobutyric acid have potential lowering effect on BP.

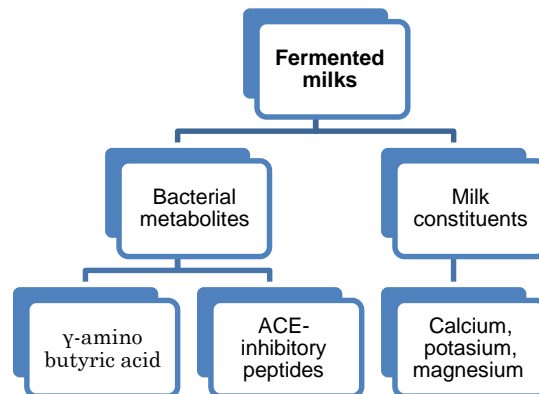


Figure 1. Potential blood pressure lowering factors in fermented milks

Calcium

A significant (P<0.05) linear decrease in SBP and DBP was found with increasing the intake of dairy calcium in both men (7543 subject) and women (8053 subjects) aged 25–69 y [9]. High BP was significantly (P<0.001) related to a decrease (3-10%) in age-adjusted intake of calcium from dairy sources between the highest and the lowest BP groups. They also found that vitamin D intake had no significant effect of on BP. They concluded that the small effect of calcium on BP could have a significant primary prevention effect on cardiovascular diseases.

Green et al. [10] evaluated the effect of high-calcium skim milk and potassium-enriched high calcium skim milk on BP of healthy people compared with non-enriched skim milk. They recorded small hypotensive

effect of potassium-enriched high calcium skim milk in adults aged >40 y.

In a prospective cohort study that covered 28886 US women aged ≥45 years [11] investigated the associations of the intake of dairy products, calcium, and vitamin D with the incidence of hypertension. The risk of hypertension decreased in the higher quintiles of dietary calcium (0.87) and dietary vitamin D (0.95), but calcium or vitamin D supplements had no effect. Adjustment for dietary calcium significantly attenuated the inverse association of low-fat dairy intake with risk of hypertension, whereas adjustment for dietary vitamin D did had no effect on the association.

Inverse associations between dairy product consumption and SBP and DBP have been observed in cross-sectional studies [5] whereas calcium, potassium

and magnesium have been the most notably dairy nutrients to have a BP lowering effect. However, inconsistent results were obtained from randomized clinical trials examining the effect of calcium and the combination of calcium, potassium and magnesium on BP. Modest reductions (-1.27 to -4.6 mmHg for SBP, and -0.24 to -3.8 mm Hg for DBP) were generally found. The role of calcium in lowering BP has been explained on the basis that low calcium intake increases intracellular calcium concentrations which in turn increases 1,25-dihydroxyvitamin D(3) and parathyroid hormone (PTH). This cause calcium influx into vascular smooth muscle cells leading to greater vascular resistance.

Hilpert et al. [12] fed adults with stage 1 hypertension a dairy-rich, high fruits and vegetables diet (DFV), a high fruits and vegetables (FV) diet and an average Western diet (control) for 5 weeks each. They concluded that consumption of dairy products beneficially affect the erythrocyte (Ca) (i) resulting in improved BP which they defined as (Ca) (i) response.

Metabolites of Microbial Fermentation

Lactic acid bacteria (LAB) are commonly used in the manufacture of yogurt and other fermented milk products. The traditional and probiotic cultures used include thermophilic and mesophilic strains of *Streptococcus*, *Lactococcus* and *Lactobacillus* species. LAB are fastidious organisms that require various nutrients to survive and grow. Among these various nutrients, amino acids are essential for their growth. LAB metabolizes the large proteins found in milk to obtain free essential amino acids with the help of their proteolytic system [13].

To date, the proteolytic systems of few LAB strains such as *Lactococcus (Lc) lactis*, *Lactobacillus (Lb.) helveticus* and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* have been studied and characterized. *Lc. lactis* ssp. *lactis* is a LAB that has a well-studied and characterized proteolytic system [13] including cell wall proteinases and intracellular endo and amino acid peptidases. The cell wall proteinases of the *Lactococcus* strains are serine proteases that are grouped into at least two types; the PI-type that hydrolyses β -CN and has little activity for α_{S1} -CN, and the PIII-type that hydrolyses both caseins [14]. *Lb. helveticus* proteinases are also serine proteinases that can be grouped into PI- and PIII-types. Proteolysis of milk proteins by LAB involves three steps. In the first step, the proteolytic LAB break down the large protein molecules into 4-18 amino acid residues termed oligopeptides with the help of their cell wall associated extracellular proteinase. In the second step, the oligo-, di-, and tripeptides are transported across the cell wall and internalized by the LAB cells through oligopeptide (Opp), dipeptide (Dpp) and tripeptide (DtpT) transport systems, respectively. In the third step the internalized peptides are further broken down and release free amino acids with the help of intracellular peptidases in what is an important step in the metabolism of LAB. The presence of peptidases like PepX are important for the degradation of casein-derived high proline oligopeptides

because of their capability to hydrolysis of proline-containing sequences. The release of the ACE-inhibitory peptides was positively correlated with the extracellular proteinases indicating the proteolysis of casein by these enzymes to be the most important step for the production of the bioactive peptides [15].

The release of these internal enzymes from dead cells may play an important role in the qualitative and quantitative composition of the protein derived products in fermented milk. The autolysis rate of the dead LAB cells and release of the internal enzyme system varies widely which determine the importance of these enzymes in protein degradation products of fermented milk.

Angiotention-converting Enzyme Inhibitory Peptides

LAB produces small bioactive peptides of different biological activities as intermediate or secondary metabolites during proteolysis of milk protein. Peptides exhibiting inhibitory activity on angiotension-converting enzyme (ACE) have received special attention as LAB metabolites that have direct effect on hypertension. The most important metabolic pathway in the control of blood pressure is the renin-angiotensin system [16]. It plays a fundamental role in blood pressure by converting angiotensin I into angiotensin II, a potent vasoconstrictor; in the mean time it hydrolyzes the vasodilator peptides bradykinin and kallidin. Therefore, the antihypertensive effect of fermented is affected by the used strain and the conditions of fermentations and post-fermentation changes.

LAB Strain

Qualitative and quantitative differences in the released ACE-inhibitory peptides in fermented milk by the used LAB strains were reported.

Yamamoto *et al.* [17] found that most of the milk fermented by *Lb. helveticus* or *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* to show higher ACE- inhibitory activity than those fermented by *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Str. thermophilus*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, or *Lc. lactis* subsp. *lactis*.

Wild stains of LAB isolated from raw milk were tested for their ability to produce ACE-inhibitory activity in fermented milk [18]. Four *Enterococcus faecalis* of the isolated strains exhibited high ACE inhibitory activity than other isolated LAB strains.

Donkor et al. [19] assessed the growth characteristics and release of ACE-inhibitory activity of LAB and probiotic strains of *Lb. acidophilus* (two strains), *Bifidobacterium (B. lactis* and *B. longum*), *Str. thermophilus* and *Lb. delbreukii* ssp *bulgaricus* grown in fermented milk. The extent of proteolysis varied among strains and appeared to be time dependant. All the cultures released peptides with in vitro ACE-inhibitory activity during growth with *B. longum* BI 536

and *Lb. acidophilus* L10 having IC₅₀ values of 0.196 and 0.151 mg/mL, respectively.

Nielsen et al. [20] screened 13 LAB strains for their ACE-inhibitory activity in fermented milk. They found that the tested *Str. thermophilus* and *Lb. acidophilus* strains did not give rise to significant ACE inhibitory activity. The four *Lc. lactis* strains behaved similarly in fermentation, proteolysis and ACE-inhibition. The products made with the seven *Lb. helveticus* strains varied. They found positive relation between the proteolytic activity of the tested strains and the developed ACE-inhibitory activity.

Pihlanto et al. [21] tested 25 LAB strains including *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. helveticus*, *Lb. jensenii*, *Lb. reuteri*, *Lb. rhamnosus*, *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lb. raffinolactis* and *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* of their ACE-inhibitory activity in fermented milk. The variable ACE inhibitory potencies of these strains were correlated to the degree of protein hydrolysis.

Compared with other lactic acid bacteria, *Lb. casei* YIT 9029 and *B. bifidum* MF 20/5 were able to induce strong ACE inhibitory activity [22]. *Lb. casei* (Lc210), *B. animalis* ssp12 (Bb12), *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (Lb11842) and *Lb. acidophilus* (La2410) were grown in 12% of reconstituted skim milk (RSM) or 4% of whey protein concentrates (WPC-35) with (0.14%) or without addition of the microbial derived enzyme Flavourzyme [23]. All tested strains showed higher proteolytic activity and produced more antihypersensitive peptides in RSM medium than in WPC medium. Combination with Flavourzyme, also increased LAB growth and proteolytic and ACE-I activities. Of the four strains used the performance Bb12 and La2410 was better than Lc210 and Lb11842.

Rasika et al. [24] reported that the ACE inhibitory activity of the milk samples fermented with single or mixed cultures of *Lb. lactis* ssp. *lactis* NBRC 12007 and *S. cerevisiae* K7 were significantly ($P < 0.05$) different.

Out of a total of 59 *Lb. helveticus* strains isolated from traditional fermented dairy products, three strains expressed the highest ACE-inhibitory activity [25]. One of these three strains (*Lb. helveticus* IMAU80872) showed better tolerance to gastrointestinal proteases and thermostability of its ACE-inhibitory activity in fermented milks. Six peptides have been identified three of which i.e. ALPM, VAGTWY, IPI were previously identified as ACE-inhibitory peptides.

Effect of Fermentation and Post-Fermentation Conditions

The composition of the medium, and fermentation storage conditions have significant effects on the release of ACE-activity in fermented milk.

Effect of the type of milk. Sultan et al. [26] prepared yogurts from goat, sheep, cow and buffalo's milk. The

water soluble peptide fractions of these yogurts were extracted and their antihypertensive and antioxidant activities were quantified at different intervals during storage. Yogurt made from goat milk exhibited highest antihypertensive and antioxidant activities as compared to yogurts prepared from other milks.

Effect of milk fortification. Leclerc et al. [27] found that fortification of milk with casein increased the ACE-inhibitory activity developed in fermented milk prepared by the use of *Lb. helveticus* but fortification of milk with whey proteins did not give the same effect.

Effect of pH. The effect of pH at the end of fermentation on the developed ACE-inhibitory activity was controversial. Nielsen et al. [20] concluded that fermentation with *Lb. helveticus* should be terminated at pH 4.6 in order to release the highest ACE-inhibitory activity in fermented milk. Extending fermentation to pH 3.5 reduced the developed ACE-inhibitory activity. In the mean time, they found that fermentation with lactococcus should be continued until pH 4.3 to achieve the optimum ACE-inhibitory activity in fermented milk. Pihlanto et al. [21] found that modification of the fermentation conditions or pH control had no effect of the developed ACE-inhibitory activity by the 25 tested LAB strains. Cold storage was found to increase dramatically the ACE-inhibitory activity of some products [20].

Effect of fermentation temperature. Otte et al. [28] reported that temperature significantly affect the growth, lysis and release of ACE-inhibitory activity of fermented milk prepared using *Lc. lactis* or *Lb. helveticus*. The profile of the released peptides was almost unchanged by fermentation temperature or cell lysis. They suggested that the cell wall proteinase to be the primary catalyst in the release of ACE-inhibitory peptides. The ionic calcium released during milk fermentation could contribute to the ACE-inhibitory activity of fermented milks [22]. Li et al. [29] found that the fermentation temperature, inoculum level and rotation speed were the most significant factors affecting the production of ACE inhibition in milk fermented with *Kluyveromyces marxianus*. They found that the optimum conditions for maximum ACE-inhibition activity production (81.23%) were incubation at 32°C, initial pH of 6.5, inoculation level of 6% and rotation speed of 189 rpm.

Released ACE-Inhibitory Peptides

β-Casein is considered the main source for the released ACE-inhibitory peptides by the action of microbial fermentation. However, other casein fractions and whey proteins have been reported to generate ACE-inhibitory peptides during microbial fermentation. The ACE-inhibitory peptides consist of 2-20 amino acid residues that differ widely in their potency. The activity of ACE-inhibitory peptides (IC₅₀) is usually expressed as "the concentration (mg/mL or μM/mL) that inhibit 50% of the enzyme.

1. Lactotriptides

The most extensively studied ACE-inhibitory peptides released in fermented milk have been the tripeptides IPP and VPP which have the highest inhibitory activity compared to other ACE-inhibitory peptides. These peptides are produced in milk fermented by *Lb. helveticus* [30, 31]. The IPP corresponds to the β -CN (f74–76) and has IC₅₀ of 5

μ M/mL and VPP corresponds to the β -CN (f 84–86) and has IC₅₀ of 9 μ M/mL.

2. Other ACE-inhibitory peptides

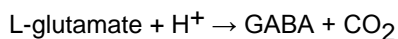
Several ACE-inhibitory peptides have been identified from milks fermented with different microbial strains (Table 1). These peptides were mainly derived from β -CN and exhibited variable ACE inhibitory potencies.

Table 1. ACE-inhibitory peptides other than lactotriptides identified in fermented milks

LAB used in fermentation	Structure	Origin	Potency (IC ₅₀)	Reference
<i>Lb. helveticus</i> CPN4	YP	α _{s1} -CN, β -CN, and κ -CN	720 μ M/mL	[32]
<i>Lb. bulgaricus</i> <i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i> + <i>Lc. diacetylactis</i>	SKVYFPFGPI SKVYP	β -CN β -CN	1.7 mg/mL 1.4 mg/mL	[33]
<i>Enterococcus faecalis</i>	LHLPLP LVYFPFGPIPNLQPNI VLGPVVRGPFPP, VVVPPF, VVVPPF, VRGPFPIIV, LHLPLPL and VLGPVVRGPFPIIV	β -CN	5.5 \pm 0.4 μ M/mL 5.2 \pm 0.3 μ M/mL Low and variable	[34]
<i>Lb. helveticus</i> 130B4	AIPPKKNQD	κ -CN	19.9 μ M/L	[35]
<i>Lb. jensenii</i>	LVYFPFGPIHNSLPQN LVYFPFGPIH	β -CN	71 mg/mL 89 mg/mL	[21]
Koumiss flora	YQDPRLGPTGELD, PATQPIVAVHNPVIV, PKDLREN, LLLAHL, and NHRNRMMDHVH	The 1 st peptide from β -CN of mare milk the others unknown	14.53 \pm 0.21 μ M, 9.82 \pm 0.37 μ M, 5.19 \pm 0.18 μ M, and 13.42 \pm 0.17 μ M/mL respectively	[36]
Two wild <i>Lc. Lactis</i> <i>Lc. lactis</i> NRRL B-50571 and 50572	HHPHLSFMAIPP, SLPQNIPPL	κ -CN β -CN	0.034 \pm 0.002 μ g/mL and 0.041 \pm 0.003 μ g/mL	[37]
<i>B. bifidum</i> MF 20/5	LVYFPF LPLP	β -CN unknown	132 μ M/mL 703 μ M/mL	[38]
<i>B. longum</i> KACC91563	YQEPVLGPVVRGPFPIIV, GPVVRGPFPIIV and QEPVLGPVVRGPFPIIV	β -CN		[39]
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	VLSRYP IRFF	κ -CN α _{s1} -CN	36.7 μ M/mL 116.9 μ M/mL	[29]

 γ -Aminobutyric acid

γ -Aminobutyric acid (GABA) is a metabolite of microbial fermentation by many LAB strains [40]. It arises from decarboxylation of free L-glutamate by the enzyme glutamic decarboxylase (GAD)



Production of GABA is strictly controlled by pH, temperature and availability of free glutamic acid [40, 41]. The optimum pH and temperature for the production of GABA were reported to be pH 5.0 and 35°C [40].

GABA has been reported to reduce BP in experimental animals. In spontaneously hypertensive rats, GABA has an antihypertensive effect, possibly through the inhibition of noradrenaline release from sympathetic nerve endings [42].

The BP-lowering effects of GABA and a GABA-enriched non-fat fermented milk product (FMG) were tested by low-dose oral administration to spontaneously hypertensive (SHR/Izm) and normotensive Wistar–Kyoto (WKY/Izm) rats [43]. A single oral dose of GABA or FMG (5 mL/kg; 0.5mg GABA/kg) significantly ($P < 0.05$) decreased the BP of SHR/Izm after 4 to 8 h of administration, but did not increase that of WKY/Izm rats. The hypotensive activity of GABA was dose-dependent from 0.05 to 5.00 mg/kg in SHR/Izm. FMG did not inhibit angiotensin 1-converting enzyme. Furthermore, an FMG peptide-containing fraction from reverse-phase chromatography lacked a hypotensive effect in SHR/Izm rats. These results suggest that low-dose oral GABA has a hypotensive effect in SHR/Izm and that the hypotensive effect of FMG was due to GABA.

A fermented milk containing GABA (FMG) was produced from skim milk that had been fermented by using 2 starters namely: *Lb. casei* strain Shirota and *Lc. lactis* YIT 2027 with added sweeteners. The possible route for the formation of GABA in this fermented milk is that *Lb. casei* strain hydrolyzes milk protein into glutamic acid, and the *Lc. lactis* converts glutamic acid into GABA. Consumption of 100 mL of fermented milk containing 10 mg of GABA daily for 12 week was effective in reducing blood pressure for people with mild hypertension [44].

The components found in GABA-rich fermented milk were compared with those found in control milk fermented without GABA production [45]. The amount of GABA and the amino acid ornithine in GABA-rich fermented milk were much higher (1,216-fold and 27-fold respectively) than that of the control milk. Peptide analysis showed that levels of 6 ACE-inhibitory peptides were also higher in the GABA-rich fermented milk. This indicates that the GABA-producing *Lc. lactis* 01-7 provided fermented milk with other functional components in addition to GABA.

EXPERIMENTAL EVIDENCE OF BP LOWERING EFFECT OF FERMENTED MILK

Animal Studies

Two strains of *Lb. helveticus* were used to produce fermented milk rich in angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors [46]. The two milks were administered by gavage to spontaneously hypertensive rats and the mean arterial BP and heart rate were monitored from 4 to 8h after administration. Unfermented milk and milk fermented with a lactococcal strain that does not produce ACE-inhibitors were used as controls. Highly significant BP lowering effects were observed for milk fermented with the two strains of *Lb. helveticus* than the controls. Also, significant differences in heart rate effects were detected with one of the strains.

The changes in arterial BP of spontaneously hypertensive rats (SHR) by long-term (20 weeks) intake of an *Enterococcus faecalis* CECT 5728-fermented milk were followed [47]. A definite decrease in SBP and DBP was observed in the rats that received the *E. faecalis* CECT 5728-fermented milks. The effect of Ca-enriched fermented milk was slightly more accentuated and more constant than the effect of the un-enriched fermented milk. SBP and DBP increased in the treated SHR when the intake of the fermented milk was stopped.

The short-term oral antihypertensive effect of several peptide isolated from hydrolysate of casein fractions was evaluated [48] in spontaneously hypertensive rats (SHR). These peptides were previously characterized as *in vitro* ACE-inhibitors. SBP and DBP of the rats were measured before administration and also after 2, 4, 6, 8 and 24 h post-administration. The sequences LVYPFTGPIP, HLPLP, IAK, YAKPVA and WQVLPNAVPAK showed a clear decrease in SBP and DBP in SHR. HPHPSF caused a significant decrease of the DBP, but did not modify the SBP of SHR in a significant manner. KKYNVPQL did not modify SBP in

the SHR, but caused and maintained a slight decrease in DBP in these animals. SBP and DBP returned to baseline values 24h post-administration of all peptides.

The antihypertensive effect of IPP and VPP was evaluated in double transgenic rats (dTGR) harboring human renin and human angiotensinogen genes which develop malignant hypertension due to increased angiotensin II formation [7]. Four week-old dTGR were randomized in three groups the 1st received water (control), the 2nd received fermented milk containing IPP and VPP, and the 3rd received IPP and VPP dissolved in water for three week. The BP of the group that received fermented milk, but not those received the aqueous peptides solution, was reduced by 19mm Hg versus the control group ($P=0.023$). *In vitro* vascular function tests showed that high concentrations of the peptides exhibited ACE inhibitory properties. This study suggests that the antihypertensive peptides were not the only factor responsible for the reduced hypertension.

The influence of yogurt- and probiotic yogurt-based diets on the weight gain, serum lipid profile, and BP were investigated in 14 week old spontaneously hypertensive rats [49]. Animals were subdivided into three groups, the 1st (control) received skim milk diet (Feed-C), the 2nd received skim milk diet supplemented with freeze dried low fat yogurt (Feed-Y), and the 3rd with freeze dried low-fat probiotic yogurt (Feed-PY). At the end of the feeding period (8 weeks) the reduction in SBP of rats fed Feed-Y was 3.7% (-9.5 mm Hg) and 2.7% (-6.4 mm Hg) in those fed Feed-PY while reduction in DBP was 30% (-9.4 mmHg) and 44% (-13.8 mmHg), respectively, in comparison to those fed Feed-C. Also, the levels of total cholesterol and LDL of rats fed the supplemented diets were lower than those fed Feed-C while no changes in the levels of HDL were observed. They concluded that feeding diets supplemented with yogurts exhibited antihypertensive and hypocholesterolemic effects in spontaneously hypertensive rats.

In vivo effects of a fermented milk product containing lactotripeptide IPP and plant sterols on already established hypertension, endothelial dysfunction and aortic gene expression were studied in male SHR [50]. Animals were given either fermented milk rich in IPP and plant sterols, milk or water *ad libitum* for 6 week. Consumption of the enriched milk decreased SBP by 16 mmHg compared with water ($P<0.001$) and improved endothelial dysfunction and affected signaling pathways related to inflammatory responses in SHR. Milk also had an antihypertensive effect but with an upward trend back towards the baseline SBP values.

The antihypertensive and heart rate (HR)-lowering effect of milk fermented by specific *Lc. lactis* were studied in a murine model [51]. Spontaneously hypertensive male rats (271±14 g) were divided into four randomized groups. Two groups were orally administered with milk fermented by *Lc. lactis* NRRL B-50 571 or *Lc. lactis* NRRL B-50 572 at 35 or 50 mg protein/kg body weight (BW), respectively. The other two groups were fed a saline solution as the negative control and Captoprile

(40 mg/kg BW), a proven ACE inhibitor, as the positive control. The results demonstrated that milk fermented by the two tested *Lc. lactis* presented significant SBP and DBP and HR-lowering effects.

It is evident from these studies that consumption milk fermented with several bacterial strains had significant BP lowering effect in animal models.

Clinical studies

Calpis is a Japanese sour milk fermented with a mixture of *Lb. helveticus* and *Saccharomyces cerevisiae*. The effect of Calpis on BP of 30 elderly hypertensive patients, most of whom were taking antihypertensive medication was studied [52]. Subjects were randomly assigned into two groups, the 1st get a daily intake (95 mL) of the sour milk, and 2nd group ingested the same amount of acidified milk as a placebo for 8 weeks. The SBP and DBP decreased significantly in the sour-milk group after 8 weeks after ingestion whereas no significant changes were observed in BP of the placebo group.

In a clinical trial for 12 weeks period mildly hypertensive patients (16 women and 23 men) aged 28 – 81 y (mean, 54.2 y) received a daily intake of fermented milk containing γ -aminobutyric acid (FMG) or placebo for 1-12 weeks followed by 2 weeks of no intake [44]. The peripheral BP and heart rate of seated patients were measured at week intervals. Also, blood analysis and urinalysis were performed before and after the intake. The BP was significantly decreased within 2 or 4 weeks, and it remained decreased throughout the 12 weeks intake period. For the FMG recipients, the mean decrease after 12 weeks was 17.4 \pm 4.3 mmHg in the SBP and 7.2 \pm 5.7 mmHg in the DBP. Both of these values differed statistically from baseline levels ($P < 0.01$), and from the placebo group ($P < 0.05$). However, heart rate, body weight, hematological and blood chemistry variables, and urinalysis did not differ between groups.

In a randomized placebo-controlled study, 39 hypertensive patients received 150 mL/day of either *Lb. helveticus* LBK-16H fermented milk or a control product for 21 weeks after a 2 weeks run-in period [53]. During the run-in period, the average baseline SBP and DBP values were 155 and 97 mmHg, respectively and in the test product group were 152 and 96 mmHg respectively in the control group. After the run-in period, BP decreased by 6.7 \pm 3.0 mm Hg in SBP ($P = 0.030$) and of 3.6 \pm 1.9 mmHg ($P = 0.059$) in DBP in test product as compared to control groups. They found that demographic factors had no significant effect on the responses.

The BP lowering effect of *Lb. helveticus* LBK-16H fermented milk was evaluated in a randomized, double blinded placebo controlled parallel group study [54]. Hypertensive patients (94 subjects) not receiving any drug treatment were given a dose of 150mL twice daily of either *Lb. helveticus*LBK-16H fermented milk with a high concentration of the lactotripeptides (IPP 7.5

mg/100 g and VPP 10 mg/100g) or a control product, for 10 weeks after a 4 weeks run-in period. Twenty four hr BP was taken at the beginning and at the end of the intervention period. The average baseline systolic and diastolic BP values were 132.6 \pm 9.9/83.0 \pm 8.0 mmHg in the group receiving *Lb. helveticus* and 130.3 \pm 9.6 /80.2 \pm 7.0 mmHg in the control group. At the end of the experiment a mean difference of -4.1 \pm 0.9 mmHg in SBP ($P = 0.001$) and a -1.8 \pm 0.7 mmHg in DBP ($P = 0.048$) between the *Lb. helveticus* group and the control group. There was no difference in the sum of the adverse events ($P = 0.820$).

Boelsma and Kloek [55] reviewed the reported evidences of the BP control properties of lactotripeptides in man. The BP-lowering effects of lactotripeptides were typically evident after 4–6 weeks of treatment but in some cases response was observed after 1–2 week/s. The maximum BP reductions were 13 mmHg and 8 mmHg for SBP and DBP respectively after active treatment compared with placebo, and were reached after 8–12 weeks of treatment. Effective dosages of lactotripeptides ranged from 3.07 to 52.5 mg/day. Lactotripeptides were only effective at elevated BP but no further lowering has been observed of normal BP. Concomitant intake of antihypertensive medication had no effect on the BP lowering potency of lactotripeptides. Also, ethnicity had no influence the lactotripeptide-induced BP lowering effect. Based on the available data they concluded that lactotripeptides appear to be safe and effective in lowering BP and can be part of a healthy diet and lifestyle to prevent or reduce high BP.

A randomized, double-blind placebo-controlled study was conducted of the antihypertensive effect of *Lb. helveticus* fermented milk (FM) in 94 pre-hypertensive and borderline hypertensive subjects [56]. The participants were randomized into three treatment groups with a daily intake of 150 mL of FM, 300 mL of FM or placebo (chemically acidified milk). The repeated 24h ambulatory BP measurements were recorded. No statistically significant differences were found in BP between the groups (SBP, $P = 0.9$; DBP, $P = 0.2$). However, the group receiving 300 mL FM had reduced BP across the 8 weeks period in several readings, which could be compatible with a minor antihypertensive effect. Heart rate and lipids remained unchanged between groups. They concluded that milk fermented with *Lb. helveticus* does not pose significant antihypertensive effect.

A double-blinded randomized placebo-controlled study was undertaken [57] including 94 borderline-hypertensive persons to study the effect on human physiology as affected by consumption of *Lb. helveticus* fermented milk. No ACE inhibition of the fermented milk was demonstrated, as none of the components of the renin–angiotensin–aldosterone system was changed. They suggested that the intake of fermented milk decreases sympathetic activity, although not to an extent mediating reductions of BP and heart rate in borderline hypertensive subjects.

Placebo-controlled clinical trials evaluating the anti-hypertensive effect of lactotriptides were used to perform a meta-analysis for the BP lowering effect of lactotriptides [58]. A total of 18 trials have been identified, the clinical data of which have been clearly reported. Pooled effect of peptides was a reduction of -3.73 mmHg (95% CI: -6.70, -1.76) for SBP and 1.97 mmHg (95% CI: 3.85, -0.64) for DBP. The effect was more evident in Asian patients (SBP= -6.93 mmHg (95% CI: -10.95, -2.94); DBP= -3.98 mmHg (95% CI: -5.38, -2.44)) than in Caucasian ones (SBP=-1.17 mmHg (95% CI: -2.82, 0.72); DBP=-0.52 mmHg (95% CI: -1.39, 0.13)), and apparently not related to age, baseline BP values, dose of lactotriptides assumed or length of the treatment. They concluded that VPP and IPP lactotriptides assumed as functional foods may significantly reduce SBP particularly in Asian subjects, but they suggested this effect should be further investigated in other ethnicities or in association with different dietary patterns.

A meta-analysis was conducted on the effect of IPP and VPP on SBP in Europeans [59]. The study covered 91 publications of which 14 trials with 15 sets of data ($n = 1.306$) met the inclusion criteria for the meta-analysis. A random-effects model was used for the analysis. Although not all individual trials showed a statistically significant effect of IPP or VPP in reducing SBP, the combination of all data for the two peptides yielded a statistically significantly greater effect for IPP/VPP than for placebo. The decrease in SBP with IPP/VPP was 1.28 mmHg (95% CI, -2.09 to -0.48, $P=0.0017$) and the decrease in DBP was 0.59 mmHg (95% CI, -1.18 to -0.01, $P=0.047$). The study concluded that the peptides IPP and VPP were effective in moderately reducing SBP in European subjects, as is known for Asian populations. These two peptides could have a role in controlling blood pressure.

Compared to placebo, meta-analysis of fourteen randomized placebo-controlled trials involving 702 participants showed that probiotic fermented milk produced a significant reduction of 3.10 mmHg (95% CI 24.64, 21.56) in SBP and 1.09 mmHg (95% CI 22.11, 20.06) in DBP [60]. Sensitivity analysis excluded small trials that reported extreme results. Subgroup analyses suggested that consumption of probiotic fermented milk to exhibit a slightly greater effect on SBP in hypertensive participants than in normotensive ones (23.98 v. 22.09 mmHg). Analysis of trials done in Japan showed a greater reduction than those conducted in Europe for both SBP (26.12 v. 22.08 mmHg) and DBP (23.45 v. 20.52 mmHg). The study suggested that probiotic fermented milk has BP-lowering effects in pre-hypertensive and hypertensive subjects.

Fekete et al. [61] performed a comprehensive meta-analysis of data on the blood pressure (BP) lowering effect of casein-derived lactotriptides (LTP) from all relevant randomized controlled trials (RCT) until May 2014. Thirty RCT met the inclusion criteria, which resulted in 33 sets of data. The pooled treatment effect for SBP was -2.95 mmHg (95% CI: -4.17, -1.73; $P<0.001$), and for DBP was -1.51 mmHg (95% CI:

-2.21, -0.80; $P<0.001$). The reduction of BP in Japanese studies was significantly greater, compared with European studies ($P=0.002$ for SBP and $P<0.001$ for DBP). The 24 h ambulatory BP (AMBp) response to LTP supplementation was statistically non-significant ($P=0.101$ for SBP and $P=0.166$ for DBP). Both publication bias and "small-study effect" were identified. These two factors shifted the treatment effect towards less significant SBP and non-significant DBP reduction after LTP consumption. LTP may be effective in BP reduction, especially in Japanese individuals. However, sub-group, meta-regression analyses and statistically significant publication biases suggest inconsistencies.

Wang et al. [6] found that greater intakes of total dairy foods, total low-fat/fat-free dairy foods, low-fat/skimmed milk and yogurt were associated with annual but smaller increments reduction in SBP and a lower risk of projected HTN incidence. However, with the exception of total dairy foods and yogurt, these inverse associations with HTN risk were attenuated as the follow-up time increased. For yogurt, each additional serving was associated with 6% (95% CI 1, 10) reduced risk of incident HTN. Total dairy and total low-fat/fat-free dairy intakes were found to be inversely related to changes in DBP. As part of a nutritious and energy-balanced diet pattern, dairy consumption, may benefit BP control and prevent or delay the onset of HTN.

A meta-analysis for 18 studies (including a total of 1194 subjects) was carried out to evaluate the systolic blood pressure (SBP) lowering effect of the lactotriptides IPP and VPP [62]. They concluded that consumption of every day potential doses of IPP/VPP can significantly reduce SBP in Japanese subjects with or without overt hypertension.

CONCLUSIONS AND FUTURE TRENDS

The BP lowering effect of fermented milks has been evident from several studies carried out on animals and human subjects but this effect was not confirmed in some other clinical studies. This can be expected from the large number of factors involved in BP lowering effect of fermented milks including the type of fermented milk (e.g. yogurt, kefir), composition of the fermented milk (normal, standardized, fortified), technological treatments (e.g. heat treatments), microorganisms used in fermentation (e.g. traditional starters, probiotics), condition of the fermentation process (e.g. temperature x time), and storage condition (e.g. duration and temperature).

Several meta-analysis studies done gave evidences of low but significant effect of the antihypertensive effect of fermented milks. Therefore, consumption of fermented milks represents potentially important strategy to reduce the risk of hypertension through the lifespan, which could reduce the need for antihypertensive drugs later in life.

However, conducting a properly designed randomized, controlled, double-blind studies that take into consideration all factors involved in BP lowering effect

of fermented milks are important to get a solid evidence for the BP effect of fermented milks. However




REFERENCES

- [1] Alton, I., 2005. Hypertension. In: Guidelines for Adolescent Nutrition Services. Stang J, Story M (eds) pp 125, http://www.epi.umn.edu/let/pubs/adol_book.shtml.
- [2] Hasan, D.M., Emeash, A.H., Mustafa, S.B., Abdelazim, G.E., El-din, A.A., 2014. Hypertension in Egypt: a systematic review. *Current Hypertension Reviews* 10: 134-41.
- [3] Lawes, C.M., Vander Hoorn, S., Rodgers, A., 2008. International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease. *Lancet* 371: 1513–1518.
- [4] Appel, L.J., Moore, T.J., Obarzanek, E., 1997. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *New England Journal of Medicine* 336: 1117–1124.
- [5] Kris-Etherton, P.M., Grieger, J.A., Hilpert, K.F., West, S.G., 2009. Milk products, dietary patterns and blood pressure management. *Journal of the American College of Nutrition* 28: 103S–119S.
- [6] Wang, L., Manson, J.A.E., Buring, J.E., Lee, I-M., Sesso, H.D., 2008. Dietary intake of dairy products, calcium, and vitamin D and the risk of hypertension in middle-aged and older women. *Hypertension* 51: 1-7.
- [7] Jauhiainen, T., Pilvi, T., Cheng, Z.J., Kautiainen, H., Müller, D.N., Vapaatalo, H. Korpela, R., Mervaala, E., 2010. Milk products containing bioactive tripeptides have an antihypertensive effect in double transgenic rats (dTGR) harbouring human renin and human angiotensinogen genes. *Journal of Nutrition and Metabolism*, Vol. 2010, Article ID 287030, 6 pages.
- [8] Smith, T.M., Kolars, J.C., Savaiano, D.A., Levitt, M.D., 1985. Absorption of calcium from milk and yogurt. *American Journal of Clinical Nutrition* 42: 1197-1200.
- [9] Jorde, R., Bønaa, K.H., 2000. Calcium from dairy products, vitamin D intake, and blood pressure: the Tromsø study. *American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1530–1535.
- [10] Green, J.H., Richards, J.K., Bunning, R.L.W., 2000. Blood pressure responses to high-calcium skim milk and potassium-enriched high-calcium skim milk. *Journal of Hypertension* 18: 1331–1339.
- [11] Wang, H., Fox, C.S., Troy, L.M., Mckeown, N.M., Jacques, P.F., 2015. Longitudinal association of dairy consumption with the changes in blood pressure and the risk of incident hypertension: the Framingham Heart Study. *British Journal of Nutrition* 114: 1887–1899.
- [12] Hilpert, K.F., West, S.G., Bagshaw, D.M., Fishell, V., Barnhart, L., Lefevre, M., Most, M.M., Zemel, M.B., Chow, M., Hinderliter, A.L., Kris-Etherton, P.M., 2009. Effects of dairy products on intracellular calcium and blood pressure in adults with essential hypertension. *Journal of the American Collage of Nutrition* 28: 142-149.
- [13] Savijoki, K., Ingmer, H., Varmanen, P., 2006. Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71: 394–406.
- [14] Pritchard, G.G., Coolbear, T., 1993. The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 12: 179–206.
- [15] Pihlanto, A., 2013. Lactic fermentation and bioactive peptides. In: Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes (Ed. M. Kongo), pp 282-309. www.intechopen.com.
- [16] Daien, V., Duny, Y., Ribstein, J., Du Cailar, G., Mimran, A., Villain, M., Daures, J.P., Fesler, P., 2012. Treatment of hypertension with renin-angiotensin system inhibitors and renal dysfunction: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Hypertensions* 25: 126–132.
- [17] Yamamoto, N., Akino, A., Takano, T., 1994. Antihypertensive effects of different kinds of fermented milk in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 58: 776-778.
- [18] Muguerza, B., Ramos, M., Sánchez, E., Manso, M.A., Miguel, M., Aleixandre, A., Delgado, M.A., Recio, I., 2006. Antihypertensive activity of milk fermented by *Enterococcus faecalis* strains isolated from raw milk. *International Dairy Journal* 16: 61–69.
- [19] Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P., 2007. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *Lait* 86: 21-38.
- [20] Nielsen, M.S., Martinussen, T., Flambard, B., Sørensen, K.I., Otte, J., 2009. Peptide profiles and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: Effect of bacterial strain, fermentation pH, and storage time. *International Dairy Journal* 19: 155–165.
- [21] Pihlanto, A., Virtanen, T., Korhonen, H., 2010. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. *International Dairy Journal* 20: 3–10.
- [22] Gonzalez-Gonzalez, C.R., Tuohy, K.M., Jauregi, P., 2011. Production of angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk fermented with probiotic strains: Effects of calcium, pH and peptides on the ACE-inhibitory activity. *International Dairy Journal* 21: 615-622.
- [23] Ahtesh, F.B., Stojanovska, L., Mathai, M.L., Apostolopoulos, V. Mishra, V.K., 2016. Proteolytic and angiotensin-converting enzyme-inhibitory activities of selected probiotic bacteria. *International Journal of Food Science & Technology* 51: 865–874.
- [24] Rasika, D.M.D., Ueda, T., Jayakody, L.N., Suriyagoda, L.D.B., Silva, K.F.S.T., Ando, S., Vidanarachchi, J.K., 2015. ACE-inhibitory activity of milk fermented with *Saccharomyces cerevisiae* K7 and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007. *Journal of the National Science Foundation Sri Lanka* 43: 141-151.

- [25] Chen, Y., Li, C., Xue, J., Kwok L-Y., Yang, J., Zhang, H., Menghe, B., 2015. Characterization of angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk produced by *Lactobacillus helveticus*. *Journal of Dairy Science* 98: 5113–5124.
- [26] Sultan, S., Huma, N., Butt, M.S., Shahid, M., 2016. Antihypertensive and antioxidant potential of water soluble peptide fraction from different yoghurts. *Journal of Food Processing and Preservation* DOI: 10.1111/jfpp.12979.
- [27] Leclerc, P-L., Gauthier, S.F., Bachelard, H., Santure, M., Roy, D., 2002. Antihypertensive activity of casein-enriched milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal* 12: 995–1004.
- [28] Otte, J., Lenhard, L., Flambard, B., Sørensen, K.I., 2011. Influence of fermentation temperature and autolysis on ACE-inhibitory activity and peptide profiles of milk fermented by selected strains of *Lactobacillus helveticus* and *Lactococcus lactis*. *International Dairy Journal* 21: 229-238.
- [29] Li, Y. Sadiq, F.A., Liu, T.J., JiCheng Chen, J-C., He, G-Q., 2015. Purification and identification of novel peptides with inhibitory effect against angiotensin I-converting enzyme and optimization of process conditions in milk fermented with the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Functional Foods* 16: 278-288.
- [30] Nakamura Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S., Takano, T., 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *Journal of Dairy Science* 78: 777-783.
- [31] Nakamura Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Takano, T., 1995. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme. *Journal of Dairy Science* 78: 1253-1257.
- [32] Yamamoto, N., Maeno, M., Takano, T., 1999. Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus*CPN4. *Journal of Dairy Science* 82: 1388–1393.
- [33] Ashar, M.N., Chand, R., 2004. Antihypertensive peptides purified from milks fermented with *Lactobacillus delbrueckii*ssp. *bulgaricus*. *Milchwissenschaft* 59: 14–17.
- [34] Quirós, A., Ramos, M., Muguerza, B., Delgado, M.A., Miguel, M., Aleixandre, A., Recio, I., 2007. Identification of novel antihypertensive peptides in milk fermented with *Enterococcus faecalis*. *International Dairy Journal* 17: 33–41.
- [35] Shuangquan, Tsuda, H., Miyamoto, T., 2008. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in skim milk fermented with *Lactobacillus helveticus*130B4 from camel milk in Inner Mongolia, China. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 2688–2692.
- [36] Chen, Y., Wang, Z., Chen, X. Liu, Y., Zhang, H., Sun, T., 2010. Identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from koumiss, a traditional fermented mare's milk. *Journal of Dairy Science* 93: 884–892.
- [37] Gonzalez-Gonzalez, C., Gibson, T., Jauregi, P., 2013. Novel probiotic-fermented milk with angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced by *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5. *International Journal of Food Microbiology* 167 131–137.
- [38] Rodríguez-Figueroa, J.C., González-Córdova, A.F., Astiazaran-García, H., Vallejo-Cordoba, B., 2013. Hypotensive and heart rate-lowering effects in rats receiving milk fermented by specific *Lactococcus lactis* strains. *British Journal of Nutrition* 109: 827–833.
- [39] Ha, G.E., Chang, O.K., Jo, S.M., Han, G.S., Park B.Y., Ham, J.S., Jeong, S.G., 2015. Identification of antihypertensive peptides derived from low molecular weight casein hydrolysates generated during fermentation by *Bifidobacterium longum* KACC 91563. *Korean Journal of Food Science and Animal resources* 35: 738-747.
- [40] Li, H., Qiu, T., Huang, G., Cao, Y., 2010. Production of gamma-aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis*NCL912 using fed-batch fermentation. *Microbial Cell Factories* 985.
- [41] Komatsuzaki, N., Shima, J., Kawamoto, S., Momose, H., Kimura, T., 2005. Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus paracasei* isolated from traditional fermented foods. *Food Microbiology* 22: 497-504.
- [42] Hayakawa, K., Kimura, M., Kamata, K., 2002. Mechanism underlying gamma-aminobutyric acid-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology* 438: 107–113.
- [43] Hayakawa, K., Kimura, M., Kasaha, K., Matsumoto, K., Sansawa, H., Yamori, Y., 2004. Effect of a γ -aminobutyric acid-enriched dairy product on the bloodpressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyotorats. *British Journal of Nutrition* 92: 411–417.
- [44] Inoue, K., Shirai, T., Ochiai, H., Kasao, M., Hayakawa, K., Kimura, M., Sansawa, H., 2003. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing γ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *European Journal of Clinical Nutrition* 57: 490–495.
- [45] Hagi, T., Kabayashi, M., Nomura, M., 2016. Metabolome analysis of milk fermented by γ -aminobutyric acid-producing *Lactococcus lactis*. *Journal of Dairy Science* 99: 994-1001.
- [46] Fuglsang, A., Nilsson, D., Nyborg, N.C.B., 2002. Cardiovascular effects of fermented milk containing angiotensin-converting enzyme inhibitors evaluated in permanently catheterized, spontaneously hypertensive rats. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 3566–3569.
- [47] Miguel, M., Muguerza, B., Sánchez, E., Delgado, M.A., Recio, I., Ramos, M., Aleixandre, M.A., 2005. Changes in arterial blood pressure in hypertensive rats caused by long-term intake of milk fermented by *Enterococcus faecalis* CECT 5728. *British Journal of Nutrition* 94: 36–43.
- [48] Miguel, M., Gómez-Ruiz, J.A., Recio, I., Aleixandre, A., 2010. Changes in arterial blood pressure after single oral administration of milk-casein-derived

- peptides in spontaneously hypertensive rats. *Molecular Nutrition and Food Research* 54: 1422–1427.
- [49] Ramchandran, L., Shah, N.P., 2011. Yogurt can beneficially affect blood contributors of cardiovascular health status in hypertensive rats. *Journal of Food Science* 76: H131-H 136.
- [50] Ehlers, P.I., Kivimäki, A.S., Turpeinen, A.M., Korpela, R., Vapaatalo, H., 2011. High blood pressure-lowering and vasoprotective effects of milk products in experimental hypertension. *British Journal of Nutrition* 106: 1353–1363.
- [51] Rodríguez-Figueroa, J.C., González-Córdova, A.F., Torres-Llanez, M.J., Garcia, H.S., Vallejo-Cordoba, B., 2012. Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *Journal of Dairy Science* 95: 5536–5543.
- [52] Hata Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K., Nakamura, Y., Takano, T., 1996. A placebo - controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 64: 767–771.
- [53] Seppo, L, Jauhiainen, T, Poussa, T and Korpela, R., 2003. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* 773: 26–30.
- [54] Jauhiainen, T., Vapaatalo, H., Poussa, T., Kyrönpalo, S., Rasmussen, M., Korpela, R., 2005. *Lactobacillus helveticus* fermented milk lowers blood pressure in hypertensive subjects in 24-h ambulatory blood pressure measurement. *American Journal of Hypertension* 18: 1600-1605.
- [55] Boelsma, E., Kloek, J., 2009. Lactotriptides and antihypertensive effects: a critical review. *British Journal of Nutrition* 101: 776–786.
- [56] Usinger, L., Jensen, L.T., Flambard, B., Linneberg, A., Ibsen, H., 2010. The antihypertensive effect of fermented milk in individuals with prehypertension or borderline hypertension. *Journal of Human Hypertension* 24: 678–683.
- [57] Usinger, L., Ibsen, H., Linneberg, A., Azizi, M., Flambard, B., Jensen, L.T., 2010. Human in vivo study of the renin–angiotensin–aldosterone system and the sympathetic activity after 8 weeks daily intake of fermented milk. *Clinical, Physiological and Functional Imaging* 30: 162–168.
- [58] Cicero, A.F.G., Gerocarni, B., Laghi, L., Borghi, C., 2011. Blood pressure lowering effect of lactotriptides assumed as functional foods: a meta-analysis of current available clinical trials. *Journal of Human Hypertension* 25: 425–436.
- [59] Cicero, A.F.G., Aubin, F., Azais-Braesco, V., Borghi, C., 2013. Do the lactotriptides isoleucine–proline–proline and valine–proline–proline reduce systolic blood pressure in European subjects? A meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Hypertension* 26: 442-450.
- [60] Dong, J-Y., Szeto, I.M.Y., Makinen, K., Gao, Q., Wang, J., Qin, L-Q., Zhao, Y., 2013. Effect of probiotic fermented milk on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition* 110: 1188–1194.
- [61] Fekete, Á.A., Givens, D.I., Lovegrove, J.A., 2015. Casein-derived lactotriptides reduce systolic and diastolic blood pressure in a meta-analysis of randomised clinical trials. *Nutrients* 7: 659-681.
- [62] Chanson-Rolle A., Aubin, F., Braesco, V., Hamasaki, T., Kitakaze, M., 2015. Influence of the lactotriptides isoleucine-proline-proline and valine-proline-proline on systolic blood pressure in Japanese subjects: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PlosOne* <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0142235>.

Çip-Üstü-Laboratuvar (ÇÜL) Teknolojisinin Gıda Mikrobiyolojisindeki Uygulamaları

Gamze Düven^{1,2} , Barbaros Çetin³ , Duygu Kışla¹ 

¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü 35100 İzmir

²İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35430 Gülbahçe Köyü, Urla, İzmir

³İ.D. Bilkent Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, 06800 Ankara

Geliş Tarihi (Received): 02.03.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 20.07.2017

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): duygukisla@gmail.com (D. Kışla)*

☎ 0 232 311 30 13 📠 0 232 342 75 92

ÖZ

Son 20 yılda ortaya çıkan mikro-kanal yapılarında mikro-litreler mertebesinde akışkanın proses edilmesi için kullanılan çip-üstü-laboratuvar (ÇÜL) sistemleri konvansiyonel yöntemlere bir alternatif oluşturmaktadır. Mikro-yapıların kendine has özelliklerinden dolayı ÇÜL sistemleri, karmaşık analizleri geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında daha düşük maliyette, daha düşük enerji, daha düşük kimyasal sarfiyatı ile daha verimli bir şekilde yapabilmekte ve bu yönleriyle birçok alanda (biyomedikal, gıda, kimya, tıp, eczacılık, tarım vb.) çok değerli bir seçenek oluşturmaktadır. Ayrıca bu sistemler otomasyona uygundur ve taşınabilir olma potansiyelleri vardır. Özellikle gıda endüstrisinde bazı durumlarda analiz sonuçlarının hızlı alınabilmesi işletme için büyük önem taşımaktadır. Çip-üstü laboratuvar teknolojisi bu nedenle gıda endüstrisinde özellikle mikrobiyolojik analizlerde hızlı sonuç vermesi, uzman personel gerektirmemesi, az örneğe ihtiyaç duyması vb. özellikleri ile son zamanlarda oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmada, ÇÜL cihazlarının çalışma prensipleri, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), akış sitometrisi ve biyosensörler ile birlikte kullanıldığı entegre sistemler ve bu sistemlerin gıda mikrobiyolojisindeki uygulamaları anlatılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çip-üstü-laboratuvar, Gıda mikrobiyolojisi, Mikro-akışkan sistemler, Hızlı mikrobiyolojik yöntemler

Lab-On-A-Chip (LOC) Technology Applications in Food Microbiology

ABSTRACT

Lab-on-a-chip (LOC) systems, which have emerged in the last two decades and used for fluid processing in a micro-channel structure at microliter levels, are alternatives to conventional methods. Because of the unique properties of microstructures, LOC systems can make complex analyses more efficient with lower cost, energy and chemical consumption than conventional systems, and they become a valuable option for many applications such as biomedical, food, chemistry, medicine, pharmacy and agriculture in these aspects. In addition, these systems are suitable for automation and have a potential to be portable. Especially in some cases of food industry, obtaining analysis results quickly has a great importance for food plants. For this reason, recently developed LOC technology has become important in food industry because of their features such as quick response in microbiological analysis, no requirement for skilled personnel, and small sample needed. In this study, principles of LOC devices, integrated systems used with polymerase chain reaction (PCR), flow cytometry, biosensors and application of these systems in food microbiology are reviewed.

Keywords: Lab-on-a-chip, Food microbiology, Microfluidic systems, Rapid microbiological methods

GİRİŞ

Mikroakışkanlar dinamiği prensiplerinin kullanıldığı çip-üstü-laboratuvar (ÇÜL) teknolojisi, birçok alanda çoğu şeyin minyatürize edildiği günümüzde bilim insanlarına laboratuvarlarda geleneksel olarak yapılan birçok analizin mikro-ölçekte yapılmasına olanak sağlamaktadır [1]. İlk mikroakışkan teknolojisi, 1950 yılında mürekkep püskürtme sistemlerinin [günümüzde kullanılan mürekkep püskürtmeli yazıcıların (ink-jet printers) ilk geliştirilen tipleri] geliştirilmesi ile kullanılmıştır. İlk ÇÜL uygulaması ise 1979 yılında silikon esaslı yonga (çip) üzerinde mikro-kanallar kullanılarak üretilen gaz

kromatografisi cihazı olarak bilinmektedir [2, 3]. Birçok araştırmacı, 1990'ların başından beri geleneksel yöntemler ile laboratuvarlarda yapılan analizleri daha küçük hacimler ile daha hızlı yapabilecek sistemleri üzerinde çalışmaktadır. Mikro Bütüncül Analiz Sistemleri, bir başka deyişle ÇÜL adı verilen bu yeni teknoloji günümüzde kimya, biyoloji, tıp, gıda vb. birçok alanda araştırmaların konusu olmaktadır. Bu alanlarda araştırmalarda kullanılan ticari ürünler de bulunmaktadır. Ticari olarak pazarda bulunan ÇÜL tabanlı cihazlar Tablo 1'de verilmiştir [7]. ÇÜL teknolojisi gelişmekte olan bir sistem olduğundan henüz rutin analizlerde henüz kullanılmamaktadır [3, 4].

Tablo 1. Bazı ticari ÇÜL tabanlı cihazlar

Firma Adı	Ürün Adı	Kullanılan Teknoloji	Uygulama Alanı	Kaynak
GenMark Diagnostics Inc.	ePlex System	Elektroislatma (Elektrowetting; dijital mikroakışkanlar)	Kan, dışkı vb. örneklerde patojen tespiti	[32]
Caliper/Perkin Elmer	LabChip	Mikroçip elektroforez	DNA, RNA ve protein miktarı belirleme	[33]
Nugen	Mondrain SP	Dijital mikroakışkan	Sekanslama örneği hazırlama	[34]
Veredus Laboratory Pte.Ltd.	VereFoodborne	ÇÜL ve mPZR	Gıda kaynaklı patojenlerin tespiti, ayırt edilmesi ve tanımlanması	[35]
Agilent Technologies	Agilent 2100 Bioanalyzer	ÇÜL ve akış sitometrisi	DNA, RNA ve protein miktarı belirleme	[36]

Gıda, insanların varlığını sürdürülebilmesi için gerekli olan besin öğelerinin (proteinler, yağlar, karbonhidratlar, vitaminler, mineraller vb.) kaynağını oluşturan, tütün ve ilaç hariç yenilen ve içilen ham, yarı veya tam işlenmiş her türlü madde olarak tanımlanmaktadır. Gıdalar, mikroorganizmalarla kontamine olduğunda onların yaşam alanlarından insanlara transferinde bir araç olarak (vehicle) rol oynamaktadırlar. En bilinen patojenlerden olan *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*'in çok sayıda ve farklı gıda örneklerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu patojenler ile kontamine olan gıdalar tüketildiğinde tüketiciler için zaman zaman ölümcül sonuçlara neden olabilen gıda kaynaklı hastalıklar ortaya çıkabilmektedir [5]. Bu nedenle gıdalardaki mikroorganizmaların hızlı ve hassas bir şekilde tespit edilebilmesi gıda güvenliğinin sağlanması ve tüketici sağlığının korunması açısından önem taşımaktadır [6]. Hâlihazırda, geleneksel yollarla mikroorganizmaların saptanmasında kullanılan kültürel yöntemler zaman alıcı, uzman personele ihtiyaç duyulan ve görece fazla miktarda örnek ve sarf malzemesi kullanılmasını gerektiren yöntemlerdir. Diğer taraftan, immunolojik yöntemler, moleküler teknolojiler (nükleik asit amplifikasyonu, DNA analizi vb.), biyosensörler, akış sitometrisi, spektrofotometri vb. teknikler ÇÜL ile entegre edilerek kullanılmaktadır [7]. Bu yöntemler ise geleneksel yöntemlere göre daha hızlı, küçük ölçekte analiz yapabilen, daha az örnek ve sarf malzeme harcanan yöntemler olarak bilinmektedir. Buna ilaveten ÇÜL cihazları biyolojik tehlike riskini azaltmaktadır. Çünkü bu cihazlarda kullanılan çipler tek kullanımlık

olarak tasarlanmakta ve hücre içeren örnek kapalı bir sistemde analiz edilmektedir [8].

ÇÜL cihazları, gıda mikrobiyolojisinde mikroorganizmaların tanımlanmasında (Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), biyosensörler ile kombine edildiği ÇÜL tabanlı cihazlar ile) ve sayısının belirlenmesinde (akış sitometrisi, biyosensörler ile kombine edildiği ÇÜL tabanlı cihazlar ile) kullanılabilir. ÇÜL cihazları ile hem gıdalarda bozulmaya sebep olan mikroorganizmaların hem de gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmaların tanımlanması, tespiti ve sayımı gerçekleştirilebilmektedir [6, 9, 10].

ÇÜL cihazları ile yapılmış birçok çalışma literatürde yer almaktadır ancak gıda mikrobiyolojisi alanında yapılan ulusal bir yayının olmadığı ve bu konudaki uluslararası çalışmaların da göreceli olarak daha az olduğu görülmüştür. Yapılan bu derleme ile literatürdeki eksiklerin kapatılması amaçlanmış, derlemede ÇÜL cihazları, bu cihazlar ile birlikte kullanılan kombine yöntemler (PZR, biyosensörler ve akış sitometrisi) ve ÇÜL'ün gıda mikrobiyolojisindeki uygulamaları ele alınmıştır.

ÇİP-ÜSTÜ-LABORATUVAR (ÇÜL)

Çok düşük hacimlerde (nanolitreden pikolitreye kadar) akışkan ile tek bir mikroışlemci çip üzerinde minyatür olarak laboratuvar fonksiyonlarını birleştirebilen sistemler ÇÜL olarak adlandırılmaktadır [11]. ÇÜL teknolojisinin gelişmesi akışkanlar mekaniği, termodinamik, elektrostatik ve kimya gibi alanlardan malzeme bilimlerine kadar birçok disiplinin bir arada

çalışması ile gerçekleşmiştir [12]. ÇÜL cihazları son zamanlarda sağladığı avantajlardan dolayı araştırmacılar arasında oldukça popüler bir hale gelmiştir [7].

ÇÜL ile geleneksel yöntemler kıyaslandığında ÇÜL'ün birçok avantajı olduğu görülmektedir.

- ÇÜL cihazları düşük iç hacminden dolayı düşük akışkan hacminde çalışmaktadır. Bu nedenle daha az örnek ve pahalı ve/veya sağlığa zararlı olabilen reaktif kullanımı söz konusu olmaktadır [8].
- Bu cihazlarda akış hızı kontrollü olduğundan daha kısa difüzyon mesafesi ve daha kısa karıştırma zamanından dolayı daha etkin analiz yapılabilmektedir.
- Isıtıcı içeren ÇÜL sistemlerinde (PZR ile birlikte kullanıldığında vb.) kısa mesafeli alanlarda ısıtılacak madde miktarının az olmasından dolayı hızlı ısıtma ve dolayısıyla da daha kısa sürede analizin sonuçlanması sağlanmaktadır.
- Sistemde daha hızlı cevap alındığından daha iyi işlem kontrolü sağlanmaktadır.
- Bu cihazlarda yüksek analiz sayısına ulaşılabilmesi buna karşılık düşük fabrikasyon maliyetleri sistemin bir diğer avantajı olarak gösterilebilmektedir.
- ÇÜL cihazlarında kapalı sistemde ve küçük hacimlerde çalışıldığından tehlikeli hücre süspansiyonları veya kimyasallar ile çalışıldığında daha güvenli ve daha kolay kontrol altında tutulabilen bir analiz ortamı oluşturulabilmektedir [10].
- Daha fazla fonksiyonu bir arada içeren esnek tasarımlar yapılabilmektedir [12].

ÇÜL cihazlarının birçok avantajının yanı sıra bu cihazların bazı dezavantajları vardır ve bu sistemler ile çalışan araştırmacıların karşılaştıkları bazı zorluklar da söz konusu olmaktadır:

- ÇÜL cihazları ile gıda analizlerinin yapılmasındaki en büyük sorun gıda matrislerinin oldukça kompleks olmasıdır (Süt gibi polidispers ve kompleks yapıları gıdalar, katı gıdalar ile çalışılmaması veya homojenat hazırlama, DNA izolasyonu vb. bir ön işlem gerektirmesi vb.)
- Küçük partiküller, su veya hava kabarcıkları, yağ globülleri vb. ile çip kanalının kolaylıkla tıkanması bir diğer problemdir. Ayrıca kanal duvarlarında akış hızı sıfır olduğundan gıda örneğindeki yağ, protein vb. maddelerin birikmesi sonucu akışkan akışı kısıtlanmakta ve analizin gerçekleşmesi güçleşmekte bazen imkansız hale gelebilmektedir.
- Mutlaka bir örnek hazırlama aşaması gerektirmesi ve bu aşamaların her bir örnekte farklı (PZR için DNA izolasyonu, mikroorganizma sayımı için homojenat hazırlama vb.) olmasından dolayı cihazın tüm aşamaları kapsayacak şekilde dizayn ve entegrasyonun yapılmasının zorlaşması bir diğer sorun olarak sayılabilmektedir.
- Mikro-kanal içerisinde akan akışkanın karakteristiklerini anlayabilmek adına yüzey gerilimi, elektrostatik kuvvetler vb. parametrelerin mikro-boyutta daha iyi anlaşılabilmesi gerekmektedir. Çipin yapıldığı materyalin özellikleri bazı durumlarda ölçüm işlemini

kısıtlayabilmektedir. Böyle bir durumda materyal özelliklerine (yüzey gerilimi, hidrofobisite vb.) hakim olmak analizin ve ölçümün doğruluğu açısından büyük öneme sahiptir.

- Mikro-boyuttaki bir analizdeki en ufak bir kontaminasyon makro-boyut ile kıyaslandığında çok daha büyük hatalara yol açmaktadır ve sonucu tamamen değiştirebilmektedir.
- Ölçümün hassasiyeti ve ölçüm yöntemi kullanılan örnek ile uyum içinde olmalıdır [12].

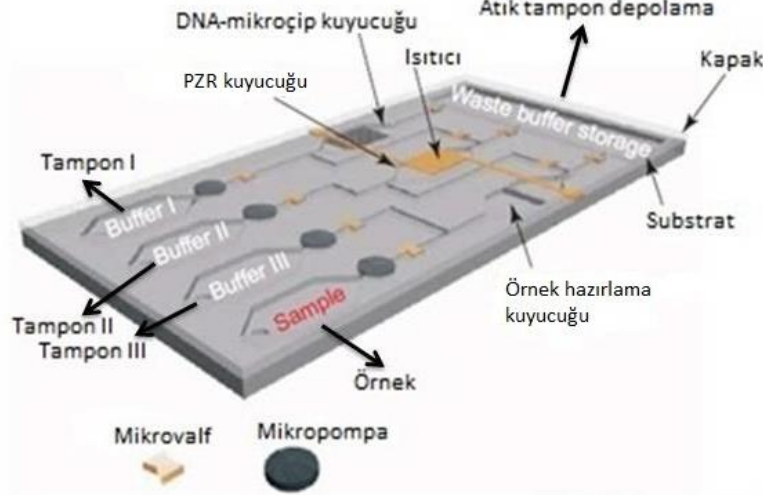
ÇÜL cihazlarında tipik olarak analiz örneğinin cihaza verildiği kuyucuklar, örneğin çip üzerinde taşınmasına imkan veren mikro-kanallar, kanallar içerisinde bir elektrik alana ihtiyaç duyulması durumunda elektrotlar ve tüm bu mimariyi üzerinde barındıran silikon, cam veya polimer substrat bulunmaktadır. Bu cihazlarda genellikle örneğin ve reaktiflerin depolandığı, taşındığı, fiziksel/ kimyasal reaksiyonların gerçekleştiği reaksiyon bölmesi ve sıvının depolandığı bölme ile mikro-kanal ağı oluşturulmaktadır. Cihazlara mikro-pompalar, mikro-valfler ve ısıtıcı cihazların da eklenmesi araştırmacılara daha çeşitli işlemlerin bir arada yapılabilmesine olanak sağlamaktadır [6]. Şekil 1'de bir ÇÜL cihazının varsayımsal bir gösterimi verilmiştir. Kuyucuklar, tampon çözeltileri ve numuneyi depolamak, atıkları toplamak, örnek hazırlamak veya PZR ve hedef DNA belirleme amaçları için tasarlanmıştır. Sıvı rezervuarları ve reaksiyon bölmeleri mikro-akışkan ağı oluşturmak için mikro-kanal ağı ile birbirine bağlanmıştır. Ayrıca mikro-pompalar, mikro-valfler ve ısıtma cihazları örnek ve/veya reaktif dağıtımı, karıştırma, inkübasyon, farklı fiziksel ve kimyasal reaksiyonlar için ayırma yapma amaçlarıyla da kullanılmaktadır [6].

Şekil 1'de görüldüğü gibi kabaca bir ÇÜL cihazı analiz örneğinin ve reaktiflerin depolandığı, çipe yüklendiği bir giriş kısmından, analizin gerçekleştiği reaksiyon bölmesinden (genellikle mikro-kanal) ve oluşan ürünün toplandığı ya da algılayıcı materyallerin olduğu, ölçüm işlemlerinin yapıldığı çıkış kısmından oluşmaktadır [6, 12].

Giriş kısmında, örnek ve reaktiflerin depolandığı kuyucuklar, mikro-kanalda akışın sağlanması için gerekli ekipmanlar (mikro-pompalar, mikro-valfler vb.) bulunmaktadır. Analiz genellikle mikro-kanal içerisinde gerçekleşmektedir. Bazı ÇÜL sistemlerinde analiz mikro boyutlardaki kuyucuklarda da gerçekleşebilmektedir. ÇÜL cihazlarının karakteristik kanal boyutu 10µm'den 200µm'ye kadar değişebilmektedir. Bazı çalışmalarda 1µm'ye kadar olan kanalların kullanıldığı belirlenmiştir. Burada kanal ölçülerindeki en önemli kısıt kullanılan üretim tekniğidir. Farklı çözünürlükte üretim için farklı yaklaşımlar mevcuttur [38, 39]. Mikro-kanallarda akış makro boyuttaki kanallardan biraz farklı olmaktadır. Mikro boyutta yüzey kuvvetleri hacim kuvvetlerinden baskın hale geçmektedir. Makro boyutta akış tipine etki eden en önemli güçlerden biri olan akışkan akışındaki yerçekimsel kuvvet genellikle ÇÜL cihazlarında göz ardı edilmektedir. Özellikle sıvı akışı içeren mikro-kanallarda akış genellikle laminar rejimdedir ve hatta Reynolds sayısının çok küçük olmasından dolayı akış Stokes akış rejiminde olmakta ve akışkan duvarların şeklini takip

etmektedir [39]. Mikro-kanallarda akış genellikle laminar rejimdedir ancak güçlü viskoz kuvvetler genellikle akışın laminar olmasını engellemektedir [12]. Reaksiyon/analiz bölmesinde işlem için gerekli ekipmanlar (ısıtıcı, soğutucu, mikro-karıştırıcılar, odaklama ve ayırma ekipmanları, eş zamanlı ölçüm için dedektörler vb.) bulunmaktadır. Çıkış kısmı ise analiz sonucu oluşan

ürünün toplandığı, ölçüm işlemlerinin yapıldığı bölümdür. Bu kısımda ayrıca atıkların toplandığı kuyucuklar da bulunmaktadır. Ölçüm için gerekli elemanlar, biyosensörler, optik algılayıcılar vb. bu kısımda olabildiği gibi mikro-kanalın olduğu reaksiyon bölgesinde de olabilmektedir [6, 12].



Şekil1. Bir ÇÜL cihazının varsayımsal gösterimi. Kapalı bir sistemdeki bu cihazda küçük kanallar, kuyular, elektrotlar ve filtreler bulunmaktadır (Liu ve Zhu [6] izni ile)

ÇÜL cihazları genel olarak eyleyici (aktüatörler, actuators) ve sensörlerden oluşmaktadır. Farklı fonksiyonlarından dolayı aktüatörler; mikro-valfler, mikro-pompalar, mikro-karıştırıcılar olarak sınıflandırılabilir. Sensörler ise genel olarak moleküler ve hücre sel dedektörler olarak kategorize edilmektedir. Mikro-valfler; mikro-akışkan sistemin amacına göre (ayırma, zamanlama vb.) akışı kontrol etmek için kullanılmaktadır. Temel olarak "aktif" ve "pasif" olmak üzere iki tip mikro-valf bulunmaktadır. Daha detaylı olarak sınıflandırılırsa farklı işletme kuvvetine göre mekanik, pnömatis, elektrokinetik, manyetik ve kapılar mikro-valfler bulunmaktadır. ÇÜL cihazlarındaki mikropompaların kritik fonksiyonları akışkanın taşınması ve akış hızının kontrol edilmesi olarak bilinmektedir. Aktarım biçimine göre mikropompalar, pistonlu pompalar ve sürekli akış pompaları olarak ikiye ayrılmaktadır. Maksimum akış hızı, üretilen maksimum kısmi basınç ve bütün paket boyutu mikropompa seçilirken dikkate alınması gereken faktörlerdendir [12].

Dedektörler, ÇÜL cihazlarında en önemli bileşenlerden olmaktadır. ÇÜL cihazına entegre edilebilmesi için kullanılacak olan dedektörün minyatürize edilmiş olması gerekmektedir. Mikro-akışkan platformlarda yaygın olarak kütle spektrometrisi, elektrokimyasal ve optik dedektörler kullanılmaktadır. Elektrokimyasal dedektörler potansiyometri, amperometri ve iletkenlik dedektörlerini kapsamaktayken, optik dedektörler ise floresan, kimyasal ışıldama (chemiluminescence) ve absorpsiyon dedektörleri içermektedir [12].

FARKLI YÖNTEMLER İLE ÇÜL'ÜN KOMBİNASYONLARI ve GIDA MİKROBİYOLOJİSİNDEKİ UYGULAMALARI

Mikroorganizma tespitinde kullanılan birçok ÇÜL cihazı örnek hazırlama (yoğunlaştırma, ekstraksiyon, saflaştırma) ile birlikte biyokimyasal reaksiyonların (immünojenik reaksiyonlar, enzimatik reaksiyonlar, DNA analizi vb.) gerçekleşmesi, tanımlama aşamalarını basitçe ve otomatik olarak ÇÜL ile birlikte diğer analiz yöntemlerinin de (PZR, akış sitometrisi, biyosensörler vb.) bir arada kullanılması sayesinde gerçekleştirilebilmektedir [6].

ÇÜL cihazları ile gıdalarda mikroorganizmaların saptanmasında (su ve viskoz olmayan akışkan örnekler hariç) gıda örneğinin doğrudan cihaza uygulanması mümkün olmamaktadır. Geleneksel yöntemde olduğu gibi örnek hazırlama (gıda homojenatı hazırlama, ön zenginleştirme, zenginleştirme, hedef analiti ayırma saflaştırma vb.) aşamasından sonra örnek cihaza yüklenmelidir [8]. Bu nedenle örnek hazırlama aşaması için gerekli ekipmanların ÇÜL cihazına entegre edilmiş olması gıda mikrobiyolojisi uygulamalarında oldukça önemli olmaktadır.

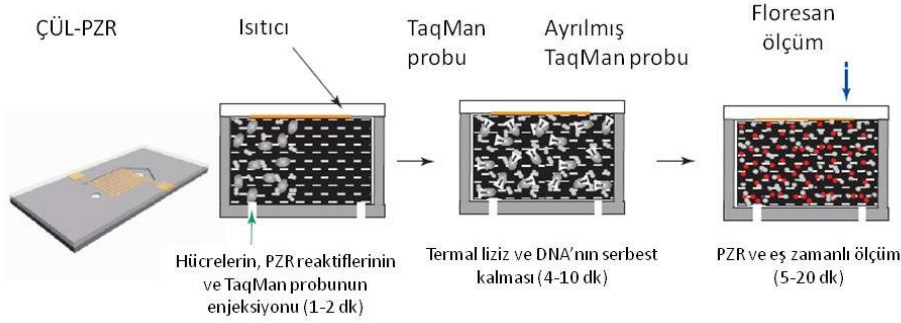
Hedef mikroorganizmalar (özellikle patojenler) bazen gıdalarda çok az miktarda bulunabilmektedir. Böyle durumlarda o mikroorganizmanın varlığını tespit etmek için büyük hacimde örnek kullanmak gerekmektedir. ÇÜL cihazlarında bu sorun yoğunlaştırma aşaması (membran filtrasyon, spesifik hücre yakalama vb.) ile çözülmeye çalışılmaktadır [6].

ÇÜL ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR ve ÇÜL'ün birlikte kullanıldığı mikroçiplerin hızlı ve hassas mikroorganizma tespiti yapabilen yöntemlerden olduğu bilinmektedir [6]. PZR, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'daki istenilen bölgenin çoğaltılmasını sağlayan *in vitro* DNA sentez yöntemi olarak tanımlanmaktadır. DNA sentezinin gerçekleştirilebilmesi için reaksiyonun gerçekleşeceği tüp içerisinde kalıp DNA, DNA polimeraz (Taq polimeraz) enzimi, ileri ve geri primerler, nükleotitler ve magnezyum içeren PZR tamponunun olması gerekmektedir [13]. PZR yönteminde ilk olarak çift zincirli DNA denatürasyon sıcaklığına (94-96°C/1-3 dakika) kadar ısıtılmakta ve zincirlerin birbirlerinden ayrılması sağlanmaktadır. Daha sonra tek zincir halindeki kalıp DNA'ya ileri ve geri primerlerin bağlanması için sıcaklık 50-65°C'ye yani primerlerin bağlanma sıcaklığına getirilmekte ve yaklaşık 30 saniye bu sıcaklıkta bekletilmektedir. Böylece primerler çoğaltılması istenilen bölgeye bağlanmış olmaktadır. PZR işleminin son basamağında sıcaklık 70-75°C'ye getirilmekte, bu sıcaklıkta 1-5 dakika

bekletilmekte ve DNA sentezinin gerçekleşmesi sağlanmaktadır. Bu üç basamak tamamlandığında bir PZR döngüsü tamamlanmış olmaktadır. Tüm PZR işlemi 20-40 döngü gerçekleştirildikten sonra tamamlanmış olmaktadır [5, 13, 14].

PZR ve ÇÜL'ün birlikte kullanıldığı mikroçipler farklı çalışma prensiplerine sahiptir. Bunlardan ilki Şekil 2'de gösterilmiştir. Çipe ilk olarak giriş kuyusundan örnek (DNA'sı çoğaltılmak istenen hücre), PZR reaktifleri ve TaqMan probu yüklenmektedir. İkinci adımda bir mikrosıtıcı yardımıyla hedef hücrenin termal lizizi gerçekleşmekte ve DNA hücre dışına salıverilmektedir. Son aşamada PZR işlemi gerçekleştirilmekte ve eş zamanlı olarak floresans ölçüm gerçekleştirilmektedir. Sistemde 10^2 - 10^4 hücre/mL düzeyinde tespit limitinde analiz gerçekleştirilmektedir. Bu prensip ile çalışan ÇÜL cihazı 7-16 dakika içerisinde 10^2 - 10^4 hücre/mL düzeyinde tespit yapılabilir ve tüm analizi tamamlayabilmektedir. Geleneksel yöntemler ile kıyaslandığında toplam analiz süresi bu ÇÜL cihazı ile 2-10 kat arasında azaltılmış olmaktadır [6].



Şekil 2. PZR ile birlikte kullanılan bir ÇÜL cihazı (Liu ve Zhu [6] izni ile)

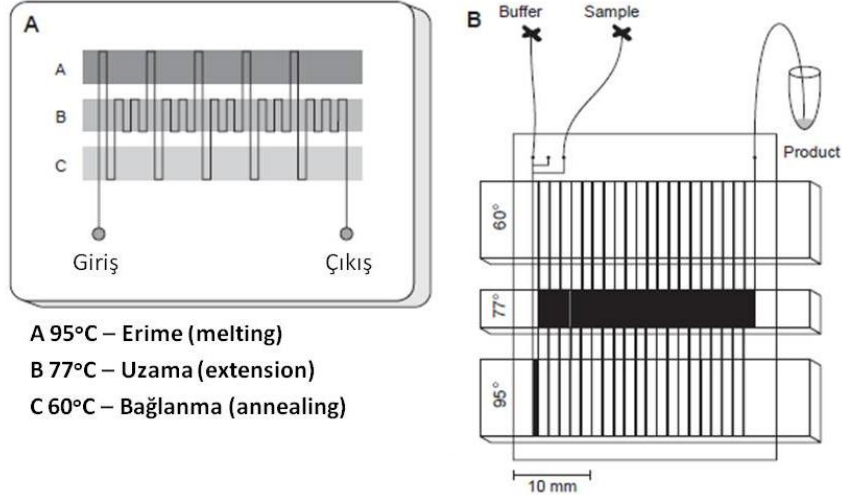
Yoon and Kim, PZR ile ÇÜL'ün birlikte kullanıldığı sistemleri üç kategoriye ayırmışlardır:

- Sabit hazne PZR (Stationary chamber PZR)
- Mikrokanal PZR
- Damlacık tabanlı PZR [5].

Sabit hazne PZR-ÇÜL cihazında (stationary chamber PCR-LOC) nano veya pikolitre düzeyinde hacme sahip hazne çip üzerine yerleştirilmiştir. Sistemde mikroorganizmanın (özellikle patojen mikroorganizmalar) ilk olarak tutulması, filtrasyon ve yoğunlaştırma, ikinci olarak hücre lizisi ve DNA/RNA izolasyonu ve son olarak çoğaltılan ürünlerin optik/elektrokimyasal tespiti gerçekleştirilmektedir [5]. Geleneksel PZR'da reaksiyon bir ependorf tüp içerisinde gerçekleşmektedir ve tüp istenilen sıcaklığa ısıtılıp soğutulmuş bir ısı döngüsü oluşturulmaktadır. Geleneksel yöntemde bu döngüsel sıcaklık değişiminin sağlanması iletim ile ısı transferi mekanizması ile gerçekleştirilmektedir. İletim ile ısı transferi mekanizmalarından (iletim, taşınım ve radyasyon ile ısı transferi) en yavaşı olarak bilinmektedir. Bu nedenle geleneksel PZR'daki döngülerden her biri birkaç dakika sürmektedir. Toplamda 20 ile 40 döngü arasında işlem tamamlandığından toplam analiz süresi yaklaşık 1 saat sürebilmektedir. Sabit hazne PZR-ÇÜL yönteminde

kuyu olabildiğince küçük tasarlanmaktadır ve böylece geleneksel PZR'da uzun süren ısıtma ve soğutma süresi azaltılabilmektedir. Bu tip ÇÜL-PZR cihazı Şekil 2'de gösterilen cihazla benzerlik göstermektedir.

Mikrokanal PZR sistemi sabit hazne PZR sistemine bir alternatif olarak görülebilmektedir. Bu sistemdeki prensip sıvının bir çip üzerinde PZR için gerekli olan üç sıcaklık (denatürasyon 94-96°C, bağlanma 50-65°C, uzama 70-75°C) alanı arasında sırasıyla akışını sağlamaktır. Böylece ısıtma ve soğutma için gerekli süre azaltılmış olmaktadır. Şekil 3'te bu sistemin şematik gösterimi verilmiştir. Cihazın Şekil 3B'de görüldüğü gibi üç adet giriş kuyucuğu bulunmaktadır. Bu kuyucuklardan yalnızca iki tanesi kullanılmaktadır. Kuyucuklardan birisinden örnek diğerinden ise tampon çözelti akışı sağlanmaktadır. Örnek kanal içerisine Şekil 3A'da görülen giriş kuyucuğundan hidrostatik mikropompa ile pompalanmaktadır. Akışkan sıcaklığı belirlenmiş olan üç farklı sıcaklık alanından geçmektedir. Çip 20 döngü ile PZR işleminin gerçekleşmesini sağlamaktadır [5, 15]. Elde edilen PZR ürünü çıkış kuyucuğundan toplanmakta ve poliakrilamid jelde etidyum bromür ile boyama yapılarak incelenmektedir. Ürünün floresan görüntülemesi de gerçekleştirilmektedir. Yapılan bir çalışmada bu yöntem ile 10 dakikadan az bir sürede PZR'ın tamamlanabileceği gösterilmiştir [15].



Şekil 3 Mikrokanal PZR-ÇÜL sistemi (Koop ve ark. [15] izni ile)

Damlacık tabanlı PZR sisteminde dijital mikroakışkan yöntemlerinden faydalanılarak örnek damlacığının düz bir yüzey üzerinde hareket ettirilmesi ve mikrokanal PZR'ye benzer bir sistem ile PZR'nin gerçekleştirilmesi sağlanmaktadır. Burada kullanılan dijital mikroakışkan yöntemleri, dielektrik üzerinde elektroslatma (electrowetting on dielectric; EWOD), yüzey akustik dalgası (surface acoustic wave; SAW), manyetoakışkanlar olarak sayılabilmektedir. EWOD yönteminde, dama tahtası şeklinde elektrotlar dielektrik bir yüzeye (ayrıca hidrofobik) yerleştirilmektedir. Damlacık bu elektrotlardan biri üzerine koyulmaktadır. Yakınlardaki elektrotlardan birine elektrik uygulandığında yüzey üzerinde biriken elektrik yükünden dolayı hidrofobik yüzey hidrofilik hale gelmektedir. Bu olay damlacığın elektrik uygulanan elektroda doğru hareket etmesine neden olmaktadır. SAW yönteminde, damlacık birbirine bağlanmış iki dönüştürücü (interdigitated transducers; IDTs) arasına yerleştirilmektedir. Bu dönüştürücülere alternatif akım uygulandığında akım malzemenin sıkışıp gevşemesine ve yüzeyde akustik dalga oluşmasına neden olmaktadır. Bu SAW, yüzeyde bir okyanus dalgası gibi yayılmakta ve damlacığın da yayılımı boyunca hareket etmesini sağlamaktadır. X ve Y yönlerinde dönüştürücülerin yerleştirilmesi ile damlacık iki boyutlu olarak hareket ettirilebilmektedir. Manyetoakışkanlarda ise manyetik parçacıklar ilave edilmiş damlacık hidrofobik bir yüzey (genellikle süper hidrofobik) üzerine bırakılmaktadır. Yüzeyin altındaki daimi bir mıknatısın hareketi damlacık içindeki manyetik parçacıklara etki etmektedir. Damlacık mıknatısın hareketi boyunca yer değiştirilmektedir. Her üç yöntemde de damlacık farklı şekillerde hareket ettirilerek üç farklı sıcaklık alanından geçmesi sağlanmaktadır ve PZR ısı döngüsü sağlanmaktadır. Damlacığın bu üç farklı sıcaklık bölgesinde 20-40 kez döngü yapması ile PZR işlemi çip üzerinde gerçekleştirilmektedir [15].

Li ve ark. [16], su kaynaklı rotavirüs tespitinde mikroakışkan eş zamanlı PZR yöntemi ile floresans mikroskopiyi kombine etmişlerdir. Bu entegre cihaz ile rotavirüs RNA'sı çoğaltılmış, 1 saatten az sürede ve 3.6×10^4 kopya/ μ L konsantrasyonda RNA tespit edilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada *L.monocytogenes*'in doğal olarak kontamine olmuş gıda örneklerindeki tespiti için mikroakışkan tabanlı kapiler elektroforez sistemi ile PZR kullanılmış ve geleneksel PZR ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada gıda örneklerine önce iki kez ön zenginleştirme uygulanmıştır. Daha sonra bu örneklerden DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA izolatu ÇÜL tabanlı cihaza yüklenerek analiz gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda mikroakışkan elektroforez ile PZR yönteminin ISO referans yöntemi ile %100, klasik yöntem ile %96 nispi doğruluk sağladığı bulunmuştur [17].

PZR ve ÇÜL'ün birlikte kullanıldığı bir çalışmada, gıdalarda hızlı, kolay ve eş zamanlı patojen tespiti için çoklu boncuk tabanlı mezoakış sistemi (multiplexed bead-based mesofluidic system) geliştirilmiştir. Sistemde spesifik oligonükleotit probu ile immobilize edilmiş boncuklar mikrokanallar içerisine yerleştirilmiştir. Patojen olarak *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter sakazakii*, *E.coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica* serovar Typhi; gıda olarak yumurta, domuz, tavuk ve yumuşakça eti, balık, dondurma ve süt tozu kullanılmıştır. Analiz edilen gıda örneklerinden önce homojenat hazırlanmış, ön zenginleştirme yapılmış daha sonra DNA izolasyonu yapılmış ve ÇÜL cihazına yüklenmiştir. Patojen mikroorganizmalardan elde edilen floresans etiketli PZR ürünleri mikrokanallar içerisine pompalanmıştır. Burada oligonükleotit immobilize edilmiş boncuklar ile hibridizasyon gerçekleştirilmiş ve elde edilen hibridizasyon sinyali (floresans sinyal) ölçülmüştür. Tespit işlemi 30 dakikadan az bir sürede, yüksek hassasiyet ve spesifiklikte gerçekleştirilmiştir. Bakteri türleri için tespit limitinin 5×10^2 ile 6×10^3 kob/mL arasında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, geliştirilen PZR-ÇÜL sisteminin farklı gıda örneklerinde çoklu patojen tespitinde etkili bir şekilde kullanılabileceği görülmüştür [18].

Yapılan bir çalışmada, *Salmonella* Enteritidis ile kontamine edilmiş domates örneklerinde *Salmonella* tespiti için döngü aracılı izotermal amplifikasyon (loop

mediated isothermal amplification, LAMP) entegre edilmiş disk şeklinde ÇÜL platformu kullanılmıştır. Çalışmada domates örneklerinden hazırlanan homojenizattan DNA izolasyonu yapılmış ve izolat ÇÜL cihazına yüklenmiştir. Çalışma için geliştirilen bu santrifugal ÇÜL cihazı ile sırasıyla patojen tespiti, reaktif hazırlama, LAMP ve belirleme (SYBR Green I boyası ile renk değişimi mekanizmasıyla) yapılmıştır. Cihazın tespit limitinin 5×10^3 ng/ μ L DNA konsantrasyonu olduğu bulunmuştur. Örnek hazırlama aşaması da dahil tüm analizin 70 dakika içerisinde ve tam otomatik olarak tamamlandığı belirtilmiştir [19].

ÇÜL ve Akış Sitometrisi

ÇÜL teknolojisinin en önemli uygulamalarından birisi hücre ve parçacıkların akış sitometrisi ile analizi olarak bilinmektedir. Akış sitometrisi hematoloji, immunoloji, genetik, gıda bilimleri, eczacılık, mikrobiyoloji, onkoloji ve birçok diğer alandaki geniş kullanımı ile güçlü ve popüler bir teknolojidir [20]. Akış sitometrisi; partiküllerin veya hücrelerin floresan işaretleyiciler ile işaretlendiği, sıvılardaki parçacık veya biyolojik parçacıkların (hücre vb.) sayım, sınıflandırma ve analizlerinin yapılabildiği bir yöntemdir [21]. Bu yöntemde, bir süspansiyon halindeki hücre ya da partiküller lazer ışığı ile aydınlatılmakta olan bir bölmeden geçirilmekte ve hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilmektedir. Oluşan sinyallerin kaynağı hücrenin büyüklük, şekil vb. fiziksel özellikleri olabileceği gibi hücreye bağlanan çeşitli fluorokromlar da olabilmektedir. Böylece hücre ya da partikülün immunofenotipi, DNA içeriği, enzim aktiviteleri, hücre membran potansiyeli, canlılığı gibi çeşitli özellikleri hakkında bilgi toplanabilmektedir [22].

Akış sitometrisi; akışkan örnekler için geleneksel yöntemlere alternatif etkili bir mikroorganizma tespit yöntemi olarak bilinmektedir [8]. Yöntemin mikrobiyoloji için en önemli özelliği; her bir bireysel hücre için veri toplanabilmesi olarak bilinmektedir. Böylece araştırmacı hücrelerin popülasyon içindeki dağılım özelliğini veya özelliklerini ölçebilmektedir [22]. Akış sitometrisi yönteminin avantajları, hızlı (saniyede binlerce hücre ile ilgili veri toplanabilmekte), hassas ve doğruluğunun yüksek olması, herhangi bir optik özelliğe veya bunların kombinasyonlarına bağlı olarak hücrelerin fiziksel olarak birbirlerinden ayrılabilmesine olanak sağlaması, tek hücre miktarını ölçebilmesi olarak sayılabilmektedir [22]. Ancak, akış sitometrisi çoğunlukla pahalı, yer kaplayan ve eğitilmiş personele ihtiyaç duyulan ve karmaşık bir yöntem olarak bilinmektedir [8]. ÇÜL ile akış sitometrisinin birlikte kullanıldığı sistemlerde daha yüksek hızda, daha ekonomik analiz yapılabilmektedir. Bu sistemlerde saniyede 25000'den fazla hücre sayılabildiği ve sistemin daha az yer kapladığı bildirilmiştir [9]. ÇÜL ile akış sitometrisinin birlikte kullanıldığı sistemler üç ana kısımdan oluşmaktadır. Bunlar; hücre taşınım ve odaklamasının yapıldığı kısım (mikro-pompalar yardımıyla), hücre tespitinin yapıldığı kısım (optik dedektörler ve floresans boyalar yardımıyla), hücre sınıflandırması ve sayımının yapıldığı kısım (spesifik hücre grubu sayımı ve diğerlerinden ayrılmasıyla) olarak sayılmaktadır.

Yapılan bir çalışmada; örnek hazırlama aşaması gerektirmeden, içilebilir sularda (toplam bakteri sayısı 10^4 ve 10^6 kob/mL olan) bakteri yoğunluğunu tespit edebilen akış sitometrisi ile birlikte kullanılan ÇÜL cihazının etkinliği geleneksel metotlar ile karşılaştırarak tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir [8].

Tablo 2. İçilebilir sulardaki toplam bakteri sayısının ÇÜL ile tespit edilmesi [8].

Yöntem Adı	Toplam Bakteri Sayısı (kob/mL)		
	Kaynak Suyu 1*	Kaynak Suyu 2**	Çeşme Suyu
Çip ile akış sitometrik sayım	$7.7 (\pm 0.48) \times 10^4$	$1.4 (\pm 0.15) \times 10^5$	$3.2 (\pm 0.28) \times 10^5$
Üstten ışıklı floresans mikroskop ile sayım	$7.8 (\pm 1.1) \times 10^4$	$1.9 (\pm 0.36) \times 10^5$	$3.7 (\pm 0.59) \times 10^5$
İki yöntemden elde edilen sonuçların birbirine yakınlığı (%)	99	75	87

*Kaynak Suyu 1: Şişelenmiş doğal kaynak suyu (iki farklı markanın), **Kaynak Suyu 2: Sıfırlanmış ev çeşme suyu

Yamaguchi ve ark. [23] ÇÜL-akış sitometrisi sistemi kullanılarak sütte *Pseudomonas* hücrelerinin sayımını yapmış ve elde edilen sonuçları geleneksel plak sayım yöntemiyle kıyaslamışlardır. Çalışmada, sütteki *Pseudomonas* hücreleri optimize edilmiş koşullar altında *Pseudomonas* spp.'ye özgü Cy-5 etiketli prop ile *in situ* olarak hibridize edilmiştir. Durağan fazdaki (starved state) *Pseudomonas* hücreleri sayısı hem geleneksel plak sayım yöntemiyle hem de ÇÜL-akış sitometrisi kombinasyonunu kullanan cihaz ile belirlenmiştir. 10 kob/mL'den az hedef hücre içeren kontamine süt örneğinde basit bir yöntem ile [12 saat hücre zenginleştirmesini takiben 0.5 saat süt temizleme (floresans boyaya veya proba spesifik olmayan bağlanmalar nedeniyle oluşan yanlış pozitif sonuçları ya da floresans boyama sırasında yanlış negatif sonuçlara neden olan etkileşimleri önlemek amacıyla uygulanan işlem), 1 saat fiksasyon, 2 saat hibridizasyon ve 0.5 saat çip üstü akış sitometrisi] ÇÜL-akış sitometrisi sistemiyle

hücre sayısı belirlenebilmiştir. Yapılan çalışma ile ÇÜL-akış sitometrisi sisteminin floresans *in situ* hibridizasyon ile sütteki bozulma yapan mikroorganizmaların basit bir yöntem ile tespit edilebileceği gösterilmiştir.

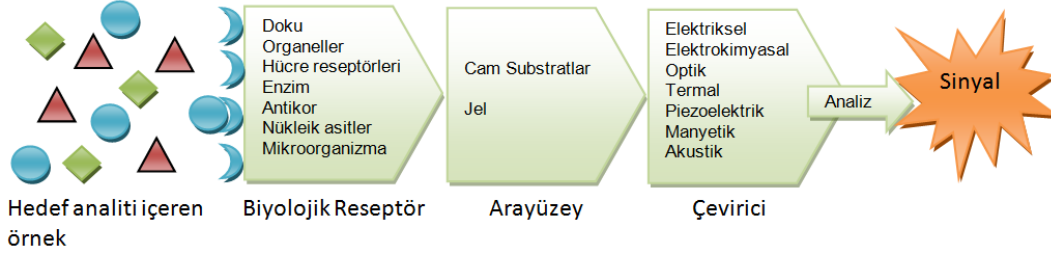
Yapılan bir çalışmada, manyetik işaretlenmiş hücrelerin akış halinde tespitini yapabilmek için manyetik alan direnç sensörüyle (magnetoresistive sensors) kombine edilmiş hücre sitometrisi tabanlı bir ÇÜL yapılmaya çalışılmıştır. Yapılan cihaz ucuz, taşınabilir ve mevcut akış sitometrisi uygulamalarına alternatif olarak tasarlanmıştır. Denemeler; çiğ süt, yağ uzaklaştırılmış süt ve PBS tamponunda *Streptococcus agalactiae* hücrelerinin spesifik tespiti için yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda çiğ süt içeriğinin (yağ globülleri, kazein vb.) manyetik nanopartiküllerin bakterilere bağlanmasını engelleyerek daha düşük genliğine neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca; kanal girişinde hücre kümelenmesinin olduğu bulunmuş, bunun nedeninin

güçlü manyetik değişim olduğu ve bunun farklı kanal tasarımıyla ya da homojen manyetik alan ile üstesinden gelinileceği düşünülmüştür [24].

ÇÜL ve Biyosensörler

Biyosensör; biyolojik duyarlı bir elementin (analiz edilecek madde ile seçici olarak etkileşime girebilen

biyoaktif bir bileşen) fiziksel ya da kimyasal dönüştürücü ile kombinasyonu yoluyla belirli bir çevrede spesifik bir bileşimin selektif ve kantitatif analizini yapmayı sağlayan cihazlar olarak tanımlanmaktadır [10]. Genel olarak bir biyosensörün temel bileşenleri Şekil 4'te gösterilmiştir [25].



Şekil 4. Biyosensörlerin temel bileşenleri [25].

Mikrobiyal tespit ve tanımlama amacıyla kullanılacak olan biyosensörlerde bulunması gereken bazı özellikler vardır:

- İlk olarak biyosensörden alınan verilerin doğruluğunun yüksek olması gerekmektedir.
- Patojen mikroorganizma tespitinde yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar ya çok az olmalı ya da hiç olmamalıdır. Özellikle dayanıksız gıdalar test edildiğinde biyosensörün gerçek zamanlı yanıt vermesi gerekmektedir.
- Gıda mikrobiyolojisinde yalancı negatif sonuç almak, analizin hassasiyetini azaltmaktadır ve tolere edilemez. Bu nedenle kullanılacak biyosensörün yüksek hassasiyetli olması gerekmektedir.
- Biyosensörün hedef mikroorganizma, toksin veya diğer mikroorganizmaları birbirlerinden kolaylıkla ayırt edebilecek spesifikliğe sahip olması gerekmektedir.
- Gerçekleştirilen her analiz tekrarlanabilir olmalı ve sensörün kolay kalibre edilebilir olması gerekmektedir.
- Sensör sıcaklık, pH, iyonik güç değişimine ve sterilizasyona dayanıklı olmalı, analizi tam otomatik gerçekleştirebilmelidir.
- Rutin analizlerde eğitilmiş personele minimum ihtiyaç gerektirmeli, kullanımı kolay olmalıdır.
- Son olarak da mevcut standart teknikler ve referans yöntemler ile geçerliliğinin onaylanmış olması gerekmektedir [25, 26].

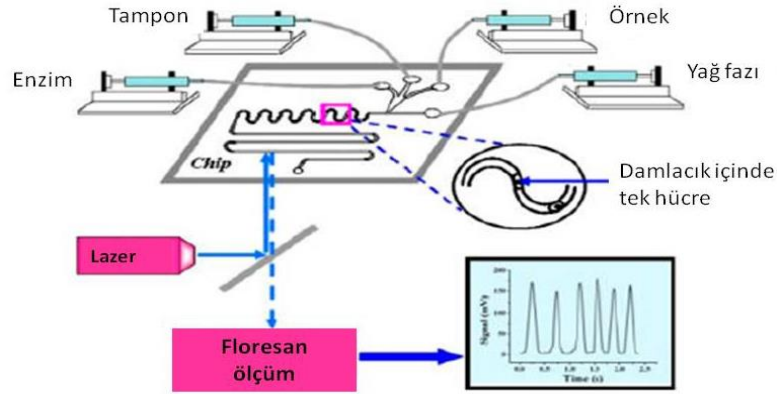
Biyosensörlerde kullanılan biyoalgılama materyallerinin (biyoreseptörler) mekanizmalarına göre biyosensörler dört gruba ayrılmaktadır. Bunlar; enzim sensörleri, immunoglobulin sensörleri, antijen sensörleri, mikrobiyal hücre sensörleri olarak sınıflandırılmaktadır [27]. Enzim sensörleri, enzim reaksiyonlarındaki uygun substratların değişimlerinin ölçülebilmesini sağlamaktadırlar. İmmunoglobulin sensörler, organizmaların, onların hedef antijenlerinin kullanılarak gıdalarda bulunup bulunmadığının tanımlanmasında kullanılmaktadır. Antijen sensörleri, genellikle antikorları tanımlamak için kullanılmaktadırlar. Mikrobiyal hücre sensörleri solunum aktivitesi ölçen sensörler ve metabolit ölçen sensörler olarak iki ana grupta incelenebilmektedir. Solunum

aktivitesini ölçen sensörlerde aerobik mikroorganizmalar kullanılmaktadır ve ortamdaki substrat miktarına bağlı olarak çözülmüş oksijen miktarındaki değişimi algılamaktadırlar. Metabolit ölçen biyosensörlerde ise hem aerobik hem de anaerobik mikroorganizmalar kullanılabilir. Bu tip mikrobiyal sensörler elektrokimyasal aktif metabolitlerin tayininde kullanılmaktadır [27].

ÇÜL teknolojisi ile biyosensörlerin bir arada kullanılması bazı avantajları da beraberinde getirmektedir. Biyoalgılama materyaline analit molekülün difüze olması için gerekli uzaklığın azaltılması, biyosensörün cevap zamanında azalmaya bu da difüzyon kısıtlı proseslerdeki koşulları önemli ölçüde iyileştirmektedir [28]. Şekil 5'te ÇÜL ve biyosensörlerin birlikte kullanıldıkları cihazlardan birinin şematik olarak gösterimi verilmiştir [31].

Şekil 5'te görüldüğü gibi analiz için gerekli olan örnek, tampon maddeler, biyolojik algılama materyali (enzim), yağ fazı vb. akışkanlar şırınga pompa yardımıyla çipe yüklenmektedir. Çipin kanalında oluşan reaksiyon sonucu elde edilen sinyalin algılanması için optik çevirici (lazer) kullanılmakta, sinyal floresan ölçüm ile analiz edilmektedir. Biyosensör ile ÇÜL'ün kombine edildiği sistemlerde kabaca işlem bu şekilde bir çip üzerinde gerçekleşmektedir.

Pöhlmann ve ark. [29] *Escherichia coli* ile kontamine edilmiş et suyu örneğinde elektrokimyasal biyosensör ile ÇÜL'ün birlikte kullanıldığı bir sistemde gıda kaynaklı bakteri tanımlamasında bu sistemin uygulanabilirliği incelemişlerdir. Sistemde amperometrik dedektör kullanılmıştır. *E. coli* için tespit limitinin 5.5×10^2 kob/mL olduğu bulunmuş ve sistemin gıdalardaki bakteri kontaminasyonunu gösterme kapasitesinin olduğu görülmüştür. Ayrıca bu sistemde haberci enzim kullanılarak iki Gram pozitif (*E. coli* ve *Hafnia alvei*) ve iki Gram negatif (*Listeria innocua* ve *Bacillus subtilis*) bakterinin ayrımının ve tespitinin bu sistem ile yapılabildiği gösterilmiştir.



Şekil 5. Tek canlı hücredeki membran proteininin hassas tespitinde biyolojik algılama materyali olarak aptamer (spesifik hedef moleküllerine bağlanabilen peptid molekülleri veya oligonükleik asitlerdir) ve enzimin kullanıldığı damlacık tabanlı bir ÇÜL-biyosensör sistemi [31].

Yapılan bir çalışmada, DNA sensörü ile ÇÜL'ün birlikte kullanıldığı ve gıdalarda *Campylobacter* spp.'nin tespitinde kullanılmak üzere amaçlanan bir sistem elde edilmeye çalışılmıştır. Sistemde siklo olefin polimer substrat üzerine yerleştirilmiş ince film altın elektrot tabanlı elektrokimyasal gene dayalı sensör (tanıma yüzeyi olarak nükleik asit içeren biyosensör) kullanılmıştır. Sistemde *Campylobacter* spp. PZR ürünlerinin konsantrasyonunun 1-25 nM aralığında doğrusal ilişki göstermekte olduğu ve 90 pM tespit limitinde çalışıldığı belirlenmiştir. Gerçek gıda ürünlerini temsil etmesi amacıyla çiğ kümes hayvanı eti ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda DNA sensör teknolojisinin ÇÜL sistemine entegre edilmesi ile gıdalarda *Campylobacter* spp.'nin elektrokimyasal tespitinin mümkün olduğu görülmüştür [30].

SONUÇ

Çalışmada, ÇÜL cihazlarının çalışma prensipleri, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), akış sitometrisi ve biyosensörler ile birlikte kullanıldığı entegre sistemler ve bu sistemlerin gıda mikrobiyolojisindeki uygulamaları anlatılmıştır. Buradaki amaç, ÇÜL cihazlarının gıda mikrobiyolojisine olan katkılarını anlatmak, gıda endüstrisi için hızlı mikrobiyolojik yöntemlerin önemini göstermek ve birçok uygulama alanı olan ÇÜL'ün kombine edildiği sistemler ile sağladığı avantajların arttığını ve gıda mikrobiyolojisine uygulanabilirliğini göstermektir. Yapılan bu çalışma ile ÇÜL ile entegre edilmiş sistemlerin (PZR, akış sitometrisi, biyosensörler vb.) ticari ürünlere dönüştürülmesinin ve gıdalarda mikroorganizma tespit ve sayımı için taşınabilir sistemler geliştirilmesinin önemi ortaya koyulmuştur.

İleride yapılacak çalışmalar ile çok daha hızlı sonuçların alınabileceği, kullanımı kolay, taşınabilir, yerinde analize imkan sağlayan, maliyeti düşük, az örnek ve sarf malzeme kullanımı gerektiren, diğer teknolojiler ile entegre edilmiş, yüksek hassasiyet ve doğrulukla sonuç alınabilen ÇÜL cihazlarının geliştirebileceği ve bu

sistemlerin gıdalarda mikroorganizma sayım ve tespitinde kullanılabileceği görülmüştür.

TEŞEKKÜR




Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen 114M597 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Projenin gerçekleştirilmesindeki desteğinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkürü bir borç biliriz.

KAYNAKLAR

- [1] Wen-Ming, L., Li, L., Li, R., Jian-Chun, W., Qin, T., Xue-Qin, W., Jin-Yi, W., 2012. Diversification of microfluidic chip for applications in cell based bioanalysis. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 40(1): 24-31.
- [2] Ürkmez, B., 2014a. Minyatür Laboratuvarlar-2. <http://www.acikbilim.com/2014/02/dosyalar/minyatür-laboratuvarlar-2.html>, Erişim Tarihi: 21.08.2016.
- [3] Erickson, D., Li, D., 2004. Integrated microfluidic devices. *Analytica Chimica Acta* 507: 11-26.
- [4] Ürkmez, B., 2014b. Minyatür Laboratuvarlar-1. <http://www.acikbilim.com/2014/01/dosyalar/minyatür-laboratuvarlar-1.html>, Erişim Tarihi: 23.08.2016.
- [5] Yoon, J., Kim, B., 2012. Lab-on-chip pathogen sensors for food safety. *Sensors* 12: 10713-10741.
- [6] Liu, W., Zhu, L., 2005. Environmental microbiology-on-a-chip and its feature impacts. *Trends in Biotechnology* 23(4): 174-179.
- [7] Mortari, A., Lorenzelli, L., 2014. Recent sensing technologies for pathogen detection in milk: a review. *Biosensors and Bioelectronics* 60: 8-21.
- [8] Sakamoto, C., Yamaguchi, N., Yamada, M., Nagase, H., Seki, M., Nasu, M., 2007. Rapid quantification of bacterial cells in potable water using a simplified microfluidic device. *Journal of Microbiological Methods* 68: 643-647.
- [9] Skurtys, O., Aguilera, J., M., 2008. Applications of microfluidic devices in food engineering. *Food Biophysics* 3: 1-15.
- [10] Timur, S., 2010. Protein Analitiği Bölüm: Protein Chip'leri, Editörler A., Telefoncu, A. Kılınç, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.

- [11] Anonymous, 2015. Lab-on-a-chip. <http://www.epa.gov/radiation/docs/cleanup/nanotechnology/chapter-3-lab-on-a-chip.pdf>, Erişim Tarihi: 21.05.2015.
- [12] Guo, L., Feng, J., Fang, Z., Xu, J. and Lu, X., 2015. Application of microfluidic "lab-on-a-chip" for the detection of mycotoxins in foods. *Trends in Food Science & Technology* 46: 252-263.
- [13] Anonymous, 2016a. Polymerase Chain Reaction (PCR). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>, Erişim Tarihi: 30.08.2016.
- [14] Anonymous, 2016b, Thermo scientific Standard PCR protocol reaction set up.
- [15] Koop, M.U., de Mello, A.J., Manz, A., 1998. Chemical amplification: Continuous-flow PCR on a chip. *Science* 280: 1046-1047.
- [16] Li, Y., Zhang, C., Xing, D., 2011. Integrated microfluidic reverse transcription-polymerase chain reaction for rapid detection of food or waterborn pathogenic rotavirus. *Analytical Biochemistry* 415: 87-96.
- [17] Delibato, E., Gattuso, A., Minucci, A., Auricchio, B., De Medici, D., Toti, L., Castagnola, M., Capoluongo, E., Gianfranceschi, M.V., 2009. PCR experion automated electrophoresis system to detect *Listeria monocytogenes* in foods. *Journal of Separation Science* 32: 3817-3821.
- [18] Jin, S., Yin, B., Ye, B., 2009. Multiplexed bead-based mesofluidic system for detection of foodborne pathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 75(21): 6647-6654.
- [19] Sayad, A.A., Ibrahim, F., Uddin, S.M., Pei, K.X., Mohktar, M.S., Madou, M., Thong, K.L., 2016. A microfluidic lab-on-a-disc integrated loop mediated isothermal amplification of foodborne pathogen detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* 227: 600-609.
- [20] Zourob, M., Elwary, S., Turner, A., 2008. Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems. Part IV Chapter 33: Microfabricated Flow Cytometers for Bacterial Detection. Edited by, S., Yang, G., Lee, Springer Science and Business Media, USA, 869-890p.
- [21] Kang, Y., Wu, X., Wang, Y., Li, D., 2008. On-chip fluorescence-activated particle counting and sorting system. *Analytica Chimica Acta* 626: 97-103.
- [22] Karaboz, İ, Kayar, E., Akar, S., 2008. Flow sitometri ve kullanım alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* 6(2): 1-18.
- [23] Yamaguchi, N., Ohba, H., Nasu, M., 2006. Simple detection of small amounts of *Pseudomonas* cells in milk by using a microfluidic device. *Letters in Applied Microbiology* 43: 631-636.
- [24] Fernandes, A.C., Duarte, C.M., Cardoso, F.A., Bexiga, R., Cardoso, S., Freitas, P.P., 2014. Lab-on-chip cytometry based on magnetoresistive sensors for bacteria detection in milk. *Sensors* 14: 15496-15524.
- [25] Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., 2010. Moleküler Biyoloji. Bölüm 16: Biyoteknoloji ve Biyoinformatik, Editörler B., Tanyolaç, H., B., Kaya, S., Soya, C. Akkale, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, Türkiye, 601s.
- [26] Leonard, P., Hearty, S., Brennan, J., Dunne, L., Quinn, J., Chakraborty, T., O'Kennedy, R., 2003. Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. *Enzyme and Microbial Technology* 32: 3-13.
- [27] Erkmen, O., 2011. Gıda Mikrobiyolojisi. 7. Kısım Bölüm 26: Hızlı Mikrobiyolojik Gıda Analiz Yöntemleri, Editörler: F., Y., Ekinci, A., Sofu, Efil Yayınevi, Ankara, Türkiye, 484 s.
- [28] Lafleur, J.P., Jönsson, A., Senkbeil, S., Kutter, J., P., 2016. Recent advances in lab-on-a-chip for biosensing applications. *Biosensors and Bioelectronics* 76: 213-233.
- [29] Pöhlmann, C., Wang, Y., Humenik, M., Heidenreich, B., Gareis, M., Sprinzl, M., 2009. Rapid, specific and sensitive electrochemical detection of foodborne bacteria. *Biosensors and Bioelectronics* 24: 2766-2771.
- [30] Carmen Morant-Miñana, M., Elizalde, J., 2015. Microscale electrodes integrated on COP for real sample *Campylobacter* spp. detection. *Biosensors and Bioelectronics* 70: 491-497.
- [31] Luka, G., Ahmadi, A., Najjaran, H., Alocilja, E., DeRosa, M., Wolthers, K., Malki, A., Aziz, H., Althani, A., Hoorfar, M., 2015. Microfluidics integrated biosensors: a leading technology towards lab-on-a-chip and sensing applications. *Sensors* 15: 30011-30031.
- [32] www.genmarkdx.com, Erişim Tarihi: 10.05.2017.
- [33] <http://www.perkinelmer.com/catalog/category/id/lab-chip%20systems>, Erişim Tarihi: 10.05.2017.
- [34] <http://www.nugeninc.com/nugen/index.cfm/product/s/msp/>, Erişim Tarihi: 10.05.2017.
- [35] www.vereduslabs.com, Erişim tarihi: 10.05.2017.
- [36] www.genomics.agilent.com, Erişim tarihi: 10.05.2017.
- [37] Streets, A.M., Huang, Y., 2013. Chip in a lab: Microfluidics for next generation life science research, *Biomicrofluidics* 7: (011302) 1-23.
- [38] Çetin, B., Özer, M.B., Solmaz, M.E., 2014. Microfluidic bio-particle manipulation for biotechnology, *Biochemical Engineering Journal* 92: 63-82.
- [39] Yeşil-Çeliktaş, Ö., Çetin, B., Yıldırım, E., 2016. Mikroakışkan Sistemlere Yönelik Gelecek Tahminleri. Mikroakışkan Teknolojilerin Temelleri ve Uygulamaları, Editör: Ö., Yeşil Çeliktaş, Ege Üniversitesi Yayınevi, Bornova, İzmir.



Gıda Sanayisinde Ultraviyole Işığın Yüzey Uygulamaları

Nurcan Koca , Turkuaz Ecem Saatli , Müge Urgu 

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

Geliş Tarihi (Received): 21.11.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 14.03.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): nurcan.koca@ege.edu.tr (N. Koca)

 0232 311 30 29  0232 342 75 92

ÖZ

Gıda sektöründe, ısıtma işlem uygulanamayan ya da ısıtma işlem uygulanmış ancak sonrasında bulaşma olmuş gıdaların yüzey dekontaminasyonu her zaman önemini korumuştur. Ultraviyole (UV) ışık; ısıtma işlem alternatifi olarak yüzeylerde rahatlıkla kullanılabilen umut verici mikrobiyal dekontaminasyon yöntemidir. Son yıllarda, düşük yatırım maliyeti, kolay uygulanabilmesi ve pozitif tüketici imajı gibi çeşitli avantajları sebebiyle UV ışın uygulaması gıda endüstrisinde gittikçe yaygınlaşmaktadır. Gıdaların ve gıdalla temas eden ekipmanların yüzey dezenfeksiyonu ile ambalaj dekontaminasyonu başta olmak üzere çeşitli yüzey uygulamalarında kullanılabilir. Bu amaçla, hedefe yönelik olarak kesikli ya da sürekli sistem çalışan UV kabinleri dizayn edilmektedir. Bu sistemlerin kullanımında, yüzey dezenfeksiyonunu etkileyen faktörlerin bilinmesi ve mikrobiyal inaktivasyon yanısıra kalite değişimlerinin de göz önünde bulundurulması oldukça önemlidir. Bu derlemede, UV ışık uygulamasının inaktivasyon mekanizması ve kullanılan ışık kaynakları hakkında genel bilgiler verilmekle birlikte, UV ışığın gıda ve gıda ile temas eden ekipman yüzeyleri ile ambalajların yüzey uygulamalarında kullanım olanakları ve etkileri ile ilgili detaylı bilgi verilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, UV ışığın yüzey uygulamalarındaki avantajları, uygulamanın etkinliğini sınırlandıran faktörler ile yasal düzenlemeler de ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ultraviyole ışık, Yüzey uygulama, Gıda, Isıtma olmayan işlem

Surface Applications of Ultraviolet Light in Food Industry

ABSTRACT

In food industry, surface decontamination of foods that cannot be heat treated or contaminated after heat treatment is of great importance. Ultraviolet (UV) light is a promising technology for microbial decontamination and can be used as an alternative to heat treatments for surfaces. In recent years, UV light application has become widespread because of its low maintenance cost, easy to use and positive consumer image. It can be used for surface decontamination of foods, equipments in contact with foods and packaging materials. For this purpose, batch or continuous UV disinfection units can be designed for specific uses. Factors influencing surface disinfection and microbial inactivation and, quality changes with the use of UV light systems need to be considered. In this study, potential applications of UV light on food surfaces, equipments in contact with foods and packaging materials besides inactivation mechanisms and light sources are reviewed. Advantages of this technology, factors influencing the efficacy of UV light and legal aspects are also presented.

Keywords: Ultraviolet light, Surface application, Food, Non-thermal process

GİRİŞ

Günümüzde tüketicilerde artan bilinçle birlikte, mikrobiyolojik açıdan güvenilir gıdaları tercih etmeleri, "güvenli gıda" kavramının önemini daha da arttırmıştır. Gıda güvenliğini sağlamak amacıyla yaygın olarak gıdalara ısıtma işlemi uygulanmaktadır. Ancak, her gıda ısıtma işlemi uygulamasına uygun değildir. Ayrıca, gıdaların üretiminde ısıtma işlemi uygulansa dahi, açıkta gerçekleştirilen ve uzun süren üretim aşamalarında özellikle yüzey bulaşmaları önemli bir sorundur. Gıdalarda mikrobiyal gelişim ve kimyasal değişimler öncelikle gıda yüzeyinde oluşur. Mikroorganizmaların başlıca gıda yüzeyinde bulunması yanı sıra, enzimatik aktiviteler, oksidasyon ve dehidrasyon gibi reaksiyonlar çoğunlukla gıda yüzeyinden başlar ve gıdada renk,

doku, lezzet ve besinsel değişimlere neden olur. Gıda yüzeyine gerek mikrobiyolojik ve kimyasal kontaminantların bulaşmasını önlemek gerekse yok etmek gıda sektöründe her zaman önemini korumuştur. Bu nedenle, Tablo 1'de [1] görüleceği gibi gıda yüzeyindeki mikroorganizmaları kontrol altına almak ya da yok etmek amacıyla farklı etki mekanizmalarına sahip birçok yüzey uygulaması kullanılmaktadır. Son yıllarda, gıda endüstrisinde geleneksel işleme tekniklerine kıyasla genellikle daha düşük sıcaklıklarda yürütülen ısıtma olmayan teknolojilerin uygulaması önem kazanmıştır. Bu uygulamalardan ultraviyole (UV) ışık, gıda yüzeylerindeki mikroorganizmaların kimyasal madde kullanılmadan veya ısıtma işlemi uygulanmadan kısa sürede inaktive edilmesi için potansiyel bir yöntemdir.

Tablo 1. Başlıca gıda yüzey uygulamaları ve etki mekanizmaları [1]

Yüzey İşlemi	Etki Mekanizması
Yıkama, hava üfleme	Yüzeyden kontaminantların uzaklaştırılması
Ambalajlama, yenilebilir filmler	Ortamdan gıda yüzeyinin izolasyonu
Modifiye atmosferde ambalajlama ve aktif ambalajlama	Gıda yüzeyi ile temasta olan atmosferin redoks potansiyeli ve bileşiminin modifikasyonu
Haşlama ve pişirme	Gıda yüzeyinin nem, yapı ve kimyasal kompozisyonunun modifikasyonu
Kürleme, biyokoruma	Gıda yüzey mikroflorasının modifikasyonu
Bazı maddelere veya antimikrobiyal içeren çözeltilere daldırma veya batırma	Gıda yüzeyinin kompozisyonunun modifikasyonu
Ağartma, yüzey pastörizasyonu ve infrared ısıtma	Selüler biopolimer modifikasyonu
H ₂ O ₂ veya klorür içeren sulu çözeltilerle yıkama, ileri oksidasyon prosesleri, UV ışık, vurgulu UV ışık	Gıda yüzeyinin redoks potansiyelinin modifikasyonu

UV ışık güneşten gelen elektromanyetik radyasyon enerjisinin bir türüdür. Işık yelpazesinde görünür ışıktan kısa, X ışınından uzun dalga boyuna sahiptir. Dalga boyuna göre; uzak-UV (10-200 nm) ve yakın-UV (200-400 nm) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yakın-UV ise; UV-A (uzun UV, siyah ışık; 315-400 nm), UV-B (orta UV, 280-315 nm), UV-C (kısa UV, germisidal UV; 200-280 nm) olarak sınıflandırılmaktadır [2]. UV-C ışık, kısa dalga boyu ve yüksek enerjisi nedeniyle bakteri, virüs, protozoa, maya, küf gibi mikroorganizmalara karşı germisidal (öldürücü) etkiye sahiptir. Mikroorganizmaların spor formlarında ise, vejetatif formlara göre daha yüksek dozlarda UV ışık uygulamasıyla germisidal etki sağlanabilmektedir. UV-C ışığının en yüksek germisidal etkisi 250-260 nm arasında görülmekte ve özellikle 253.7 nm dalga boyunun DNA tarafından etkin şekilde absorbe edilen dalga boyu olduğu bilinmektedir [3]. UV-C ışık, mikroorganizmaların DNA'sı tarafından absorbe edilmekte ve bunun sonucunda aynı DNA zinciri üzerinde komşu pirimidin nükleotid bazlarının (timin ve sitozin) arasında kimyasal kovalent bağlar oluşturarak pirimidin dimerleri meydana getirmektedir. Böylece DNA transkripsiyonu ve replikasyonu engellenerek hücre fonksiyonları tehlikeye girmekte ve hücre ölümü gerçekleşmektedir [4-6].

UV-C ışık, gıdaların muhafazası amacıyla ilk olarak 1930'lu yıllarda ışınlatma yöntemi olarak kullanılmaya başlamıştır [4]. Gün geçtikçe kullanımı artan UV ışık uygulaması, gıda endüstrisi açısından birçok olumlu

özellığe sahiptir. Gıda endüstrisinde kimyasalların kullanımına alternatif olarak gösterilebilen UV ışık kullanımı kimyasal kalıntı bırakmamaktadır. UV ışınlatma yöntemi geleneksel yöntemlere göre daha düşük sıcaklık derecelerinde uygulandığı için gıdada oluşabilecek kalite kayıpları, yüksek derecedeki sıcaklıklardan kaynaklanan duyu kusurlar ve besin değerindeki kayıplar en alt seviyelere inmektedir. Birçok avantajına rağmen düşük penetrasyon gücü, gıda endüstrisinde bazı ürünlerde kullanım alanını kısıtlamaktadır. Ancak, yüzey uygulamalarında, özellikle gıdanın şekillenmesi sonrasında oluşan yüzey mikrobiyal bulaşmalarının yok edilmesinde, ambalaj ve ekipman dezenfeksiyonunda başarılı bir şekilde kullanılabilir. Dolayısıyla, hem işletmede hijyen gereklilikleri için hem de gıda yüzeylerindeki mikroorganizmaların kimyasal madde kullanılmadan veya ısıtma işlemi uygulanmadan kısa sürede inaktive edilmesi için potansiyel bir yöntem olarak yüzey uygulamaları arasında yerini almıştır.

UV-C IŞIK UYGULAMASININ İNKTİVASYON MEKANİZMASI

Mikroorganizmalar üzerindeki inaktive etki; ultraviyole ışığın aynı DNA sarmalında bitişik timin ve sitozin pirimidinleri arasında kovalent bağlar oluşturarak pirimidin dimerleri oluşturması temeline dayanmaktadır. Bu durum sonucu dimerler mikroorganizmaları mutasyona uğratıp, çoğalmasını engelleyerek inaktive

etmektedir [2]. Bu durum, klonojenik ölüm olarak adlandırılan nükleik asitlerin transkripsiyonu ve replikasyonunun engellenmesine yol açmaktadır [5, 6]. Ancak, mikroorganizmaların tamir mekanizmaları sayesinde DNA hasarını onarabilirler. DNA onarımlarında yüksek UV ışık dozlarına maruz kalan DNA'nın hasar durumunun çok olmasından dolayı onarımın mümkün olmadığı görülmüştür [7]. Doğal ortamda güneşten gelen ultraviyole ışık varlığı nedeniyle, bakterilerde ve diğer mikroorganizmalarda doğal savunma mekanizmaları gelişmiş durumdadır. Böylece UV-C ile inaktive edilmiş mikroorganizmalar, fotoreaktivasyon ile hasarı tersine çevirebildikleri için mikroorganizmaların aktiviteye tekrar kavuşması mümkün olabilmektedir [8, 9]. Bazı mikroorganizmalarda ise ışığa gereksinim duymayan karanlık onarım mekanizması denilen bir onarım sistemi bulunmaktadır. Sistem, timin dimerleri taşıyan kısa DNA zincirlerinin kesilip atılması prensibiyle çalışmaktadır ve bu süreç kısa sürede gerçekleşirse onarım etkin olabilmektedir [7].

Fotoreaktivasyon ve karanlık onarım mekanizmalarının etkinlikleri, mikroorganizmaların ve hasara sebep olan UV ışık dozlarının farklılıklarına göre değişmektedir. Bu anlamda çalışmaların çoğu, *Escherichia coli* suşları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, fotoreaktivasyonun, karanlık onarımına göre daha fazla rol oynadığı vurgulanmıştır. Ayrıca, kullanılan lamba türü de onarımda rol oynamaktadır. Nitekim orta basınçlı (MP) cıvalı UV ışık lambalarının kullanımının, düşük basınçlı (LP) cıvalı UV ışık lambalarının kullanıma kıyasla karanlık onarımında daha önemli rol oynadığı belirtilmiştir [10]. Bu nedenle, mikroorganizmaların fotoreaktivasyonu ve karanlık onarımı, özellikle en çok kullanılan iki UV ışık lambası olan LP ve MP cıvalı UV ışık lambaları için incelenmesi gereken bir konu haline gelmiştir.

UV YÜZEY UYGULAMALARININ MİKROBİYAL İNAKTİVASYON VERİMLİLİĞİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Yüzey uygulamalarının etkinliği birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Başlıca faktörler aşağıda özetlenmiştir:

- UV ışık kaynağı ve uygulama dozu
- Yüzeydeki mikrobiyal çeşitlilik ve sayı, hedef mikroorganizmanın UV ışığa hassasiyeti
- UV uygulanacak yüzeyin fiziksel özellikleri (kirlilik, pürüzlülük, renk, opaklık vb.)
- Gıdanın bileşimi (yağ vb.)
- Ambalaj materyalinin UV ışık geçirgenliği (ambalajlı gıda uygulamalarında)

UV-C ışınımına dayalı bir dezenfeksiyon yönteminin etkinliğinde en önemli faktör kullanılan dozdur. Doz; UV ışığın şiddeti ve ışınlama süresinin çarpımı ile hesaplanır (1).

$$\text{UV doz (J/m}^2\text{)} = \text{UV şiddeti (W/m}^2\text{)} \times \text{Etki süresi (s)} \quad (1)$$

Kısa sürelerde yüksek şiddet veya uzun sürelerde düşük şiddet uygulaması pratik olarak uygulanabilmektedir ve tam olarak aynı olmasa da benzer inaktivasyon etkilerine sahiptir. Ultraviyole ışığın şiddetini ölçmek için genellikle radyometre, fotometre veya spektrometre kullanılmaktadır. Ayrıca, UV ışık kaynağı olarak kullanılan lambanın türü, konumu, sayısı ve elde edilen enerji mikrobiyal inaktivasyon açısından önemlidir.

Hedef mikroorganizmanın UV ışığa duyarlılığı UV ışık dozunun seçiminde önemli bir parametredir. Mikroorganizmaların hücre yapıları, morfolojik, fizyolojik özellikleri, v.b. UV ışığa karşı hassasiyetlerini belirlemektedir. Birbirleriyle kıyaslandıklarında daha basit yapıdaki mikroorganizmaların UV ışık tarafından daha kolay bir şekilde inaktive edildiği bilinmektedir. Bu nedenle, genel olarak sporlu mikroorganizmalar ve gram pozitif bakteriler UV ışığa gram negatiflerden daha dirençlidir. Maya ve küfler ise genetik malzemelerinde daha az pirimidin bazının bulunması ve hücre zarlarının farklı yapıda olması gibi nedenlerden dolayı bakterilere göre UV ışığa daha dirençli olmaktadır. En yüksek dirençliliğe sahip mikroorganizmalar ise virüslerdir [2]. UV-C ışığın mikroorganizmalar üzerindeki etkisi türden türe farklılık gösterebilir ve aynı türler arasında bile, suşa, büyüme ortamına, kültür evresine, mikroorganizmaların yoğunluğuna, diğer karakteristik özelliklere, gıdanın türüne ve bileşimine bağlı olarak farklı etkiler oluşabilmektedir [11]. Bu etkiler çerçevesinde, çeşitli mikroorganizmaların inaktivasyonu için farklı UV dozları gerekmektedir. Algler, vejetatif bakteriler, sporlu bakteriler, küfler, virüsler ve mayalar gibi bazı mikroorganizma gruplarına dair UV-C ışığa karşı en dirençli ve en zayıf mikroorganizma türlerinin minimal inhibisyon dozları Tablo 2'de [12] gösterilmektedir. Belirtilen UV dozları uygulandığında hedef mikroorganizmanın tamamını inhibe etmek mümkün olmaktadır. UV-C ile mikrobiyal indirgeme oranı, uzun süre düşük şiddet veya kısa süre yüksek şiddet uygulandığında elde edilebilmektedir [13, 14]. Suşlar dahil olmak üzere çok çeşitli organizmalara bağlı olarak, dezenfeksiyon için gereken doz seviyeleri her bir gıda ürünü için gereken nihai etkiye göre değişebilmektedir [12]. Mikroorganizmanın duyarlılığının yanı sıra bulaşma seviyesi de inaktivasyon derecesini etkilemektedir. Ayrıca, UV ışık uygulanacak gıda örneğinin işlem sırasında direkt olarak UV lamba altına konumlandırılması veya lamba ile yüzey arasındaki mesafe olması ya da direkt gelmesi mikroorganizmaların inhibisyon oranını etkilemektedir.

UV ışık uygulamasının etkinliğini hedef mikroorganizmanın özelliğinin yanı sıra uygulanan yüzeye ilişkin özellikler de etkilemektedir. UV ışık uygulanacak yüzeye ilişkin renk, kirlilik, pürüzlülük gibi faktörler UV ışığın etkinliği değiştirmektedir. Pürüzsüz yüzeylere yapılan uygulamanın, pürüzlü yüzeylere yapılan uygulamaya kıyasla daha etkili olduğu bilinmektedir. Çünkü pürüzlülük ve kirlilik gölge etkisi yaratarak UV ışığın mikroorganizmaya doğrudan erişimini engellemektedir [15]. Bu nedenle gıda yüzeyine uygulanacak UV ışık uygulamalarında, önce katı gıda maddelerinin yıkama vb. gibi yöntemlerle, sıvı gıda

maddelerinin ise çeşitli filtreler kullanılarak kirliliklerinden olabildiğince arındırılması önemlidir. Yüzeyle ilişkin bir diğer faktör ise renktir. UV uygulanacak yüzeyin renginin koyu veya açık olmasına göre ışığın absorblanma miktarı etkilenmektedir. Koyu renkli gıdalarda ışığın absorpsiyonunun yüksek olması, mikrobiyal inaktivasyon için gereken enerjinin azalmasına sebep olmaktadır [1].

Hedef gıdanın bileşimi UV ışığının gıdaya nüfuz edebilmesi ve mikrobiyal inaktivasyon etkinliğini yüksek seviyede gösterebilmesi için önemlidir. Çözünmüş

katılar, asılı kalan parçacıklar, organik çözenler, makromoleküller özellikle proteinler ve yağ globülleri, gıdadaki mikroorganizmalara gölge etkisi yaratarak ışığın nüfuz etmesini ve dolayısıyla etkinliğini sınırlamaktadırlar [1, 12, 16]. UV ışınlanmanın en büyük avantajı, gıda bileşenlerinde meydana getirdiği değişikliklerin az olmasıdır. Fakat yine de gıdaların duyuşsal özelliklerini ve bazı bileşenlerin işlevsel özelliklerini değiştiren bazı sonuçlar meydana gelmektedir. Işığın yaratabileceği bu değişiklikler de artan ışın dozu ile birlikte artabilmektedir.

Tablo 2. Bazı mikroorganizma gruplarına ait farklı türlerin inhibisyonu için gereken düşük ve yüksek UV ışık dozları (254 nm) [12]

Mikroorganizma grubu	Tür	Düşük doz (J/m ²)	Tür	Yüksek doz (J/m ²)
Algler	<i>Chlorella vulgaris</i>	220	Mavi yeşil algler	4200
Vejetatif bakteriler	<i>Bacillus megatherium</i>	25	<i>Sarcina lutea</i>	264
Sporlu bakteriler	<i>Bacillus subtilis</i>	220	<i>Bacillus anthracis</i>	462
Küfler	<i>Oospora lactis</i>	110	<i>Aspergillus niger</i>	3300
Virüsler	Adenovirüs tip 3	45	Tütün mozaik virüsü	4400
Mayalar	Bira mayası	66	<i>Saccharomyces sp.</i>	176

Ambalajlama öncesinde kutular, şişeler, kartonlar, kapaklar, folyolar ve filmler gibi ambalajlama malzemelerinin yüzeylerine uygun UV ışık dozları uygulanarak mikroorganizmalar azaltılabilmekte veya yok edilebilmektedir. Paketli gıdaların yüzeylerine UV ışık uygulanmasında ise, ambalaj malzemesinin ışık geçirim miktarı inaktivasyon için kritik bir faktördür. Gıda endüstrisinde ambalaj malzemesi olarak, polietilen tereftalat (PET), polivinilklorür (PVC), polipropilen (PP) ve polietilen (PE) gibi plastik malzemeler

kullanılmaktadır. Bu materyallerin kolay bulunabilme, düşük maliyet, şeffaflık, termal yapışkanlık ve oksijen, karbondioksit, anhidrit ve aromatik bileşiklere karşı iyi bir bariyer olmaları gibi birçok avantajları vardır [17]. Farklı yapılar, kalınlıklar ve ambalaj materyallerinin çeşitli özellikleri nedeniyle, ambalaj materyallerinin UV ışık geçirgenlikleri farklıdır (Tablo 3) [1]. Bu ambalaj materyallerindeki geçirgenlik farklılıkları paketlenmiş gıdaya UV ışık ile muamele edildiğinde, bu geçirgenlik daha da önem kazanmaktadır.

Tablo 3. Bazı plastik ambalaj malzemelerinin UV-C ışık geçirgenliği [1]

Plastik materyal	Kalınlık (µm)	UV-C ışık geçirgenliği (%)
OPP/PE	60	0
PET/PE	52	0
Polyester	26	0
OPP/PP	35	0
PP/PP	50	64
BG	25	67
PA/PE	40	80
OPP	40	83

OPP: Oriente Poli Propilen, PE: Poli Etilen, PET: Poli Etilen Tereftalat, CPP: Cast Poli Propilen, PP: Poli Propilen, BG: Bone Guard Bags, PA: Poliamid

UV IŞIK KAYNAKLARI VE YÜZEY UYGULAMA EKİPMANLARI

UV ışığının doğal kaynağı güneş olmakla birlikte yapay olarak da oluşturulması mümkündür. Ticari anlamda, ultraviyole ışınlar UV lambalar tarafından üretilmektedir. Gıda endüstrisinde UV ışık kaynağı olarak genellikle düşük basınçlı (LP), düşük basınçlı-yüksek çıkışlı (LPHO) ve orta basınçlı (MP) lambalar kullanılmaktadır. Lambalar, çeşitli özelliklerine göre gruplandırılmaktadırlar ve çalışmalarını sırasında içlerinde bulunan cıvanın oluşturduğu buhar basıncına göre isimlendirilmektedirler [2]. Ayrıca, vurgulu ışık (flash/pulsed lamps), eksimer, mikrodalga tahrikli (microwave driven lamps) ve LED (light emitting diodes) gibi lambalar da UV ışık uygulamalarında kullanılan

diğer lamba çeşitlerindedir [11]. Düşük basınçlı cıvalı lambalar germisidal dalga boyu olan 254 nm dalga boyunda UV-C ışık yaymakta olup, gıdaların UV ışık uygulamalarında kullanılmaktadır [6, 18]. Orta basınçlı cıvalı lambalar ise belli spektral alanda farklı dalga boylarında ışık yaydıkları için polikromatik özellik gösterirler. Bu lambalar 200-300 nm dalga boyları aralığında etkinlik göstermektedirler [5]. Vurgulu ışık (Pulsed UV) teknolojisinde kullanılan lambalar, xenon lambalar olarak adlandırılırlar. Bu lambalar 180-1100 nm aralığında geniş bir spektruma sahiptirler. Mikroorganizmayı yüksek enerji atımlarına maruz bırakıp ısınıp parçalanmasına sebep olarak inaktivasyonu sağlarlar [7]. Eksimer lambalarda ise; He, Ne, Ar, Kr, Xe gibi çeşitli gazlar kullanılarak istenilen dalga boyunda ışık yayılımı sağlamak mümkündür.

Eksimer lambalarla çok düşük yüzey sıcaklıklarında bile çalışabilmektedir, bu sayede sıvı gıdalarda tortu oluşumu problemi önlenmektedir [18]. Gıda işletmelerinde ortama civa yayımı nedeniyle civa içermeyen lambaların geliştirilmesi ve validasyonu çalışmaları hız kazanmıştır.

UV ışık uygulamaları, katılar veya sıvılar için farklı ekipman kullanımıyla gerçekleştirilmektedir. Sıvı gıdalar için, akışkan tiplerine göre tasarlanan reaktörler kullanılırken; katı gıdalar için UV kabin tasarımları mevcuttur. İstenilen etkinliği elde etmek için uygun sayıda, uygun konumda lamba kullanımı ve uygun ebatta UV cihazı tasarlanarak absorbe edilecek enerjiyi maksimum seviyeye yükseltmek önemlidir.

Reaktörler; sıvı gıdalara UV ışık uygulamaları için kullanılan cihazlardır. Reaktör içerisinde UV lambalar bulunur ve her bir UV lamba, sıvı ile doğrudan temasın önlenmesi için koruyucu bir kuvars tüp içerisine konumlandırılır. UV reaktörden akan sıvı, lambalardan çıkan UV ışınına maruz bırakılır. Böylece sıvıdaki mikroorganizmalar etkisiz hale getirilir. UV reaktörlerin seçiminde, hedef sıvının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile reaktörden geçen sıvı miktarı en önemli parametrelerdir. Bu bağlamda, uygulanacak UV dozu, sıvının ve hedef mikroorganizmanın özelliklerine göre belirlenmelidir. Buna ek olarak, dezenfeksiyon verimliliğini artırmak için, sıvıdaki tortu ve bulanıklık gibi parametreler hassas filtreler ile alınmalıdır. UV reaktördeki sıvı akış modeli, ışınlanmış alanın bazı bölgelerinde mikroorganizmaların konum ve kalış sürelerindeki farklılıklardan dolayı toplam UV dozunda da önemli etkiye sahiptir [11]. Mikroorganizmaların inaktivasyonu, sürekli akış UV reaktörlerinde türbülanslı akış kullanarak artmaktadır [19, 20].

Yüzey uygulamalarında, daha çok uygulanacak yüzey sayısına bağlı olarak UV kabin dizaynı yapılmakta ve farklı uygulama yöntemleri kullanılmaktadır [1]. Katı gıdanın sadece tek bir yüzeyini UV ışığa maruz bırakmak için, gıda bir desteğe yerleştirilmektedir. Üst ve alt yüzeye aynı anda uygulama yapılması için, gıda bir film üzerine konulmakta veya uygulama sırasında ters çevrilmektedir. Gıdanın yan yüzeylerini ışığa maruz bırakmak için ise, kabinin yan yüzeylerine de lambalar yerleştirilmelidir. Gıdanın tüm yüzeyleri aynı anda UV ışığa maruz bırakılacaksa, üst, yan ve alt yüzeye lambaları yerleştirmek ve gıdayı bir film üzerine koymak gerekir. Örneğin; set tip yoğurt için sadece üst yüzeyi UV ışığa maruz bırakmak yeterlidir, ancak birçok peynir çeşidi ve meyveler için tüm yüzeyler UV ışığa maruz bırakılmalıdır. Bu durumda uygulama şekli ve parametreleri hedef gıdaya göre değişiklik göstermektedir.

Katı gıdalara UV ışık uygulamaları sabit bir kabin içinde uygulanabildiği gibi, bu işlemi sürekli bir sistemle de gerçekleştirmek mümkündür. Bu tip hareketli uygulamalarda UV işlemine tabi tutulacak materyal konveyör yardımıyla ilerletilir ve tünel içerisindeki UV lambalardan yayılan enerjiye maruz kalarak işlem gerçekleştirilir. Tünel genişliği, yüksekliği, konveyör hızı, kullanılacak lamba sayısı ve yerleşimi hedef materyale

göre şekillenmektedir. Sanayide bu tarz uygulamaların kullanımı oldukça pratiktir. Özellikle, paketlemenin hemen öncesine böyle bir sistemin yerleştirilmesi ve uygulama sonrasında bulaşma olmaksızın paketlemenin gerçekleştirilmesi birçok yüzey bozulmasına çözüm getirebilecektir.

GIDA SANAYİNDE UV-C IŞIK UYGULAMA ALANLARI

UV-C ışığın gıda endüstrisinde uygulama alanları oldukça çeşitlidir. Bu uygulamalar; üretim alanlarında havanın mikrobiyal inaktivasyonunun sağlanmasından, işletmede kullanılan suyun dezenfeksiyonu, sıvı gıdaların mikrobiyal inaktivasyonu, paketleme malzemelerinin ve gıdaların yüzey uygulamalarına kadar geniş yelpazede yer almaktadır. Gıda sanayinde uygulama alanları; hava, sıvı ve yüzey uygulamaları olarak ele alınmış ve hava ve sıvı uygulamaları konusunda çok kısa bilgi verildikten sonra yüzey uygulamaları detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

UV-C ışık uygulamaları ile üretim alanında havada bulunan mikroorganizmaların inhibisyonu sağlanmaktadır. Bu işlemin etkinliği odanın hacmine ve UV lambanın gücüne bağlı olarak değişmektedir. Uygulamaya dair en eski örnek, 1930'lu yıllardan beri Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hastanelerde hava kaynaklı hastalıkların önlenmesi için 254 nm dalga boyunda ve 0.25 W/m² dozunda UV ışık üreten lambaların kullanılmasıdır [3]. İşyerlerinde UV ışığın kullanılması, canlı kalan tüm mikroorganizmaların öldürülmesiyle havanın sterilizasyonunun sağlanması için önerilen bir metottur [21]. Örneğin; soğuk hava depoları içerisindeki havanın mikrobiyolojik kalitesi bir hava sterilizasyon ünitesi kullanılarak iyileştirilebilmektedir. Ayrıca, aynı teknik yumurta kuluçka kabinlerinde de verimli olmaktadır [22]. Bu amaçla, UV ışık kaynağı olarak genellikle düşük basınç civa buharlı lambalar kullanılmaktadır.

Sıvılar üzerindeki UV-C ışık uygulamaları genel olarak; işletme alanı ve gıdaların yıkanmasında kullanılan suyun dezenfeksiyonunun sağlanması ve sıvı gıdalar üzerinde UV-C ışık uygulamalarıdır. UV-C işlemi, sudaki çok çeşitli mikroorganizmaları yok etmek için en basit ve çevre dostu yöntemlerden biridir. Kanalizasyon atığı, içme suları, yüzme havuzu sularının dezenfeksiyonu gibi kullanım alanları da mevcuttur ve suyun organik içeriğinin düşük seviyelere indirilmesinde UV ışık ve ozon kombinasyonu güçlü bir oksitleyici etkiye sahiptir [23]. Suyun dezenfeksiyonunda; suyun kimyasal ve mikrobiyolojik özelliği, ışık geçirgenliği, UV ışık temas süresi, kullanılan suyun debisi gibi parametreler önemlidir. Ultraviyole ışık ile dezenfeksiyonun tam olarak gerçekleşebilmesi için su içerisinde bulunan tortu, bulanıklık gibi parametrelerin hassas filtreler ile sudan uzaklaştırılmış olması gerekmektedir.

UV-C ışığın sıvılar ya da sıvı gıdalar üzerindeki penetrasyon etkisi; sıvının ışığı absorbe edebilmesine, sıvıdaki çözünür katı madde miktarına ve sıvıdaki süspanse madde miktarına bağlıdır. Çözünbilir katı madde miktarı arttıkça sıvı içerisindeki UV-C ışığın

penetrasyon şiddeti azalmaktadır [24]. Su ile karşılaştırıldığında, sıvı gıdaların çeşitli optik ve fiziksel özellikleri ve farklı kimyasal kompozisyonları UV-C ışığın geçirgenliğini, doz aktarımını sonuç olarak mikrobiyal inaktivasyonu etkilemektedir. Özellikle taze meyve suları ve gazlı içecekler gibi sıvı gıdaların yapısında bulunan renk bileşenleri ve çözünmüş maddelerin varlığı UV-C ışığın madde içine geçişini engellemekte ve uygulamanın etkinliğini azaltmaktadır. Bu durum da mikrobiyal inaktivasyonun azalmasına sebep olabilmektedir. Buna rağmen, UV-C ışık; renk, lezzet, koku veya pH'da önemli bir değişikliğe neden olmadığından dolayı, yapılan çalışmalar UV ışınlama teknolojisinin çeşitli sıvı gıdaların (meyve suları, içecekler, süt, sıvı yumurta, şeker şurupları gibi) pastörizasyonunda geçerli bir yöntem olduğunu göstermektedir [11].

UV-C ışık sıvıların derinliklerine kadar penetre olamadığı için, daha çok gıdaların yüzeylerinde etkilidir [15]. Ayrıca, sistemin sürekli hale getirilebilmesi ve üretim hatlarına monte edilebilmesi de UV-C'nin yüzey uygulamalarında kullanımı için oldukça avantajlı bir durumdur. Bu nedenle, gıda sanayinde UV-C ışık yüzey uygulamaları gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır.

UV-C Işığın Yüzey Uygulamaları

Gıdaların yüzeyine mikroorganizmalar, üretim sırasında ortam havasından, üretim alanından, kullanılan ekipman ve ambalajdan ve personelden kolaylıkla bulaşabilmektedir. Öncelikle üretim sırasında gıdaların yüzeyine bulaşmanın önlenmesi üzerinde durulması ve yine de bulaşma söz konusu ise gıdanın kalite özelliklerini olumsuz etkilemeyen ve sağlık açısından da risk teşkil etmeyen yöntemler kullanılması gereklidir. Genel olarak, gıda sanayinde gıdalla temas eden yüzeyler, gıda ambalajları ve katı gıda yüzeyleri UV-C ışık işleminin başlıca yüzey uygulama alanlarıdır. UV ışık, hava ve sıvı uygulamalarında birçok yapı tarafından güçlü bir şekilde emildiği halde katı nesnelere yani yüzey uygulamalarında uygulanan tabakanın ötesine ya geçmemekte ya da çok az nüfuz edebilmektedir. Dolayısıyla, yüzey sterilizasyonu için daha sıkça kullanılmaktadır [14].

Gıdalla Temas Eden Yüzeylerin Dezenfeksiyonu

Taşıyıcı bantlarda, ekipmanlarda, saklama ve hazırlık alanlarında mikrobiyal inaktivasyonu sağlamak için, UV-C ışık ile dezenfeksiyon sistemleri kullanılmaktadır. Bu uygulamanın başarısı, materyal yüzeyinin temiz olmasına yani UV ışığı absorbe edip bakterileri koruyacak bir kirliliğin olmamasına bağlıdır. Yüzey dezenfeksiyonunda UV ışık etkisinin belirlenmesine dair bir çalışmada; paslanmaz çelik yüzey üzerine *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, ve *Escherichia coli* O157:H7 hücreleri aşılınıp 250 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ve 500 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ UV ışık uygulanmıştır. Paslanmaz çelik yüzey üzerinde, *L. monocytogenes* ve *Salmonella* Typhimurium UV ışığa daha dirençli iken *E. coli* O157:H7, 3 dakika boyunca 500 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ doz UV ışığa maruz bırakıldığında tamamen inaktive (6.19 log

azalma) edilebilmiştir [25]. Sommers ve ark. [31] tarafından yapılan paslanmaz çelik yüzeylere UV-C ışık uygulamasında ise yüzeylere, 10^6 kob/mL *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* mikroorganizmaları inoküle edilmiş ve 0.40 J/cm^2 doz UV-C ışık uygulamasıyla yüzeylerde mikrobiyal yükün sıfırlandığı sonuçlara ulaşılmıştır.

Gıda Ambalajlarının Dezenfeksiyonu

Gıda endüstrisinde ambalaj dezenfeksiyonunda UV-C ışığın kullanımı yaygınlaşmaktadır. Gıda ambalajlarına yapılan UV-C ışık uygulamalarında gıdalar, ambalajlı olarak UV-C ışığa maruz kalabilmelerinin yanı sıra yalnızca ambalaj materyali de dolundan ya da kapak kapatmadan önce UV-C işleminden geçirilebilmektedir. Örneğin; aseptik olarak doldurulan UHT süt ürünlerinin üretimi sırasında HDPE (Yüksek Yoğunluklu Polietilen) şişelere, kartonlara veya alüminyum folyo kapaklara uygulanabilmektedir [3]. Bir çalışmada, aseptik şekilde yoğurt dolumu işlemi sırasında, tüm ambalaj materyallerine, plastik kaplara ve alüminyum folyo kapaklara 100-200 mW/cm^2 dozunda UV ışık uygulaması yapılmış ve bu kaplarla paketlenmiş meyveli yoğurdun raf ömrünün 2 hafta kadar uzatılabildiği belirtilmiştir [26].

Paketlenmiş gıda UV ışık ile muamele edildiğinde, ambalajın UV-C ışık geçirgenliği gıda yüzeyinde mikrobiyal inaktivasyon etkinliği için en kritik parametredir. Geçirgenlik düzeyinin artmasına bağlı olarak gıda yüzeyinde inhibisyon etkinliği artacaktır. Ha ve ark. [17] tarafından yapılan çalışmada, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş ve farklı filmlerle (PET, PVC, PP ve PE) paketlenmiş dilim peynirlerde UV-C ışığın inaktivasyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada değerlendirilen her üç mikroorganizma için de geçerli olacak şekilde, PET ve PVC ile kıyaslandığında, PP ve PE filmlerin kullanımının patojen mikroorganizma sayısını önemli ölçüde düşürdüğü tespit edilmiştir. Çalışmada süt endüstrisinde patojen kontrolü amacıyla UV-C uygulamasıyla birlikte PP veya PE film ile paketlemenin kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Gıdalarda UV-C Işık Yüzey Uygulamaları

Gıda yüzeyi mikroorganizma bulaşması için ilk lokasyondur. Enzimatik aktiviteler, oksidasyon ve dehidrasyon gibi değişiklikler genellikle gıda yüzeyinden başlamakta ve gıdaların kalitesinde istenmeyen durumlara neden olmaktadır. Gıda yüzeyindeki mikroorganizmaları yok etmek ya da kontrol altına almak amacıyla birçok yöntem vardır. Bu yöntemlerden biri olan UV-C ışığın gıda yüzeylerinde kullanımı hızla yaygınlaşmaktadır. Son yıllarda taze (sebze, meyve, et vb.), dondurulmuş (sebze, meyve, et, deniz ürünleri, fırıncılık ürünleri vb.), pişirilmiş ve soğukta saklanan (süt ürünleri gibi) gıdaların yüzey uygulamalarında kullanılabilmesi için UV üniteleri geliştirilmektedir. Gıdalarda UV ışık yüzey uygulama çalışmaları incelendiğinde, yaygın olarak meyve ve sebze yüzeyleri üzerinde yapılan çalışmalarla karşılaşılmaktadır. Daha az sayıda olmakla birlikte, farklı ürün gruplarında

çalışmalar yapılmaktadır. Çalışmalar genellikle mikrobiyal flora üzerinde yoğunlaşmaktadır. Ancak, UV yüzey uygulamalarının gıda kalitesi (oksidasyon, vitamin kayıpları, enzim aktiviteleri, raf ömrü, duyu özellikler) üzerine etkilerini ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur.

Gıdalarda UV-C Işık Yüzey Uygulamasının Mikrobiyal İnaktivasyon Üzerine Etkileri

Ultraviyole ışığın mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkinliği; kullanılan ultraviyole lambanın dalga boyu ve şiddeti, hedef mikroorganizmanın özellikleri ve içinde bulunduğu gelişim evresi ve gıda materyalinin özelliklerine bağlı olarak değişim göstermektedir [2]. Bu nedenle, her gıda için hedef mikroorganizmalara yönelik olarak çalışmaların yapılması oldukça önemlidir. Tablo 4'te UV-C ışık ile mikrobiyal inaktivasyon uygulamalarında farklı gıda türleri ve farklı mikroorganizmalar ile yapılmış bazı çalışmalarda elde edilen mikrobiyal inaktivasyon sonuçları verilmiştir.

UV ışık yüzey uygulamaları çoğunlukla yüzey bozulmanın yaygın olduğu et ürünleri ve meyve-sebzeler üzerine yapılmıştır. Daha az sayıda olmak üzere süt ürünlerinde (peynir ve yoğurt) çalışmalar mevcuttur. Et ürünlerinde yapılan yüzey UV çalışmaları daha çok patojenlerin inaktivasyonu üzerine yoğunlaşmıştır [25, 27-29]. Meyve-sebze yüzey UV uygulamalarında ise patojenlerin yanısıra küf inaktivasyonu üzerine de çalışılmıştır [30-32]. Örneğin; domates üzerine yapılan UV-C ışık yüzey uygulamasında çürümeye sebep olan mikroorganizmaların UV-C ışık müdahalesi sonucu çürüme oluşumunu ne oranda etkileyebilecekleri araştırılmıştır. Çalışmada domates yüzeylerine 1.3 – 40 kJ/m² aralığındaki dozlarda UV-C ışık uygulanmış ve siyah küf (*Alternaria alternata*), gri küf (*Botrytis cinerea*) ve *Rhizopus stolonifer* mikroorganizmalarının sebep olacağı çürüme oranlarının sırasıyla %14, 44 ve 58 oranlarına düşürülmeleri sağlanmıştır [33].

Süt ürünlerinde ise sınırlı sayıda yapılan çalışmada küf inaktivasyonu üzerine çalışılmıştır. Özellikle peynirde üretim sonrası havadan küf bulaşması önemli bir sorundur. UV ışık uygulamanın kalite üzerinde olası olumsuz etkileri göz ardı edilmeksizin, belirlenen uygun dozlarda peynirde küf inaktivasyonunun gerçekleştirilebileceği ve ambalajlama makinesinin önüne kurulan bir UV ışık ünitesinin bu sorunun çözümüne önemli bir katkı sağlayacağı uygulanmıştır [34]. Ayrıca peynirde plastik ambalaj uygulamasının yaygın olması dolayısıyla UV ışık geçirgenliği olan ambalaj materyallerinin kullanımı ile ambalajlama sonrasında UV ışık uygulaması da küf sorununun çözümü anlamında ümit vaat etmektedir. Nitekim, Can ve ark. [35] tarafından ambalajlanmış ve ambalajlanmamış sert peynirlere inoküle edilen *P. roqueforti* ve *L. monocytogenes* mikroorganizmalarının inaktivasyonu için pulsed UV ışığının etkinliği araştırılmıştır. Ambalajlanmış ve ambalajlanmamış peynirler UV ışık kaynağına 5, 8 ve 13 cm mesafelerde 60 saniyeye kadar işleme tabi tutulmuştur. *P. roqueforti* için, 5 cm'de 40 saniyeden sonra maksimum azalma ambalajlanmamış peynirde 1.32 log ve ambalajlanmış

peynirde 1.24 log olarak belirlenmiştir. Aynı koşullar altında, *L. monocytogenes* sayısında azalma paketlenmiş ve paketlenmemiş peynirlerde yaklaşık 2.9 ve 2.8 log olmuştur. Genel olarak, bu sonuçlar darbeli UV ışığın sert peynirlerin yüzeyinde *P. roqueforti* ve *L. monocytogenes*'i inaktive edebileceğini göstermiştir. Ayrıca, laboratuvarımızda yapmakta olduğumuz çalışmada, doğal olarak kontamine edilmiş kaymaklı ve kaymaksız yoğurtta kesikli UV sterilizatörü kullanılarak UV ışığın küf inaktivasyonu ele alınmıştır. Bu amaçla, kaymaklı ve kaymaksız yoğurt yüzeylerine 0.321-19.26 kJ/m² dozlarında UV ışık uygulanmış ve 1-3 log arasında inaktivasyon sağlanmıştır.

UV IŞIK YÜZEY UYGULAMASININ GIDALARIN KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

İçerdiği bileşenlerin çeşitliliği açısından gıda yapısının karmaşıklığına bağlı olarak, UV ışık gıdanın özelliklerini etkileyebilmektedir. Her ne kadar UV ışınlamanın en büyük avantajının gıda kalitesinde yarattığı olumsuz etkilerin diğer yöntemlere göre daha az olduğu dillendirilse de, artan UV ışık dozu ile birlikte bu değişimler de artmaktadır. UV ışık uygulamasında amaç mikroorganizmaların inaktivasyonudur. Ancak, uygulamada ürün kalitesini korumak da önemlidir. Bu nedenle çalışmalar hem mikrobiyal inaktivasyon hem de kalite değişimlerini dikkate alacak şekilde planlanmalıdır. Aynı zamanda, aynı ürün grubunda yer alan farklı gıdalar için farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu çerçevede yapılan çalışmalar ışığında öneriler getirilmelidir.

UV ışık uygulaması, gıdalarda daha çok yağ ve protein oksidasyonu ile yüksek moleküllü karbonhidratların küçük birimler haline gelmesi ile gıdalarda değişimlere neden olabilmektedir. UV ışınlama yağların oksidasyon sürecini başlatır ve bu da istenmeyen lezzet oluşumuna neden olur. Doymamış yağlar doymuş yağlardan daha kolay oksitlenirler, ancak UV ışık işlemi vakum altında veya azot atmosferinde gerçekleştirilirse oksidasyon yavaşlatılabilmektedir [45]. Yağlı sıvı gıdalarda UV doz artışı ile birlikte oksidasyon değerlerinin de arttığı bildirilmiştir [46, 47]. Ancak, yüzey uygulamalarında yağ oksidasyonuna yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Park ve Ha [27] tarafından taze tavuk göğsü örneklerinin yüzeylerine çeşitli dozlarda (60–3600 mWs/cm²) 260 nm dalga boyunda UV-C ışık uygulanmıştır. TBARs değerlerinin uygulanan UV-C dozu arttıkça kademeli olarak arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, en düşük dozda (60 mWs/cm²) UV-C ile radyasyona maruz bırakılan ve UV-C ışık uygulanmayan tavuk göğsü örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı fark ($P>0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Spesifik olarak, 2400 ve 3600 mWs/cm² dozlarında UV-C ışık uygulanmış tavuk göğsü örneklerinin TBARs değerlerinin kontrol grubuna kıyasla 1.63 ve 2.44 kat arttığı görülmüştür. Benzer şekilde, kırmızı et yüzeyine 0.21, 0.63, 1.05, 1.68 J/cm² dozlarında 1, 3, 5 ve 8 dakika sürelerinde UV-C ışık uygulanmış ve 1 ve 3 dakikalık uygulamalarda kontrol örneklerine göre yağ oksidasyonu açısından önemli bir değişiklik bulunmazken, uygulama dozunun artırılmasıyla oksidasyon ürünlerinde kayda değer bir

artış elde edilmiştir. Bu nedenle 5 dakikalık ve özellikle 8 dakikalık uygulamaların oksidasyon açısından olumsuz sonuçlar doğuracağı söylenmiştir [48]. Kaşar peynirinde yapılan bir çalışmada ise 0.321, 0.963, 1.926 ve 9.630

kJ/m² dozlarında UV-C ışık uygulamasının TBARs değerlerini artırdığı ve dozun artmasıyla birlikte oksidasyon düzeyinin arttığı görülmüştür.

Tablo 4. UV-C ışığın mikrobiyal inaktivasyona etkisine dair bazı çalışmalar

Et Ürünleri	UV uygulaması (doz)	Uygulamanın Hedefi	Sonuç (log azalma)	Kaynak
Tavuk göğsü	60–3600 mWs/cm ²	Hepatit-A (HAV) MNV-1	1.17 1.23	[27]
Sosis	0.5–4 J/cm ²	<i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	1.56-2.19 1.27-1.97 1.5-2.14	[29]
Domuz pirzolası	0.5–4 J/cm ²	<i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	0.43-0.56 0.5-0.61 0.58-0.65	[29]
Çiğ tavuk	9.630 kJ/m ²	<i>Listeria monocytogenes</i>	2	[28]
Tavuk eti	500 mW/cm ²	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> Typhimurium <i>E. coli</i> O157:H7	(derili / derisiz) 0.48 / 0.46 1.02 / 0.36 1.28 / 0.93	[25]
Tavuk göğsü filetosu	1.5 kJ/m ²	Toplam aerobik bakteri sayımı	2	[36]
Meyve- Sebzeler				
Portakal	7.92 kJ/m ²	<i>Penicillium digitatum</i> <i>Penicillium italicum</i>	5.3 3.9	[32]
Çilek	12-72 kJ/m ²	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Listeria innocua</i>	1 1 1.4 1.1-1.3	[37]
Kayısı	0–13.26 kJ/m ²	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 <i>Salmonella</i>	2.2 2.5	[38]
Mantar	0.45–3.15 kJ/m ²	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	0.67– 1.13	[39]
Domates	0.5-4 J/cm ²	<i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	3.08-3.82 3.13-3.63 2.59-3.60	[29]
Jalapeno biberi	0.5-4 J/cm ²	<i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	3.02-3.79 3.09-3.73 3.11-3.72	[29]
Ispanak	2.4-24 kJ/m ²	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> <i>Pseudomonas marginalis</i>	1.5-2.2 0.7-1.6 1.1-1.9	[40]
Marul	2.37 kJ/m ²	Laktik asit bakterileri	1.7	[41]
Marul	24 mW/cm ²	<i>Salmonella</i> <i>E. coli</i> O157:H7	2.65 2.79	[42]
Domates	24 mW/cm ²	<i>Salmonella</i>	2.19	[42]
Süt ürünleri				
Kaşar peyniri	0.321-9.630 kJ/m ²	Küf-maya sayımı	2-3	[34]
Fiordilatte peyniri	0.1-6.0 kJ/m ²	<i>Pseudomonas</i> spp. Enterobacteriaceae	1-2 1-2	[43]
Çedar dilimleri	3.04 mW/cm ²	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 <i>Salmonella</i> Typhimurium <i>Listeria monocytogenes</i>	3.45 3.57 3.16	[17]
Çedar dilimleri	Darbeli UV ışık sistemi	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Listeria innocua</i>	3.74 5.41 3.37	[44]
Sert peynir	1.02 - 12.29 J/cm ² Darbeli UV ışık sistemi Yükseklikler: 5, 8 ve 13 cm Uygulama süreleri: 5-60 s	<i>Penicillium roqueforti</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	1.32 (5 cm, 40s) 3.08 (5 cm, 40s)	[35]

Bu durum yapılan duyu analizlerle de desteklenerek duyu kalitede olumsuz sonuçlar oluştuğu belirtilmiştir [34]. Laboratuvarımızda sürdürmekte olduğumuz benzer çalışmada yoğurt örneklerine kesikli UV sistemi ile 0.321-19.26 kJ/m² doz aralığında UV ışık uygulanmıştır. Kaymaklı yoğurtlarda kaymaksız yoğurtlara göre yağ oksidasyonunun daha yüksek olduğu ve artan dozla birlikte oksidasyon değerlerinin de arttığı tespit edilmiştir. Duyusal olarak özellikle kaymaklı yoğurtlarda doz artışıyla birlikte panelistler tarafından tütsülenmiş tavuk tüyü kokusu olarak ifade bir kusur dile getirilmiştir.

Yağlı ürünlerde yağ oksidasyonu önemli olmakla birlikte, protein oksidasyonu da önemlidir. Kükürt içeren amino asitlere sahip proteinlere UV ışık uygulamasıyla, amino asitlerde hafif bir bozulma meydana gelmekte ve hoş olmayan tat oluşumu gerçekleşmektedir [49]. Oksidasyonun ilk aşaması radikallerin oluşumdur. Oksidasyonlar sonrasında gelişen spesifik aroma bileşenleri ne tür bir oksidasyonun meydana geldiğinin tespitini sağlamaktadır. Dimetil disülfid oluşumu, protein oksidasyonunun ve daha spesifik olarak metiyonin bozunumunun bir göstergesidir [50]. Hekzanal varlığı ise, trigliseridler veya fosfolipitlerdeki linoleik asidin oksidasyonu için bir belirteç olarak kabul edilmektedir [51, 52].

Westermann ve ark. [53] krem peynir (%26 yağ, %7 protein) ve az yağlı krem peynirlerin (%17 yağ, %11 protein) üzerine 253.7 nm dalga boyunda UV-C ışık uygulaması sonrası ürünleri analiz etmişlerdir. Protein oksidasyonu ürünü olan dimetil disülfid ve yağ oksidasyonu ürünleri olan hekzanal ve 2-butanon konsantrasyonlarının tespitiyle UV-C ışığın etkisini belirlemişlerdir. Az yağlı krem peynirin yüksek seviyeli radikal konsantrasyonuna sahip olması, proteinlerin peynirdeki oksidatif değişikliklerde etkili olduğunu göstermiştir. Bu duruma göre, protein oksidasyonunun önemi, yağ içeriği düşüğünde ortaya çıkmaktadır [49].

Riboflavin ve klorofil parçalanma ürünleri fotosensitizer olarak görev yaparak radikallerin ve diğer reaktif ürünlerin oluşumunu teşvik edebilirler. Dolayısıyla yağ ve protein oksidasyon ürünlerinin oluşumu gerçekleşip sonuçta kötü lezzete sebep olabilirler [53]. Et ürünlerinde protein oksidasyonu metiyonin, sistein, lisin, treonin ve arjinin gibi aminoasitler okside olup proteinlerin biyolojik değerini, sindirilebilirliğini ve besleyici değerini azaltmaktadır [54].

Enzimlerin aktivitesi normal ışınım dozlarından fazla etkilenmemekte, ancak enzimlerin devam eden etkinlikleri özellikle meyve ve sebzelerin raf ömrünü sınırlamaktadır. Manzocco ve Nicoli [1] tarafından enzim aktiviteleri üzerine yapılan bir çalışmada, bütün halde ve dilimlenmiş elma üzerine 4 kJ/m² dozunda UV ışık uygulanmıştır. Polifenoloksidaz ve pektat liyaz aktiviteleri incelendiğinde bütün haldeki elmalarda enzim aktivitelerinde bir değişim olmadığı, fakat dilimlenmiş elmaların enzim aktivitelerinde %60'ın üzerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Çin brokolisine 1.8, 3.6, 5.4 ve 7.2 kJ/m² dozlarında uygulanan UV-C ışık, peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD) özellikle

antioksidan enzimlerin aktivitesindeki azalmayı geciktirmiştir [55].

Ayrıca UV-C ışık genellikle meyve ve sebzelerin antioksidan madde kapasitelerine ve vitamin içeriklerine de etki etmektedir. Dolayısıyla bu yüzey uygulamalarıyla kalitede oluşan değişiklikler önemli duruma gelmektedir. Ananas, muz ve guava meyvelerine 10, 20 ve 30 dakika boyunca UV-C ışık uygulanmıştır. Sonucunda muz ve guavanın toplam fenol ve flavonoid içeriği artmış, ananasta önemli bir değişiklik olmamıştır. Flavanoid içeriğinin ise 10 dakikalık uygulamadan sonra arttığı tespit edilmiştir. Meyvelerin C vitamini içeriklerinin ise azaldığı belirtilmiştir [56]. Yeşil sebzelerde ise UV ışık yüzey uygulamaları ile antioksidan maddelerin (α -tokoferol, β -karoten) düzeyleri artırılmıştır [57].

UV ışınlama, yüksek molekül ağırlıklı karbonhidratları daha küçük birimler haline getirebilir. Bu işlem, meyve ve sebzelerin hücre duvarındaki yapıların parçalanması sonucu yumuşama oluşumundan sorumludur [45]. Liu ve ark. [33] tarafından yapılan bir çalışmada, domateslere 0-20 kJ/m² aralığındaki çeşitli dozlarda UV-C ışık uygulanmış ve sonucunda domatesin uzun süre UV-C radyasyona maruz bırakılmasının domates meyvesinin olgunlaşma ve yaşlanma süreçlerini hızlandırdığı bildirilmiştir.

Esansiyel amino asitler, esansiyel yağ asitleri ve mineraller gibi bileşenler pratik ışınlama koşullarından etkilenmemektedirler, ancak bazı vitaminler, örneğin C vitamini ve B₁ vitamini kısmen kayıplara uğramaktadır. Kayıpların haricinde süte UV ışık uygulaması ilk kez 1900'lü yılların ortalarında D vitamini zenginleştirme amacıyla kullanılmıştır. Raşitizm ile ilgili araştırmalarda bulunan Steenbock ve Black [58] raşitik sıçanları ultraviyole ışık uygulanmış gıdalar ile beslemişlerdir. Sıçanlarda büyüme durumu ve kalsiyum ile ilgili değerlerde artış elde etmişlerdir. Bulgular yayınladıktan kısa süre sonra, Hess ve Weinstock [59] da benzer sonuçlar elde etmiştir. Pamuk tohumu yağı, keten tohumu yağı, buğday tohumu ve marullar ultraviyole ışınlaması ile güçlü antirakit ajanlar olarak kullanılmışlar ve zamanla bu çalışmalar hızlanmıştır. Mantarlarda D vitamini artırılmasına yönelik Mau ve ark. [60] tarafından yapılan çalışmada, öncelikle mantarların D₂ vitamini provitamini olan ergostrolü yüksek miktarda içerdiği vurgulanmış ve UV ışık uygulaması ile ergostrolün D₂ vitaminine dönüşümü araştırılmıştır. Çalışmada, taze kültür mantarlarına 0.2 mW/cm² şiddetinde, 0.5, 1 ve 2 saat süreyle 12°C'de UV-C ışık uygulanmıştır. UV uygulanmamış mantar örneğine kıyasla 0.5, 1 ve 2 saat UV-C ışık uygulamaları sonucunda, D₂ vitamini içerikleri sırasıyla %104, 173 ve 232 oranlarında artmıştır.

UV ışığın kullanımı sadece mikrobiyal inaktivasyon için değil, aynı zamanda yeni ürünlerin geliştirilmesi için de düşünülmelidir. UV ışık uygulanan pastörize edilmiş inek sütü Avrupa Komisyonu tarafından piyasada yeni gıda olarak nitelendirilmiştir. Pastörize sütlerin UV ışık işleminden geçirilmesinin, 7-dehidrokolesterolün D₃ vitaminine dönüştürülmesiyle D₃ vitamini (kolekalsiferol)

konsantrasyonlarında bir artışa neden olduğu bildirilmektedir [61].

Kimyasal olarak etkileri dışında UV ışık gıdaların renklerinde de değişimlere sebep olabilmektedir. Bu durum genellikle gözle görülecek farklılıklar oluşturmaya da ölçümlerle belirlenebildiği durumlar oluşabilmektedir. Meyve sularında UV ışık uygulamasıyla renk değişikliklerinin meydana gelmesi daha fazla karşılaşılmış bir durumdur [62, 63]. Vurgulu UV ışık uygulamasının da peynir örneklerinde renk değerlerini değiştirdiği ifade edilmiştir [35]. Buna karşın, kaşar peynirine UV uygulamanın yüksek dozlarında a* ve b* değerlerinde hafif artış olmasına karşın, duyuşsal olarak bu tespit edilememiştir [34]. Wallner-Pendleton ve ark. [64] *Salmonella* Typhimurium sayısını azaltmak için (%61 azalma) tavuk karkaslarına UV ışık (825.6-864.0 W/m² dozları) uygulamışlar ve karkas renginin olumsuz bir şekilde etkilenmediğine dikkat çekmişlerdir. Aynı şekilde, Lacivita ve ark. [43] tarafından Fiordilatte peynirlerine UV-C ışık uygulanması sonucunda örneklerin renk, tekstür ve yüzey görünüş özelliklerinde UV-C ışığın değişim yaratmadığı belirlenmiştir.

UV ışığın bütün katı gıdaların yüzey uygulamalarında kullanılması mümkündür. Herhangi bir gıda için başarılı sonuç alınıp alınamayacağı tamamen gıdanın özelliklerine, UV sistemine ve hedefe bağlıdır. Aynı gıda grubu içinde farklı renklere ve farklı yüzey özelliklerine sahip benzer gıdalarda bile farklı sonuçlar almak olasıdır. Dolayısıyla, sektörde UV uygulama öncesinde her bir gıda için çalışmaların yapılarak gerekliliklerin ortaya koyulması zorunludur.

YASAL DÜZENLEMELER

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi, Sağlık ve İnsan Hizmetleri Birimi; UV radyasyonun gıdalarda yüzey mikroorganizmalarının kontrolü, üretimde kullanılan suyun sterilizasyonu ve meyve sularında insan kaynaklı patojenlerin ve diğer mikroorganizmaların azaltılması amacıyla Kod 21CFR179.39'de tanımlanan spesifik şartlar altında onaylamıştır [65]. Ayrıca, bu koşulların 253.7 nm'de %90 yayılım veren düşük basınçlı cıvalı lambalar kullanımında geçerli olduğunu bildirmiştir.

Avrupa Birliği'nde ise UV ışık bir irradyasyon/ışınlama olarak kabul edilmiştir. İrradyasyon uygulaması sınırlı olmakla birlikte birçok Avrupa ülkesinde izin verilmiştir [2]. Avrupa Birliği Komisyonu'na göre, irradyasyon eğer teknolojik olarak gerekli ise, sağlık riski teşkil etmiyor ve tüketiciye yarar sağlıyorsa, hijyen ve sağlık ile iyi üretim ya da iyi tarım uygulamalarının yerine geçmemesi koşuluyla kabul edilir [66]. Ancak, ışına maruz bırakılan gıda veya gıda bileşenleri mutlaka etiketinde belirtilmelidir. Örneğin; pastörize sütün UV işleme tabi tutulması ile D vitamini artırılan süt, yeni bir ürün (novel) olarak kabul edilmekte ve "UV uygulanmış süt" ve "UV işlemi sonucunda oluşan D vitamini içerir" şeklinde etiketlenmektedir [61]. Benzer olarak, UV ışık uygulanmış ekmeğın de yeni bir ürün olarak Avrupa Komisyonu tarafından markette satışı kabul edilmiştir. Ürün etiketinde "UV işlemi sonucu oluşan D vitamini içerir" ibaresinin bulunması zorunluluğu getirilmiştir [67].

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), UV işleminin Avrupa Komisyonu tarafından öngörülen koşullarda uygulanması durumunda, her iki ürünün de güvenli olduğunu bildirmiştir [63, 69]

Türkiye'deki yasal düzenlemeler incelendiğinde ise, Gıda Işınlama Yönetmeliği'nin [68] 1999 yılında yayınlandığı, 2002 ve 2003 yıllarında değişikliğe uğradığı görülmektedir. Söz konusu yönetmelikte UV ışık uygulamasına dair bir bilgi yer almamaktadır. Avrupa Birliği Komisyonu'nda olduğu gibi Gıda Işınlama Yönetmeliği'nde de ışınlamanın teknolojik gereklilik içermesi, sağlık riski teşkil etmemesi, tüketici menfaatlerine uygun olması, iyi üretim veya tarım uygulamalarının ya da iyi hijyen uygulamalarının yerini almaması gerekliliği vurgulanmıştır.

SONUÇ

UV ışık uygulaması, gıda sanayisinde mikrobiyal yükün azaltılması amacıyla kullanılan etkili bir yöntem olmakla birlikte, düşük yatırım maliyeti, kimyasal alternatifi olması nedeniyle pozitif tüketici imajı ile kolay kullanım avantajlarıyla gün geçtikçe kullanımı yaygınlaşmaktadır. Gıda sanayisinde gıda ve gıdayla temas eden taşıyıcı bantlar, ekipman, saklama ve hazırlık alanları ile gıda ambalajlarının dezenfeksiyonunda UV ışık uygulaması etkili olmaktadır. Ancak, UV ışığın düşük penetrasyon kapasitesi nedeniyle gıdalarda kullanımı sınırlanmaktadır ve özellikle katı gıdalarda ışınların derine penetre olamaması nedeniyle yüzey uygulaması olarak kullanımı daha başarılı olmaktadır. Bu durumda gıdalarda mikroorganizmaların ulaşabileceği başlıca lokasyon olan gıda yüzeyinin dekontaminasyonunda UV ışık teknolojisi kullanılabilir. UV ışık uygulamasıyla çeşitli et, meyve ve sebzeler ile süt ürünlerinin yüzeylerindeki mikrobiyal yükün azaltılması sağlanmaktadır. Ancak bu teknolojiyle mikrobiyal yükün azaltılması hedef alınırken ışığın gıda kalitesi üzerine etkileri de göz önünde bulundurularak hem mikrobiyal inaktivasyonun sağlandığı hem de kalitenin en az değişime uğradığı optimum uygulama koşulları belirlenmelidir. Ayrıca, gıda ve mikroorganizma çeşitliliğine bağlı olarak UV ışık etkinliği önemli seviyelerde değişebilmektedir. Dolayısıyla, UV ışığın verimliliğini etkileyen faktörler göz ardı edilmeksizin uygulamalar gerçekleştirilmelidir.

KAYNAKLAR


- [1] Manzocco, L., Nicoli, M.C., 2015. Surface Processing: Existing and Potential Applications of Ultraviolet Light. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55(4): 469-484.
- [2] Koutchma, T., Forney, L.J., Moraru, C.I., 2009. Ultraviolet light in food technology: principles and applications. CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL.
- [3] Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R.K., 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 637-645.

- [4] Keyser, M., Müller, I.A., Cilliers, F.P., Nel, W., Gouws, P.A., 2008. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9: 348–354.
- [5] Özkütük, N., 2007. Ultraviyole Lambalarının Kullanımı. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi. Nisan 4-8, 2007, Antalya, Türkiye, DAS Kongre Kitabı 2007, 490-496p.
- [6] Tran, M.T.T., Farid M., 2004. Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5: 495–502.
- [7] Artes, F., Allende, A., 2005. Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy vegetables. *European Journal of Horticultural Science* 70(5): 231–245.
- [8] Bolton, J.R., Linden, K.G., 2003. Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. *Journal of Environmental Engineering* 129(3): 209-215.
- [9] Gomez-Lopez, V.M., Ragaert, P., Debevere, J., Devlieghere, F., 2007. Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science & Technology* 18: 464-473.
- [10] Jagger, J., 1967. Introduction to research in ultraviolet photobiology. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, NJ.
- [11] Harm, W., 1980. Biological effects of ultraviolet radiation. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- [12] Quek, P.H., Hu, J., 2008. Indicators for photoreactivation and dark repair studies following ultraviolet disinfection. *The Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 35: 533-541.
- [13] Koutchma, T., 2009. Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology* 2: 138-155.
- [14] Guerrero-Beltran, J.A., Barbosa-Canovas, G.V., 2004. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International* 10(3): 137-147.
- [15] Bachmann, R., 1975. Sterilization by intense ultraviolet radiation. *The Brown Boveri Review* 62: 206-209.
- [16] Morgan, R., 1989. UV "green" light disinfection. *Dairy Industries International* 54(11): 33-35.
- [17] Shama, G., 1999. Ultraviolet light. In: Encyclopedia of Food Microbiology-3, Edited by Robinson, R.K., Batt, C., & Patel, P. London: Academic Press, 2208-2214p.
- [18] Milly, P.J., Toledo, R.T., Chen, J., Kazem, B., 2007. Hydrodynamic cavitation to improve bulk fluid to surface mass transfer in a nonimmersed ultraviolet system for minimal processing of opaque and transparent fluid foods. *Journal of Food Science* 72(9): M407–M413.
- [19] Ha, J.W., Back, K.H., Kim, Y.H., Kang, D.H., 2016. Efficacy of UV-C irradiation for inactivation of food-borne pathogens on sliced cheese packaged with different types and thicknesses of plastic films. *Food Microbiology* 57: 172-177.
- [20] Koutchma, T., 2008. UV light for processing foods. Ozone: *Science and Engineering* 30(1): 93-98.
- [21] Koutchma, T., Keller, S., Chirtel, S., Parisi, B., 2004. Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5: 179-189.
- [22] Franz, C.M.A.P., Specht, I., Cho, G.S., Graef, V., Stahl, M.P., 2009. UV-C inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control* 20: 1103-1107.
- [23] Shah, P.B., Shah, U.S., Siripurapu, S.C.B., 1994. Ultraviolet irradiation and laminar air flow systems for clean air in dairy plants. *Indian Dairyman* 46: 757-759.
- [24] Bailey, J.S., Buhr, R.J., Cox, N.A., Berrang, M.E., 1996. Effect of hatching cabinet sanitation treatments on Salmonella cross-contamination and hatchability of broiler eggs. *Poultry Science* 75:191-196.
- [25] World Health Organization, 1994. Ultraviolet radiation. Environmental Health Criteria 160, Vammala.
- [26] Guerrero-Beltran, J.A., Barbosa-Canovas, G.V., 2005. Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by Ultraviolet Light. *Journal of Food Process Engineering* 28: 437-452.
- [27] Kim, T., Silva, T., Chen, T., 2002. Effects of UV irradiation on selected pathogens in peptone water and on stainless steel and chicken meat. *Journal of Food Protection* 65: 1142–1145.
- [28] Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 1999. Yogurt Science and Technology, (2nd edn). Woodhead Publishers, Cambridge.
- [29] Park, S.Y., Ha, S.D., 2015. Ultraviolet-C radiation on the fresh chicken breast: Inactivation of major foodborne viruses and changes in physicochemical and sensory qualities of product. *Food and Bioprocess Technology* 8: 895–906.
- [30] Lyon, S.A., Fletcher, D.L., Berrang, M.E., 2007. Germicidal ultraviolet light to lower numbers of *Listeria monocytogenes* on broiler breast fillets. *Poultry Science* 86: 964-967.
- [31] Sommers, C.H., Sites, J.E., Musgrove, M., 2010. Ultraviolet light (254 nm) inactivation of pathogens on foods and stainless steel surfaces. *Journal of Food Safety* 30(2): 470-479.
- [32] Tawema, P., Han, J., Vu, K.D., Salmieri, S., 2016. Antimicrobial effects of combined UV-C or gamma radiation with natural antimicrobial formulations against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and total yeasts/molds in fresh cut cauliflower. *Food Science and Technology* 65: 451-456.
- [33] George, D.S., Razali, Z., Santhirasegaram, V., Somasundram, C., 2015. Effects of ultraviolet light (UV-C) and heat treatment on the quality of fresh-cut chokanan mango and josephine pineapple. *Journal of Food Science* 80(2): 426–434.
- [34] Gündüz, G.T., Pazır, F., 2013. Inactivation of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* under

- in vitro and in vivo conditions by using UV-C light. *Journal of Food Protection* 76(10): 1761-1766.
- [35] Liu, J., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Adeyeye, O., Kabwe, M.K., Pusey, P.L., Chalutz, E., Sultana, T., Droby, S., 1993. Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection* 56: 868-872.
- [36] Şik, S, Urgu, M, Koca, N., 2017. The effect of UV light on the mould inactivation and the quality of fresh kashar cheese. *Innovations in Food Science and Technology*, May 10-12, 2017; Munich, Germany.
- [37] Can, F.O., Demirci, A., Puri, V.M., Gourama, H., 2014. Decontamination of hard cheeses by pulsed UV light. *Journal of Food Protection* 77(10): 1723-1731.
- [38] Stermer, R., Lasater-Smith, M., Brasington, C., 1987. Ultraviolet radiation-an effective bactericide for fresh meat. *Journal of Food Protection* 50: 108–111.
- [39] Birmpa, A., Sfika, V., Vantarakis, A., 2013. Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology* 167(1): 96–102.
- [40] Yun, J., Yan, R., Fan, X., Gurtler, J., Phillips, J., 2013. Fate of *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and potential surrogate bacteria on apricot fruit, following exposure to UV-C light. *International Journal of Food Microbiology* 166(3): 356–363.
- [41] Guan, W., Fan, X., Yan, R., 2012. Effects of UV-C treatment on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, microbial loads, and quality of button mushrooms. *Postharvest Biology and Technology* 64(1): 119–125.
- [42] Escalona, V.H., Aguayo, E., Martinez-Hernandez, G.B., Artes, F., 2010. UV-C doses to reduce pathogen and spoilage bacterial growth in vitro and in baby spinach. *Postharvest Biology and Technology* 56(3): 223–231.
- [43] Allende, A., McEvoy, J.L., Luo, Y., Artes, F., Wang, C.Y., 2006. Effectiveness of twosided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed “Red Oak Leaf” lettuce. *Food Microbiology* 23(3): 241–249.
- [44] Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D., Marcy, J.E., 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology* 90(1): 1-8.
- [45] Lacivita, V., Conte, A., Manzocco, L., Plazzotta, S., Zambrini, V.A., Del Nobile, M.A., Nicoli, M.C., 2016. Surface UV-C light treatments to prolong the shelf-life of Fiordilatte cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 36: 150–155.
- [46] Proulx, J., Hsu, L.C., Miller, B.M., Sullivan, G., Paradis, K., Moraru, C.I., 2015. Pulsed-light inactivation of pathogenic and spoilage bacteria on cheese surface. *Journal of Dairy Science* 98: 5890-5898.
- [47] Kilcast, D., 1994. Effect of irradiation on vitamins. *Food Chemistry* 49: 157-164.
- [48] Matak, K.E., Sumner, S.S., Duncan, S.E., Hovingh, E., Worobo, R.W., Hackney, C.R., Pierson, M.D., 2007. Effects of ultraviolet irradiation on chemical and sensory properties of goat milk. *Journal of Dairy Science* 90(7): 3178-3186.
- [49] Bandla, S., Choudhary, R., Watson, D.G., Haddock, J., 2012. UV-C treatment of soymilk in coiled tube UV reactors for inactivation of *Escherichia coli* W1485 and *Bacillus cereus* endospores. *LWT - Food Science and Technology* 46(1): 71-76.
- [50] Turan, O.Y., Met, A., Belbez, E., Pektaş, S., Şahin-Yeşilçubuk, N., Fıratlıgil-Durmuş, E., 2015. Investigating the effects of (UV-C) light on qualitative properties of beef in prototype household-type refrigerators. The 5th Food Safety Congress, May 7-8, 2015, İstanbul, Turkey.
- [51] Andersen, L.T., Lund, M.N., Glyager, R., Jensen, S.B., Mortensen, G., Skibsted, L.H., 2006. Light-induced deterioration of reduced-fat cream cheese. Relative importance of protein and lipid oxidation. *Milchwissenschaft* 62(2): 162-165.
- [52] Jung, M.Y., Yoon, S.H., Lee, H.O., Min, D.B., 1998. Singlet oxygen and ascorbic acid effects on dimethyl disulfide and off-flavor in skim milk exposed to light. *Journal of Food Science* 63(3): 408-412.
- [53] Pan, X.Q., Ushio, H., Ohshima, T., 2005. Comparison of volatile compounds formed by autoxidation and photosensitized oxidation of cod liver oil in emulsion systems. *Fisheries Science* 71(3): 639-647.
- [54] Yang, S.O., Lee, J.M., Lee, J.C., Lee, J.H., 2007. Effects of riboflavin-photosensitization on the formation of volatiles in linoleic acid model systems with sodium azide or D2O. *Food Chemistry* 105(4): 1375-1381.
- [55] Westermann, S., Brüggemann, D.A., Olsen, K., Skibsted, L.H., 2009. Light-induced formation of free radicals in cream cheese. *Food Chemistry* 116: 974-981.
- [56] Ergezer, H., Gökçe, R., Hozer, Ş., Akcan, T., 2016. Et ve ürünlerinde protein oksidasyonu: etki mekanizması, tespit yöntemleri ve etkileri. *Akademik Gıda* 14(1): 54-60.
- [57] Chairat, B., Nutthachai, P., Varit, S., 2013. Effect of UV-C treatment on chlorophyll degradation, antioxidant enzyme activities and senescence in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. alboglabra). *International Food Research Journal* 20(2): 623-628.
- [58] Alothman, M., Bhat, R., Karim, A.A., 2009. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 512-516.
- [59] Higashio, H., Ippoushi, H., Ito, H., Azuma, K., 1999. Induction of an oxidative defense system against UV-stress and application to improve quality of green vegetables. In *International Symposium on Vegetable Quality of Fresh and Fermented Vegetables*, Edited by Lee, J.M., Gross, K.S., Watada, A.E., Lee, S.K. *Acta Horticulture* 483.
- [60] Steenbock, H., Black, A., 1924. Fat-soluble vitamins: the induction of growth promoting and

- calcifying properties in a ration by exposure to ultra-violet light. *The Journal of Biological Chemistry* 61: 405–422.
- [61] Hess, A.F., Weinstock, M., 1924. Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultraviolet radiation. *The Journal of Biological Chemistry* 62: 301-313.
- [62] Mau, J-L., Chen, P.R., Yang, J-H., 1998. Ultraviolet irradiation increased vitamin D2 content in edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 5269-5272.
- [63] EU, 2016. Commission Implementing Decision (EU) 2016/1189 of 19 July 2016 authorising the placing on the market of UV-treated milk as a novel food under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council.
- [64] Ibarz, A., Pagan, J., Panades, R., Garza, S., 2005. Photochemical destruction of color compounds in fruit juices. *Journal of Food Engineering* 69: 155-160.
- [65] Falguera, V., Pagan, J., Ibarz, A., 2011. Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT-Food Science and Technology* 44: 115-119.
- [66] Wallner-Pendleton, E.A., Sumner, S.S., Froning, G.W., Stetson, L.E., 1994. The use of ultraviolet radiation to reduce Salmonella and psychrotrophic bacterial contamination on poultry carcasses. *Poultry Science* 73(8): 1327-1333.
- [67] US Food and Drug Administration, 2016. Ultraviolet radiation for the processing and treatment of food. Code of Federal Regulations 21 (Part 179.39). Washington, DC.
- [68] European Communities, 1999. European Directive 1999/2/EC of the European Parliament and of the Council of 22 February 1999 on the approximation of the laws of the Member States concerning foods and food ingredients treated with ionising radiation, Official Journal of European Communities.
- [69] EU, 2016. Commission Implementing Decision (EU) 2016/398 of 16 March 2016 authorising the placing on the market of UV-treated bread as a novel food under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council.
- [70] Anonim, 1999. Gıda İşinlama Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete 06.11.1999 Tarih 23868 sayı. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.
-

Üzümsü Meyvelerdeki Fenolik Bileşiklerin Fermantasyon ile Değişimi

Tarık Çam , Hatice Kalkan Yıldırım 

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

Geliş Tarihi (Received): 09.08.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 04.02.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): braveheart.trk@hotmail.com (T. Çam)

☎ 0 232 3113045 📠 0 232 311 48 31

ÖZ

Üzümsü meyveler aromatik maddeleri, çeşitli mineral ve vitaminleri yoğun miktarda içermesinden dolayı özel öneme sahip meyvelerdir. Özellikle içerdikleri fenolik bileşikler nedeni ile insan sağlığı üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Bu çalışmada üzümsü meyvelerin proses optimizasyonu ile son üründe istenilen fenolik bileşiklerin elde edilebileceğini göstermek amaçlanmıştır. Ayrıca bu derlemede, üzümsü meyvelerin fermantasyon uygulamalarında kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalardan, fermantasyonun sonunda fenolik bileşiklerin miktarlarındaki ve profillerindeki değişimlerden, fermantasyon çeşitleri üzerine yapılan diğer çalışmalardan ve fermantasyon işleminde yararlanılan yeni uygulamalardan bahsedilmiştir. Derlenen literatür bilgilerine göre, üzümsü meyvelerdeki fenolik bileşiklerin fermantasyon tipine, kullanılan kültürlere ve üretim koşullarına göre değiştiği ortaya çıkmıştır. Bu bilgiler ışığında proses optimizasyonu ile üründe istenen fenolik bileşikler elde etmenin mümkün olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Üzümsü meyveler, Fenolik bileşikler, Fermantasyon çeşitleri

Changes in Phenolic Compounds of Berries during Fermentation

ABSTRACT

Berries are important fruits because they contain high amounts of aromatic compounds, many minerals and vitamins. Especially, phenolic compounds present in berries may have positive effects on human health. This study aims to demonstrate that desired phenolic compounds in final products can be obtained via process optimization for berries. Additionally, this study includes fermentation applications of berries, changes in phenolic profiles and concentrations after fermentation, other studies concerning fermentation types and new fermentation applications. According to the literature reviewed, it is evident that phenolic compounds in berries change by the type of fermentation, cultures used and processing conditions. Under the light of the literature review, it might be concluded that it is possible to obtain products with desired phenolic compounds by process optimization.

Keywords: Berries, Phenolic compounds, Fermentation types

GİRİŞ

Üzümsü meyveler genel anlamda, üzüme benzeyen meyve türleri için kullanılmaktadır. Bu meyvelerin etli, sulu, yumuşak ve hoş kokulu olmaları ve aynı zamanda antioksidan kapasitelerinin diğer meyvelere göre çok daha yüksek olması en önemli özellikleridir. Üzümsü meyveler botanik yapı farklılığı dikkate alındığında üç farklı grup içerisinde değerlendirilmektedir:

a) Gerçek Üzümler: Meyve etli, sulu ve yumuşaktırlar. Meyve içerisinde tohum bulunmaktadır. Örnek: Üzüm, Frenk üzümü, Bektaşi üzümü, yaban mersini, kültür mersini.

b) Toplu Üzümler: Bu grupta yer alan meyveler ufak birçok üzümün bir meyve ekseni üzerinde toplanmasıyla oluşur. Örnek: Ahududu, böğürtlen, mürver.

c) Yalancı Üzümler: Olgunlaşan çiçek tablası üzerinde her biri gerçek meyve olan küçük cevizlerin bulunduğu türdür. Örnek: Çilek ve kuşburnu.

Üzümsü meyveler denildiği zaman daha çok üzüm (*Vitis*), çilek (*Fragaria*), ahududu ve böğürtlen (*Rubus*), frenk üzümü ve bekaşi üzümü (*Ribes*), yaban mersini, kırmızı noktalı yaban mersini, kültür yaban mersini, bataklık yaban mersini (*Vaccinium*), kuşburnu (*Rosa*), kadintuzluğu (*Berberis*), çakal eriği (*Prunus*) gibi cinsler ve bunlara bağlı türler akla gelmektedir [1].

Bu çalışmada üzümsü meyvelerin fermantasyon uygulamaları, fermantasyonun sonunda fenolik bileşiklerin profilleri ve miktarlarındaki değişimler ve bu konuda yeni uygulamalar ele alınmıştır.

ALKOL FERMANTASYONU

Alkol fermantasyonu şekerlerin mayalar tarafından oksijensiz ortamda etil alkol ve karbondioksit parçalanması olarak tanımlanmaktadır. Alkol fermantasyonuyla etil alkol ve karbondioksitin yanısıra gliserin, asetaldehit ve asetik asit gibi maddeler de oluşmaktadır.

García-Parrilla ve ark. [2] tarafından yapılan çalışmada araştırmacılar *Gluconobacter japonicus* gibi asetik asit bakterileriyle meyvedeki glukozun glukonik asite dönüşmesinin sağlandığı ve böylece tatlandırıcı olarak fruktozun korunduğu glukonik fermantasyonla ve alkol fermantasyonuyla çilekten hazırlanan fermente içeceklerin antosiyanin kompozisyonlarını tespit etmişlerdir. Ayrıca fermantasyon sonucu oluşan ürünlerin antosiyanin bileşikleri üzerinde glukonik fermantasyonun ve alkol fermantasyonunun etkisini tahmin etmeyi ve antosiyanin bileşiklerinin biyoaktif potansiyellerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Araştırmanın sonucunda 11 antosiyanin bileşiği tanımlanmış ve bu bileşiklerin miktarları belirlenmiş olup, pelargonidin 3-glukosid ve bu bileşiğin türevleri ana bileşikler olarak tanımlanmıştır. Ayrıca glukonik fermantasyonu sonunda antosiyanin kompozisyonunun korunduğu, glukonik fermantasyon ile üretilen içeceklerin alkol fermantasyonu ile üretilen içeceklerden daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bir diğer çalışmada Ohya ve ark. [3], *Saccharomyces cerevisiae*'nin alkol üretme performansını geliştirmeyi amaçlamışlardır. RIM15 geninde meydana gelen işlev kaybı *Saccharomyces cerevisiae*'nin alkol üretme yeteneğini geliştirmesine rağmen stres koşulları altında çok faydalı olmamaktadır. Bu yüzden araştırmacılar tarafından stres toleransını ve fermantasyon profilini dengelemek için RIM15'in 50' tanımlanamayan bölgesi içerisine glikoneogenik genin(PCK1) promotörünü yerleştirilmiştir. Çalışmanın sonunda PCK1 promotör'ü yerleştirilen suşun, RIM 15 geni silinmiş suştan, tekrarlayan ve aşırı miktarda glikozun olduğu koşullar altında daha iyi alkol fermantasyonu performansı gösterdiği saptanmıştır.

Soto-Cruz ve ark. [4] tarafından yapılan çalışmada araştırmacılar *Agave duranguensis*'in alkolik

fermantasyonundan izole edilen yerli mayaları seçmeyi ve agave bitkisinin öz suyundan alkolik fermantasyonla elde edilen bir alkollü içki olan mezcal'in üretimi için karışık kültürleri formüle etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada % 75 *S. cerevisiae* ITD- 00185 ve %25 *T. delbrueckii* ITD-00014a karışık kültür ile %100 *K. marxianus* ITD-00147 ve %100 *S. cerevisiae* ITD-00185 saf kültürleri kullanılmıştır. Araştırmanın sonucunda %75 *S. cerevisiae* ITD- 00185 ve %25 *T. delbrueckii* ITD-00014a kullanılan karışık kültürün verim, uçucu bileşiklerin zenginliği ve duyuşal test açısından en iyi sonuçları verdiği tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada Cardeal ve ark. [5], terra muzı sırasında enzim kullanmış, şırayı santrifüjlemiş ve şıraya kuru ve yaş maya türleri ilave etmişlerdir. Araştırmacılar alkol fermantasyonu üzerinde uygulanan bu işlemlerin etkilerini kinetik parametreler ve uçucu organik bileşik profili ile değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Araştırmanın sonucunda enzimatik işlem, santrifüjleme ve yaş ticari maya kullanımının maksimum etanol verimi (%86) ve etkinliği (%98) sağladığı ve uçucu organik bileşiklerin konsantrasyonunun fermantasyon koşullarına ve kullanılan farklı mayalara göre değiştiği görülmüştür. Ayrıca uçucu organik bileşiklerin algılanma ve miktarlarının belirlendiği limitlerin sırasıyla 0.056 ile 2.694 mg/L aralığında ve 0.057 ile 2.904 mg/L aralığında değiştiği saptanmıştır. Elde edilen verilere göre en baskın uçucu organik bileşikler arasında en çok yüksek alkollerin (100 mL'lik susuz alkol başına 353-1017 mg) bulunduğu tespit edilmiştir.

Üzümsü meyve şarapları üzerine yapılan çalışmada Johnson ve Mehjia [6], yaban mersini ve böğürtlenden yapılan meyve şaraplarının kimyasal kompozisyonunu ve kalite parametrelerini kıyaslamayı ve değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Araştırmanın sonucunda böğürtlen şaraplarının ortalama polifenolik içeriğinin 2212.5 ± 1090.3 mg/L ellagik asit eşdeğeri, toplam antosiyanin içeriğinin 75.56 ± 70.44 mg/L olduğu, yaban mersini şaraplarının ise ortalama polifenolik içeriğinin 1623.3 ± 645.5 mg/L elajik asit eşdeğeri, toplam antosiyanin içeriğinin 20.82 ± 12.14 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca briks değeri ile glikoz-fruktoz konsantrasyonu ($r=0.90$), toplam asitlik ile malik asit ($r=0.90$) ve toplam polifenoller ile antioksidan kapasitesi ($r=0.88$) arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır.

Bir diğer çalışmada Giaramida ve ark. [7], *Candida zemplinina* maya suşu Cz3 kullanımı ile karışık fermantasyon için yeni bir protokol geliştirmişlerdir. *S. cerevisiae* NDA21 ve *S. cerevisiae* AR06 şarap şıralarına ayrı ayrı inoküle edilmiş, *C. zemplinina* Cz3 ve *S. cerevisiae* NDA21 ile *C. zemplinina* Cz3 ve *S. cerevisiae* AR06 ise şarap şıralarına birlikte inoküle edilmiştir. Çalışmada kırmızı şaraplara Cz3 aşılanmış ve bu şaraplar ticari *Saccharomyces cerevisiae* maya suşları ile aşılana şaraplarla ya da spontan fermantasyonla elde edilen şaraplarla kıyaslanmıştır. Araştırmanın sonucunda Cz3 ile üretilen şarapların ticari maya suşlarıyla üretilen şaraplardan ve spontan fermantasyonla üretilen şaraplardan daha düşük alkol (%14.24 ve 14.23) ve daha fazla gliserol (12 ve 12.5 g/L) içerdiği tespit edilmiştir.

Üzümsü meyvelerin fenolik içerikleri ile ilgili yapılan başka bir çalışmada Tuberoso ve ark. [8], yüksek şeker ve düşük asitlik düzeyine sahip, ince kabuklu, iri taneli, kırmızı şarap üretiminde kullanılan ve çoğunlukla *Grenache* olarak bilinen siyah üzümünden üretilen *Cannonau* şarabının, mersin meyvesi likörünün ve koca yemiş ağacı (*Arbutus unedo L.*) çiçeklerinden elde edilen deli balın antioksidan kapasitelerini ve damar gevşetici özelliklerini çeşitli denemelerle değerlendirmeyi ve fenolik içerikle bu aktiviteleri ilişkilendirmeyi amaçlamışlardır. Araştırmanın sonuçları incelendiğinde yapılan *in vitro* testlerde Cannonau şarabı ve mersin meyvesi likörünün antioksidan içeriğinin koca yemiş ağacı deli balının antioksidan içeriğinin 2 katı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte antosiyaninler açısından zengin olan Cannonau şarabı ve mersin meyvesi likörü için malvidin-3-o-glukozit'in en fazla miktarda bulunan antosiyanin olduğu tespit edilmiştir. Petunidin-3-o-glukozit ve delfinidin-3-o-glukozit en fazla miktarda bulunan diğer antosiyaninler olarak saptanmıştır. Ayrıca mersin liköründe arabinoz türevleri bulunurken Cannonau şarabında bu türevlerin bulunmadığı, Cannonau şarabı ve mersin likörünün benzer flavonoller içerdiği, ancak glikozitlerin tiplerinde farklılıklar olduğu, mirisetin-3-o-arabinoz'ın sadece mersin liköründe bulunduğu, kuersetin-3-o-glukuronid ve kaempferol-3-o-glukozit'in ise sadece Cannonau şarabında bulunduğu görülmüştür.

Üzümsü meyve ile üzüksü meyve şarabının kıyaslandığı bir çalışmada Cho ve ark. [9], siyah ahududundan (*Rubus coreanus Miquel*) şarap üretimi sırasında antioksidan ve fenolik bileşiklerin içeriğindeki değişimleri izlemiştir. Araştırmanın sonucunda siyah ahududunun toplam fenolik madde içeriği 165.0±11.8 mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/100 mL iken siyah ahududundan şarap üretimi sonucu oluşan ürününün toplam fenol içeriğinin 240.0±5.7 mg GAE/100 mL olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte ham siyah ahududunun toplam antosiyanin içeriğinin 8.8±0.2 mg CE (siyanidin eşdeğeri)/100 mL olarak bulunduğu, fermantasyonun sonunda oluşan şarabın antosiyanin içeriğinin ise 9.8±0.9 mg CE/100 mL olduğu bulunmuştur. Ayrıca siyah ahududu şarabında galik asit, tirosol, etil gallat, dihidroksi benzoik asit'in, siyah ahududu meyvesinde ise benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, galik asit ve dihidroksi benzoik asit tespit edilen fenolik bileşikler olduğu, galik asit ve dihidroksi benzoik asitin hem siyah ahududu meyvesinde hem de siyah ahududu şarabında en fazla bulunan fenolik bileşikler olduğu belirtilmiştir.

Şarapların fenolik içeriklerinin kıyaslandığı çalışmada Ortiz ve ark. [10], ekvator böğürtleni, yaban mersini ve elma şaraplarının renk, fenolik bileşik ve antioksidan aktivitelerinin tespit edilmesi üzerine araştırma yapmıştır. Araştırmanın sonucunda böğürtlen şaraplarının, böğürtlen ve elmaların birlikte fermantasyonuyla üretilen şarapların ve yabanmersini şaraplarının toplam fenol içeriğinin 854 ile 1400 mg GAE/L arasında değiştiği, böğürtlenden yapılan şarapların en yüksek monomerik antosiyanin konsantrasyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca böğürtlenden yapılan şarapların antioksidan içeriğinin

böğürtlen ve elmaların birlikte fermantasyonuyla üretilen şarapların ve yaban mersininden yapılan şarapların 2 katı antioksidan içeriğine sahip olduğu, böğürtlen şaraplarında en fazla bulunan antosiyanin bileşiklerin siyanidin-3-rutinozot (%62) ve siyanidin-3-glukozit olduğu görülmüştür.

ASETİK ASİT FERMANTASYONU

Asetik asit fermantasyonu, mayaların fermente olabilir şekerleri etanole dönüştürmesinin ardından asetik asit bakterilerinin oksijenli ortamda oluşan etanolü asetik asit ve suya dönüştürmesi olarak tanımlanmaktadır.

Farklı fermantasyon çeşitlerini incelemek için Ordoudi ve ark. [11], nar suyunu alkol ve sirke fermantasyonuna bırakmış ve toplam fenolik madde miktarlarını, fenolik madde profillerini ve antioksidan aktivitelerini taze nar suyuyla kıyaslamışlardır. Araştırmanın sonucunda toplam fenolik madde miktarının fermantasyondan etkilenmediği, alkol fermantasyonu uygulanmış ürünün antosiyanin miktarının (12.8±1.3 mg/L) taze nar suyu (130.1±1.4 mg/L) ve sirke fermantasyonu uygulanmış nar suyundaki antosiyanin miktarından (126.0±2.2 mg/L) yaklaşık 10 kat az olduğu, her iki fermente ürünün fenolik madde profilleri açısından aynı oldukları, antioksidan aktivitenin ise fermantasyonla düştüğü, en yüksek antioksidan aktiviteye fermente olmamış nar suyunun (11.4±0.2 mM Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi) sahip olduğu ve alkol fermantasyonu (8.3±0.2 mM Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi) uygulanan ürünün sirke fermantasyonuna (11.4±0.2 mM Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi) uygulanan üründen daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Asetik asit verimini artırmak için Gullo ve ark. [12], alkollü ve şekerli substratlarla selüloz üretme yeteneği olmayan, alkollü ortamda gelişebilen asetik asit bakterileriyle, statik ve daldırma fermantasyonla kombine bir şekilde çalışarak uygulanabilir asetik asit fermantasyonu gerçekleştirmeyi amaçlamışlardır. Araştırmanın sonucunda %8.00–9.00 (w/v) asetik asit konsantrasyonunda ürün elde edilmiş ve batık fermantasyon öncesinde seçilen starter kültürün gelişimi için uygun ortamın batık fermantasyon işleminden önce yapılan küçük ölçek kesikli fermantasyon ve statik fermantasyonla sağlandığı tespit edilmiştir.

Bir diğer çalışmada Tanino ve ark. [13], oksidatif fermantasyona mikrobiyal yakıt hücresi (MFC) teknolojisinin yeni bir uygulamasıyla yararlı bir madde ve elektriğin birlikte üretimi üzerine araştırma yapmışlardır. Araştırmanın sonucunda başarılı bir şekilde elektrik ve sirke üretimi yapılmış, sirke fermantasyonuyla elde edilen asetik asit verimine (%75.8) yakın (%73.1) veya daha fazla oranda (%89.9) asetik asit verimi sağlandığı, açık çevrim voltajının ise fermantasyonun başlamasıyla birlikte fermantasyonun sonuna kadar artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Asetik asit verimini arttırmak için araştırma yapan Mounir ve ark. [14], asetik asit bakterilerini elma ve kaktüs meyvelerinden izole etmişler, biyoreaktörde

asetik asit fermantasyonu sırasında ısıya dayanıklı asetobakter suşları ile glukonik ve asetik asitlerin eş zamanlı üretimini amaçlamışlardır. Araştırmanın sonucunda elmadan izole edilen asetik asit bakterileriyle %7.64 (w/v), kaktüs meyvelerinden izole edilen asetik asit bakterileriyle ise %10.08 (w/v) asetik asit konsantrasyonunda ürün elde edildiği saptanmıştır. Ayrıca kaktüs meyvesinden izole edilen asetik asit bakterilerinin aynı anda asetik asit ve glukonik asit üretebildiği ve etanol yıkımına (ethanol depletion) daha az duyarlı olduğu bulunmuştur.

Asetik asit üretimi ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada Li ve ark. [15], asetik asit bakterileri ve mayaların sinerjik etkisi altında gıda atıklarından mikro-aerobik fermantasyon ile asetik asit üretimini araştırmışlardır. Araştırmacılar asetik asit üretimi için inokülasyon yapılmayan, maya inoküle edilen, asetik asit bakterileri inoküle edilen ve hem asetik asit bakterileri hem de maya inoküle edilen 4 fermente üretim gerçekleştirmişlerdir. Araştırmanın sonucunda en yüksek asetik asit üretiminin asetik asit ve maya inoküle edilen üretimde olduğu görülmüştür (25.88 g/L).

Başka bir çalışmada ise Ehsanipour ve ark. [16], *Moorella thermoacetica* ATCC 39073 suşlarıyla lignoselülozik şekerlerin asetik asite biyolojik dönüşümü üzerine çalışma yapmışlardır. Araştırmanın sonucunda *Moorella thermoacetica* ATCC 39073 suşunun 72 saatlik bir fermantasyon süresi içinde buğday samanı, orman artıkları, dallı darı ve şeker kamışından oluşan hidrolizattaki lignoselülozik şeker karışımında bulunan tüm glikozu ve ksilozu etkili bir şekilde asetik asite fermente edebildiği, arabinozun %62'sini, galaktozun %49'unu ve mannozun ise %66'ını fermente edebildiği tespit edilmiştir.

Ren ve Qiu [17] yaptıkları çalışmada, mısır samanını asetik asitle muamele ettikten sonra buharla patlatmış (ASCS) ve eş zamanlı sakarifikasyon ve fermantasyon (SSF) yaparak *Ethanoligenens harbinense* B49 ile biyolojik hidrojen üretiminde asetik asitin ve enzim yüklemesinin (selülaz) etkisini araştırmışlardır. Araştırmanın sonucunda asetik asit konsantrasyonuyla hidrojen veriminin arttığı, enzim yüklemesiyle ise önce hidrojen veriminin arttığı daha sonra ise azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca enzim yüklemesinin asetik asit konsantrasyonunda daha önemli bir faktör olduğu bulunmuştur.

LAKTİK ASİT FERMANTASYONU

Laktik asit fermantasyonu, oksijensiz ortamda heterofermantatif laktik asit bakterileri tarafından glukozun laktik asit, asetik asit, etil alkol ve CO₂'e dönüştürüldüğü fermantasyon çeşididir.

Bir çalışmada, kiraz bitkisinden elde edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması, karışık endojen starter kültürün seçimi ve infüzyon ile köklerinden eklenen kiraz püresinin işlenmesi için protokolün hazırlanması amaçlanmıştır. Araştırmanın sonucunda kabul edilebilir ürün elde edilmesi, ürünün besinsel, antioksidan ve duyuşal özelliklerinin korunması için otokton laktik asit bakterileri seçiminin ve kök infüzyonu eklenmesinin tatlı

kirazların işlenmesinde alternatif bir teknolojik seçenek sunacağı tespit edilmiştir [18].

Başka bir çalışmada ise, iki laktik asit bakterisi ile aşılanaan Tempranillo Rioja şaraplarının malolaktik fermantasyonu üzerine bir çalışma yapılmış ve spontan malolaktik fermantasyon ile sonuçlar kıyaslanmıştır. Araştırmanın sonucunda kaliteli şaraplar için en uygun starter kültürün seçilmesi gerektiği ve biyojenik aminlerin oluşumunu önlemek için şıradaki ve şaraptaki amino asit içeriğinin kontrol edilmesi gerektiği üzerinde durulmuştur [19].

Bir başka çalışmada ise *Vitis vinifera* L.'den 3 farklı bitkinin yaprakları üzerinde laktik asit fermantasyonunun değerlendirilmesi üzerine araştırma yapılmıştır. Araştırmanın sonucunda fermantasyon profili ve duyuşal özellikler açısından fermantasyon için Türkiye'de yetişen Ekşikara, Hesapalı ve Siyah pekmezlik üzüm asması yapraklarının uygun olduğu tespit edilmiştir [20].

Laktik asit bakterilerinin popülasyon dinamiklerinin incelendiği diğer bir çalışmada laktik asit bakterileri türlerinin çeşitliliği arka arkaya üç yıl La Rioja'da bir şaraphanede Tempranillo şarabının alkol ve malolaktik fermantasyonu sırasında analiz edilmiştir. Araştırmanın sonucunda malolaktik fermantasyonu süresinde, laktik asit bakterileri türlerinde ve *Oenococcus oeni* genotiplerinin çeşitliliğinde farklar olduğu bununla birlikte *Oenococcus oeni*'nin en baskın tür olduğu görülmüştür [21].

Nar suyunun fermantasyonu için laktik asit bakterilerinin kullanıldığı bir diğer çalışmanın amacı nar suyunun fermantasyonu sırasında nar suyunun substrat metabolizmasının ve seçilen *Lactobacillus plantarum*, *L. delbruekii*, *L. paracasei*, *L. acidophilus* probiyotik laktik asit bakterilerinin büyüme hızının araştırılması ve soğuk ortam koşullarında canlılıklarının değerlendirilmesidir. Araştırmanın sonucunda *L. paracasei* ve *L. acidophilus*'in nar gibi yüksek asitli gıdalarda kullanılmaması gerektiği, *L. plantarum* ve *L. delbruekii* suşlarının ise nar suyunda probiyotik kültür olarak soğuk depolamada sınırlı bir zaman ile kullanılabilirliği tespit edilmiştir [22].

Bu çalışmaların dışında yapılan diğer çalışmada, fermente nar suyunun mikrobiyolojik, besinsel, antioksidan, renk ve duyuşal özelliklerinin karakterize edilmesi ve periferik kan mononükleer hücrelerine ve K562 tümör hücrelerine karşı biyolojik aktivitelerin *in vitro* olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın sonucunda domatesten izole edilen P0M1 ve C2 *Lactobacillus plantarum* suşlarının ya da LP09 *Lactobacillus plantarum* suşunun ve ticari LP09 *Lactobacillus plantarum* suşunun nar suyunun fermantasyonu için yeni bir teknoloji seçeneği sunduğu, polifenollerce zengin olan narın sağlığa yararlı, duyuşal ve koruyucu özelliklerinden tamamen yararlanılabileceği ve yeni fonksiyonel içeceklerin üretimine öncülük edebileceği görülmüştür [23].

Bir diğer çalışmada ise fonksiyonel madde, besin takviyesi veya farmasötik preparat üretme bakış açısıyla

mersin meyvesinin antioksidant özelliklerini geliştirmek için laktik asit bakterilerinin kullanımı amaçlanmıştır. Araştırmanın sonucunda mersin meyvesinin laktik asit fermantasyonuyla fonksiyonel gıda diyet takviyeleri ya da farmasötik preparatlar olarak kullanımının mümkün olduğu görülmüştür [24].

V. vinifera cv. Tannat üzüm şirasının laktik asit bakterileri ve mayalarla fermente edildiği bir diğer çalışmada ise maya ve bakterinin eş zamanlı aşılandığı, mayanın ilk olarak aşılandığı ve bakterinin 3 gün sonra aşılandığı ve mayanın ardından bakterinin alkol fermantasyonu bitmeye yaklaştığı zaman aşılandığı üç farklı şekilde maya/bakteri kombinasyonlarının

performansı kıyaslanmıştır. Araştırmanın sonucunda, hiç SO₂ eklenmeden veya düşük miktarda SO₂ eklenen şıralarda erken inokülasyonla bakterilerin popülasyonunda çoğalma beklenebileceği ve fermente olan mayaların spesifik suşlarını bakterilerin negatif olarak etkileyebileceği, bakteri maya kombinasyonu ve inokülasyonun yapıma zamanının dışında şıraya en elverişli koşullarda inoküle edilecek bakterilerin miktarına da önem verilmesi gerektiği saptanmıştır [25].

Bu makalede sözü geçen çalışmalar ve sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1.Farklı fermantasyon çeşitleri ile ilgili yapılan çalışmalar ve sonuçları

Kaynak	Araştırmanın Konusu	Araştırmanın Sonuçları
[2]	Çilekten hazırlanan fermente içeceklerin antosiyanin kompozisyonu ve glukonik ve alkolik fermantasyonun antosiyanin bileşikleri üzerine etkisi	Pelargonidin 3-glukositi ve bu bileşiğin türevleri antosiyanin kompozisyonu, glukonik fermente içecekler alkolik fermente içeceklerden daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip.
[3]	Yüksek alkol fermente etme yeteneğine sahip stres toleranslı maya suşları geliştirme	Geliştirilen suş, RIM 15 silinmiş suştan daha iyi alkol fermantasyonu performansına sahip.
[4]	<i>Agave duranguensis</i> 'in alkolik fermantasyonundan izole edilen yerli mayaların seçilmesi ve Mezcal üretiminde kullanmak için karışık kültürün oluşturulması	En iyi sonuçların %75 <i>S. cerevisiae</i> ITD- 00185 ve %25 <i>T. delbrueckii</i> ITD-00014a 'den oluşan karışık kültürden elde edilmesi.
[5]	Terra muzunun alkol fermantasyonunda maya türlerine santrifüj ve enzimatik işlemin etkisi	Enzimatik işlem, santrifüj ve ıslak ticari mayanın kullanımı ile maksimum etanol verimi (%86) ve etkinliğinin (%98) elde edilmesi, uçucu organik bileşiklerin algılanma ve miktarlarının limitlerinin sırasıyla 0.056-2.694 ve 0.057-2.904 mg/L olarak bulunması, en çok bulunan uçucu organik bileşiklerin yüksek alkoller (100 mL'lik susuz alkol başına 353 -1017 mg) olması
[6]	Yaban mersini ve böğürtleden yapılan meyve şaraplarının kimyasal kompozisyonunu ve kalite parametrelerinin kıyaslanması	Böğürtlen şarapları ortalama polifenolik içeriğinin litre başına 2212.5±1090.3 mg elajik asit eşdeğeri, toplam antosiyanin içeriğinin 75.56±70.44 mg/L, yaban mersini şarapları ortalama polifenolik içeriğinin litre başına 1623.3±645.5 mg elajik asit eşdeğeri, toplam antosiyanin içeriğinin 20.82±12.14 mg/L olarak bulunması.
[7]	<i>Candida zemplinina</i> maya suşu Cz3'ün kırmızı şaraplara aşılması ve elde edilen şarabın ticari <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya suşları ile aşılama şarapları ve spontan fermantasyonla elde edilen şaraplarla kıyaslanması	Cz3 ile üretilen şarapların daha düşük alkol (%14.24 ve 14.23) ve daha fazla gliserol(12 ve 12.5 g/L) içeriğine sahip olması.
[8]	Cannonau şarabı, mersin meyvesi likörü ve çilek ağacı balının antioksidan kapasitesi ve damar gevşetici özelliklerinin fenolik içerikleriyle değerlendirilmesi	Cannonau şarabı ve mersin meyvesi likörü antioksidan içeriğinin çilek ağacı balının 2 katı olması, Cannonau şarabı ve mersin meyvesi likörü için malvidin-3-o-glukozit'in en fazla miktarda bulunan antosiyanin olması.
[9]	Siyah ahududundan şarap üretimi sırasında antioksidan ve fenolik bileşiklerin içeriğindeki değişimler	Siyah ahududu toplam fenol içeriği 165.0±11.8 mg GAE/100 mL ve siyah ahududundan şarap üretimi sonucu oluşan ürünün toplam fenol içeriği 240.0±5.7 mg GAE/100 mL. Siyah ahududunun toplam antosiyanin içeriği 8.8±0.2 mg CE/100 mL, fermantasyonun sonunda oluşan şarabın antosiyanin içeriği 9.8±0.9 mg CE/100 mL
[10]	Ekvator böğürtleni, yaban mersini ve elma şaraplarının renk, fenol ve antioksidan aktivitelerinin tespiti	Böğürtleden yapılan şarapların antioksidan içeriği, böğürtlen ve elmaların birlikte fermantasyonuyla üretilen şarapların ve yaban mersininden yapılan şarapların 2 katı kadar antioksidan içeriğine sahip.
[11]	Nar suyunun alkol ve sirke fermantasyonuna bırakılması ve toplam fenolik madde miktarlarının, fenolik madde profillerinin ve antioksidan aktivitelerinin taze nar suyuyla kıyaslanması	Alkol fermantasyonu uygulanmış ürünün antosiyanin miktarı (12.8±1.3 mg/L) taze nar suyu(130.1±1.4 mg/L) ve sirke fermantasyonu uygulanmış nar suyundaki antosiyanin miktarı(126.0±2.2 mg/L), fermente olmamış nar suyu antioksidan aktivitesi(11.4±0.2 mM TEAC) alkol fermantasyonu (8.3±0.2 mM TEAC) uygulanan nar suyunun antioksidan aktivitesi, sirke fermantasyonu (11.4±0.2 mM TEAC) uygulanan ürünün antioksidan aktivitesi.

Tablo 1.Farklı fermantasyon çeşitleri ile ilgili yapılan çalışmalar ve sonuçları (Devam)

Kaynak	Araştırmanın Konusu	Araştırmanın Sonuçları
[12]	Alkollü ortamda gelişebilen asetik asit bakterileriyle, statik ve batık fermantasyonla kombine bir şekilde çalışarak uygulanabilir asetik asit fermantasyonu gerçekleştirme	%8.00–9.00 (w/v) asetik asit konsantrasyonunda ürün.
[13]	Mikrobiyal yakıt hücresi (MFC) teknolojisinin yeni bir uygulamasıyla yararlı maddelerle elektriğin birlikte üretimi	Başarılı bir şekilde elektrik ve sirke üretimi, sirke fermantasyonuyla elde edilen asetik asit (%75.8) verimine yakın (%73.1) veya daha fazla oranda (%89.9) asetik asit verimi.
[14]	Asetik asit bakterilerinin elma ve kaktüs meyvelerinden izolasyonu ve <i>asetobakter</i> suşları ile glukonik ve asetik asitlerin eş zamanlı üretimi	Elmadan izole edilen asetik asit bakterileriyle %7.64 (w/v), kaktüs meyvelerinden izole edilen asetik asit bakterileriyle ise %10.08 (w/v) asetik asit konsantrasyonunda ürün.
[15]	Asetik asit bakterileri ve mayaların sinerjik etkisi ile gıda atıklarından mikro-aerobik fermantasyon ile asetik asit üretimi	En yüksek asetik asit üretimi asetik asit ve maya inoküle edilen üretim (25.88 g/L).
[16]	<i>Moorella thermoacetica</i> ATCC 39073 suşlarıyla lignoselülozik şekerlerin asetik asite biyolojik dönüşümü	72 saatlik bir fermantasyon süresi içinde buğday samanı, orman artıkları, dallı darı ve şeker kamışından oluşan hidrolizattaki lignoselülozik şeker karışımında bulunan tüm glikozun ve ksilozun etkili bir şekilde asetik asite fermantasyonu, arabinozun % 62'sinin, galaktozun %49'unun ve mannozun ise % 66'nının fermantasyonu.
[17]	Mısır samanının asetik asitle muamele edildikten sonra buharla patlatılması (ASCS) ve eş zamanlı sakarifikasyon ve fermantasyon (SSF) yaparak <i>Ethanoligenens harbinense</i> B49 ile biyolojik hidrojen üretiminde asetik asitin ve enzim yüklemesinin (selülaz) etkisinin araştırılması	Asetik asit konsantrasyonuyla hidrojen veriminin artması, enzim yüklemesiyle ise önce hidrojen veriminin artması daha sonra azalması.
[18]	Karışık endojen starter kültürün seçimi ve infüzyon ile köklerinden eklenen kiraz püresinin işlenmesi için protokolün hazırlanması	Besinsel, antioksidan ve duyuşal özellikleri koruyan endojen laktik asit bakterilerinin seçilmesinin alternatif bir teknolojik seçenek sunacağı
[19]	İki laktik asit bakterisi ile aşılana Tempranillo Rioja şaraplarının malolaktik fermantasyonu ve spontan malolaktik fermantasyon ile sonuçların kıyaslanması	Biyojenik aminlerin oluşumunu önlemek için şıradaki ve şaraptaki amino asit içeriğinin kontrol edilmesi gerektiği
[20]	<i>Vitis vinifera</i> L.'den 3 farklı bitkinin yaprakları üzerinde laktik asit fermantasyonunun değerlendirilmesi	Ekşikara, Hesapali ve Siyah pekmezlik üzüm asması yapraklarının fermantasyon için uygun olması.
[21]	Laktik asit bakterileri türleri çeşitliliğinin arka arkaya üç yıl Tempranillo şarabının alkol ve malolaktik fermantasyonu sırasında analiz edilmesi	Malolaktik fermantasyonu sırasında, laktik asit bakterileri türlerinde ve <i>Oenococcus oeni</i> genotiplerinin çeşitliliğinde farklar olması, <i>Oenococcus oeni</i> 'nin en baskın tür olması.
[22]	Nar suyunun substrat metabolizmasının ve seçilen <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L. delbruekii</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> probiyotik laktik asit bakterilerinin büyüme hızının araştırılması ve soğuk ortam koşullarında canlılıklarının değerlendirilmesi	<i>L. paracasei</i> ve <i>L. acidophilus</i> 'in nar gibi yüksek asitli gıdalarda kullanılmaması gerektiği, <i>L. plantarum</i> ve <i>L. delbruekii</i> suşlarının ise nar suyunda probiyotik kültür olarak soğuk depolamada sınırlı bir zaman ile kullanılabilceği.
[23]	Fermente nar suyunun mikrobiyolojik, besinsel, antioksidan, renk ve duyuşal özelliklerinin karakterize edilmesi ve periferik kan mononükleer hücrelerine ve K562 tümör hücrelerine karşı biyolojik aktivitelerin <i>in vitro</i> olarak değerlendirilmesi	Domatesten izole edilen <i>POM1</i> ve <i>C2</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> suşlarının ya da <i>LP09</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> suşunun ve ticari <i>LP09</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> suşunun nar suyunun fermantasyonu için yeni bir teknoloji seçeneği sunduğu, polifenollerce zengin olan narın sağlığa yararlı, duyuşal ve koruyucu özelliklerinden tamamen yararlanılabileceği.
[24]	Fonksiyonel madde, besin takviyesi veya farmasötik preparat üretme bakış açısıyla mersin meyvesinin antioksidan özelliklerini geliştirmek için laktik asit bakterilerinin kullanılması	Mersin meyvesinin laktik asit fermantasyonuyla fonksiyonel gıda diyet takviyeleri ya da farmasötik preparatlar olarak kullanımının mümkün olması.
[25]	Sülfatsız Tannat Üzüm şırasının maya ve bakterinin eş zamanlı aşılındığı, mayanın ilk olarak aşılındığı ve bakterinin 3 gün sonra aşılındığı ve mayanın ardından bakterinin alkol fermantasyonu bitmeye yaklaştığı zaman aşılındığı üç farklı şekilde maya/bakteri kombinasyonlarının performansı	Hiç SO ₂ eklenmeden veya düşük miktarda SO ₂ eklenen şıralarda erken inokülasyonla bakterilerin popülasyonunda çoğalma beklenebileceği.

SONUÇ

Üzümü meyvelerdeki fenolik bileşiklerin fermantasyon ile değişimi üzerine yapılan çalışmalarda üzümü meyvelerin fenolik içeriğinin fermantasyon çeşidine göre değişebileceği, farklı fermantasyon çeşitlerinden yararlanarak üzümü meyvelerden üretilen içeceklerin içerisinde bulunan ve tüketicileri cezbeden bileşiklerin korunabileceği görülmüştür. Bununla birlikte üzümü meyvelerin fermantasyonu ile üretilen içeceklerdeki fenolik profilin farklı fermantasyonlar uygulanarak kontrol edilebileceği ve içeceklerin üretiminde kombine fermantasyon metodları uygulanabileceği ifade edilmiştir.

Ayrıca özellikle antosiyaninler gibi fenolik maddeler açısından oldukça zengin olan üzümü meyvelerin fermantasyonu sonucu oluşan ürünün saf meyveye göre toplam fenol içeriğinin daha yüksek olduğu, fenolik profilinin ise saf meyveden farklı olduğu görülmüş ve fermantasyon koşullarının değişmesi ile fenolik profilin değişebileceği saptanmıştır.

Üzümü meyvelerde fermantasyonun fenolik profil üzerine etkisi konusunda diğer bir önemli husus ise uygun kültür seçimidir. Bu konu üzerine yapılan bir çok araştırmada fermantasyon için uygun kültür seçiminin fermantasyonun sonunda oluşan ürünün fenolik profilini ve fenolik madde miktarını etkilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca en iyi fenolik profilin elde edilebilmesi için karışık kültür kullanılabileceği, farklı kültürlerin kullanılması ile oluşan ürünün fenolik profilinin kontrol edilebileceği ve gen modifikasyonundan faydalanarak mikroorganizmaların gelişimi için zor koşullarda bile fenolik madde miktarı yüksek ve fenolik profil açısından zengin ürün üretilebileceği görülmüştür.

Tüm bu çalışmalar ışığında üzümü meyvelerin fermantasyona maruz bırakılması sonucu oluşan son ürünün proses optimizasyonu ile istenen profile elde edilebileceği, fenolik profilinin geliştirilebileceği, karışık kültür veya kombine fermantasyon tekniklerinden ve gen modifikasyonundan yararlanılabileceği araştırmalar tarafından belirtilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Özarda, Ö., 2009. Üzümü meyvelerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve meyveli içeceklerdeki raf ömrüne etkisi. Bitirme tezi. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gebze.
- [2] Hornedo-Ortega, R., Krisa, S., García-Parrilla, M.C., Richard, T., 2016. Effects of gluconic and alcoholic fermentation on anthocyanin composition and antioxidant activity of beverages made from strawberry. *LWT - Food Science and Technology* 69: 382-389.
- [3] Watanabe, D., Kaneko, A., Sugimoto, Y., Ohnuki, S., Takagi, H., Ohya, Y., 2017. Promoter engineering of the *Saccharomyces cerevisiae* RIM15 gene for improvement of alcoholic fermentation rates under stress conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 123(2): 183-189.
- [4] Nunez-Guerrero, M. E., Paez-Lerma, J. B., Rutiaga-Quinones, O. M., Gonzalez-Herrera, S. M., Soto-Cruz, N. O., 2016. Performance of mixtures of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* native yeasts during alcoholic fermentation of *Agave duranguensis* juice. *Food Microbiology* 54: 91-97.
- [5] Capobiango, M., Diniz, I.M., Andre, L.C., Oliveira, E.S., Cardeal, Z.L., 2016. Assessment of volatile organic compounds from banana Terra subjected to different alcoholic fermentation processes. *Food Science and Technology* 36(3): 510-519.
- [6] Johnson, M.H., Gonzalez de Mejia, E., 2012. Comparison of chemical composition and antioxidant capacity of commercially available blueberry and blackberry wines in Illinois. *Journal of Food Science* 71(1): 141-148.
- [7] Giaramida, P., Ponticello, G., Di Maio, S., Squadrito, M., Genna, G., Barone, E., Scacco, A., Corona, O., Amore, G., di Stefano, R., Oliva, D., 2013. *Candida zemplinina* for production of wines with less alcohol and more glycerol. *South African Journal of Enology and Viticulture* 34(2): 204-211.
- [8] Tuberoso, C.I.G., Boban, M., Bifulco, E., Budimir, D., Pirisi, F.M., 2013. Antioxidant capacity and vasodilatory properties of Mediterranean food: The case of Cannonau wine, myrtle berries liqueur and strawberry-tree honey. *Food Chemistry* 140: 686-691.
- [9] Cho, J.Y., Jeong, J.H., Kim, J.Y., Kim, S.R., Kim, S.J., Lee, H.J., Lee, S.H., Park, K.H., Moon, J.H., 2013. Change in the content of phenolic compounds and antioxidant activity during manufacturing of black raspberry (*Rubus coreanus* Miq.) wine. *Food Science and Biotechnology* 22(5): 1237-1244.
- [10] Ortiz, J., Marín-Arroyo, M.R., Noriega-domínguez, M.J., Navarro, M., Arozarena, I., 2013. Color, phenolics, and antioxidant activity of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth), and apple wines from Ecuador. *Journal of Food Science* 78(7): 985-993.
- [11] Ordoudi, S.A., Mantzouridou, F., Daftsiou, E., Malo, C., Hatzidimitriou, E., Nenadis, N., Tsimidou, M.Z., 2014. Pomegranate juice functional constituents after alcoholic and acetic acid fermentation. *Journal of Functional Foods* 8: 161-168.
- [12] Gullo, M., Zanichelli, G., Verzelloni, E., Lemmetti, F., Giudici, P., 2016. Feasible acetic acid fermentations of alcoholic and sugary substrates in combined operation mode. *Process Biochemistry* 51: 1129-1139.
- [13] Tanino, T., Nara, Y., Tsujiguchi, T., Ohshima, T., 2013. Coproduction of acetic acid and electricity by application of microbial fuel cell technology to vinegar fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 116(2): 219-223.
- [14] Mounir, M., Shafiei, R., Zarmehrkhorshid, R., Hamouda, A., Ismaili Alaoui, M., Thonart, P., 2016. Simultaneous production of acetic and gluconic acids by a thermotolerant *Acetobacter* strain during

- acetous fermentation in a bioreactor. *Journal of Bioscience Bioengineering* 121(2): 166–171.
- [15] Li, Y., He, D., Niu, D., Zhao, Y., 2015. Acetic acid production from food wastes using yeast and acetic acid bacteria micro-aerobic fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 38: 863–869.
- [16] Ehsanipour, M., Suko, A.V., Bura, R., 2016. Fermentation of lignocellulosic sugars to acetic acid by *Moorella thermoacetica*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 43: 807–816.
- [17] Xu, J.F., Ren, N.Q., Su, D.X., Qiu, J., 2010. Bio-hydrogen production from acetic acid steam-exploded corn straws by simultaneous saccharification and fermentation with *Ethanoligenens harbinense* B49. *International Journal of Energy Research* 34: 381–386.
- [18] Di Cagno, R., Surico, R.F., Minervini, G., Rizzello, C.G., Lovino, R., Servili, M., Taticchi, A., Urbani, S., Gobbetti, M., 2011. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 28: 900–909.
- [19] Lopez, R., Lopez-Alfaro, I., Gutierrez, A.R., Tenorio, C., Garijo, P., Gonzalez-Arenzana, L., Santamaria, P., 2011. Malolactic fermentation of Tempranillo wine: contribution of the lactic acid bacteria inoculation to sensory quality and chemical composition. *International Journal of Food Science and Technology* 46: 2373–2381.
- [20] Ünver, A., Özcan, M., Arslan, D., Akın, A., 2006. The lactic acid fermentation of three different grape leaves grown in Turkey. *Journal of Food Processing and Preservation* 31(1): 73–82.
- [21] Gonzalez-Arenzana, L., López, R., Santamaría, P., Tenorio, C., Lopez-Alfaro, I., 2012. Dynamics of indigenous lactic acid bacteria populations in wine fermentations from La Rioja (Spain) during three vintages. *Microbial Ecology* 63(1): 12–19.
- [22] Mousavi, Z.E., Mousavi, S.M., Razavi, S.H., Emam-Djomeh, Z., Kiani, H., 2011. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 123–128.
- [23] Filannino, P., Azzi, L., Cavoski, I., Vincentini, O., Rizzello, C.G., Gobbetti, M., Di Cagno, R., 2013. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 163: 184–192.
- [24] Curiel, J.A., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, G.A., Gobbetti, M., Rizzello, C.G., 2015. lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of myrtus communis berries. *Microbial Cell Factories* 14(67): 1-10.
- [25] Muñoz, V., Beccaria, B., Abreo, E., 2014. Simultaneous and successive inoculations of yeasts and lactic acid bacteria on the fermentation of an unsulfited tannat grape must. *Brazilian Journal of Microbiology* 45(1): 59-66.

Fitazlar: Çevreye Etkisi, Beslenme ve Biyoteknolojideki Önemi

Derya Berikten , Merih Kıvanç 

Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26470, Eskişehir

Geliş Tarihi (Received): 25.07.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 22.03.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): derya.berikten@gmail.com (D. Berikten)

☎ 0 222 335 05 80/ 47 25 📠 0 222 335 36 16

ÖZ

Hayvanlar alemi için önemli besin kaynaklarından olan tahıllarda, baklagillerde ve yağlı tohumlarda fosfatın temel depo formu fitik asittir. Basit mideli hayvanlar ve insanlar gastrointestinal fitaz enziminden yoksun oldukları için fitatı tam olarak parçalayamaz ve fitat fosfatından yararlanamazlar. Ayrıca, fitik asit beslenme karşıtı bir etki de göstermektedir, çünkü bazı metal iyonları ve proteinlerle fizyolojik pH değerlerinde çözünmeyen kompleksler oluşturarak bunların biyolojik kullanımını engellemektedir. Beslenme karşıtı etkisi, yapısındaki fosforun kullanılmayıp atılmasıyla oluşan çevresel kirlilik ve gıdalara ekstra fosfor ekleme gereksinimini ortaya çıkartması sebebiyle fitik asitin fitaz enzimleri tarafından defosforilasyonu oldukça önemlidir. Fitazlar endüstriyel olarak özellikle yem ve gıda sanayi olmak üzere çok çeşitli alanlarda kullanıma sahiptirler. Farklı kaynaklardan elde edilebilen fitaz enzimleri içerisinde endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalar için en uygun olanları mikrobiyal fitazlardır. Termofilik fungusların ürettiği fitazlar, geniş pH aralığında aktif olma, yüksek spesifik aktivite ve özellikle endüstriyel proseslerde uygulanan yüksek sıcaklıklarda aktivitesini kaybetmemesini sağlayan termostabilite gibi özelliklere sahiptirler. Bu yüzden mikrobiyal fitazlar arasında oldukça önemli bir yere sahiptirler. Bu derlemede, fitaz enziminin özellikleri, beslenme, insan sağlığı, çevresel açıdan önemi ve fitaz kaynakları, kullanıldığı alanlar ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fitaz, Termostabil enzimler, Fungal fitazlar, Fitat

Phytases: Their Effects on Environment, Nutritional and Biotechnological Importance

ABSTRACT

Phytic acid is the primary storage form of phosphate in cereals, legumes and oilseeds, which are the principal components of animal feeds. Because of the lack of gastrointestinal phytase enzyme, monogastric animals and human are unable to digest phytate completely and do not benefit the phosphate of phytates. Furthermore, phytic acid shows anti-nutritive effect because it forms non-soluble complexes with some metal ions and proteins at physiologic pH values that prevent their bioavailability. Because of the anti-nutritive effect, the need for extra phosphorus addition to feeds and formation of environmental pollution due to excretion of phosphorus in its structure that cannot be used, de-phosphorulation of phytic acid by phytase enzyme is very important. Industrially, phytases have to be used in various fields especially in feed and food industries. Among phytase enzymes obtained from different sources, microbial phytases are the most appropriate ones for industrial and biotechnological applications. Phytases produced by thermophilic fungi have several features such as activity at a wide pH range, high specific activity and especially thermostability at high temperatures applied in industrial processes. So they have very important place among microbial phytases. In this review, properties of phytase enzyme, precautions for human nutrition and health and environment, sources and uses of phytases are discussed.

Keywords: Phytase, Thermostable enzyme, Fungal enzyme, Phytate

GİRİŞ

Enzimler canlı hücrede meydana gelen kimyasal tepkimeleri katalizleyen veya düzenleyen biyokatalizörlerdir. Organizmadaki organik moleküllerin yapımı, yıkımı, kas hareketleri ve solunum gibi fizyolojik olaylar enzimler yardımıyla yürütülmektedir [1]. Enzimler biyolojik reaksiyonları katalize ettikleri için biyokatalizörler ve kimyasal kataliz yönünden mikro heterojen katalizörler olarak adlandırılabilirler [3]. Enzim örneklerinin spesifik aktivitelerini tanımlamak için "enzim birimi" veya "ünitesi" terimleri kullanılmaktadır. Enzim birimi (U) dakikada 1 mikromol substrat dönüşümünü katalizleyen miligram enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır [4].

Endüstride kullanılan enzimler mikroorganizma, bitkisel ve hayvansal kaynaklı olabilmektedir [5]. Hayvansal kaynaklı enzimler genellikle tavuk yumurtalarının beyazı, domuz midesi, pankreas, geviş getirenlerin karın bölgesi gibi yenilebilir organlardan izole edilebildiği için insan yiyeceklerinin hazırlanmasında uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Bitkisel kaynaklardan elde edilen biyoteknolojik enzimler, yenilebilir bitkilerden elde edilebilmektedir. Mikrobiyal enzimler ise bakteriler, mayalar ve mikrofunguslar kullanılarak üretilmektedirler [6].

Endüstriyel alanda kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Bunun nedeni mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olması, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları ve fazla miktarda elde edilebilmeleridir [5]. Ayrıca mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimler mikroorganizmaların özelliklerine bağlı olarak çeşitli niteliklere sahip olabilmektedirler. Bu özellikler de onların aynı gruptaki enzimlerden ayrılıp ön plana çıkmasını sağlamaktadır. Bu özelliklerden bir tanesi de termostabilitedir ve bu özellik endüstriyel proseslerde oldukça önemlidir.

1990'lerde moleküler biyolojik tekniklerin kullanılması ve gelişmesi ile genetik analizlerin önünün açılması, rekombinant üretimin başlaması çarpıcı şekilde termostabil enzim alanındaki çalışmaların artmasına sebep olmuştur. Bu durum aynı zamanda termal çevrelerden birçok mikroorganizmanın izole edilmesini teşvik etmiştir. Termostabil enzimler endüstriyel proseslerin sıklıkla kısmen şiddetli koşullarına karşı koyabilen güçlü bir katalizör alternatifi sunmaktadır [7].

Günümüz dünyasında, çeşitli biyofinerilerde uygulanan proseslerin bir çoğu yüksek sıcaklıklarda stabil olabilen enzimleri içermektedir. Bu termostabil enzimler çoğunlukla mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Bir enzim veya proteinin termostabil olarak tanımlanması için seçilen yüksek sıcaklıkta (>55°C) uzun bir yarı ömre sahip olması gerekmektedir. Termofilik organizmaların extrasellüler enzimleri genellikle yüksek termostabilite göstermektedir. Termostabil enzimlerin biyoproseslerde seçilmesinin

sebepleri organik solventlere yüksek tolerans, oda koşullarında uzun süre saklama, düşük kontaminasyon riski ve tabii ki ham maddelerin ön işlemleri sırasında uygulanan yüksek sıcaklıklara karşı düşük aktivite kayıplarını sağlayan termostabilitedir. Ayrıca termostabilite kolay karışma, yüksek substrat çözünürlüğü, yüksek kütle transfer oranı gibi özellikleri de yanında getirmektedir [7]. Ayrıca termostabil fungal enzimlerin birçoğu ekstrasellüler olmalarından dolayı kullanım kolaylığı ve düşük maliyet sağlamaktadır. Ekstrasellüler termostabil fungal enzimlerin bazıları proteaz, lipaz, α -amilaz, glukozamilaz, selülaz, ksilanaz, lakkaz ve fitazdır [8].

Fitik asidin defosforilasyonunu sağlayan fitazlar, son yıllarda özellikle beslenme, çevreyi koruma ve insan sağlığı açısından ön plana çıkmıştır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklı termostabil fitazlara yem üretimi, gıda işleme, kağıt yapımı ve bunlar gibi bir çok endüstriyel proseste gereksinim olduğu belirtilmiştir [9, 7]. Bu derleme kapsamında fitaz enziminin özellikleri, kullanım alanları, fitaz kaynakları ve ayrıca enzimin substratı olan fitik asidin özellikleri, fitaz ile ilişkilerine bağlı olarak beslenme üzerine etkisi, insan sağlığı, çevreye açısından önemi ele alınmıştır.

FİTAZ ENZİMİ

Fosfatazlar, birçok organo-fosfat bileşiklerindeki monofosfoester bağlarının parçalanmasını katalizleyen enzimlerdendir. Ancak bu enzimler fitik asit içindeki monofosfoester bağlarını hidrolize edemez. Fitik asidin (myo-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakis-dihidrojen fosfat) hidrolizi oldukça önemli olduğu için, fitik asidi hidrolizleyen enzim sınıfına fitazlar denmiştir. Son 20 yıldır fitazlar, beslenme, çevrenin korunması ve insan sağlığı açısından önemli enzimlerden birisi haline gelmiştir. Fitaz (myo-inositol hexakisfosfat bifosfahidrolaz) myo-inositol hexakisfosfat'ın (fitik asit), inorganik mono fosfat ve düşük myo-inositol fosfatlar ve bazı durumlarda serbest myo-inositol'e hidrolizini katalizlemektedir. Bu enzim kademeli olarak fitatın inositol merkezindeki ortofosfat gruplarını parçalamaktadır [10, 11].

Fitazlar, monomerik yapıdaki genellikle 40-100 kDa moleküler ağırlığa sahip proteinler olarak değerlendirilmektedir. Optimum pH ve sıcaklığı 4.5-6.0 ve 45-60°C olan fitazlar bunun yanında geniş substrat spesifikliğine sahiptir. Fitazın kristal yapısı, 2.5 Å çözünürlükte tespit edilmiştir. Fitazın termostabilitesini arttırmak için immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir [12].

FİTİK ASİT (MYO-İNOSİTOL-1,2,3,4,5,6-HEXAKİS DİHİDROJEN FOSFAT)

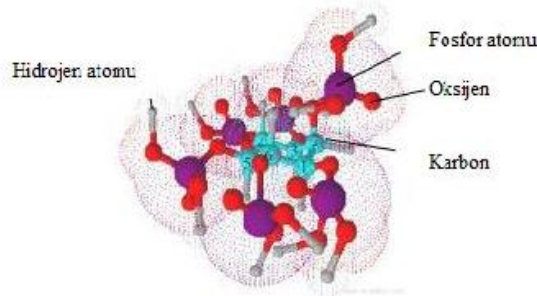
Fitazın substratı olan fitik asitin (myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakis dihidrojen fosfat, IP6) büyük bir bölümü tahıl ve baklagil tohumlarının olgunlaşması sırasında birikmektedir (Şekil 1) [9]. Tohumlarda bulunan toplam fosforun %60'dan fazlasını fitik asit oluşturmaktadır. Bu miktar tohumların çoğunda ve yan ürünlerinde, tohumların tamamının %1-2'sine karşılık gelmektedir. Bunun yanında birçok bitki türünün köklerinde, yumrularında, spor ve polenlerinde de daha düşük

miktarlarda fitik asit bulunabilmektedir [13]. Bazı baklagil, tahıl ve meyvelerdeki fitik asit miktarları Tablo 1'de verilmiştir. Fitik asitin kimyasal formülü myo-inositol

1,2,3,4,5,6-hekzadihidrojen fosfat'tır. Moleküler formülü, $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ve moleküler ağırlığı 660.04 g/mol'dür [14].

Tablo 1. Baklagil, tahıl ve meyvelerdeki fitik asit miktarları [15]

Bitki türü	Yapısı	Fitik asit (%)
Pirinç	Kepek	5.88
Susam	Kuru tohum	4.71
Bal kabağı	Embriyo	4.08
Keten tohumu	Kuru tohum	3.36
Kanola	Kuru tohum	2.50
Ayçiçeği	Embriyo	2.10
Hardal	Kuru tohum	2.00
Kaju	Embriyo	1.97
Kendir	Kuru meyve	1.74
Yerfıstığı	Kabuklu tohum	1.70
Domates	Tohum	1.66
Soya fasulyesi	Kuru tohum	1.55
Badem	Kuru embriyo	1.42
Patlıcan	Tohum	1.42
Fasulye	Kuru tohum	1.41
Antepfıstığı	Embriyo	1.38
Kavun	Tohum	1.36
Kivi	Taze meyve	1.34
Bakla	Kuru tohum	1.11
Salatalık	Çimlenmemiş tohum	1.07
Sorgum	Kuru tane	1.06
Kakao tanesi	Kuru tohum	1.04
Arpa	Kuru tane	1.02
Yulaf	Kuru tane	1.02
Buğday	Kuru tane	1.02
Bezelye	Kuru tohum	1.00



Şekil 1. Myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hekzafosfat 'Fitik Asit' [16]

Fitik asit heksahidrik siklik alkol mezo-inositolün hekzafosforik esteridir. Fitik asitin tuzları fitat olarak tanımlanmaktadır. Fitat tohum çimlenmesi için fosfor ve enerji kaynağı olarak görev yapmasına rağmen, bağlı fosfor; insanlar, köpekler, domuzlar, kuşlar ve agastrik hayvanlarda bağırsak sindirim enzimi olan fitazın bulunmayışından dolayı çok az miktarda kullanılabilir [14]. Kanatlı, domuz ve balık rasyonlarında fitat fosforunun kullanılmayışından dolayı, bu canlıların yemlerine pahalı bir mineral olan fosfor ilave edilmektedir [17]. Bununla beraber bitkisel yemlerde bulunan ve kullanılmayan fitat fosforu gübre ile dışarı atılmaktadır. Bunun sonucunda yoğun hayvan yetiştiriciliği yapılan alanlarda çevresel kirlilik meydana gelmektedir. Topraktaki fazla fosfor göl ve denizlere taşınarak, bu çevrelerde fosfat kirlenmesine sebep olmaktadır [10, 9] ve akuatik organizmaların aşırı şekilde

artmasını uyararak su ekosisteminin bozulmasına ve insanlar için zararlı hale gelmesine sebep olabilmektedir [18].

Fitik asit merkez inositol halka yapısının etrafında bulunan altı fosfat grubundan oluşan ve geniş bir pH aralığında yüksek derecede negatif yüklü olan bir iyon dur. Oldukça negatif yüklü bir molekül olmasından dolayı divalent ve trivalent katyonlar (Ca^{+2} , Mg^{+2} , $Fe^{+2/+3}$, Zn^{+2} , Mn^{+2}) için çok yüksek afiniteye sahiptir. Bu pozitif yüklü iyonlarla şelat oluşturarak insanlar ve diğer monogastrik hayvanlarda ince bağırsakta metallerin emilimini azaltıp biyoyararlılığını negatif yönde etkilemektedir (Şekil 2) [19, 20]. Gelişmekte olan ülkelerde insanlardaki kalsiyum, demir ve çinko gibi minerallerin eksikliğinin yaygınlaşması, insan beslenmesinde kullanılan bitki kökenli temel gıdalar

yalıyla alınan fosfat ve diğer mineralleri bağlayan fitata dayandırılmaktadır. İnsanların gastrointestinal kanallarında yeterli düzeyde fitaz aktivitesi bulunmadığı için fitata bağlı mineraller emilmeden dışarı atılmaktadır [21].

Fitat; düşük ve yüksek pH değerlerinde non-spesifik fitat-protein kompleksleri oluşturmaktadır. Bu kompleks oluşumlar proteinlerin yapısını değiştirmekte ve sindirim enzimlerinin (α -amilaz, pepsin, tripsin gibi endojen proteazlar) proteinleri tanımasını engelleyerek proteinleri proteolitik sindirime karşı dirençli hale getirmektedir. Monogastrik hayvanlardaki düşük büyüme performansının ana nedeni olarak fitat içeren yemlerle beslenmeleri gösterilmektedir. Fitat karbonhidratlarla da kompleks oluşturmaktadır ve bu kompleksler karbonhidratları daha az parçalanabilir hale getirmektedir [14].

Ayrıca amilaz aktivitesi fitatın Ca^{+2} iyonu ile kompleks oluşturmasından dolayı inhibe olur ve bu da karbonhidrat parçalanmasını düşürücü etki yapmaktadır. Diğer taraftan diyabet hastaları tarafından tahıl ve baklagil içerikli diyetlerin uygulanması karbonhidratların glukoza dönüşümünün azalmasından dolayı düşük glisemik indekse sebep olmakta ve kan şekerinin kontrol altında tutulmasını kolaylaştırmaktadır. Fitat diğer besin öğeleriyle olduğu gibi lipidler ile de kompleks oluşturmakta ve lipofitini meydana getirmektedir. Bu da bağırsaklarda metalik bir sabun oluşturarak lipidlerin yararlanabilirliğini azaltmaktadır [14].

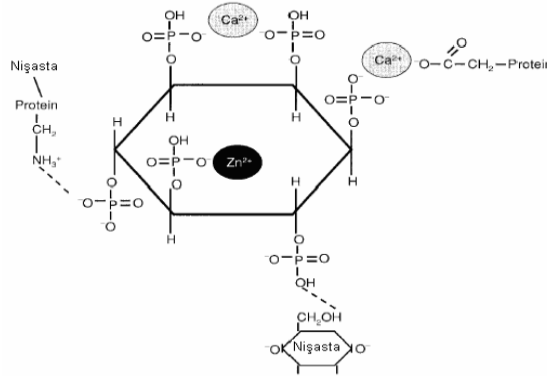
Fitik asitin negatif etkilerinin yanında antikanserojenik (kolon kanseri, göğüs kanseri, prostat kanseri, karaciğer kanseri, rabdomiyosarkom, pankreas kanseri, kan ve kemik iliği kanseri), antimutajenik, antioksidan,

hipolipidemik, hipokolesterolemik, pıhtılaşmayı önleyici, diş çürümesini önleyici, böbrek taşı oluşumunu önleyici, kolestrolü düşürücü, Parkinson ve Alzheimer hastalığının tedavisinde yardımcı, HIV, obezite, diyabet ve kalp rahatsızlıkları gibi hastalıkları önleyici etkileri olduğunun düşünülmesi nedeniyle gıdalardaki yüksek fitik asit içeriğinin göz önünde tutulması gereği ön plana çıkmaktadır [22, 14].

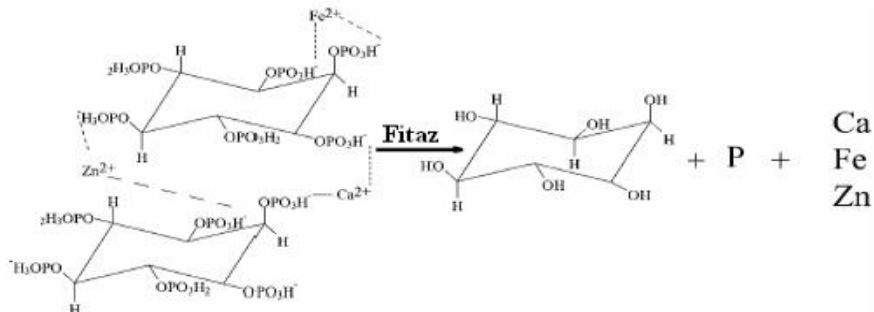
Fitin fosforunun kullanılabilir hale gelmesi için fitik asit molekülünün hidrolize olması gerekmektedir. Fitin fosforunun hidrolizi; pişirme ve otoklavlama, bitkisel endojen fitaz enziminin zengin gıdaları kullanma, ıslatma, çimlendirme, depolama, dış kabuğun soyulması için öğütme gibi yöntemlerle gerçekleştirilmektedir [24]. Ayrıca fermentasyon işlemi sırasında maya ve laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan fitaz enzimi de yem ve yiyeceklerdeki fitat miktarını düşürmektedir (Şekil 3) [25].

FİTAZLARIN SINIFLANDIRILMASI

Fitatı parçalayan enzimler IUPAC-IUB (International Union of Pure and Applied Chemistry and the International Union of Biochemistry) tarafından iki sınıfa ayrılmıştır: Fitatın D3 pozisyonundaki ortofosfatı uzaklaştıran 3-fitaz (myo-inositol-hekzakisfosfat 3-fosfohidrolaz, EC 3.1.3.8) ve myo-inositol halkasındaki L-6 (D-4) pozisyonundaki defosforilasyonu sağlayan 6-fitaz (myo-inositol-hekzakisfosfat 6-fosfohidrolaz, EC 3.1.3.26). Mikrobiyal fitazlar genellikle 3-fitaz sınıfında yer alırken bitkisel kökenli fitazlar 6-fitaz sınıfında yer almaktadır [26, 10, 11].



Şekil 2. Fitik asit şelatının kimyasal yapısı [23]



Şekil 3. Fitatın fitaz enzimi ile inositol, fosfat ve diğer elementlere hidrolizi [18]

Fitaz enzimleri; optimum pH'larına göre alkali veya asit fitazlar, katalitik mekanizmalarına göre histidin asit fosfatazlar (HAF), β -pervane fitazlar (BPFhy), sistein fosfatazlar (SF) veya mor asit fosfatazlar (MAF) ve fitat hidrolizinin stereospesifitesine göre 3- veya 6- fitazlar olarak gruplandırılmaktadırlar [11].

Histidin Asit Fosfatazlarının (HAF) bütün üyeleri genel bir katalitik mekanizma ve genel bir aktif bölge motifi gösterirler. Bu tipteki fitazların aktif bölgeleri 3 boyutlu katlanmalar sırasında amino asit dizisinin N ve C- uçlarının bir araya gelmesi ile oluşmaktadır. Bu uzak diziler bir araya gelerek tek bir katalitik merkez oluşturmakta ve bu da fosfomonoesterlerin iki adımda hidrolizlenmesi reaksiyonunu başlatmaktadır. Hem prokaryotik hem de ökaryotik histidin asit fitazlar (HAFhy) bilinmektedir. En çok bilinen prokaryotik HAFhy *Escherichia coli* fitazı, ökaryotik HAFhy ise *Aspergillus niger* ve *A.fumigatus* fitazlarıdır. Fungal fitazların doğru katlanmaları glikozilasyon ve disülfid bağları ile gerçekleşmektedir [11].

Bacillus amyloliquefaciens'in termostabil fitazının moleküler yapısı tanımlanmıştır. Bu fitat parçalayan enzim HAFhy sınıfından değildir. Ve hiçbir bilinen fosfataz grubuna girmeyen bir yapı göstermesinden dolayı az rastlanan yeni bir enzim sınıfı oluşturmaktadır. β -pervane fitaz ismi enzimin moleküler yapısının çoğunlukla β -yaprağından (β -sheet) oluşması ve beş yapraklı pervaneyeye benzemesinden gelmektedir [11].

Anaerobik Rumen bakterisi olan *Selenomonas ruminantium*'un sahip olduğu fitaz sistein fitaz grubundandır. Bu tip fitazların en önemli özelliği aktif bölgelerinin substrat spesifikliği sağlayan geniş ve derin bir cep halinde olmasıdır. Bu derin ve geniş cep fitik asitin tamamen fosforillenmiş olan inositol gruplarını içine alabilmektedir. Bu oldukça yüksek kapasiteli elektrostatik çevre bu gruptaki diğer enzimlerin aksine substrat olarak fitata uyum sağlamaktadır [11].

Mor Asit Fosfatazların (MAF) tüm üyeleri özel 7 metal-ligand aminoasit seti içeren metallofosfoesteraz sınıfındadırlar. Bitkilerde, hayvanlarda, funguslarda ve bakterilerde bulunan geniş bir fosfataz grubudur. HAF ve SF lerde olduğu gibi bu gruptaki enzimlerin tümü substrat olarak fitatı kullanamamaktadırlar. Mor asit fitazların moleküler yapısı halen tam olarak aydınlatılmamıştır [11].

FİTAZ KAYNAKLARI

Genel olarak dört fitaz kaynağı vardır bunlar: bitkisel fitazlar, mikrobiyal fitazlar (fungal ve bakteriyel fitazlar), insanlar ve hayvanlarda ince bağırsak mukozasından salgılanan fitazlar ve kalın bağırsak ile ilişkili mikroflora tarafından endojen olarak üretilen fitazlardır [14]. Bu enzimlerin içerisinde endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalar için en uygun olanların mikrobiyal fitazlar olduğu bildirilmiştir [27, 11, 28].

Bitkisel Fitazlar

Fitaz enzimi, birçok bitkisel kaynaklardan izole edilip tanımlanmıştır. Bu kaynaklardan bazıları; pirinç, kolza

tohumu, soya fasulyesi, mısır, buğday ve çavdardır. Bu bitkilerin yanında beyaz hardal, patates, marul, ıspanak, turp, çimen ve zambak poleninden de fitaz elde edilmiştir. Ayrıca çavdar ve tritikale (buğday×çavdar melezi) gibi bitkisel kaynaklar asit fosfataz aktivitesine sahiptir. İstenilen özelliklere sahip fitaz kodlayan mikrobiyal genler, verimli fitaz düzeylerini arttırmak için bitkilerin içerisine konulup çoğaltılabilmektedir [14]. Genel olarak fitaz kodlayan genler, özellikle *A. niger*, *Bacillus subtilis*, *A. fumigatus*, *E. coli* ve *Schwanniomyces occidentalis*'den elde edilmiştir. Bu genler çeşitli bitkilere aktarılarak verimli derecede fitaz üretebilen transgenik bitkiler elde edilmiştir [27].

Mikrobiyal Fitazlar

Mikrobiyal fitazlar funguslar, bakteriler, mayalar ve protozoonlardan izole edilmiştir [29]. Bu organizmalar içerisinde en yüksek fitaz aktivitesi funguslarda özellikle *Aspergillus* türlerinde belirlenmiştir (Tablo 2) [11]. Yapılan bir tarama çalışmasında fitaz üretimi için topraktan 2000'den fazla mikroorganizma izole edilmiş ve elde edilen fitazlar içerisinde az sayıda görülen ekstraselüler fitaz üreticilerin filamentöz funguslar olduğu gözlenmiştir [30]. Mikrobiyal fitaz enzimlerin birçoğu histidin asit fosfataz veya alkali fitaz alt ailesine bağlıdırlar ve kinetik, steriyospesifik ve biyokimyasal olarak önemli varyasyonlar göstermektedirler [11].

Bakterilerden izole edilen fitazlar glikozillenmemiş histidin asit fosfatazlar veya β -pervane yapısındaki alkali fitazlardır [11]. Bakteriler arasında *E.coli*, *B. subtilis*, *Klebsiella terringa*, *Lactobacillus sp.*, *Pseudomonas spp.* büyüme evresinde ekstraselüler fitaz üreterek fitatı indirgeyebilirler [14]. Ayrıca *Aerobacter aerogenes* [32] *Raoultella sp.* [19], *Citrobacter braakii* [33], *Enterobacter* [34] ve anaerobik rumen bakterilerinden özellikle *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii*, *Prevotella sp.*, *Mitsuokella multiacidus* [35] ve *Mitsuokella jalaludinii*'nin [36] de fitaz ürettikleri saptanmıştır.

1984'de ilk rapor edilen fitaz mayadan elde edilmiştir [37]. Daha sonra birkaç maya suşunun fitatı hidroliz etme yeteneği olduğu gözlenmiştir. Maya fitazları arasında *Saccharomyces cerevisiae* özellikle ekmek yapımında büyük öneme sahiptir. *Pichia anomala* ve *Candida krusei* WZ-001'den hücreye bağlı fitazın üretimini bildirmiştir [38, 39]. Yüksek sıcaklık ve pH'da bile değişmeden aynen stabil kalmalarından dolayı bu gibi fitazlar gıda uygulamalarında büyük öneme sahiptirler. *P. anomala* [40], *Schwanniomyces castellii* [41] ve *Lactobacillus sanfranciscensis* [42]'den izole edilen fitazlar yüksek sıcaklıklara direnç göstermektedirler. Rekombinant teknolojisi aracılığıyla *E.coli* fitazının termal stabilitesinin artırılmasında, maya olan *Pichia pastoris* kullanılmıştır [43]. Fitaz üreten denizel mayaların da olduğu rapor edilmiştir. Bu deniz mayaları henüz tam olarak karakterize edilmemiştir. Ancak filogenetik olarak *Hanseniaspora uvarum*, *Yarrowia lipolytica*, *Kadamaea ohmeri*, *Candida tropicalis* ve *C. carpophila* ile ilişkili oldukları, alkali fitaz üretebildikleri ve böylece denizel fosfor kirliliği biyoremediasyonunda uygulanabilecekleri ön görülmektedir [44].

Tablo 2. Çeşitli mikrobiyal fitazlar ve biyokimyasal özellikleri [31]

Kaynak	MA(kDa)	Opt T(C°)	Opt pH	Km(mM)	pI	Spesifiklik
Fungi						
<i>Aspergillus fumigatus</i>	75	58	5	-	-	-
<i>A. niger</i>	85	58	2.5-5.0	0.04	4.50	P
<i>A. niger</i> SK-57	60	50	5.5-2.5	0.0187	-	P
<i>A. niger</i>	353	50	2.5	0.606	-	P
<i>A.oryzae</i>	120-140	50	5.5	0.33	4.15	B
<i>A.nidulans</i>	77.8	55	5.5	-	-	-
<i>Rhizopus oligosporus</i>	-	55	4.5	0.15	-	-
<i>A.niger</i> ATCC9142	84	65	5	0.1	-	B
<i>Rhizopus oligosporus</i>	124	65	5	0.01	-	B
<i>Peniophthora lycii</i>	72	50-55	4-4.5	-	3.61	-
<i>Ceriporia sp.</i>	59	55-60	5.5-6.0	-	7.36-8.01	-
<i>Agrocybe pediades</i>	59	50	5.0-6.0	-	4.15-4.86	-
<i>Trametes pubescens</i>	62	50	5.0-5.5	-	3.58	-
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	60	65	7	0.11	4.7-5.2	B
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	-	55	-	-	-	-
<i>Rhizomucor pusillus</i>	-	70	5.4	-	-	B
<i>Myceliophthora thermophila</i>	-	37	6	-	-	B
<i>Sporotrichum termophile</i>	456	60	5.5	0.15	4.9	B
Mayalar						
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	45	4.6	-	-	-
<i>Schwanomyces castellii</i>	490	77	4.4	0.038	-	B
<i>Arxula adenivorans</i>	-	75	4.5	0.25	-	B
<i>Candida krusei</i> WZ001#	330	40	4.6	-	-	-
<i>Pichia anamola</i> #	64	60	4	0.2	-	B
<i>P. rhoanensis</i>	-	70-75	4.0-4.5	0.25	-	-
<i>P. spartnae</i>	-	75-80	4.5-5.0	0.33	-	-
Bakteriler						
<i>Aerobactor aerogens</i> *	-	25	4.0-5.0	0.135	-	-
<i>Bacillus sp.</i> DS11	-	70	7	0.55	5.3	P
<i>Bacillus subtilis</i>	37	60	7.5	0.04	-	-
<i>B. subtilis</i> (natto)	38	60	6.0-6.5	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	43	55	7.0-7.5	-	6.5	P
<i>B. subtilis</i>	44	55	6.0-7.0	-	5	P
<i>B. licheniformis</i>	47	65	6.0-7.0	-	5.1	-
<i>B. amyloliquefaciens</i>	44	70	7.0-7.5	-	-	-
<i>Esherichia coli</i> *	42	55	4.5	0.3	6.3-6.5	P
<i>Klebsiella oxytoca</i>	40	55	5.0-6.0	-	-	-
<i>K. aerogenes</i>	700	65	4.5	-	3.7	P
<i>Pseudomonas syringe</i> *	47	40	5.5	0.38	-	P
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> *	50	45	4	-	5	-

[Fitaz konumu: (*)intraselüler, (#)hücreye bağlı, () ekstraselüler; B:geniş spektrum, P: fitat spesifik]

Filamentli funguslardan izole edilen fitazlar genellikle 3-fitazlardan olup histidin asit fosfatazlarıdır. Glikozillenmiş olan bu fitazlar, geniş bir çeşitliliğe sahip olan substrat

grubunda aktiftirler. Günümüzde ticari olarak fitaz enzimi üretiminde toprak fungusu olan *Aspergillus* cinsi üzerinde durulmaktadır. Yaygın olarak kullanılan, ticari

amaçlı üretilen fitaz kaynakları *A. niger*, *A. ficuum*, *A. fumigatus*'dur [45]. *A. niger* PhyA ilk karakterize edilen ve ticarileştirilen fitaz enzimidir. 1.4 kb'lık DNA fragmentince kodlanan bu enzim 80 kDa moleküler ağırlığındadır. Fitik aside karşı yüksek bir afiniteye sahip olup çift optimum pH'lı (2.5 ve 5.0-5.5) ve 55-60°C optimum sıcaklığa sahiptir [46].

Fitaz geni üzerinde yapılan dizi analizi ve blast çalışmaları ile *Aspergillus fumigatus* fitazının, *A. niger* fitazı ile %66 dizi benzerliği göstermesine karşılık sıcaklık toleransının daha iyi olduğu belirtilmiştir [47, 48]. Bu termotoleransın ısı denatürasyonundan sonra yeniden katlanma yeteneğinin yüksek olması ile alakalı olduğu bildirilmiştir. Termotoleransın ısı uygulamalarındaki tamponların spesifikliği ile de ayarlanabileceği kaydedilmiştir. Enzim geniş bir pH aralığına sahiptir ve az fosforillenmiş inositolfosfatlara karşı oldukça aktiftir. Buna karşın, fitata karşı spesifik aktivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir [11]. *A. fumigatus*, *Emericella nidulans*, *Myceliophthora thermophila* fitazlarının birçok fosfatlı bileşikler üzerinde önemli ölçüde aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [45]. Quan ve arkadaşları [49] hava kaynaklı fungus *Cladosporium sp.* FP-1'den düşük moleküler ağırlıklı (32.6 kDa) fitaz izole etmişlerdir. Bu enzim glikozillenmiş olup, optimum pH'sı 3.5, optimum sıcaklığı 40°C olarak belirlenmiştir [49]. Neves ve arkadaşları [50] tarafından *Lichtheimia blakesleeana*'nın fitaz ürettiği saptanmıştır [50]. Ayrıca endofitik funguslardan olan *Fusarium verticillioides* ve *Rhizoctonia sp.*'nin de fitaz üreticisi oldukları belirlenmiştir. *Fusarium verticillioides* fitazının karakterizasyonu sonucunda; sıcaklık optimumunun 50°C olduğu ve 60°C kadar stabil kalabildiği, optimum pH'sının ise 5.0 olduğu saptanmıştır [51].

Basidiomyceteler üzerine yapılan bir çalışmada bunların fitazlarının 6-fitazlar (EC 3.1.3.26) olarak gruplandırılabilirliğini gösterilmiştir. Ayrıca *Peniophora lycii* fitazı dışındakilerin optimum sıcaklıklarının 40-60°C, pH larının ise 5.0-6.0 arasında olduğu ortaya konmuştur [52]. *P. lycii* phyA fitazı ticari olarak kullanılmaktadır ancak yüksek sıcaklık uygulamalarına ve proteazlara hassas olduğu düşünülmektedir [53]. Birçok tür ekstraselüler fitaz aktivitesi için test edilmiş ve *Calcarisporiella thermophila*, *Chaetomium thermophilum*, *Corynascus thermophilus*, *Myceliophthora thermophila*, *Talaromyces thermophilus*, *Thermomucor indicae-seudaticae*, *Malbranchea cinnamomea*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizomucor miehei* termofilik funguslarının fitaz ürettikleri saptanmıştır [54, 20].

Dejenere primerlerle yapılan PCR, dizi analizi ve blast çalışmaları sonucunda *Myceliophthora thermophila* fitaz geninin *A. niger* fitaz geni ve diğer histidin asit fosfatlar ile yüksek oranda dizi benzerliği gösterdiği ortaya konmuştur [55]. Termofilik fungus *Thermomyces lanuginosus*'tan izole edilen fitaz geni moleküler olarak tanımlanmış ve *A. niger* ile karşılaştırıldığında daha yüksek termostabilite, katalitik verim ve yüksek geçiş sıcaklığına sahip olduğu bildirilmiştir [54, 20].

FİTAZLARIN KULLANIM ALANLARI

Yem Katkısı Olarak Kullanımı

Ruminantlar, rumenlerindeki mikrobiyal flora ile üretilen fitazlarla fitatı parçalarlar. Fitazların yardımıyla fitattan hidrolize olan inorganik fosfat hem mikroflora hem de ruminantlar tarafından kullanılmaktadır. Bu durum monogastrik hayvanlarda farklıdır. Domuz, balık, kümes hayvanları gibi monogastrikler, fitik asidi metabolize edemezler. Çünkü gastrointestinal fitazları yoktur. Dolayısıyla bunların fosfat ihtiyacını karşılamak için yemlerine inorganik fosfat eklenmektedir. Bu da maliyeti ve fosfat kirlilik problemlerini arttırmaktadır. Hayvan yemlerine fitaz eklenmesi fosfatın yem malzemesi içine geçmesini sağlamak ve gübredeki fosfat miktarını azaltmaktadır [10, 9].

Domuzların mısır ve buğday içeren yemlerine eklenen mikrobiyal fitazın P kullanılabilirliğini sırasıyla %38 ve 12 oranında arttırdığı [56] ve gübreye geçen fosfat miktarını ise %60 oranında azalttığı bildirilmiştir [57]. Büyümekte olan domuzlarda yapılan bir çalışma mısır ve soya fasulyesi içerikli yemlere mikrobiyal fitaz eklenmesiyle Zn gereksiniminin 1/3 oranında düştüğünü göstermiştir [58]. Broiler piliçlerinin beslenmelerinde de fitaz kullanımının aminoasit, Ca, Na, sialik asit ve fitat fosforunun çevreye salınımını belirgin şekilde azalttığı bildirilmiştir [59]. Su ürünlerinin üretiminde daha ucuz olduğu için bitki kaynaklı proteinler tercih edilmeye başlandığından beri sucul ortamlarda çevresel P kirliliği ön plana çıkmıştır. Balıkların basit midelerinden dolayı bu yemlerin defitinizasyonunun şart olduğu ve fitaz enziminin yetiştirilen balık türüne göre değişen pH ve sıcaklık değerlerine olan hassasiyeti ortaya konmuştur [60]. Ticari olarak kullanılan 4 adet fitaz enziminin hayvan yemi üretiminde karşılaşılabilecek ekstrem sıcaklık ve pH gibi koşullarda aktivitelerini büyük oranda kaybettikleri belirlenmiştir [61]. Çiftlik hayvanlarının yemlerinde *A. niger* fitazının başarılı bir şekilde kullanılabildiği rapor edilmiştir [62].

Gıdalarda Kullanımı

Fitaz enzimi yem katkısı olarak kullanılmasına ek olarak gıda sanayinde de büyük potansiyele sahiptir. Tahıl, legüm ve soya proteinlerince zengin beslenme, fitat alımında artışa neden olmaktadır. Vejeteryanlar, dengesiz ve yüksek oranda tahıl ile beslenenler, gelişmemiş ülkelerde mayasız ekmeğe tüketen insanlar ve soya kaynaklı mama tüketen bebekler fazla oranda fitat almaktadır [63]. İnce bağırsakta parçalanmamış fitat Zn, Ca, Mg ve Fe absorpsiyonunu negatif olarak etkilemektedir. Ayrıca sindirim enzimlerini ve bazı proteinleri de inhibe etmektedir. Tüm bu sebepler nedeniyle, gıda alanındaki çalışmalar, gıda işlemedeki geliştirilmenin yanı sıra bitki kökenli gıdaların daha besleyici hale getirilmesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Ekmeğe yapım aşamalarında fitaz kullanımında başarılı sonuçlar elde edilmiştir [64]. Haros ve arkadaşları [65] tarafından yapılan çalışmada, fungal fitazların tam buğday ekmeğinin fermantasyonuna ve oluşan ekmeğin kalitesine olan etkilerine incelenmiştir. Fitazın ekmeğe yapımında oldukça olumlu etkilerinin olduğunu, ekmeğe

yapım süresinin kıaldığını, ekmek miktarının arttığını, fitatin parçalanması ile besinsel bileşimin arttığını, fitazların endojen α -amilazı aktif hale getirmesi ile α -amilazdan faydalanılmasının sağlandığını ortaya koymuşlardır [65]. Tarhanalar üzerine yapılmış olan bir çalışmada ise fitaz enzimi, maya ve malt unu kullanılarak yüksek kaliteli undan hazırlanan tarhanaların bazı besinsel özellikleri araştırılmıştır. Parametre olarak fermentasyon kaybı, ham kül, ham protein ve bunların sindirilebilirlikleri kullanılmıştır. Fitaz enzimi fermentasyonun kül sindirilebilirlik oranını artırıcı yönde etki etmiştir [66]. Gıdaların işlenmesi sırasında fitaz ilavesi soya sütü gibi içeceklerin yapımında, tahıl kepeklerini parçalamada, bitkisel protein izolatlarının ve mısır ıslatma sıvısının hazırlanmasında kullanılmaktadır [27].

Myo-İnositol Fosfatların Hazırlanmasında Kullanımı

Çeşitli inositol fosfatların hazırlanmasının temel sebebi, transmembran sinyalizasyonunda ve hücrelerarası kaynaklardan kalsiyumun hareketini sağlamada büyük rol oynayan inositol fosfatlar ve fosfolipidlerin ön plana çıkması olarak görülmektedir. Ayrıca myo-inositol fosfatların artrit ve astım gibi solunum hastalıklarını engellediği düşünülmektedir. Ayrıca spesifik inositol-trifosfatların ağrı kesici olarak kullanılması da önerilmiştir [67]. İlginç olarak inositol-trifosfat esterlerinin HIV'ı da içine alan retroviral enfeksiyonlara karşı inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiştir [68]. Bu tip etkilerinden dolayı spesifik myo-inositol fosfatların kullanılmasına olan ilgi artmıştır. Myo-inositol fosfatların kimyasal sentezi oldukça zordur ve oldukça ekstrem basınç ve sıcaklıkların uygulanması gerekmektedir [69]. Fitazlar, myo-inositol heksafosfatın sıralı hidrolizini sağladığı için, myo-inositol fosfat türevleri ve serbest myo-inositolün fitaz kullanılarak üretilmesi kimyasal senteze potansiyel bir alternatiftir. *Saccharomyces cerevisiae* fitazının, fitik asidi hidroliz etmesiyle; D-myoinositol 1, 2, 6-trifosfat, D- myo-inositol 1, 2, 5-trifosfat ve myo-inositol 1, 2, 3-trifosfatın elde edilebileceği gösterilmiştir [70].

Kağıt Hamuru ve Kağıt Endüstrisinde Kullanımı

Kağıt hamuru ve kağıt endüstrisinde, bitki fitik asitinin uzaklaştırılması önemlidir. Termostabil fitaz, kağıt hamuru ve kağıt yapımı süresince fitik asiti parçalamada kullanılan yeni biyolojik ajandır. Fitik asitin enzimatik parçalanması ile mutajenik ve çok zehirli yan ürünler meydana gelmez. Bundan dolayı kağıt hamuru ve kağıt yapımında fitazların kullanımı, temiz teknolojilerin gelişmesine yardımcı olmakla beraber çevreyi koruma açısından da önem taşımaktadır [71].

Toprak İyileştirmede Kullanımı

Bazı topraklarda, fosfatın organik formları olan inositol penta- ve heksakisfosfatlar toplam organik fosforun %50'sini oluşturabilmektedir [72]. Topraktaki organik fosfatın çeşitli bileşiklerle kompleksler oluşturması onun kalitesini ve kullanılabilirliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Fitaz enzimi inorganik fosforun

dönüşümünde ve bitkiler tarafından kullanılabilir hale gelmesinde oldukça önemlidir. Mısır bitkisi için topraktaki fitik asitten fosforun kullanılabilmesinde fitazın etkisi araştırılmıştır. Araştırmacı, toprağa fitaz ilave edildiğinde fitinin parçalanma oranının artmasına bağlı olarak büyümeyi uyardığını bildirmiştir [73]. Legümlerle yapılmış olan diğer bir çalışmada toprağa fitaz üreticisi *Aspergillus niger* türleri aşılanmıştır. Bu şekilde yapılan üretim sonucunda topraktaki serbest fosfat miktarının arttığı ve gelişimi etkileyen fosfatlı gübrelere ihtiyaç duyulmayacağı belirlenmiştir [74].

SONUÇ

Son yıllarda bilim insanları insan, hayvan beslenmesinde ve sağlığında yine çevre koruma alanında önemi ortaya çıkan fitat ve fitaz enzimi üzerine yoğunlaşmışlardır. Özellikle sağlık alanındaki yararlarını anlatan bazı çalışmalar olmasına karşılık bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Fitaz ve fitatların sağlık, biyoteknoloji ve çevre açısından önemini ortaya koymak günümüzde büyük önem taşımaktadır. Bu derlemede fitatlar, fitaz enzimi ve fitazların sağlık, çevre ve biyoteknolojik önemi üzerinde durulmaya çalışılmış ve bu konudaki çalışmalar gözden geçirilmiştir. Fitaz enzimi kullanılarak fitatları daha yararlı hale getirmek mümkün olabilecektir. Fitaz enzimi kaynaklarına bakıldığında mikroorganizmaların bu alanda kullanılmasının gelecek vaat ettiği düşünülmektedir. Fitaz enziminin çok geniş bir kullanım alanı olmasına karşılık hayvan yemi hazırlamada kullanımı için uygun enzim piyasadan sağlanabilirken gıdalarda kullanılacak formlarının bu kadar yaygın olmadığı görülmektedir. Hâlbuki fitaz enziminin bu alanda büyük bir kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Özellikle sağlık açısından bakılınca kanser, kalp ile ilgili hastalıklarda, diyabet ve böbrek taşlarına karşı koruma göz önüne alındığında önemi daha iyi ortaya çıkmaktadır. Fosforun daha iyi değerlendirilmesi ile çevre kirliliğinin önüne de geçilebilecektir. Ancak bu konuda birçok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Telefoncu, A., 1986. İmmobilize Enzimler ve İmmobilizasyon Yöntemleri. Temel ve Uygulamalı Enzimoloji Biyokimya Lisans Üstü Yaz Okulu, İzmir.
- [2] Shuler, M.L., Kargi, F., 2002. Bioprocess Engineering. 2nd ed. Prentice Hall PTR, USA.
- [3] Gözükara E., 1997. Biyokimya 2. Nobel Tıp Kitapevleri.
- [4] Bailey J.E., Ollis D.F., 1977. Biochemical Engineering Fundamentals. Edited by Mc Graw-Hill, USA.
- [5] Wiseman, A., 1987. Chapter 3. The Application of Enzymes in Industry. Handbook of Enzymes Biotechnology, Ed. by Ellis Horwood Second Edition, Chichester, UK, 274-373p.
- [6] Turner, P., Mamo, G., Karlsson, E.N., 2007. Potential and utilization of thermophiles and thermostable enzymes in biorefining. *Microbial Cell Factories* 6(9): 1-23.

- [7] John, F.K., 1987. Enzyme Technology. Biotechnology 7A, Edited by H.J. Rehm, G. Reed, Lincoln, UK, 37-62p.
- [8] Maheshwari, R., Bharadwaj, G., Bhat, M.K., 2000. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(3): 461-488.
- [9] Lei, X., Blake, J.P., Forsberg, C.W., Fox, D.G., Grabau, E., Mroz, Z., Sutton, A.L., Walker, W.R., Webb, K., Matthews, J.C., Shears, S.B., Veum, T., Bell, A.W., 2006. Animal Agriculture's Future Through Biotechnology. Part 4, CAST Council for Agricultural Science and Technology, Issue paper no: 33.
- [10] Sariyska, M.V., Gargova, S.A., Koleva, A.L., Angelov, A.I., 2005. *Aspergillus niger* phytase: Purification and characterization. *Biotechnol.&Biotechnol. Eq.* 19: 98-105.
- [11] Polaina, J., Maccabe, A.P., 2007. Industrial Enzymes Structure, Function and Applications. *Springer* 641: 505-529.
- [12] Pandey, A., Szakacs, G., Soccol, C.R., Rodriguez-Leon, J.A., Soccol, V.T., 2001. Production, purification and properties of microbial phytases. *Bioresource Technol* 7: 203-214.
- [13] Feil, B., 2001. Phytic acid. *Journal of New Seeds* 3(3): 1-35.
- [14] Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition. *Food Chemistry* 120: 945-959.
- [15] Afinah, S., Yazid, A.M., Anis Shobirin, M.H., Shuhaimi, M., 2010. Phytase: Application in food industry. *International Food Research Journal* 17: 13-21.
- [16] Bohn, L., Meyer, A.S., Rasmussen, S.K., 2008. Phytate: Impact on environment and human nutrition, A challenge for molecular breeding. *Journal of Zhejiang Univ. Sci. B.* 9(3):165-191.
- [17] Wodzinski, R.J., Ullah, A.H.J., 1996. Phytase. *Advances in Applied Microbiology* 42: 263-303.
- [18] Lei, X.G., J.M. Porres., 2003. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnology Letters* 25: 1787-1794.
- [19] Greiner, R., Haller, E., Konietzny, U., Jany, K.D., 1997. Purification and characterisation of a phytase from *Klebsiella terrigena*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 341: 201-206.
- [20] Chadha, B.S., Harmeet G., Mandeep M., Saini, H.S., Singh, N., 2004. Phytase production by the thermophilic fungus *Rhizomucor pusillus*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 20: 105-109.
- [21] Akdeniz, V., Kınık, Ö., Yerlikaya, O., Akan E., 2016. İnsan sağlığı ve beslenme fizyolojisi açısından çinkonun önemi, *Akademik Gıda* 14(3): 307-314.
- [22] Vats, P., Banerjee, U.C., 2004. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. *Enzyme and Microbial Technology* 35: 3-14.
- [23] Kornegay, E.T., 2001. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Ed. by M.R. Bedford, G.G. Partridge, CAB International Publishing, UK, 237-272p.
- [24] Pekşen, E., Artık, C., 2005. Antibesinsel maddeler ve yemeklik tane baklagillerin besleyici değerleri. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* 20(2): 110-120.
- [25] Midilli, M., Muğlalı, H., Alp, M., Kocabağlı, N., Tanör, M.A., Toklu, G.S., 2003. Yeme katılan fitaz enziminin broylerde besi performansı ve mineral dengesi üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 27: 751-759.
- [26] Konietzny, U., Greiner, R., 2002. Molecular and catalytic properties of phytate degrading enzymes (phytases). *Int. J. Food Sci. Technol.* 37: 791-812.
- [27] Grenier, R., Konietzny, U., 2006. Phytase for food application. *Food Technol. Biotechnol.* 44(2): 125-140.
- [28] Bommarius, A.S., Riebel, B.R., 2000. Biocatalysis. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.* 611: 152-158.
- [29] Aşan, M., 2007. Mikrobiyal fitazlar, uygulama alanları ve biyoteknoloji. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi* 13(2): 147-155.
- [30] Shieh, T.R., Ware, J.H., 1968. Survey of microorganisms for the production of extracellular phytase. *Applied Microbiology* 16: 1348-1351.
- [31] Singh B., Kunze G., Satyanarayana T., 2011. Developments in biochemical aspects and biotechnological applications of microbial phytases. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* 6(3): 69-87.
- [32] Greaves, M.P., Anderson, G., Webley, D.M., 1967. The hydrolysis of inositol phosphates by *Aerobacter aerogenes*. *Biochim. Biophys. Acta* 132: 412-418.
- [33] Kim, H.W., Kim, Y.O., Lee, J.H., Kim, K.K., Kim, Y.J., 2003. Isolation and characterization of a phytase with improved properties from *Citrobacter braakii*. *Biotechnol. Lett.* 25: 1231-1234.
- [34] Yoon, S.J., Choi, Y.J., Min, H.K., Cho, K.K., Kim, J.W., Lee, S.C., Jung, Y.H., 1996. Isolation and identification of phytase-producing bacterium, *Enterobacter sp.* 4, and enzymatic properties of phytase enzyme. *Enzyme and Microbial Technol.* 18: 449-454.
- [35] Yanke, L.J., Bae, H.D., Selinger, L.B., Cheng, K.-J., 1998. Phytase activity of anaerobic ruminal bacteria. *Microbiol.* 144: 1565-1573.
- [36] Lan, G.Q., Abdullah, N., Jalaludin, S., Ho, Y.W., 2002. Culture conditions influencing phytase production of *Mitsuokella jalaludinii*, a new bacterial species from the rumen of cattle. *J. Appl. Microbiol.* 93: 668-674.
- [37] Nayini, N.R., Markakis, P., 1984. The phytase of yeast. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 17: 24-26.
- [38] Vohra, A., Satyanarayana, T., 2001. Phytase production by the yeast *Pichia anomala*. *Biotechnology Letter* 238: 551-554.
- [39] Quan, C., Zhang, L., Wang, Y., Ohta, Y., 2001. Production of phytase in a low phosphate medium by a novel yeast *Candida krusei*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 92(2): 154-160.
- [40] Vohra, A., Satyanarayana, T., 2002. Purification and characterisation of a thermostable and acid-

- stable phytase from *Pichia anomala*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18: 687-691.
- [41] Segueilha, L., Lambrechts, C., Boze, H., Moulin, G., Galzy, P., 1992. Purification and properties of the phytase from *Schwanniomyces castellii*. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 74: 7-11.
- [42] De Angelis, M., Gallo, G., Corbo, M.R., Mcsweeney, P.L.H., Faccia, M., Giovine, M., Gobetti, M., 2003. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *Int. J. Food Microbiol.* 87: 259-270.
- [43] Rodriguez Couto S., Rivela, I., Sanroman, A., 2000. Extracellular ligninolytic enzyme production by *Phanerochaete chrysosporium* in a new solid state bioreactor. *Biotechnology letters* 22: 1443-1147.
- [44] Hirimuthugoda, N.Y., Chi, Z., Li, X., Wang, L., Wu, L., 2006. Diversity of phytase-producing marine yeasts. *Ciencias Marinas* 32: 673-682.
- [45] Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Remy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., Lehmann, M., Loon, A.P.G.M.V., 1999. Biochemical characterization of fungal phytase (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Applied and Environmental Microbiology* 65(2): 367-373.
- [46] Han, Y., Wilson, D.B., Lei, X.G., 1999. Expression of an *Aspergillus niger* phytase gene (phyA) in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 1915-1918.
- [47] Pasamontes, L., Haiker, M., Wyss, M., Tessier, M., Loon, A.P.G.V., 1997. Gene cloning, purification, and characterization of a heat-stable phytase from the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1696-1700.
- [48] Wyss, M., Pasamontes, L., Remy, R., Kohler, J., Kuszniir, E., Gadiant, M., Müller, F., Loon, A.P.G.M.V., 1998b. Comparison of the thermostability properties of three acid phosphatases from molds: *Aspergillus fumigatus* phytase, *A.niger* phytase, and *A.niger* pH 2.5 acid phosphatase. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 4446-4451.
- [49] Quan, C.S., Tian, W.J., Fan, S.D., Kikuchi, Y., 2004. Purification and properties of a low-molecular weight phytase from *Cladosporium* sp. FP-1. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 94: 260-266.
- [50] Neves M.L.C., Silva M.F., Souza-Motta C.M, Spier M.R, Soccol C.R, Porto T.S., Moreira K.A., Porto A.L.F., 2011. *Lichtheimia blakesleeana* as a new potential producer of phytase and xylanase. *Molecules* 16: 4807-4817.
- [51] Marlida, Y., Delfita, R., Gusmanizar, N., Ciptaan, G., 2010. Identification characterization and production of phytase from endophytic fungi. *Engineering and Technology* 41: 1043-1046.
- [52] Lassen, S.F., Breinholt, J., Ostergaard, P.R., Brugger, R., Bischoff, A., Wyss, M., Fuglsang, C.C., 2001. Expression, gene cloning, and characterization of five novel phytase from four basidiomycete fungi: *Peniophora lycii*, *Agrocybe pediades*, a *Ceriporia* sp., and *Trametes pubescens*. *Applied and Environmental Microbiology* 67(10): 4701-4707.
- [53] Simon, O., Igbasan, F., 2002. In vitro properties of phytases from various microbial origins. *International Journal of Food Science and Technology* 37: 813-822.
- [54] Berka, R.M., Rey, M., Brown, K.M., Byun, T., Klozt, A.V., 1998. Molecular characterization and expression of a phytase gene from the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*. *Applied and Environmental Microbiology* 64(11): 4423-4427.
- [55] Mitchell, D.B., Vogel, K., Weimann, B., Pasamontes, L., P.G.M., A., Loon, V., 1997. The phytase subfamily of histidine acid phosphatases: isolation of genes for two novel phytases from the fungi *Aspergillus terreus* and *Myceliophthora thermophila*. *Microbiology* 143: 245-252.
- [56] Dungalhoef, M., Rodehutsord, M., Spiekers, H., Pfeffer, E., 1994. Effects of supplemental microbial phytase on availability of phosphorus contained in maize, wheat and triticale to pigs. *Animal Feed Science and Technology* 49(1-2): 1-10.
- [57] Nahm, K.H., 2002. Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 32(1):1-16.
- [58] Revy, P.S., Jondreville, C., Dourmad, J.Y., Nys, Y., 2006. Assessment of dietary zinc requirement of weaned piglets fed diets with or without microbial phytase. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90: 50-59.
- [59] Cowteson, A.J., Acamovic, T., Bedford, M.R., 2004. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids from broiler chickens. *British Poultry Science* 45: 101-108.
- [60] Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z., Li, D., 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 497-507.
- [61] Boyce, A., Walsh, G., 2006. Comparison of selected physicochemical characteristics of commercial phytases relevant to their application in phosphate pollution abatement. *Journal of Environmental Science and Health Part A.* 41: 789-798.
- [62] Vats, P., Bhushan, B., Banerjee, U.C., 2009. Studies on the dephosphorylation of phytic acid in livestock fed using phytase from *Aspergillus niger* van teigem. *Bioresource Technology* 100: 287-291.
- [63] Simell, M., Trunen, M., Piironen, J., Vara, T., 1989. Feed and food applications of phytase, Lecture at 3rd Meet. Industrial Applications of Enzymes, Barcelona, Spain.
- [64] Haros, M., Rosell, C. M., Benedito, C., 2001. Fungal phytase as a potential breadmaking additive. *Eur Food Technol.* 213: 317-322.
- [65] Haros, M., Rosell, C.M., Benedito, C., 2001. Use of fungal phytase to improve breadmaking performance of whole wheat bread. *J Agric Food Chem.* 49(11): 5450-4.
- [66] Bilgiçli, N., Türker, S., 2004. Tarhanada sindirilebilir protein ve kül miktarı üzerine maya,

- malt unu ve fitaz katkılarının etkileri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 18(33): 90-97.
- [67] Siren, M., 1995. Method of Treating Pain Using Inositol Triphosphate. U.S. Patent 5407924.
- [68] Siren, M., 1998. Use of an Ester of Inositoltriphosphate for the Preparing of Medicaments. U.S. Patent 5846957.
- [69] Billington, D.C., 1993. The Inositol Phosphates. Chemical Synthesis and Biological Significance. Verlag Chemie, Weinheim/VCH Publishers, New York, USA.
- [70] Siren, M., 1986, New Myo-Inositol Triphosphoric Acid Isomer. Pat. SW 052950.
- [71] Liu, B., Rafiq, A., Tzeng, Y., Rob A., 1998. The Induction and characterization of phytase and beyond. *Enzyme and Microbial Technology* 22: 415-424.
- [72] Dalal, R.C., 1978. Soil organic phosphorus. *Adv. Agronom.* 29: 83-117.
- [73] Day, P.R., 1996. Genetic modification of plants: significant issues and hurdles to success. *Am. J. Clin. Nutr.* 63: 651-656.
- [74] Naz, F., Maqbool, A., Abdullamalik, K., 2013. Degradation of legume phytate in soil using fungal phytase. *Pak. J. Bot.* 45(3): 1017-1022.
-

Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

Akademik Gıda dergisi gıda bilimi ve teknoloji alanlarında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin www.academicfoodjournal.com web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için ogursoy@yahoo.com e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Çalışmanın özgünlüğü ve çalışma ile ilgili her türlü etik hususdan yazar(lar) sorumludur.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır.

Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

Hızlandırılmış Makale Basımı

Dergide "yayımlanmak üzere kabul edilen makalelerin", derginin takip eden ilk sayısında yayımlanmasını talep eden yazar(lar)ın yayıncı kuruluşa makale başına 750 TL ücret ödemesi gerekmektedir. Bu durum hızlandırılmış basım talebi olmayan makaleler için geçerli olmayıp, Akademik Gıda dergisinde makale basımı için yazar(lar)dan herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz, Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin siyah-beyaz ve yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) *.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayınlandığı dergi isimleri italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F., 2009. İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda* 9(1): 6-12.

Kitap

- [2] Kılıç, S., 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T., 1997. Probiotics and Intestinal Infections. In *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşlı, A., Kınık, Ö., 2004. Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak en geç bir ay içerisinde yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Bu süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, www.academicfoodjournal.com. Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at ogursoy@yahoo.com.

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- Authors are responsible from the originality of the study and all kinds of ethical issues related to their study.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

Accelerated publication of an article

Articles accepted for publication can be published in the first coming issue of the journal at the charge of €200 per manuscript if the authors request accelerated publication.

Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.
2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.
3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.
4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.
5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.
6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution (black and white), and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as *.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

Article

- [1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D., 2011. Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda* 9(2): 6-12.

Book

- [2] Kilic, S., 2001. Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

Book Chapter

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T., 1997. Probiotics and Intestinal Infections. In *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

Proceedings of the Congress-Symposium

- [4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O., 2004. Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office via e-mail within a month.

13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

www.gidakitaplari.com



SİDAS MEDYA

Fevzipaşa Bulv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR

Tel: +90 232 441 60 01 (pbx) Fax: +90 232 441 61 06

info@akademikgida.com

sidasmedya@gmail.com

Sektörel Yayıncılıkta Çağdaş Yaklaşım...



SIDAS MEDYA

Fevzipaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi No:162/302 Çankaya - İZMİR

Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06

www.foodsektor.com

info@foodsektor.com