

GIDA



THE JOURNAL OF FOOD

E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 43

SAYI / NUMBER : 4

YIL / YEAR : 2018

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Editörler / Editors	Danışma Kurulu / Advisory Board
<p>ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p>	<p>Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atila <i>Ankara University, Turkey</i></p>
<p>Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p>Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org</p> <p>Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli</p> <p>Hazırlayan / Prepared Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 08 2018</p>	

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Uzuner, S. *Effect of crude pectinase on apple juice quality characteristics by desirability approach* / İstenebilirlik yaklaşımı ile elma suyu kalite özellikleri üzerine ham pektinaz enziminin etkisi **558-568**

Altay, İ., Lokumcu Altay, F. *Tribology of pekmez (grape molasses)-tahin (sesame paste) mixtures* / Pekmez-tahin karışımlarının tribolojisi **582-590**

Erkaya Kotan, T. *Mineral composition and some quality characteristics of ice creams manufactured with the addition of blueberry* / Yaban mersini ilavesiyle üretilen dondurmaların mineral içerikleri ve bazı kalite özellikleri . **635-643**

Aktaş, K., Levent, H. *The effects of chia (Salvia hispanica L.) and quinoa flours on the quality of rice flour and starch based-cakes* / Chia (Salvia hispanica L.) ve kinoa unlarının pirinç unu ve nişasta bazlı keklerin kalitesi üzerine etkileri **644-654**

Ermiş, E., Güneş, R., Zent, İ., Çağlar, M.Y., Yılmaz, M. T. *Characterization of hazelnut milk fermented by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus* / Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ve Streptococcus thermophilus ile fermente edilmiş fındık sütünün karakterizasyonu **677-686**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

İpek, T., Dizlek, H. *Farklı form ve oranlarda yerfıstığı ürünleri kullanılmasının top kek kalitesine etkisi* / The effects of various forms and ratios of peanut products on cupcake quality **591-604**

Şar, T., Yeşilçimen Akbaş, M. B. *cereus biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü* / Control of B. cereus biofilms by citric acid treatments **605-616**

Kılıç, S. *Aromatik bitki ve yağlarının mineral element miktarlarının karşılaştırılması* / Comparison of mineral element amounts of aromatic plant and their oils **617-623**

Söğüt, E., Seydim, A. C. *Uçucu yağ içeren kitosan bazlı filmlerin karakterizasyonu* / Characterization of chitosan based films incorporated with essential oils **624-634**

Keskin, İ., Kocatepe, D., Turan, H., Altan, C. O. Köstekli, B., Ceylan, A., Candan, C. *Marinasyon işlemi sırasında hamside (Engraulis encrasicolus L. 1758) meydana gelen renk değişiminin ve bazı kimyasal parametrelerin belirlenmesi* / The determination of some chemical parameters and color changes of anchovy (Engraulis encrasicolus L. 1758) during the marination process **655-662**

Çelebi Uzkuç, N. M., Şişli, B., Karagül Yüceer, Y., Bayhan, A., Kırca Toklucu, A. *Soğuk maserasyonun Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarının antosiyanin ve uçucu bileşenleri üzerine etkisi* / Effect of cold maceration on anthocyanin and volatile compounds of Karalahna and Cabernet Sauvignon grape musts **663-676**

Diler, M., Akbağ, E., Işık, Avşar Günay, E., Erkeyacan, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. *Isıl işlem ve olgunlaştırma sürelerinin Ezine peynirinde biyojen amin oluşumuna etkileri* / Effects of the duration of heat treatment and ripening on the formation of biogenic amines in Ezine cheese **687-701**

Baykal, H., Karais, K., Çalışkan Koç, G., Dirim S. N. Tarçın, keçiboynuzu ve zencefil ile zenginleştirilerek üretilmiş keçi sütü tozlarının özellikleri / The properties of cinnamon, carob and ginger enriched goat milk powder **716-732**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Öztürk, Z., Tiryaki Gündüz, G. *Gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmaların kullanımı* / Use of probiotic microorganisms for the inhibition of foodborne pathogens **533-548**

Küçük, S. C. Yıbar, A. *D vitamini ile zenginleştirilmiş yoğurdun besin değeri ve metabolik etkileri* / Nutrient value and metabolic effects of vitamin D fortified yogurt **549-557**

Dinçer, C., Topuz, A. *Meyve suyu işlemede ultrases kullanımı* / The use of ultrasound in fruit juice processing . . . **569-581**

Yiğit, G. G., Cerit, İ., Demirkol, O. *Fonksiyonel kakao ve kakao ürünleri* / Functional cocoa and cocoa products **702-715**



GIDA KAYNAKLI PATOJENLERİN İNHİBİSYONUNDA PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN KULLANIMI

Zeynep Öztürk, Gülten Tiryaki Gündüz*

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

Geliş / Received: 20.12.2017; Kabul / Accepted: 29.04.2018; Online baskı / Published online: 26.05.2018

Öztürk, Z., Gündüz, G.T. (2018). Gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmaların kullanımı. *GIDA* (2018) 43 (4): 533-548 doi: 10.15237/gida.GD17112

Öztürk, Z., Gündüz, G.T. (2018). Use of probiotic microorganisms for the inhibition of foodborne pathogens *GIDA* (2018) 43 (4): 533-548 doi: 10.15237/gida.GD17112

ÖZ

Gıda kaynaklı hastalıklar, son 30 yılda bu hastalıkların önemli oranda artması ve ciddi sosyo-ekonomik sorunlara yol açması nedeniyle, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Günümüzde nüfusun yaklaşık dörtte biri gıda kaynaklı hastalıklar açısından daha yüksek risk altındadır. Bu nedenle son yıllarda probiyotik mikroorganizmalar tarafından gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların üremelerinin inhibe edilmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Probiyotik suşlar laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal madde üretimi veya rekabet etme yoluyla patojen bakterilere karşı antagonistik aktivite göstermektedir. Ayrıca, probiyotikler immunoglobulin-A (IgA) salınımını ve makrofajların fagositik aktivitelerini artırarak konak canlıda bağışıklık yanıtını uyarırlar. Bu derleme çalışmasında, probiyotik mikroorganizmaların yararlı etkilerini gösterebilmesi için sahip olması gereken özellikler, probiyotik mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki inhibitif etkileri ve etki mekanizmaları ile ilgili yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Probiyotikler, patojen mikroorganizmalar, antagonistik aktivite

USE OF PROBIOTIC MICROORGANISMS FOR THE INHIBITION OF FOODBORNE PATHOGENS

ABSTRACT

Foodborne illnesses have become a major public health problem around the world in the last 30 years due to a significant increase in these diseases and serious socio-economic problems. Nowadays about one-fourth of the population is at a higher risk for foodborne illnesses. For this reason, studies on the growth inhibition of foodborne pathogens by probiotic microorganisms have accelerated in recent years. Probiotic strains exhibit antagonistic activity against pathogenic bacteria by competition or production of antimicrobial substances such as lactic acid, hydrogen peroxide, diacetyl and bacteriocin. Also, probiotics stimulate the immune response in host by increasing immunoglobulin-A (IgA) secretion and phagocytic activities of macrophages. In this review, the studies on the properties that probiotic microorganisms possess in order to demonstrate beneficial effects, the inhibitory effect of probiotics on foodborne pathogenic microorganisms and their mechanisms of inhibitory activity are examined.

Keywords: Probiotics, pathogen microorganisms, antagonistic effects

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gtgunduz@gmail.com, gulden.tiryaki.gunduz@ege.edu.tr ☎ (+90) 232 311 30 03 📠 (+90) 232 311 48 31

GİRİŞ

Probiyotikler genel olarak, tüketildiğinde sağlığa yarar sağlamaları beklenen mikroorganizmalar (çoğu durumda bakteri) olarak tanımlanmaktadır (Huys vd., 2013; Hill vd., 2014). Geçmişten günümüze kadar çeşitli araştırmacılar tarafından probiyotik tanımları farklı şekillerde yapılmış olup, probiyotikler Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) tarafından "yeterli miktarda tüketildiğinde konak canlılığının sağlığı üzerinde olumlu etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Sağlığa olumlu etkileri nedeniyle probiyotik mikroorganizmaların araştırılması ve kullanılması yönünde artan bir ilgi ortaya çıkmıştır (Toscano vd., 2017). Probiyotikler antibiyotik ve anti-inflamatuvar ilaçların alternatifleri olarak giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Oelschlaeger, 2010).

Probiyotikler, gıdaların yanısıra besin takviyeleri ve ilaç gibi ürünlerde de kullanılmaktadır (Sharma vd., 2014). Probiyotik gıda ürünleri de fonksiyonel gıdalar kategorisinde yer almakta ve toplam fonksiyonel gıda pazarının %60-70'i ile önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Holzapfel, 2006; Sharma vd., 2014). Probiyotik piyasasının yarısından fazlasını gıdalar, yaklaşık %30-40'ını besin takviyeleri ve yaklaşık %10'unu ise ilaçlar oluşturmaktadır (Bansal vd., 2016). 2010 ve 2011 yıllarında, küresel probiyotik satışlarının sırasıyla 21.6 ve 24.23 milyar dolara yükseldiği, 2014 yılında ise probiyotikler için küresel pazarın 62.6 milyar dolar değerinde olduğu ve 2020 yılına kadar 96 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Espitia vd., 2016). Günümüzde en yaygın olarak kullanılan probiyotik bakteriler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan bazı probiyotik bakteriler (Koning vd., 2010; Fijan, 2016a; Fijan, 2016b; Lakshmi vd., 2017)

<i>Lactobacillus</i> türleri	<i>Bifidobacterium</i> türleri
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. reuteri</i>	
<i>L. rhamnosus</i>	
Diğer laktik asit bakterileri	Laktik asit bakterisi olmayanlar
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Bacillus clausii</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Escherichia coli</i> strain Nissle
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	

Potansiyel bir probiyotik suşun yararlı etki gösterebilmesi için, ağız yoluyla alındığında mide asitliği ve safraya karşı tolerans, bağışıklık sistemi modülasyonu, patojenler ile rekabet ve patojen adhezyonunun ve kolonizasyonun önlenmesinde önemli bir özellik olan mukozal ve epitel yüzeylere tutunma, patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite ve safra tuzu hidrolaz aktivitesi gibi özelliklere sahip olmalıdır (Kechagia vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerinde olumlu etki gösterebilmesi için

gastrointestinal epitele tutunup çoğalabilmesi ve kolonize olabilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, probiyotik mikroorganizmaların gıdalarda en az 10^6 - 10^7 KOB/g düzeylerinde bulunması, ayrıca bazı türlerin 10^7 - 10^8 KOB/g düzeyinde aktif olması gerektiği, bazı türlerin ise 10^6 KOB/g gibi daha düşük miktarlarda etkili olabildiği bildirilmiştir (Shortt, 1999; Kılıç, 2001; Erem vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmaların seçiminde; insanlarda kullanıma yönelik suşların tercihen insan kökenli olması, sağlıklı insan

gastrointestinal sisteminden izole edilmesi, patojen olmaması, infektif endokardit veya gastrointestinal rahatsızlıklar gibi hastalıklarla ilişkili geçmişi olmaması, duyarlı bireylerde bağışıklık sisteminin aşırı uyarılmasına neden olmaması ve antibiyotik direnç genleri taşımaması gibi güvenlik unsurlarını içermesi gerekmektedir (Saarela vd., 2000; Pithva vd., 2012; Novik vd., 2014; Sarao ve Arora, 2017). Bu çalışmada, probiyotik mikroorganizmalar, gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki inhibitif etkileri ve patojenlere karşı muhtemel etki mekanizması ile ilgili yapılan çalışmaların araştırılması amaçlanmıştır.

Probiyotik mikroorganizmaların patojen bakteriler üzerindeki etkileri

Probiyotikler konak canlıya çeşitli sağlık yararları sağladığı halde, bu etkileri nasıl gerçekleştirdikleri tam olarak aydınlatılmamış olup, bu konuda çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür (Jensen vd., 2012; Kechagia vd., 2013). Probiyotiklerin, gıdanın besin değerini arttırması, bağırsak sağlığını geliştirilmesi ve antimikrobiyal maddelerin üretimi gibi sağlığa yararlı etkilerinin yanısıra, enfeksiyonu önleyebileceği antimikrobiyal maddelerin üretimi, patojenlerin epitel ve mukozal yüzeylerde adezyon bölgelerine tutunmasının engellenmesi, sınırlı besin maddeleri için rekabet, epitel dokunun patojenler tarafından invazyonunun engellenmesi gibi birçok mekanizma bulunmaktadır (Wan vd., 2016). Probiyotiklerin etki mekanizmalarından biri, hücresel tutunma için probiyotik mücadele anlamına gelen adezyon bölgeleri için rekabettir (Khalighi vd., 2016). Probiyotik suşlar fermentasyon için gerekli olan sınırlı substratlar veya reseptörler için rekabet ederek, patojen organizmaların gelişimini inhibe etmektedir. Bağırsak mukozasının bariyer etkisini güçlendirerek patojen bakterilerin konak hücrelerine tutunmasını önlemektedirler (Hemaiswarya vd., 2013). Bir diğer etki mekanizması ise, mikrobiyal floranın antimikrobiyal bileşiklerin sentezi yoluyla modifikasyonudur. Probiyotikler tarafından üretilen organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosinler ve patojen bakterilerin gelişimini inhibe edebilen biyolojik yüzey aktif maddeler de dahil olmak üzere çeşitli antimikrobiyal bileşikler

patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Kanmani vd., 2013; Hossaina vd., 2017). Özellikle asetik asit ve laktik asit gibi organik asitler, Gram negatif bakterilere karşı güçlü inhibitör etkiye sahiptir ve probiyotiklerin patojenlere karşı inhibitif etkinliğinden sorumlu ana antimikrobiyal bileşikler olduğu düşünülmektedir (Bermudez-Brito vd., 2012). Shokri vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, probiyotik özellikli *Lactobacillus fermentum* L1 ve L2 suşlarının biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki etkisi incelenmiş ve probiyotik kültürlerin hücre içermeyen süpernatantlarının biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ve önceden oluşmuş olan biyofilmin ise % 100 aktivite ile uzaklaştırıldığı ortaya konmuştur. Süpernatant içeriği incelendiğinde ise değişen oranlarda laktik asit, asetik asit, formik asit ve oksalik asit olduğu, ancak bakteriyosin içermediği dolayısı ile antibiyofilm aktivitesinin üretilen asitlerden kaynaklandığı ifade edilmiştir. *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* türlerinin bakteriyosinler ve/veya diğer antimikrobiyal bileşikler ürettiği bilinmektedir. *L. fermentum* tarafından üretilen bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler ile *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* hücrelerinin morfolojik özelliklerinde değişiklikler olduğu, hücre duvarının parçalandığı ve sitoplazmanın hücre dışına çıkarak görünür hale geldiği elektron mikroskobu ile gözlemlenmiştir (Rybalchenko vd., 2015). *Lactobacillus casei* tarafından üretilen LiN333 isimli bakteriyosinin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde inhibitif etkisinin olduğu belirlenmiştir. LiN333'ün 6 saat sonra *E. coli* hücrelerinde hücre duvarında düzensizlikler, hücre duvarı ve zarı arasında boşluklar gözlenmiş ve sitoplazmanın neredeyse kaybolduğu; *S. aureus* hücrelerinde ise nükleoid yapısındaki yoğunlaşmadan dolayı sitoplazmada boşluklar oluştuğu, hücre yüzeyinin düzensiz hale geldiği ve hücre boyutunun küçüldüğü tespit edilmiştir (Ullah vd., 2017). Tavuk kör bağırsağından izole edilen probiyotik özellikteki *Lactobacillus salivarius* SMXD51 suşunun *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *S. aureus* üzerindeki inhibitif etkisin salivarisin SMXD51 olarak isimlendirilen bir bakteriyosin tarafından oluşturulduğu ve tanımlanan bu bakteriyosinin bakterisidal ancak

bakteriyolitik olmadığı belirlenmiştir (Messouadi vd., 2012). Probiyotik organizmalar tarafından üretilen hidrojen peroksit, diasetil ve kısa zincirli yağ asitleri gibi bileşikler ile mikrofloranın yararlı şekilde modifikasyonu sağlanmaktadır (Hawrelak, 2013). Ayrıca probiyotik mikroorganizmalar epitel ve dendritik hücreler, monositler/makrofajlar ve lenfositler ile etkileşime girerek immünomodülatör etki yapabilmektedir (Bermudez-Brito vd., 2012). Bu mikroorganizmalar IgA salınımını, doğal katil hücrelerin sayılarını veya makrofajların fagositik aktivitesini artırarak etki gösterebilmektedir (Hawrelak, 2013).

Bağırsak bariyerinin patojen bakterilerce invazyonunun enfeksiyon sürecindeki ilk adım olması nedeniyle, bağırsak mikroflorasının devamlılığı, potansiyel patojen bakterilerin çoğalmasını kontrol ederek, hastalığı önlemede önem arz etmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların, patojenlerin üremesini engellemek ve böylece enfeksiyonları kontrol altına almak veya önlemek için etkili araçlar olabileceği giderek daha fazla kabul görmektedir. Bağırsak epiteline patojen adezyonunun probiyotikler ile engellenmesi, kolonizasyonu ve sistemik enfeksiyonu önleyebilmektedir (Tejero-Sarinera vd., 2012; Bendali vd., 2014). Birçok çalışmada, farklı *Lactobacillus* suşlarının *Salmonella* spp., *E. coli* ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerin adezyonunu inhibe ederek kolonizasyonu azaltabileceği ve enfeksiyonları önleyebileceği gösterilmiştir (Potočnjak vd., 2017). Bendali vd. (2014) yenidoğan dışkılarından izole edilmiş *L. paracasei* suşunun ve hücre içermeyen kültür süpernatantının antilisterial aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada, *L. paracasei* kullanımı ile, *L. monocytogenes*'in Caco-2 hücrelerine invazyonunun inhibe edilebildiği, *L. paracasei* bakteriyel hücreleri ile *L. monocytogenes*'in inhibisyon seviyelerinin %99.26-99.77 ve *L. paracasei* kültür süpernatantı ile ise %92.90-99.33 arasında değiştiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada *L. monocytogenes*'in adezyon seviyesinin, 2.9 log KOB/mL düzeyinde azaltıldığı ve bu azalmanın, kontrol ile karşılaştırıldığında %98.47'lik bir inhibisyon oranını temsil ettiği belirtilmiştir. Sribuathong vd. (2014) ise çalışmasında *L. plantarum* tarafından

Salmonella Typhimurium'un adezyon oranının, kontrol ile karşılaştırıldığında %100'den %3'e düşürülerek önemli ölçüde azaltıldığını ortaya koymuştur. Bağırsak epitel hücrelerine *S. Typhimurium*'un tutunması üzerine *L. rhamnosus*'un etkilerinin araştırıldığı çalışmada, sadece *S. Typhimurium* inoküle edilen kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, *S. Typhimurium*'un CCD-18Co hücrelerine invazyonunun %54, Caco-2 hücrelerine invazyonunun ise %64 düzeylerine kadar azaldığı tespit edilmiştir (Eom vd., 2015). Probiyotik özellik gösteren *L. bulgaricus*'un *E. coli*'nin Caco-2 hücrelerine tutunmasını yaklaşık %43.5 oranında azalttığı gözlenmiştir ve çalışma sonucunda *L. bulgaricus*'un bağırsaktaki *E. coli* enfeksiyonunu engelleyebileceği önerilmiştir (Abedi vd., 2013).

Son yıllarda probiyotiklerin özellikle gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar üzerine olan antagonistik aktivitesi önem kazanmış, bu konu üzerine çeşitli *in vitro* çalışmalar yapılmış ve halen araştırmalara devam edilmektedir (Çizelge 2). Probiyotik özellikli mikroorganizmaların patojen bakteriler üzerindeki inhibitif etkilerinin araştırılmasında inhibisyon zon çaplarının ve bakteri sayılarındaki azalmanın belirlenmesi için probiyotik hücrelerin bulunduğu ortamda veya süpernatantın etkisi üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Tejero-Sariñena vd. (2012), *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait seçilmiş on beş probiyotik suşun, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Clostridium difficile*'ye karşı antagonistik özellikli aktif bileşikler üretebildiklerini göstermişlerdir. *Bifidobacterium breve*'nin, *Bifidobacterium* spp. arasında en güçlü etkiyi gösterdiği, buna karşılık *Bifidobacterium infantis*'in hemen hemen hiçbir etki göstermediği tespit edilmiştir. *L. acidophilus*, *L. casei* Shirota ve *L. rhamnosus* suşlarının *E. coli* 0157:H7 üzerine inhibisyon etkileri araştırılmış ve kullanılan probiyotik mikroorganizmalar içerisinde en fazla inhibitif etkiyi *L. acidophilus*'un, en zayıf etkiyi ise *L. casei* Shirota'nın gösterdiği belirlenmiştir (Taş ve Erginkaya, 2008).

Patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmalar

Çizelge 2. In-vitro çalışmalardaki probiyotik mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojenler üzerine inhibitif etkileri

Probiyotik mikroorganizma	Patojen mikroorganizma	İnokülasyon düzeyi (log KOB/g veya mL)	İnhibisyon (mm)	Kaynak
<i>L. acidophilus</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	6 log 6 log	14.75 15.0	Pereira ve Gómez, 2007
<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. animalis</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	7.7 log	37 41 6	Arias vd., 2013
<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. animalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	7.7 log	32 41 5	Arias vd., 2013
<i>B. bifidum</i> <i>B. infantis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	8.18 log	8.4-16	Rahimifard ve Naseri, 2016
<i>L. acidophilus</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. casei</i> <i>L. reuteri</i>	<i>S. aureus</i>	8 log	38-40 40-44 33-39 32-35	Soleimani vd., 2010
<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i>	<i>C. sakazakii</i>	5 log	22-32 22-32	Awaisheh vd., 2013
<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> (kültür süpernatantları)	<i>C. sakazakii</i>	5 log	10-16 12-16	Awaisheh vd., 2013
<i>L. fermentum</i> (kültür süpernatantı)	<i>E. coli</i> <i>S. enterica</i> <i>S. sonnei</i>	9 log	23.1 24.1 24.2	Hütt vd., 2006
<i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	8.18 log	25 16	Al-Malkey vd., 2017
<i>L. plantarum</i>	<i>B. cereus</i>	6 log	17	Zhang vd., 2016

Antibiyotik kullanımının azaltılması ve gastrointestinal hastalıklara neden olan bakterilerin çoğalmasını kontrol etmek amacıyla probiyotikler son yıllarda başarıyla kullanılmaktadır. *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*, özellikle kanatlılarda ve kanatlı ürünlerinde *Salmonella* spp.'nin baskın serotipleri arasındadır. Yapılan çalışmalarda, probiyotik özellik gösteren mikroorganizmalar ile bu

patojenlerin sayılarının azaltılabileceği tespit edilmiştir. Arias vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* ve *L. acidophilus* süpernatantları antibiyotik dirençli *S. Typhimurium* popülasyonunda 6-7 log KOB, *E. coli* O157:H7 popülasyonunda ise 3-5 log KOB azalma sağlarken, *B. animalis* ile *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* popülasyonunda herhangi bir azalma gözlenmemiştir. *L. casei* ve *L. acidophilus*'un

hücre içermeyen kültür süpernatantlarının her ikisinin de *Cronobacter sakazakii*'ye karşı inhibitif etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Awaisheh vd., 2013). *Lactobacillus johnsonii*'nin, *S. Enteritidis*'e karşı inhibitif etkisini incelemek üzere yapılan bir çalışmada *L. johnsonii* ve *S. Enteritidis* kültürlerinin aynı besiyerinde inkübe edilmesi ile *S. Enteritidis* sayısının 2 saatte 3 log KOB/mL'den 5 log KOB/mL'ye yükseldiği ancak, 10 saat sonra belirleme limitinin altına düştüğü gözlenmiştir (Abhisingha vd., 2017). Elbagory vd. (2015), *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. casei* probiyotik mikroorganizmalarının, sırasıyla *B. cereus* üzerinde 12, 10, 11 ve 13 mm ve *E. coli* O159 üzerinde 9, 9, 8 ve 4 mm inhibisyon zonları oluşturduğunu gözlemiştir. *Lactobacillus paracasei*, *L. casei*, *L. rhamnosus* ve *L. rhamnosus* GG suşlarının *Shigella sonnei*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, kullanılan probiyotik bakterilerin hücresiz kültür süpernatantlarının 2 saat sonra *S. sonnei* sayısını 2.7-3.6 log KOB/mL düzeyinde azalttığı tespit edilmiştir (Zhang vd., 2011). Araştırmacıların bir başka çalışmasında ise, *L. johnsonii* kültürleri kullanılarak *S. sonnei* üzerinde 2-5 mm arasında inhibisyon zonları elde edilebilmiştir (Zhang vd., 2012).

Bacillus türleri, ürettikleri metabolitler ve sporları yardımıyla probiyotik özellikler sergilemekte ve bu özellikleri ile araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Çevreden izole edilen probiyotik özellikte yedi *Bacillus* suşunun tanımlandığı ve *Salmonella*, *Shigella* ve *Staphylococcus* türlerine karşı antagonistik aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, *Bacillus subtilis* suşlarının test edilen tüm *Salmonella* ve *Staphylococcus* suşlarına karşı inhibitif etkisinin olduğu gözlenmiştir (Moore vd., 2013). Buna benzer başka bir çalışmada da, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. mojavensis* ve *B. subtilis* probiyotik kültürlerinin, *E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* ve *Clostridium perfringens*'e karşı değişen oranlarda inhibisyon aktivitesi sergilediği belirtilmiştir (Larsen vd., 2014). *Lactobacillus plantarum* suşlarının (2 farklı suş) *Vibrio parahaemolyticus*'a karşı inhibisyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 10:1 oranında *L. plantarum*:*V. parahaemolyticus* kullanıldığında, *V. parahaemolyticus*'un üremesinin inhibe edildiği tespit edilmiştir (Thammasorn vd., 2017).

Enterococcus spp. laktik asit bakterileri arasında yer alan ve gıda mikrobiyolojisi açısından önem taşıyan bakterilerdir. *Enterococcus* cinsi içerisinde probiyotik özellik gösteren iki tür *Enterococcus faecium* ve *E. faecalis* olarak bildirilmiştir (Erginkaya vd., 2007; Pingitore vd., 2012). *Enterococcus* spp. antilisterial aktivite gösteren bakteriyosin üreterek bazı yararlı özellikler göstermektedir (Kıvanç vd., 2016). Hadji-Sfaxi vd. (2011), yaptıkları çalışmada Moğol yoğurdundan (Tarag) izole edilen *E. faecium*'un, *Listeria* spp. ve funguslara karşı bakteriyosin benzeri aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmalarında *E. faecium*'un hücresiz süpernatantı, *Listeria* spp. (*L. innocua*, *L. ivanovii*) ve özellikle "gıda kaynaklı" patojen olan *L. monocytogenes*'e karşı güçlü bir inhibisyon gösterdiği, ancak, *Salmonella* spp. ve *E. coli* gibi Gram negatif türlere ve *S. aureus*'a karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Bu duruma benzer olarak Ahmadova vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, Azerbaycan Motal peynirinden izole edilen *E. faecium*'un güçlü antilisterial aktivite gösterdiği, test edilen *L. monocytogenes* ve *Bacillus cereus*'un üremesini inhibe ettiği, ancak *Salmonella* ve *E. coli*'ye karşı herhangi bir inhibitif aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Birçok çalışmada *Campylobacter* spp.'nin, antimikrobiyal maddelerin sentezi, adezyon bölgelerinin ve reseptörlerin invazyonu ile gerekli besin maddeleri için rekabet gibi mekanizmalarla önlenmesi veya sayısının azaltılmasına yönelik probiyotik mikroorganizmaların kullanımı öne sürülmektedir (Bermudez-Brito vd., 2012). *Lactobacillus crispatus*, *L. gallinarum*, *L. helveticus* ve *L. acidophilus*'un *C. jejuni* üzerindeki inhibisyon etkilerinin araştırıldığı çalışmada kullanılan 4 probiyotik suşun da *C. jejuni* üremesini inhibe edebildiği ve bu probiyotik mikroorganizmalar içinde en etkili inhibisyonun *L. crispatus* tarafından sağlandığı bildirilmiştir (Neal-McKinney vd., 2012). Buna benzer olarak *Lactobacillus* türlerinin hücre içermeyen süpernatantlarının *Campylobacter coli* ve *C. jejuni*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, ancak test edilen *Bifidobacterium* spp., *E. faecium* ve *E. coli* Nissle 1917 probiyotik suşlarının herhangi bir inhibitif etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Bratz vd., 2015).

Probiyotik bakteriler tarafından oluşturulan biyofilmlerin de gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmalara ve patojen bakterilere karşı antagonistik etkileri bulunmaktadır. Probiyotik *Lactobacillus* türlerinin adezyonu, patojen bakterilerin kolonizasyonunu önlediği ve koruyucu bir bariyer olarak önemli rol oynadığı çeşitli araştırmalarda belirtilmiştir (Dertli, 2015). Bu nedenle son zamanlarda araştırmacılar patojen bakterilerin inhibisyonunda probiyotik biyofilmlerin kullanımı üzerine yoğunlaşmışlardır. Probiyotik biyofilmlerin geliştirildiği ve *L. monocytogenes*'in hem planktonik hücreleri hem de biyofilmleri üzerine inhibisyon etkisinin incelendiği bir çalışmada, *L. casei* Shirota ve *L. rhamnosus* tarafından oluşturulan biyofilmler ile *L. monocytogenes*'in planktonik hücrelerindeki azalma 0.66-2.01 log KOB/mL arasında değişirken, *L. monocytogenes* biyofilmlerinde canlı hücre sayısındaki azalmanın 0.40-1.69 log KOB/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir (Turhan vd., 2017). Bu konuyla ilgili başka bir çalışmada *L. paracasei* ve *L. rhamnosus* biyofilmleri varlığında *L. monocytogenes* biyofilm hücrelerinde 3 log azalma

sağlanmıştır (Woo ve Ahn, 2013). Gómez vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise *L. helveticus* ve *L. casei* biyofilmleri ile *L. monocytogenes*'in biyofilmlerindeki hücrelerde sırasıyla 4 log ve 7 log azalma elde edilmiştir.

Gıdalarda biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı

Kimyasal koruyucu içeren gıdaların olası sağlık riskleri konusundaki bilincin artmasıyla doğal, taze ve sağlıklı gıdalara tüketicilerin ilgisi giderek artmaktadır. Gıdaların güvenliğini arttırmak için biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı, kimyasal korumaya alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Böylece gıdalardaki istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi önlenilmekte veya mikroorganizmalar öldürülebilmektedir (Arena vd., 2016). Probiyotik mikroorganizmaların kullanımı ile çeşitli gıdalarda bulunan gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonuna yönelik çalışmalarda, kullanılan probiyotik mikroorganizmanın ve patojenin türüne bağlı olarak değişen oranlarda azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Çeşitli gıdalarda probiyotik mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojenler üzerine etkileri

Ürün	Probiyotik mikroorganizma (log KOB/g veya mL)	Patojen adı/İnokülasyon düzeyi (log KOB/g veya mL)	Azalma miktarı (log KOB/g veya mL)	Kaynak
Armut dilimleri	<i>L. rhamnosus</i> GG (7.5 log)	<i>Salmonella</i> spp. (3.7 log)	2 log	Iglesias vd., 2017a
		<i>L. monocytogenes</i> (3.4 log)	3 log	
Elma dilimleri	<i>L. rhamnosus</i> GG (7 log)	<i>Salmonella</i> spp. (3.9 log)	0.5 log	Alegre vd., 2011
		<i>L. monocytogenes</i> (3.7 log)	1 log	
Ananas dilimleri	<i>L. fermentum</i> (8.40 log) <i>L. plantarum</i> (8.40 log)	<i>L. monocytogenes</i> (7.16 log)	2.49 log	Russo vd., 2014
			1.79 log	
Ananas dilimleri	<i>L. fermentum</i> (8.40 log) <i>L. plantarum</i> (8.40 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (7.53 log)	2.56 log	Russo vd., 2014
			3.43 log	
Kavun dilimleri	<i>L. fermentum</i> (8.7 log) <i>L. plantarum</i> (8.7 log)	<i>L. monocytogenes</i> (4.7 log)	2 log	Russo vd., 2015
			3 log	
Tavuk eti köftesi	<i>Leu. pseudomesenteroides</i> (5.20 log)	<i>L. monocytogenes</i> (3.10 log)	1.22 log	Melero vd., 2013
Tavuk butu	<i>B.longum</i> (4.36 log)	<i>C. jejuni</i> (5.30 log)	1.16 log	

Çizelge 3. Devamı

Ürün	Probiyotik mikroorganizma (log KOB/g veya mL)	Patojen adı/İnokülasyon düzeyi (log KOB/g veya mL)	Azalma miktarı (log KOB/g veya mL)	Kaynak
Sterilize yağsız süt	<i>L. plantarum</i> (7.84 log)	<i>E. coli</i> O159 (7.74 log)	2.75 log	Elbagory vd., 2015
	<i>L. acidophilus</i> (7.84 log)		2.7 log	
	<i>L. brevis</i> (7.84 log)		2.75 log	
	<i>L. casei</i> (7.84 log)		0.8 log	
Ekşi kremalı Fransız soğan sosu	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. animalis</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>P. shermanii</i> (8 log)	<i>B. cereus</i> (8 log)	6 log	Tharmaraj ve Shah, 2009
		<i>S. Typhimurium</i> (8 log)	3.4 log	
		<i>S. aureus</i> (8 log)	3.5 log	
		<i>E. coli</i> (8 log)	3.5 log	
Afrika geleneksel sütlü içeceği	<i>L. rhamnosus</i> yoba (5.5 log)	<i>L. monocytogenes</i> (5.5 log)	3.7 log	Mpofu vd., 2016
		<i>Salmonella</i> spp. (5.5 log)	Artış var	
		<i>C. jejuni</i> (5.5 log)	3.7 log	
		<i>E. coli</i> O157:H7 (5.5 log)	3.9 log	
		<i>B. cereus</i> (5.5 log)	3.6 log	
Fermente sosis	<i>L. reuteri</i> (7 log) <i>B. longum</i> (7 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (7.4 log)	3 log	Muthuku marasamy ve Holley, 2007
			1.9 log	
Süt fermantasyonu	<i>L. casei</i> (6 log)	<i>S. aureus</i> (2 log, 4 log, 6 log)	1 log	Kamal vd., 2016
			3 log	
			4 log	
Mısır geleneksel yoğurdu	<i>L. acidophilus</i> (8.6 log) <i>B. animalis</i> (8.6 log)	<i>S. aureus</i> (8.48 log)	6.18 log	El-Kholy vd., 2014
			5.7 log	
Mısır geleneksel yoğurdu	<i>L. acidophilus</i> (8.6 log) <i>B. animalis</i> (8.6 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (8.30 log)	6.3 log	El-Kholy vd., 2014a
			5.3 log	
Domiyati peyniri	<i>L. acidophilus</i> (9 log)	<i>S. aureus</i> (8.78 log)	3 log	El-Kholy vd., 2014b
		<i>E. coli</i> O157:H7 (8.48 log)	1.88 log	
Beyaz peyniri	<i>L. plantarum</i> (6 log)	<i>L. monocytogenes</i> (5.65 log)	3.9 log	Yıldırım ve Sarımehtem etoğlu, 2006
	<i>L. acidophilus</i> (6 log)		3.9 log	
Bifido yoğurdu	<i>B. bifidum</i> (7 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (3.49 log, 7.38 log)	0.76 log	Massa vd., 1997
			1.97 log	

Fermente ürünlerde biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı

Fermente ürünler genel olarak asidik özellikte olduğu için güvenli oldukları düşünülse de, proseste yapılan bazı hatalar ve patojen bakteriler ile kontamine olmuş hammaddeler nedeniyle gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmektedir (CDC, 2017). *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi mikroorganizmalar birçok gıdada bulunan ve fermente ürünlerde canlılığını sürdürebilen en yaygın gıda kaynaklı patojenler olarak rapor edilmiştir (El-Kholy vd., 2014). Bu nedenle probiyotik mikroorganizmaların, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi patojenlere karşı antagonistik etkileri birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. El-Kholy vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* ve *B. longum* içeren geleneksel yoğurdun fermantasyonu ve depolanması sırasında *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı inhibitif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna benzer bir çalışmada yoğurtta probiyotik suş olarak kullanılan *L. casei*'nin sütün fermantasyonu sırasında, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* gelişimini inhibe edebildiği gözlemlenmiştir (Kamal vd., 2016). Madureira vd. (2011) *B. animalis* ve *L. casei* ile ürettiği probiyotik peynir altı suyu peynirinde, *B. animalis* tarafından *Pseudomonas aeruginosa*'ya ve *L. casei* tarafından *S. Enteritidis* ve *L. innocua*'ya karşı tam inhibisyon gözlemlenmiş, bunun aksine, *B. animalis* ile *L. innocua* ve *L. casei* ile *P. aeruginosa*'ya karşı herhangi bir inhibitif etki gözlenmemiştir. Rus lor peynirinde (tvorog) *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri* ve *Klebsiella pneumoniae* enteropatojen bakterilerine karşı antagonistik aktivitenin araştırıldığı bir çalışmada, elde edilen 17 izolatın patojen bakterileri inhibe ettiği, ancak özellikle *L. casei* ve *L. rhamnosus* suşlarının, tüm patojen bakteriler üzerine yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Masoumikia ve Ganbarov, 2015). Probiyotik özellikli bakteriler gerek endüstriyel boyutta ve gerekse sağlık alanında geniş bir kullanım alanına sahiptir. Süt ürünlerinin üretilmesinde kullanılan *L. casei*'nin ürünün duyuşal özelliklerin geliştirilmesinde ve üretmiş olduğu metabolitler ile patojen bakterin inhibisyonunda kullanılabileceği ifade edilmiştir (Sömer vd., 2012). Yıldırım ve Sarımehtemoglu (2006)

tarafından yapılan bir çalışmada, düşük ve yüksek düzeyde *L. monocytogenes* (4.5×10^5 KOB/ml ve 8.0×10^5 KOB/ml) inoküle edilmiş beyaz peynirlerde probiyotik kültür olarak *L. plantarum* ve *L. acidophilus* kullanıldığında olgunlaşmanın 30. gününde *L. monocytogenes* sayısının 2 log seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir. İran probiyotik beyaz peynirinde olgunlaşma süresi boyunca *L. monocytogenes* sayısında kontrol grubuna kıyasla, 3.16 log KOB/g azalma olduğu bildirilmiştir (Mahmoudi vd., 2012). Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler değerlendirildiğinde her ne kadar istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalmalar tespit edilse bile, tam bir inaktivasyon sağlanamamaktadır. Probiyotik içeren mavi peynirde *Y. enterocolitica* üreme potansiyelinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* La-5 inoküle edilmiş peynirlerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *Y. enterocolitica* sayısında azalma tespit edilmiş, ancak tam bir inhibisyon sağlanmadığı için ürünün mikrobiyolojik olarak güvenilir olmadığı belirtilmiştir (Zadernowska vd., 2015).

Probiyotik kültürlerin kullanımında tek suş veya çoklu suş içeren kültürler kullanılabilir. *Vibrio cholerae*'ya karşı antagonistik aktiviteyi araştırmak amacıyla, tek veya karışık kültür halindeki probiyotik *Leuconostoc mesenteroides* ve *Bacillus subtilis* natto içeren geleneksel Hint içeceğindeki (rafi), *V. cholerae*'nin maksimum inhibisyon zon çapı 7.5 mm ile *L. mesenteroides* kullanılarak elde edilmiştir. Her iki probiyotik kültür birlikte kullanıldığında ise probiyotiklerin sinerjistik etkisine bağlı olarak *V. cholerae*'ya karşı antimikrobiyal aktivitenin arttığı tespit edilmiştir (Laxme vd., 2014).

Fermente et ürünlerine inoküle edilen *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei* ve *Bifidobacterium longum* gibi probiyotik bakteriler fermente ette bulunabilecek Enterobacteriaceae, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* gibi patojen bakteriler üzerinde antagonistik aktivite gösterebilmektedir. Wang vd. (2015) yaptıkları çalışmada bakteriyosin üreten probiyotik mikroorganizmaların kullanımıyla fermente mersin balığı sosilerinin mikrobiyal güvenliğinin artırıldığını ve duyuşal özelliklerinin geliştirildiğini bildirmiştir.

Probiyotik özellikli gıdaların insan sağlığı üzerinde yararlı etki sağlayabilmeleri için, canlı probiyotiklerin sayısının en az 10^6 - 10^7 KOB/g veya ml olması gerektiği belirtilmektedir. Gıdanın üretimi, depolama aşaması, gastrointestinal sistem koşulları gibi etkenlerden dolayı probiyotikler büyük oranda canlılıklarını kaybedebilmektedir. Probiyotiklerin dayanıklılığını etkileyen bu faktörlerin meydana getirdiği olumsuz koşulları azaltmak için son yıllarda enkapsülasyon yöntemi ile kapsül haline getirilmiş probiyotiklerin kullanım potansiyeli araştırılmaktadır. Enkapsüle probiyotik bakteriler, enkapsüle edilmemiş probiyotik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmektedir. Kurutulmuş fermente sosislere inoküle edilmiş *E. coli* O157:H7 üzerine *L. reuteri* ve *B. longum*'un etkilerinin araştırıldığı çalışmada, mikroenkapsülasyon uygulamasının canlı kalan *L. reuteri* ve *B. longum* sayılarını arttırdığı, ancak *E. coli* O157:H7'ye karşı inhibitif etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Muthukumarasamy ve Holley, 2007).

Fermente olmayan ürünlerde biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı

Probiyotik mikroorganizmalar genellikle fermente süt ürünlerinde kullanılmaktadır. Ancak probiyotiklerin, veganlar, laktoz intoleransı ve süt proteinlerine alerjisi olan bireyler için probiyotik süt ürünlerine alternatif olarak diğer gıda matrislerinde kullanımları giderek artmaktadır. Dilimlenmiş meyve-sebzelerde soyma ve kesme gibi işlemler, yüzey temasını artırarak, meyve dokularına mikroorganizmaların tutunmasını arttırmakta ve probiyotik bakteri gelişiminde mineral, şeker, vitamin gibi ideal substratların serbest kalmasını sağlamaktadır (de Oliveira vd., 2011). Bu hususa dayanarak, yararlı mikroorganizmalar için taşıyıcı görev üstlenen dilimlenmiş meyvelerdeki probiyotik mikroorganizmaların patojenler üzerindeki inhibitif etkileri konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır. *L. rhamnosus* GG'nin, elma dilimlerine inoküle edilmiş *Salmonella* spp. üzerinde herhangi bir inhibitif etkisinin olmadığı, ancak *L. monocytogenes*'e karşı inhibitif etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Alegre vd., 2011). Russo vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, ananas

dilimlerinde *Lactobacillus fermentum* ve *L. plantarum*'un canlılığını sürdürdüğü ve aynı zamanda bu probiyotiklerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'ye karşı antagonistik etkiye sahip olduğu ve ananas dilimlerinin duyu ve fiziksel özelliklerini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilemediği belirtilmiştir. Russo vd. (2015) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise probiyotik suşların, dilimlenmiş kavunların riboflavin içeriğini arttırdığı ve *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik etkileri sayesinde dilimlenmiş kavunların mikrobiyal güvenliğinin arttığı tespit edilmiştir. Kümes hayvanlarının *L. monocytogenes* ve *C. jejuni* gibi gıda kaynaklı patojenlerin taşıyıcıları olduğu bilinmektedir. Modifiye atmosferde paketlenmiş tavuk ürünlerinde *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *B. longum* ile *L. monocytogenes* ve *C. jejuni* gibi patojenlerin üremesinin kontrol altına alınması veya azaltılması amacıyla yapılan çalışmada *L. monocytogenes* sayısında 1.22 log KOB/g, *C. jejuni* sayısında ise 1.16 log KOB/g azalma sağlanmıştır (Melero vd., 2013).

Iglesias vd. (2017b) *L. rhamnosus* GG ve *L. monocytogenes* armut dilimlerine inoküle edilip, 10 °C'de 7 gün bekletildikten sonra mide-bağırsak yolundan geçerek canlı kalma yeteneği ve Caco-2 hücrelerine adezyon ve invazyonu üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *L. rhamnosus* GG'nin, armut dilimlerine inoküle edilmiş *L. monocytogenes*'in Caco-2 hücrelerine adezyonunu %79.2'den %36.7'ye ve invazyonunu %46.9'dan %12.8'e azalttığı, dolayısıyla *L. monocytogenes*'in patojenik özelliğini azalttığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, *Lactobacillus* spp.'nin *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerin Caco-2 hücrelerine tutunmasının önemli oranda azaltıldığı ortaya konmuştur.

SONUÇ

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, probiyotiklerin insan sağlığına faydalı etkileri olduğu belirtilmektedir. Alternatif ve çevre dostu bir yaklaşım olarak, probiyotikler büyük umut vaat etmektedir ve ayrıca birçok alanda patojen mikroorganizmaları kontrol etmek amacıyla kullanılabilir potansiyeli bulunmaktadır. Başlıca probiyotik türler *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L.*

plantarum, *B. infantis* ve *B. animalis* olup, tek veya karışık kültür olarak üzerinde en çok çalışılan probiyotik mikroorganizmalardır. Probiyotiklerin antimikrobiyal etkileri önemli özelliklerindedir ve antimikrobiyal bileşiklerin üretimi, patojenler ile rekabet, bağırsak bariyer fonksiyonunun modülasyonu gibi özellikleri içermektedir. Probiyotik mikroorganizmaların potansiyel antimikrobiyal işlevlerini kullanarak, gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek veya sayılarını azaltmak ve böylece tüketicinin kullanımı aşamasında gıda güvenliğini arttırmak için yeni bir yaklaşım olabileceğini öne sürülmektedir. Yapılan *in vivo* veya *in vitro* çalışmalarda probiyotiklerin patojenlerin üremelerini inhibe edebildiği ortaya konulmuştur. Gıdalarda bulunan patojen mikroorganizmaların inhibisyonu için probiyotik mikroorganizmaların kullanımı yapılacak çalışmalarla optimize edilmelidir.

KAYNAKLAR

Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., Jafarian-Dehkordi, A. (2013). *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Res Pharm Sci*, 8(4): 260–268.

Abhisingha, M., Dumnil, J., Pitaksutheepong, C. (2017). Selection of potential probiotic *Lactobacillus* with inhibitory activity against *Salmonella* and fecal coliform bacteria. *Probiotics Antimicro*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9304-8>

Ahmadova, A., Todorov, S.D., Choiset, Y., Rabesona, H., Zadi, T.M., Kulyev, A., de Melo Franco, B.D.G., Chobert, J.M., Haertlé, T. (2013). Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese. *Food Control*, 30: 631-641.

Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M. (2011), Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiol*, 28: 59-66.

Al-Malkey, M.K., Ismecal, M.C., Al-Hur, F.J.A., Mohammed, S. W., Nayyef, H. J. (2017). Antimicrobial Effect of Probiotic *Lactobacillus*

spp. on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Contemp Med Sci*, 3(9): 172-177.

Arena, M.P., Silvain, A., Normanno, G., Grieco, F., Drider, D., Spano, G., Fiocco, D. (2016). Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against foodborne pathogenic microorganisms. *Front Microbiol*, 7: 464.

Arias, B.O., Reyes, M.D.L.L., Navarro-V, M.L., Berenice, S.C.Y., Mayra, M.G., Gloria, S.S., Raúl, S.C., Raquel, Z.R. (2013). Antagonistic effect of probiotic strains against two pathogens: *Salmonella* Typhimurium and *E. coli* O157:H7 resistant to antibiotics. *e-Gnosis*, 11, 1-16.

Awaisheh, S.S., Al-Nabulsi, A.A., Osaili, T.M., Ibrahim, S., Holley, S. (2013). Inhibition of *Cronobacter sakazakii* by heat labile bacteriocins produced by probiotic LAB isolated from healthy infants. *J Food Sci*, 78(9): 1416- 1420.

Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S. K., Gupta, R.K. (2016). Non-dairy based probiotics: A healthy treat for intestine. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(11):1856-1867.

Bendali, F., Hebraud, M., Sadoun, D. (2014). Anti-bacterial and anti-adherence activities of a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei* against *Listeria monocytogenes*. *Int J Appl Microbiol Biotechnol Res*, 2: 52-63.

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab*, 61: 160–174.

Bratz, K., Gözl, G., Janczyk, P., Nöckler, K., Alter, T. (2015). Analysis of *in vitro* and *in vivo* effects of probiotics against *Campylobacter* spp.. *Berl Munch Tierarztl*, 128 (3-4): 155-162.

CDC (2017). Foodborne Outbreak Online Database (FOOD Tool). <https://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/> (Accessed: 13 October 2017).

De Oliveira, M.A., Maciel de Souza, V.M., Bergamini, A.M.M., de Martinis, E.C.P. (2011). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, 22:(8), 1400–1403.

- Dertli, E. (2015). Isolation and identification of an exopolysaccharide producer *Streptococcus thermophilus* strain from Turkish yogurt. *Kafkas Univ Vet Fak*, 21: 229-232.
- Elbagory, A.M., Eman, S.E., Eman, K.F. (2015). Impact of probiotic strains on growth of some food poisoning bacteria from milk and soft cheese. *Nutr Food Technol*, 1(2): <http://dx.doi.org/10.16966/2470-6086.107>.
- El-Kholy, A.M., El-Shinawy, S.H., Meshref, A.M.S., Kornay, A.M. (2014a). Screening of antagonistic activity of probiotic bacteria against some food-borne pathogens. *J Appl Environ Microbiol*, 2(2): 53-60.
- El-Kholy, A.M., El-Shinawy, S.H., Meshref, A.M.S., Korany, A.M. (2014b). Microbiological quality of domiati cheese and the influence of probiotics on the behavior of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in domiati cheese. *J Food Safety*, 34: 396-406.
- Eom, J.S., Song, J., Choi, H.S. (2015). Protective Effects of a Novel Probiotic Strain of *Lactobacillus plantarum* JSA22 from traditional fermented soybean food against infection by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Microbiol Biotechnol*, 25(4): 479-491.
- Erem, F., Küçükçetin, A., Certel, M. (2013). *Bacillus* Türlerinin Probiyotik Olarak Değerlendirilmesi. *GIDA*, 34(8): 247-254.
- Erginkaya, Z., Yurdakul, N.A., Karakaş, A. (2007). *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*' in starter ve probiyotik kültür özellikleri. *GIDA*, 32(3):137-142.
- Espitia, P.J.P., Batista, R.A., Azeredo, H.M.C., Otoni, C.G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Res Int* 90: 42-52.
- Fijan, S. (2016a). Influence of the growth of *Pseudomonas aeruginosa* in milk fermented by multispecies probiotics and Kefir microbiota. *J Prob Health*, 3: 136.
- Fijan, S. (2016b). Antimicrobial effect of probiotics against common pathogens. In: *Immunology and Microbiology: Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*, Rao, V., Rao, L.G. (eds.), InTech, pp. 191-221.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf (Accessed: 20 November 2017)
- Gómez, N.C., Ramiro, J.M.P., Quecan, B.X.V. de Melo Franco, B.D.G. (2016). Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the Control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and *Escherichia coli* O157:H7 Biofilms Formation. *Front. Microbiol.*, 7: 863.
- Hadji-Sfaxi, I., El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Batdorj, B., Le Blay-Laliberté, G., Barbier, G., Haertlé, T., Chobert, J.M. (2011). Antimicrobial activity and safety of use of *Enterococcus faecium* PC4.1 isolated from Mongol yogurt. *Food Control*, 22: 2020-2027.
- Hawrelak, J. (2013). Probiotics. In: *Textbook of Natural Medicine*, Pizzorno, J.E., Murray, M.T. (eds), 4th ed., Churchill Livingstone Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 979-994.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravikumar, R., Carvalho, I. S. (2013). Mechanism of action of probiotics. *Braz Arch Biol Technol*, 56 (1): 113-119.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastro Hepat*, 11(8): 506-514.
- Holzappel, W.H. (2006). Introduction to prebiotics and probiotics. In: *Probiotics in Food Safety and Human Health*, Goktepe, I., Juneja, V.K., Ahmedna, M. (eds.), CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC., New York, US, pp. 1-35.

- Hossaina, M.I., Sadekuzzamana, M., Ha, S. (2017). Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Res Int*, 100: 63–73.
- Huys, G., Botteldoorn, N., Delvigne, F., De Vuyst, L., Heyndrickx, M., Pot, B., Dubois, J.J., Daube, G. (2013). Microbial characterization of probiotics—Advisory report of the Working Group “8651 Probiotics” of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Mol Nutr Food Res*, 57: 1479–1504.
- Iglesias, M.B., Abadias, M., Anguera, M., Sabata, J., Vinas, I. (2017a). Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear. *LWT - Food Sci Technol*, 81: 243–249.
- Iglesias, M.B., Viñas, I., Colás-Medà, P., Collazo, C., Serrano, J.C.E., Abadias, M. (2017b). Adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* and interaction with *Lactobacillus rhamnosus* GG after habituation on fresh-cut pear. *J Funct Food*, 34: 453–460.
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K., Axelsson, L. (2012). In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 153: 216–222.
- Kamal, R.M., Abd El Aal, S.F.A., Elsayed, M.S., Abdallah, R.M. (2016). Influence of addition of probiotic bacteria to yoghurt on survivability of some food borne pathogens. 3rd International Conference of Food Safety "Environmental Hazards and Food Safety" Damanhour University, 10th October 2016, Egypt.
- Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V., Arul, V. (2013). Probiotics and its functionally valuable products-A Review, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53 (6), 641–658.
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakir, E.M. (2013). Health benefits of probiotics: A review. *ISRN Nutrition*, 1-7.
- Khalighi, A., Behdani, R., Kouhestani, S. (2016). Probiotics: A comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition, probiotics and prebiotics in human nutrition and health, in: *Immunology and Microbiology "Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*, Rao, V., Rao, L.G. (eds.), InTech, pp. 19–39.
- Kılıç, S. 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. *EÜ Ziraat Fakültesi Yayınları* No: 542, İzmir, Türkiye, 451 s.
- Kıvanç, S.A., Kıvanç, M., Yiğit, T. (2016). Antibiotic susceptibility, antibacterial activity and characterisation of *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *Exp Ther Med*, 12: 1732–1740.
- Koning, C.J., Jonkers, D., Smidt, H., Rombouts, F., Pennings, H.J., Wouters, E., Stobberingh, E., Stockbrügger, R. (2010). The effect of a multispecies probiotic on the composition of the faecal microbiota and bowel habits in chronic obstructive pulmonary disease patients treated with antibiotics. *Br J Nutr*, 103: 1452–1460.
- Lakshmi, S.J., Jayanthi, N., Saravanan, M., Ratn, M.S., 2017. Safety assesment of *Bacillus clausii* UBBC07, a spore forming probiotic. *Toxicol Reports*, 4: 62-71.
- Larsen, N., Thorsen, L., Kpikpi, E. N., Stuer-Lauridsen, B., Cantor, M.D., Nielsen, B., Brockmann, E., Derkx, P.M.F., Jespersen, L. (2014). Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed, *Appl Microbiol Biot*, 98: 1105–1118.
- Laxme, B.V., Rovetto, A., Grau, R., Agrawal, R. (2014). Synergistic effects of probiotic *Leuconostoc mesenteroides* and *Bacillus subtilis* in malted ragi (Eleusine corocana) food for antagonistic activity against *V. cholerae* and other beneficial properties. *J Food Sci Technol*, 11: 3072-3082.
- Madureira, A.R., Pintado, M.E., Gomes, A.M.P., Malcat, F.X. (2011). Incorporation of probiotic bacteria in whey cheese: Decreasing the risk of microbial contamination. *J Food Prot*, 74(7): 1194–1199.
- Mahmoudi, R., Tajik, H., Ehsani, A., Zare, P. (2012). Physicochemical and hygienic effects of *Lactobacillus acidophilus* in Iranian white cheese, *Vet Res Forum*, 3(3): 193–197.

- Masoumikia R., Ganbarov, K. (2015). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against human enteropathogenic bacteria in homemade tvorog curd cheese from Azerbaijan, *Bioimpacts*, 5(3): 151-154.
- Melero, B., Vinuesa, R., Diez, A.M., Jaime, I., Rovira, J. (2013). Application of protective cultures against *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter jejuni* in chicken products packaged under modified atmosphere. *Poult Sci*, 92: 1108–1116.
- Messaoudi, S., Kergourlay, G., Dalgalarondo, M., Choiset, Y., Ferchichi, M., Prévost, H., Pilet, M.F., Chobert, J.M., Manai, M., Dousset, X. (2012). Purification and characterization of a new bacteriocin active against *Campylobacter* produced by *Lactobacillus salivarius* SMXD51. *Food Microbiol* 32:129–134.
- Moore, T., Globa, L., Barbaree, J., Vodyanoy, V., Sorokulova, I. (2013). Antagonistic activity of *Bacillus* bacteria against food-borne pathogens. *J Probiotics Health*, 1: 110. doi: 10.4172/2329-8901.1000110.
- Mpofu, A., Linnemann, A.R., Nout, M.J.R., Zwietering, M.H., Smid, E.J., den Besten, H.M.W. (2016). Inactivation of bacterial pathogens in yoba mutandabota, a dairy product fermented with the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* yoba. *Int J Food Microbiol*, 217: 42–48.
- Muthukumarasamy, P., Holley, R.A. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. *Food Microbiol*, 24: 82–88.
- Neal-McKinney, J.M., Lu, X., Duong, T., Larson, C.L., Call, D.R., Shah, D.H., Konkel, M.E. (2012). Production of organic acids by probiotic Lactobacilli can be used to reduce pathogen load in poultry. *Plos One*, 7(9): e43928.
- Novik, G., Sidarenka, A., Kiseleva, E., Kolomiets, E., Dey, E.S. (2014). Probiotics. In: *Biotransformation of Waste Biomass into High Value*, Brar, S. K., Dhillon, G. S., Soccol, C. R. (eds.), Springer, New York, pp. 187-235.
- Oelschlaeger, T.A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—A review. *Int J Med Microbiol*, 300 (1): 57-62.
- Pereira, V.G., Gómez, R.J.H.C. (2007). Antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus* against foodborne pathogens. *Semina: Ciências Agrárias*, 28(2): 229-240.
- Pingitore, E.V., Todorov, S.D., Sesma, F., Franco, B.D.G.M. (2012). Application of bacteriocinogenic *Enterococcus mundtii* CRL35 and *Enterococcus faecium* ST88Ch in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas cheese. *Food Microbiol*, 32: 38-47.
- Pithva, S., Ambalam, P., Dave, J.M., Vyas, B.R. (2012). Potential of Probiotic *Lactobacillus* Strains as Food Additives. In: *Food Additive*, El-Samragy, Y. (ed.), InTech, pp. 175.
- Potočnjak, M., Pušić, P., Frece, J., Abram, M., Janković, T., Gobin, I. (2017). Three new *Lactobacillus plantarum* strains in the probiotic toolbox against gut pathogen *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Food Technol Biotechnol*, 55 (1): 48–54.
- Rahimifard N., Naseri, M. (2016). *Bifidobacteria bifidum* and *Bifidobacteria infantis* effects on *Salmonella enteritidis*. *J Pure Appl Microbiol*, 10(3): 1885-1889.
- Russo, P., de Chiara, M.L.W., Vernile, A., Amodio, M.L., Arena, M. P., Capozzi, V., Massa, S., Spano, G. (2014). Fresh-cut pineapple as a new carrier of probiotic lactic acid bacteria. *Biomed Res Int*, vol. 2014, Article ID 309183, 9 p. doi:10.1155/2014/309183.
- Russo, P., Peña, N., Amodio, M.L., Colelli, G., Spano, G. (2015). Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. *Food Res Int*, 77: 762–772.
- Rybalchenko, O.V., Bondarenko, V.M., Orlova, O.G., Markov, A.G., Amasheh, S. (2015). Inhibitory effects of *Lactobacillus fermentum* on microbial growth and biofilm formation. *Arch Microbiol* 197: 1027-1032.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria:

- safety, functional and technological properties. *J Biotechnol*, 84: 197–215.
- Sarao, L.K., Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57 (2): 344-371.
- Sharma, P., Tomar, S.K., Goswami, P., Sangwan, V., Singh, R. (2014). Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Res Int*, 57: 176–195.
- Shokri, D., Khorasgani, M.R., Mohkam, M., Fatemi, S.M., Ghasemi, Y., Taheri-Kafrani, A. (2018). The Inhibition Effect of Lactobacilli Against Growth and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics Antimicro*, 10: 34-42.
- Shortt, C. 1999. The probiotic century: Historical and current perspectives. *Trends Food Sci Tech*, 10: 411-417.
- Soleimani, N.A., Kermanshahi, R.K., Yakhchali, B., Sattari, T.N. (2010). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Afr J Microbiol Res*, 4(20): 2169-2173.
- Sömer, V.F., Akpınar, D., Kılıç, G.B. (2012). *Lactobacillus casei*'nin sağlık üzerine etkileri ve gıda endüstrisinde kullanımı, *GIDA* 37 (3): 165-172.
- Sribuathong, S., Saengprakai, J., Trevanich, S. (2014). *In Vitro* Anti-Adherent Assessment of Selected Lactic Acid Bacteria Isolates Against *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* to Caco-2 Cells. *J Food Safety*, 34: 270–282.
- Taş, E., Erginkaya, Z. (2008). Bazı Probiyotik Laktik Asit Bakterilerinin *Escherichia coli* O157:H7 üzerine inhibisyon Etkisi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 877-880.
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G.R., Rowland, I. (2012). *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, 18: 530-538.
- Thammasorn, T., Jitrakorn, S., Charoonnart, P., Sirimanakul, S., Rattanarojpong, T., Chaturongakul, S., Saksmerprom, V. (2017). Probiotic bacteria (*Lactobacillus plantarum*) expressing specific double-stranded RNA and its potential for controlling shrimp viral and bacterial diseases. *Aquac Int*, 25:1679–1692.
- Tharmaraj, N. Shah, N.P. (2009). Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. *Int Food Res J*, 16: 261-276.
- Toscana, M., De Grandi, R., Pastorelli, L., Vecchi, M., Drago, L. (2017). A consumer's guide for probiotics: 10 golden rules for a correct use. *Dig Liver Dis*, 49: 1177–1184.
- Turhan, E.U., Erginkaya, Z., Uney, M.H., Ozer, E.A. (2017). Inactivation effect of probiotic biofilms on growth of *Listeria monocytogenes*. *Kafkas Univ Vet Fak*, 23 (4): 541-546.
- Ullah, N., Wang, X., Wu, J., Guo, Y., Ge, H., Li, T., Khan, S., Li, Z., Feng, X. (2017). Purification and primary characterization of a novel bacteriocin, LiN333, from *Lactobacillus casei*, an isolate from a Chinese fermented food. *LWT - Food Sci Technol* 84: 867-875.
- Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *Int Dairy J*, 18: 714– 728.
- Wan, L.Y.M., Chen, Z.J., Shah, N.P., El-Nezami, H. (2016). Modulation of intestinal epithelial defense responses by probiotic bacteria, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56 (16): 2628-2641.
- Wang, Y., Sun, Y., Zhang, X., Zhang, Z., Song, J., Gui, M., Li, P. (2015). Bacteriocin-producing probiotics enhance the safety and functionality of sturgeon sausage. *Food Control*, 50: 729-735.
- Woo, J., Ahn, J. (2013). Probiotic-mediated competition, exclusion and displacement in biofilm formation by food borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*, 56: 307-313.
- Yıldırım, Y. Sarımehtemtoğlu, B. (2006). Beyaz peynir yapımında bazı probiyotik bakterilerin kullanılmasının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. *J Fac Vet Med Univ Erziyes*, 3(1): 1-7.
- Zadernowska, A., Wierzchowska, W.C., Ogryzek, M.P. (2015). Growth potential of *Yersinia enterocolitica* in blue cheese and in blue cheese with

probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *J Food Sci Technol*, 52(11): 7540–7544.

Zhang, Y., Zhang, L., Du, M., Yi, H., Guo, C., Tuo, Y., Han, X., Li, J., Zhang, L., Yang, L. (2011). Antimicrobial activity against *Shigella sonnei* and probiotic properties of wild lactobacilli from fermented food. *Microbiol Res*, 167: 27– 31.

Zhang, Y., Zhang, L., Ma, W., Yi, H., Yang, X., Du, M., Shan, Y., Han, X., Zhang, L. (2012). Screening of probiotic lactobacilli for inhibition

of *Shigella sonnei* and the macromolecules involved in inhibition. *Anaerobe*, 18: 498-503.

Zhang, Z., Tao, X., Shah, N.P., Wei, H. (2016). Antagonistics against pathogenic *Bacillus cereus* in milk fermentation by *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its anti-adhesion effect on Caco-2 cells against pathogens. *J Dairy Sci*, 99: 1–9.

D VİTAMİNİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ YOĞURDUN BESİN DEĞERİ VE METABOLİK ETKİLERİ

Sefa Can Küçük, Artun Yıbar*

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Abd., Görükle, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 03.01.2018; Kabul / Accepted: 03.05.2018; Online baskı / Published online: 28.05.2018

Küçük, S. C., Yıbar, A. (2018). D vitamini ile zenginleştirilmiş yoğurdun besin değeri ve metabolik etkileri. *GIDA* (2018) 43 (4): 549-557 doi: 10.15237/gida.GD18011

Küçük, S. C., Yıbar, A. (2018). Nutrient value and metabolic effects of vitamin D fortified yogurt. GIDA (2018) 43 (4): 549-557 doi: 10.15237/gida.GD18011

ÖZ

D vitamini eksikliği ve yetersizliği, birçok hastalık riskine neden olan veya katkıda bulunan bir faktör olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Serum D vitamini düzeyini arttırmak için gıdaların D vitamini ile zenginleştirilmesi mevcut sorunun giderilmesinde önemli bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Süt, D vitamini takviyesinin en yaygın olarak kullanıldığı bir gıda kaynağıdır. Ancak yıllar içerisinde, özellikle laktoz intoleransı nedeniyle, süt tüketiminin azaldığı görülmektedir. Fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilen yoğurdun, besleyici değerinin yüksek, bağışıklık sistemini güçlendirmesi, birçok hastalık riskini azaltması, laktoz intoleransı olan kişilerde herhangi bir yan etki yapmadan tüketilmesi ve tüketim oranının yüksek olması sebebiyle beslenmede önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle yoğurdun D vitamini ile zenginleştirilmesi D vitamini eksikliği ve yetersizliğine bağlı hastalıkları etkili bir şekilde azaltacak veya önleyecektir. Bu derlemede, literatürler eşliğinde D vitamininin sağlık üzerine etkileri, D vitamini ile zenginleştirilmiş yoğurtların raf ömrü boyunca D vitamini stabilitesi ve düzenli tüketiminin metabolik etkileri anlatılmıştır.

Anahtar kelimeler: Yoğurt, D vitamini, besin zenginleştirme

NUTRIENT VALUE AND METABOLIC EFFECTS OF VITAMIN D FORTIFIED YOGURT

ABSTRACT

Vitamin D deficiency is an important public health problem as it is a major risk factor for many diseases. Fortification of foods with vitamin D to increase serum vitamin D levels is an important approach in addressing the current problem and milk is the most commonly used food source for fortification. Over the years, however, milk consumption has decreased, particularly due to lactose intolerance. Yogurt, considered as a functional food, is a significant nutrient due to its high nutritional value, immune system booster and disease risk reducing effects as well as humans' tolerance to even high levels of consumption without any side effects. For this reason, fortification of vitamin D with yogurt may be expected to effectively reduce or prevent diseases related to vitamin D deficiency. In this review, the effects of vitamin D on health, stability of vitamin D during shelf life of vitamin D fortified yogurt, and the metabolic effects of regular consumption have been described in the context of the literature.

Keywords: Yogurt, Vitamin D, food fortification

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ artunyibar@uludag.edu.tr,

☎ (+90) 532 521 38 23,

☎ (+90) 224 294 12 02

GİRİŞ

Besin zenginleştirme, bir besine içeriğinde doğal olarak bulunup bulunmamasına bakılmaksızın bir veya daha fazla esansiyel besin ögesinin popülasyonda veya popülasyonun spesifik bir grubunda gösterilen bir eksikliği önlemek amacıyla ilave edilmesidir (Lindsay vd., 2006). Kişilerin besin tüketim alışkanlıklarında radikal değişiklikler yapılmadan gerekli besin öğelerini nüfusun büyük kesimlerine sunma avantajına sahip olan uygun maliyetli bir uygulama olarak bilinmektedir (G ve Gupta, 2014). Çocuklarda D vitamini eksikliğine bağlı olarak oluşan raşitizmlerin önlenmesine yardımcı olmak için 1930'larda Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) süte D vitamini eklenmiştir (Lindsay vd., 2006; G ve Gupta, 2014). D vitamini takviyesi bu ülkelerdeki D vitamini durumunu önemli ölçüde iyileştirmiş ancak D vitamini eksikliğinin hala yaygın olduğu bildirilmiştir (G ve Gupta, 2014). Dünya genelinde 1 milyar insanın değişik derecelerde D vitamini eksikliğinden etkilendiği tahmin edilmektedir (Nikooyeh vd., 2011)

Yaşamın her aşamasında ihtiyaç duyulan süt, makro ve mikro besin öğeleri için iyi bir kaynaktır. Özellikle çocukluk, gebelik, emzilik ve yaşlılık dönemlerinde kemik sağlığı açısından son derece değerli bir besindir. Ancak yapılan birçok çalışma sonucunda beslenmede çok önemli bir yeri olan sütün, yeterli miktarda tüketilmediği sonucuna ulaşılmıştır (Onurlubaş ve Çakırlar, 2016). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması - 2010 sonuç raporuna göre ülkemizde süt tüketmeyenlerin oranının %44.6 olduğu ve tüketenlerin de %19.5 oranında haftada 1-2 kez süt tükettiği bulunmuştur. Süt tüketiminin aksine yoğurt, ayran gibi süt ürünlerinin her gün tüketim oranının %55.1 olduğu bulunmuştur (Anonymous, 2014). Yoğurdun yüksek tüketim oranı göz önünde bulundurulduğunda zenginleştirilmesi durumunda beslenme yetersizliklerine bağlı hastalıkları etkili bir şekilde azaltabileceği veya önleyebileceği düşünülmektedir (Gahruie vd., 2015).

Bu derlemede, D vitamininin söz konusu etkileri, önemi hatırlatılmak istenmiş ve D vitamini ile zenginleştirilmiş yoğurtların zenginleştirme

düzeyleri, kullanılabilirliği ve biyoyararlılığı konularında bilgiler verilmiştir.

YOĞURDUN BESLENMEDEKİ YERİ VE ÖNEMİ

Bir gıda maddesinin besin değeri, bileşenlerine bağlıdır. Yoğurdun kimyasal bileşimi, üretildiği süte ve uygulanan teknolojik işlemlere bağlı olarak değişiklik gösterir (Anonymous, 2011). Yoğurt kimyasal bileşimi bakımından süte benzemekle beraber sütün bileşimine göre, besleyici değeri ve protein oranı açısından daha yüksek bir gıda maddesidir. Ayrıca yoğurt, kalsiyum (Ca), fosfor (P), riboflavin, tiamin, vitamin B12, folat, niasin, magnezyum ve çinko kaynağı olmasından dolayı da sağlıklı beslenmede önemli bir yere sahiptir (Gahruie vd., 2015). Ayrıca, yoğurdun laktoz içeriği süte göre daha az olduğundan dolayı laktoz intoleransı olan insanlar da herhangi bir yan etki yapmadan yoğurt tüketebilirler (Gahruie vd., 2015; Brown-Riggs, 2016).

Yoğurt tüketimi daha iyi beslenme kalitesi ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada yoğurt tüketenlerin işlenmiş et, bira ve rafine tahılları daha az tüketirken, enerjilerinin çoğunun meyve, sebze, fındık, tam tahıl, balık gibi sağlıklı tercihlerden oluştuğu gözlemlenmiştir. Yoğurt tüketenlerin daha sağlıklı bir beslenme modeline sahip olma olasılığının iki kat daha yüksek olduğu ve besin yetersizliği prevalansının daha düşük olduğu gösterilmiştir (Wang vd., 2013).

Metabolik sendrom (MS), insülin direnciyle başlayan abdominal obezite, glikoz intoleransı veya şeker hastalığı, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği ölümcül bir endokrinopati olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2009). ABD Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması (NHANES) verilerindeki süt ürünleri tüketimi ile metabolik sonuçlar arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, yoğurt tüketimi fazla olan bireylerde metabolik bozuklukların daha az görüldüğü sonucuna varılmıştır. Erkeklerde ve kadınlarda özellikle yoğurt tüketiminin Beden Kitle İndeksi (BKİ), bel çevresi, sistolik kan basıncı ve açlık glikozuyla ters orantılı olduğu saptanmıştır (El-Abbadi vd.,

2014). Wang vd. (2013) yoğurt tüketenlerin tüketmeyenlere kıyasla, daha düşük BKİ, bel çevresi, trigliserit seviyeleri, açlık glikozu, kan basıncı ve daha yüksek HDL kolesterol seviyesi açısından daha iyi bir metabolik profile sahip olduklarını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada yoğurt tüketenlerde besin yetersizliği prevalansı tüketmeyenlere kıyasla daha düşük olarak belirlenmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar süt ürünlerinin ve özellikle yoğurdun obezite riskini azaltma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (El-Abbadi vd., 2014; Martinez-Gonzalez vd., 2014; Schwingshackl vd., 2016).

Vitaminler vücutta kofaktör olarak rol oynayan bileşiklerdir. Isıl işlem, inkübasyon süresi, sıcaklık ve saklama koşulları gibi işlemler yoğurttaki vitamin içeriğini değiştirdiğinden dolayı vitaminlerin değerlendirilmesi zor olmakla birlikte yoğurt değerli bir vitamin kaynağı olarak düşünülebilir (Gahrue vd., 2015). Ancak yoğurt D vitamini açısından son derece yetersiz bir gıda maddesidir (Çizelge 1). HPLC, LC-MS ve LC-MS/MS gibi modern analitik yöntemler kullanılarak yapılan analizlerde süt ürünlerinin D vitamini içeriğinin düşük olduğu gösterilmiştir (Schmid ve Walther, 2013).

Çizelge 1. Farklı yağ oranlarına sahip yoğurtların, çeşitli ulusal gıda kompozisyonu veri tabanlarında belirtilmiş olan D vitamini değerleri

Ülke	Yoğurt, sade (100 g)	D Vitamini (µg)	Referans
Almanya	%10 yağlı	0.20	(MRI, 2018)
	%3.5 yağlı	0.06	
	%1.5 yağlı	0.03	
ABD	Tam yağlı	0.1	(USDA, 2018)
	Az yağlı	0.0	
	Yağsız	0.0	
Danimarka	Tam yağlı	0.1	(DTU, 2018)
	Az yağlı (%1.5 yağlı)	0.05	
	Düşük yağlı (%0.1 yağlı)	0.04	
Fransa	Ortalama	0.0 – 0.8	(ANSES, 2018)
Türkiye	Tam yağlı (\geq %3.8)	1.1	(TürKomp, 2018)
	Yarım yağlı (%2 > süt yağı \geq %1.5)	0.7	
	Süzme, Burdur	1.1	
	Silivri, İstanbul	0.0	
	Süzme, Konya	1.5	

D Vitamininin Beslenmedeki Yeri ve Önemi

Vitaminlerin çoğu vücut tarafından yapılamayıp dışarıdan alınması gereken, yaşam için gerekli, çok küçük miktarlarıyla hücre metabolizmasında önemli tepkimeleri uyaran, vücutta bir oranda sentezlenmeyen organik bileşiklerdir (Samur, 2012). D vitamini, diğer vitaminlerden farklı olarak hem diyet ile alınabilen hem de vücutta yapılabilen bir vitamindir.

Yağda eriyen vitaminler arasında bulunan D vitamini sekosteroid yapıda bir prohormondur (Özçelik, 2012). Değişken biyolojik aktiviteye sahip 50'den fazla, farklı D vitamini metaboliti tanımlanmıştır (Herrmann vd., 2017). D vitamininin temel iki formu vardır; vitamin D₃ (Kolekalsiferol) ve vitamin D₂ (Ergokalsiferol) (G

ve Gupta, 2014). Epidermiste mevcut provitamin D₃ olan 7-dehidrokolesterol güneşin ultraviyole-B ışınları etkisiyle aktive olarak previtamin D₃'e dönüştürülür (Özçelik, 2012). D vitamini diyetle, hayvan dokularında bulunan kolekalsiferol ve bitkilerde bulunan ergokalsiferol olmak üzere iki şekilde alınır.

D vitamini olmadığında diyet ile alınan Ca'nın ancak %10-15'i, P'nin %60'ı emilebilmektedir. D vitamini olduğunda ise Ca emilimi %30-40, P emilimi %80 oranında artmaktadır (Özçelik, 2012).

Vücudun vitamin D durumunu değerlendirmek için en uygun parametrenin serum 25-hidroksivitamin D [25(OH)D] olduğu kabul

edilmektedir. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMD) 2016 kılavuzuna göre serum 25(OH) vitamin D düzeyi 30 ng/ml'den (75 nmol/L) yüksek ise yeterli vitamin D düzeyi, 20 ile 30 ng/ml (50-75 nmol/L) arasında ise vitamin D yetersizliği, 20 ng/ml'den (50 nmol/L) düşük ise vitamin D eksikliği olarak kabul edilir. TEMD'e göre 19-70 yaş arasındaki erişkinlere kemik ve kas sağlığı için minimum 600 IU/gün D vitamin gereklidir. Serum 25(OH)D düzeyini 30 ng/ml düzeyinde tutacak ihtiyaç ise 1500-2000 IU'dur. Günlük tolere edilebilir üst sınır ise 4000 IU'dur (Anonymous, 2016).

D vitamininin kemik metabolizmasının düzenlenmesinde (Chon vd., 2017), kemik mineral yoğunluğu (Martin vd., 2015; Khashayar vd., 2016), kalitesi, kas performansı (Haimi ve Kremer, 2017) ve kas kuvveti üzerine (Gilsanz vd., 2010) olumlu etkileri vardır.

D vitamininin kas iskelet sistemi üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak iskelet dışı sağlık sorunları ile de ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda serum 25(OH)D düzeyleri ile MS, KVH, kardiyometabolik risk, glikoz durumu, insülin direnci, tip 2 diyabet (Kayaniyil vd., 2014; Alkhadi vd., 2017; Ekmekcioglu vd., 2017) ve kanser (Obaidi vd., 2015; Zhao vd., 2016; Du vd., 2017) riskleri arasında ters ilişki olduğu saptanmıştır.

D Vitamin Eksikliği, Yol Açtığı Sağlık Sorunları ve Nedenleri

Dünyanın farklı yerlerinde yapılan birçok çalışma, D vitamini eksikliğinin dünyanın en güneşli bölgelerindeki insanlarda da oluşabildiğini göstermiştir (Jafari vd., 2016a). Ülkemizde yapılan bir çalışmada D vitamini eksikliği yüksek oranda (%51.8) ve vitamin D yetersizliği %20.7 oranında tespit edilmiştir (Uçar vd., 2012).

D vitamini eksikliği yaşlı insanlarda çok yaygındır ve düşme, kırılmalık artışı (frajilite fraktür) (Adami vd., 2009) ve osteoporozla bağlı kırık riski (Chon vd., 2017) ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan bir meta analizde, 65 yaşın altındaki kişilerde bile düşük D vitamini durumunun, yaşlı kişilerinki kadar yüksek olmamasına rağmen, mortaliteyle ters orantılı olduğu ortaya konmuştur (Rush vd., 2013).

Hamilelik 25(OH)D dolaşımını etkileyen bir diğer sık karşılaşılan durumdur. Gebe kadınlarda D vitamini eksikliğinin preeklampsi (De-Regil vd., 2016), gestasyonel diyabet (Aghajafari vd., 2013) ve preterm doğum (Wei vd., 2013) riskini arttırdığı ortaya konmuştur.

D vitamini eksikliği çocuklarda da görülebilmektedir. Bu, özellikle son yıllardaki yaşam biçimlerinin ve çocukluk faaliyetlerinin değişikliklerinden kaynaklanmaktadır (Haimi ve Kremer, 2017; Wang vd., 2017).

D vitamini eksikliğinin görülme sıklığının yüksek olması ve birçok hastalık riskine neden olması nedeniyle küresel bir halk sağlığı sorunudur (Nikooyeh vd., 2011; Ejtahed vd., 2016). Bu sorunları düzeltmek ve D vitamini durumunu iyileştirmek için; güneşe maruz kalma, besin desteği (suplementasyon), besin zenginleştirme, D vitamini bakımından zengin doğal besinleri kullanma önerileri gibi uygulamaların önceliklendirilmesi ve uygulanması önemlidir (Ejtahed vd., 2016).

Deride D vitamini sentezini etkileyen faktörler çevresel ve kişisel faktörler olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir. Çevresel faktörler; enlem, mevsim, günün saati, bulutlar, ozon miktarı, aerosol ve albedo (yüzeyden ışınların yansımaları) şeklinde, kişisel faktörler ise; cilt tipi, yaş, çevresel, psikolojik ve kültürel faktörlerden dolayı giyim tarzı, güneş kremi kullanımı olarak sayılabilir (Webb, 2006; Gahrue vd., 2015; Jafari vd., 2016a; Ejtahed vd., 2016). Bu faktörlerden dolayı güneş ışığına maruziyet yetersiz olabilir. Diğer taraftan, D vitamini açısından zengin doğal besin kaynakları çok azdır. Suplementasyon ise yüksek riskli gruplar için en iyi uygulamadır. Bu uygulamalar arasında, D vitamini eksikliğini popülasyon düzeyinde iyileştirmenin en iyi yolu zenginleştirmedir (Ejtahed vd., 2016).

Yoğurdun Zenginleştirilmesi

Türk Gıda Kodeksi gıdalara vitaminler, mineraller ve belirli diğer öğelerinin eklenmesi hakkında yönetmelik hükümlerine göre D vitamini, kolekalsiferol ve ergokalsiferol formlarında gıdalara eklenebilir. Bu yönetmeliğe göre meyvelere, sebzelere, kırmızı et, kanatlı eti ve balık

dahil işlenmemiş gıdalara ve hacmen alkol miktarı %1,2'den fazla olan içeceklerle vitaminler eklenemez (Anonymous, 2017).

Yapılan bir meta analizde, serum 25(OH)D konsantrasyonunu arttırmada D₃ vitamininin D₂ vitaminine göre daha etkili olduğunu ve dolayısıyla D₃ vitamininin takviye için tercih edilen seçenek olabileceğini göstermektedir (Tripkovic vd., 2012).

Zenginleştirilmiş süt ve süt ürünlerinde D vitamininin stabilitesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, D vitamininin sütün pastörizasyonu ve sterilizasyonu için yapılan ısı işlemlerden etkilenmediğini ve depolama sırasında stabil olduğunu göstermektedir (Upreti vd., 2002; Kazmi vd., 2007; Wagner vd., 2008; Hanson ve Metzger, 2010; Jafari vd., 2016a; Crevier vd., 2017).

Kazmi vd., (2007) ve Hanson ve Metzger (2010) yaptıkları çalışmada D₃ vitamininin suda ve yağda dağılılabılır formlarının yoğurtta dengeli olduğunu ve zenginleştirme için uygun olabileceğini göstermektedir. Fakat bu çalışmalarda yoğurt kaplarının tiplerinden bahsedilmemektedir. Jafari vd., (2016a) D vitamininin suda ve yağda dağılılabılır formlarının, opak kaplara doldurulmuş yoğurt örneklerinde raf ömrü boyunca stabilitesini korudukları tespit edilmiştir. Buna karşın saydam kaplarda paketlenmiş suda dağılabılır formun raf ömrü boyunca stabil olmadığı, depolandıktan sonra 1, 2 ve 3. haftalarda 0. gününe kıyasla önemli ölçüde azaldığı, yağda dağılabılır formun ise yalnızca 1 hafta stabil olup 2 ve 3 hafta sonra önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir.

Ca ve D vitamini osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için en önemli besin öğeleri olarak kabul edilmektedir (Rogers vd., 2016). Günlük yetersiz kalsiyum alımının ve vitamin D eksikliğinin kombine etkileri postmenopozal kadınlarda düşük kemik mineral yoğunluğuna ve osteopeni ve osteoporoz prevelansında artışa neden olabilmektedir (Chon vd., 2017). İnce bağırsakta Ca emilimi yaşlı birlikte azalır ve kadınlar menopozun ilk 3-4 yılında günde yaklaşık 200 mg Ca kaybeder ve sonrasındaki 5-10 yıl içinde de

yaklaşık olarak 45 mg kayıp devam eder (Gallagher ve Tella, 2014). Dışkı, idrar, saç, deri ve sindirim salgıları ile de Ca kayıpları olabilmektedir (Rogers vd., 2016). Ca'nın malabsorpsiyonu, kemik rezorpsiyonunu arttıran ve daha fazla kemik kaybına neden olan sekonder hiperparatiroidiye neden olur (Gallagher ve Tella, 2014). 1,25(OH)₂D bağırsakta Ca emilimini kolaylaştırır (Chon vd., 2017).

Bonjour vd., (2013)'nin yaptıkları bir çalışmada huzurevinde yaşayan 60 yaş ve üzerindeki kadınların serum 25(OH)D vitamini 8 hafta boyunca her gün 10 µg (400 IU) vitamin D₃ ve 800 mg Ca ile zenginleştirilmiş yoğurt tüketenlerde, zenginleştirilmemiş 0 µg D₃ ve 280 mg Ca içeren kontrol yoğurdunu tüketenlere göre biraz daha yüksek bir seviyeye yükselmiştir. Zenginleştirilmiş yoğurt tüketiminin başlamasından önce, PTH serum konsantrasyonu, laboratuvar referans aralığının üst sınırının %32 üzerinde iken 4 hafta boyunca zenginleştirilmiş yoğurt tüketiminden sonra normal aralığa gerilemiş, 8 hafta sonunda daha da azaldığı tespit edilmiştir.

Bonjour vd., (2015)'nin yaptıkları diğer bir çalışmada toplu konutlarda yaşayan kemik kırılma riski altında olan 60 yaş ve üzeri kadınlardan 84 gün boyunca her gün 10 µg (400 IU) vitamin D₃ ve 800 mg Ca ile zenginleştirilmiş yoğurt tüketenlerde, zenginleştirilmemiş 280 mg Ca içeren kontrol yoğurdunu tüketenlere göre Serum 25(OH)D vitamini seviyesinin yaklaşık 4 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu artışın serum PTH' de anlamlı olarak daha fazla düşüş ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Pankreatik beta hücreler, insülin sekresyonunda düzenleyici etkileri olduğu bildirilen aktif D vitamini şekli olan 1,25 (OH)₂D için özel reseptörlere sahiptir. D vitamininin de insülin direnci üzerinde bazı yararlı etkileri vardır. İnsülin reseptörlerinin ekspresyonunu uyarabilir ve bu nedenle glikoza insülin tepkisini arttırabilir. Ayrıca, hücre zarı Ca akışının düzenlenmesi yoluyla insülin salgılanması için gerekli olan yeterli bir hücre içi sitosolik Ca havuzunu sağlar. Düşük serum 25(OH)D düzeyleri, tip 2 diyabetik hastalarda yaygındır ve özellikle postmenopozal

kadınlarda yaşlılık ve fizyolojik koşullar nedeniyle çeşitli komplikasyonlara neden olurlar. Diyabetik postmenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmanın sonucuna göre 12 hafta boyunca her gün 2000 IU D vitamini ile zenginleştirilmiş az yağlı yoğurdun tüketimi, serum 25(OH)D konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırmış olup yeterli D vitamini (serum 25(OH)D>75nmol/L) düzeyini %20'den %50'ye yükseltmiştir. Bununla beraber uygulamaya katılan kişilerin glisemik belirteçleri (HbA1c hariç), antropometrik indeksleri, inflamasyonu ve kemik döngüsü belirteçleri de iyileşmiştir (Jafari vd., 2016b).

Epidemiyolojik çalışmalar düşük serum 25(OH)D düzeyinin duygusal, ruhsal ve fiziksel bozukluklara katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Diyabet, hastanın sağlığını fiziksel, duygusal ve psikolojik yönden etkilemektedir. D vitamininin yaşlılarda duygudurum bozukluklarına etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Tip 2 diyabetli postmenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmada 3 ay boyunca her gün 2000 IU D vitamini ile zenginleştirilmiş az yağlı yoğurdun tüketimi serum 25(OH)D durumunu iyileştirmiştir. Zenginleştirilmiş yoğurt tüketen hastaların ortalama yaşam kalitesi skorunda iyileşme görülmüştür (Jafari ve Amiri, 2016).

SONUÇ

Yoğurt besleyici değerinin ve protein oranının yüksek ayrıca önemli bir vitamin kaynağı olmasından dolayı değerli bir besindir. Ancak doğal gıdalarda çok az bulunan yağda eriyen bir vitamin olan D vitamini yoğurtta da az miktarda bulunmaktadır. D vitamini eksikliği tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın bir sağlık problemidir. D vitamininin en önemli kaynağı olan güneş ışığına çeşitli faktörlerden dolayı maruziyet engellenmektedir. D vitamini eksikliği ve yetersizliği, birçok hastalık riskine neden olan veya katkıda bulunan bir faktör olduğundan dolayı, beslenmede önemli bir yere sahip olan yoğurdun besleyici değerinin yüksek, sindiriminin kolay olması, bağışıklık sistemini güçlendirmesi, birçok hastalık riskini azaltması, laktoz intoleransı olan kişilerde herhangi bir yan etki yapmadan tüketilmesi ve tüketim oranının yüksek olması sebebiyle D vitamini ile zenginleştirilmesi mevcut

sorunu etkili bir şekilde azaltacak veya önleyecektir.

Görüldüğü gibi, gerek yoğurdun D vitamini ile zenginleştirilmesini gerekse bu zenginleştirilmiş yoğurdun sağlık üzerine etkilerini araştıran çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmada zenginleştirilmiş yoğurtlarda farklı formlardaki vitamin D'nin raf ömrü boyunca dengeli olup olmadığı tartışılmış, sütün pastörizasyonu ve sterilizasyonu için uygulanan ısı işlemlerden etkilenmediği ve zenginleştirme için uygun olabileceği gösterilmiştir. Dolayısıyla toplum sağlığının iyileştirilmesinde önemli etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Günlük toplam D vitamini alımının tolere edilebilir üst sınır alım seviyesini geçmemesi gerektiği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

- Adami, S., Bertoldo, F., Braga, V., Fracassi, E., Gatti, D., Gandolini, G., Minisola, S., Rini, G.B. (2009). 25-hydroxy vitamin D levels in healthy premenopausal women: Association with bone turnover markers and bone mineral density. *Bone*, 45: 423-426. doi: 10.1016/j.bone.2009.05.012
- Aghajafari, F., Nagulesapillai, T., Ronksley, P.E., Tough, S.C., O'Beirne, M., Rabi, D.M. (2013). Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*, 346. doi: 10.1136/bmj.f1169.
- Al-khalidi, B., Kimball, S.M., Rotondi, M.A., Arden, C.I. (2017). Standardized serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are inversely associated with cardiometabolic disease in U.S. adults: a cross-sectional analysis of NHANES, 2001-2010. *Nutr J*, 16:16. doi: 10.1186/s12937-017-0237-6.
- Anonymous (2009). *Metabolik Sendrom Kılavuzu*. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Tuna Matbaacılık San. ve Tic. A.Ş., Ankara, Türkiye, s. 7.
- Anonymous (2011). *Gıda Teknolojisi – Yoğurt*. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, Türkiye.
- Anonymous (2014). *Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması-2010. Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu*. T.C.

Sağlık Bakanlığı Yayın No: 931, ISBN: 978-975-590-483-2.

Anonymous (2016). *Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu*. 11. Baskı. Miki Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 119-123 s. ISBN: 978-605-66410-1-5.

Anonymous (2017). Türkiye Cumhuriyeti Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı – Türk Gıda Kodeksi Gıdalara Vitaminler, Mineraller ve Belirli Diğer Öğelerin Eklenmesi Hakkında Yönetmelik. 7 Mart 2017 tarih ve 30000 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

ANSES, 2018. Ciqual French food composition table. <https://ciqual.anses.fr/> (Accessed: 29 March 2018).

Bonjour, J.P., Benoit, V., Atkın, S., Walrand, S. (2015). Fortification of yogurts with Vitamin D and Calcium enhances the inhibition of serum parathyroid hormone and bone resorption markers: A double blind randomized controlled trial in women over 60 living in a community dwelling home. *J Nutr Health Aging*, 19(5): 563-569.

Bonjour, J.P., Benoit, V., Payen, F., Kraenzlin, M. (2013). Consumption of Yogurts Fortified in Vitamin D and Calcium Reduces Serum Parathyroid Hormone and Markers of Bone Resorption: A Double-Blind Randomized Controlled Trial in Institutionalized Elderly Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(7): 2915-2921. doi: 10.1210/jc.2013-1274.

Brown-Riggs, C. (2016). Nutrition and Health Disparities: The Role of Dairy in Improving Minority Health Outcomes. *Int J Environ Res Public Health*, 13, 28. doi: 10.3390/ijerph13010028.

Chon, S.J., Koh, Y.K., Heo, J.Y., Lee, J., Kim, M.K., Yun, B.H., Lee, B.S., Seo, S.K. (2017). Effects of vitamin D deficiency and daily calcium intake on bone mineral density and osteoporosis In Korean postmenopausal woman. *Obstet Gynecol Sci*, 60(1):53-62. doi: 10.5468/ogs.2017.60.1.53.

Crevier, B., Belanger, G., Vuilleumard J.C., St-Gelais, D. (2017). Short communication: Production of cottage cheese fortified with vitamin D. *J Dairy Sci*, 100(7):5212-5216. doi: 10.3168/jds.2016-12308.

De-Regil, L.M., Palacios, C., Lombardo, L.K., Pena-Rosas, J.P. (2016). Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Sao Paulo Med J*, 134(3): 274-5. doi: 10.1590/1516-3180.20161343T2.

DTU, (2018). (Technical University of Denmark – National Food Institute) Danish food composition database <https://frida.fooddata.dk/QueryFood.php?fn=yogurt> (Accessed: 29 March 2018)

Du, C., Yang, S., Zhao, X., Dong, H. (2017). Pathogenic roles of alterations in vitamin D and vitamin D receptor in gastric tumorigenesis. *Oncotarget*.

Ejtahed, H.S., Shab-Bidar, S., Hosseini-panah, F., Mirmiran, P., Azizi, F. (2016). Estimation of Vitamin D Intake Based on a Scenario for Fortification of Dairy Products with vitamin D in a Tehranian Population, Iran. *J Am Coll of Nutr*, 35(5): 383-391. doi: 10.1080/07315724.2015.1022269.

Ekmekcioglu, C., Haluza, D., Kundi, M. (2017). 25-Hydroxyvitamin D Status and Risk for Colorectal Cancer and Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Epidemiological Studies. *Int J Environ Res Public Health*, 14:127. doi: 10.3390/ijerph14020127.

El-Abbadi, N.H., Dao, M.C., Meydani, S.N. (2014). Yogurt: role in healthy and active aging. *Am J Clin Nutr*, 99: 1263-70. doi: 10.3945/ajcn.113.073957.

G, R., Gupta, A. 2014. Fortification of Foods with Vitamin D in India. *Nutrients*, 6, 3601-3623. doi: 10.3390/nu6093601.

Gahrue, H.H., Eskandari, M.H., Mesbahi, G., Hanifpour, M.A. (2015). Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Sci Hum Wellness*, 4: 1-8. doi: 10.1016/j.fshw.2015.03.002.

Gallagher, J.C., Tella, S.H. (2014). Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 142: 155-170. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.

Gilsanz, V., Kremer, A., Mo, A.O., Wren T.A.L., Kremer, R. (2010). Vitamin D Status and Its Relation to Muscle Mass and Muscle Fat in Young

- Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(4): 1595-1601. doi: 10.1210/jc.2009-2309.
- Haimi, M., Kremer, R. (2017). Vitamin D deficiency/ insufficiency from childhood to adulthood: Insights from a sunny country. *World J Clin Pediatr*, 6(1): 1-9. doi: 10.5409/wjcp.v6.i1.1.
- Hanson, A.L., Metzger, L.E. (2010). Evaluation of Increased vitamin D Fortification in high-temperature, short-time-processed 2% milk, UHT-processed 2% fat chocolate milk, and low-fat strawberry yogurt. *J Dairy Sci*, 93:801-807. doi:10.3168/jds.2009-2694.
- Herrmann, M., Farrell, C.J.L., Pusceddu, I., Fabregat-Cabello, N. (2017). Assessment of vitamin D status- a changing landscape. *Clin Chem Lab Med*, 55(1): 3-26. doi: 10.1515/cclm-2016-0264.
- Jafari, T., Amiri, M. (2016). Effects of 3-month regular consumption of vitamin D-fortified low fat yogurt on quality of life indices in diabetic postmenopausal women: A randomized controlled clinical trial. *Int J Epidemiol Res*, 3(2): 138-146.
- Jafari, T., Askari, G., Mirlohi, M., Javanmard, S.H., Faghihimani, E., Fallah, A.A. (2016a). Stability of Vitamin D₃ in fortified yoghurt and yoghurt drink (Doogh). *Adv Biomed Res*, 5:52. doi: 10.4103/2277-9175.178796.
- Jafari, T., Faghihimani, E., Feizi, A., Iraj, B., Javanmard, S.H., Esmailzadeh, A., Fallah, A.A., Askari, G. (2016b). Effects of vitamin D-fortified low fat yogurt on glycemic status, anthropometric indexes, inflammation, and bone turnover in diabetic postmenopausal women: A randomized controlled clinical trial. *Clin Nutr*, 35:67-76. doi: 10.1016/j.clnu.2015.02.014.
- Kayaniyil, S., Harrist, S.B., Retnakaran, R., Vieth, R., Knight, J.A., Gerstein, H.C., Perkins, B.A., Zinman, B., Hanley, A.J. (2014). Prospective association of 25(OH)D with metabolic syndrome. *Clin Endocrinol*, 80, 502-507. doi: 10.1111/cen.12190.
- Kazmi, S.A., Vieth, R., Rousseau, D. (2007). Vitamin D₃ fortification and quantification in processed dairy products. *Int Dairy J*, 17: 753-759. doi: 10.1016/j.dairyji.2006.09.009.
- Khashayar, P., Meybodi, H.R.A., Hemami, M.R., Keshtkar, A., Dimai, H.P., Larijani, B. (2016). Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in a healthy Iranian population. *Rev Bras Ortop*, 51(4): 454-458. doi: 10.1016/j.rboe.2015.09.011.
- Lindsay, A., Benoist, B., Dary, O., Hurrell, R. (ed.) (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, p: 20. ISBN 92-4-159401-2.
- Martin, E., Haney, E., Shannon, J., Cauley, J., Ensrud, K., Keaveny, T., Zmuda, J., Orwoll, E., Harrison, S.L., Marshall, L. (2015). Femoral Volumetric Bone Density, Geometry, and Strength in Relation to 25-Hydroxy Vitamin D in Older Men. *J Bone Miner Res*, 30(3): 562-569. doi: 10.1002/jbmr.2360.
- Martinez-Gonzalez, M.A., Sayon-Orea, C., Ruiz-Canela, M., Fuente, C., Gea, A., Bes-Rastrollo, M.B. (2014). Yogurt consumption, weight change and risk of overweight/obesity: The SUN cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 24: 1189-1196. doi: 10.1016/j.numecd.2014.05.015.
- MRI, 2018. (Max Rubner Institut) The German Nutrient Database. <https://www.vitaminedatabase.com/lebensmittel> (Accessed: 29 March 2018).
- Nikooyeh, B., Neyestani, T.R., Farvid, M., Alavi-Majd, H., Houshiarrad, A., Kalayi, A., Shariatzadeh, N., Gharavi, A., Heravifard, S., Tayebinejad, N., Salekzamani S., Zahedirad M. (2011). Daily consumption of vitamin D- or vitamin D+ calcium- fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*, 93: 764-771. doi: 10.3945/ajcn.110.007336.
- Obaidi, J., Musallam, E., Al-ghzawi, H.M., Azzeghaiby, S.N., Alzoghaybi, I.N. (2015). Vitamin D and Its Relationship With Breast Cancer: An Evidence Based Practice Paper. *Glob J Health Sci*, 7(1): 261-266. doi: 10.5539/gjhs.v7n1p261.
- Onurlubaş, E., Çakırlar, H. 2016. Tüketicilerin Süt ve Süt Ürünleri Tüketimini Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Çankırı*

- Karatekin Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 7(1):217-242.
- Özçelik-Çalışkan, D., Koçer, H., Kasım, İ., Şencan, İ., Kahveci, R., Özkara, A. (2012). D Vitamini. *Türk Med J*, 6(2).
- Rogers, T.S., Garrod, M.G., Peerson, J.M., Hillegonds, D.J., Buchholz, B.A., Demmer, E, Richardson, C., Gertz, E.R., Loan, M.D. (2016). Is Bone Equally Responsive to Calcium and Vitamin D Intake from Food vs. Supplements? Use of Calcium Tracer Kinetic Model. *Bone Rep*, 5: 117-123. doi: 10.1016/j.bonr.2016.05.001.
- Rush, L., McCartney, G., Walsh, D., MacKay, D. (2013). Vitamin D and subsequent all-age and premature mortality: a systematic review. *BMC Public Health*, 13:679. doi: 10.1002/14651858.
- Samur, G. (2012). Vitaminler, mineraller ve sağlığımız. Reklam Kurdu Ajansı, Ankara, Türkiye, 9 s. ISBN: 978-975-590-243-2.
- Schmid, A., Walther, B. (2013). Natural Vitamin D Content in Animal Products. *Adv Nutr*, 4: 453-462. doi: 10.3945/an.113.003780.
- Schwingshackl, L., Hoffman, G., Schwedhelm, C., Kalle-Uhlmann, T., Missbach, B., Knüppel, S., Boeing, H. (2016). Consumption of Dairy Products in Relation to Changes in Anthropometric Variables in Adult Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Plos One*, 11(6). doi: 10.1371/journal.pone.0157461.
- Tripkovic, L., Lambert, H., Hart, K., Smith, C.P., Bucca, G., Penson, S., Chope, G., Hyppönen, E., Berry, J., Vieth, R., Lanham-New, S. (2012). Comparison of Vitamin D₂ and D₃ supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 95:1357-64. doi: 10.3945/ajcn.111.031070.
- TürKomp, (2018). Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı. <http://www.turkomp.gov.tr/main> (Erişim Tarihi: 29 Mart 2018).
- Uçar, F., Taşlıpınar, M.Y., Özden-Soydaş, A., Özcan, N. (2012). Ankara Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesine Başvuran Hastalarda 25-OH Vitamin D Düzeyleri. *Eur J Basic Med Sci*, 2(1): 12-15.
- Upreti, P., Mistry, V.V., Warthesen, J.J. (2002). Estimation and fortification of vitamin D₃ in pasteurized process cheese. *J Dairy Sci*, 85(12):3173-81. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74405-6.
- USDA, (2018). United States Department of Agriculture Branded Food Products Database. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/216> (Accessed: 29 March 2018).
- Wagner, D., Rousseau, D., Sidhom, G., Pouliot, M., Audet, P., Vieth, R. (2008). Vitamin D₃ fortification, quantification, and long-term stability in Cheddar and low-fat cheeses. *J Agric Food Chem*, 10;56(17):7964-9. doi: 10.1021/jf801316q.
- Wang, H., Livingston, K.A., Fox, C.S., Meigs, J.B., Jacques, P.F. (2013). Yogurt consumption is associated with better quality and metabolic profile in American men and women. *Nutr Res*, 33: 18-26. doi: 10.1016/j.nutres.2012.11.009.
- Wang, S., Shen, G., Jiang, S., Xu, H., Li, M., Wang, Z., Zhang, S., Yu, Y. (2017). Nutrient Status of Vitamin D among Chinese Children. *Nutrients*, 9, 319. doi: 10.3390/nu9040319.
- Webb, A.R. (2006). Who, what, where and when-influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Progress Biophys Mol Biol*, 92: 17-25. doi: 10.1017/j.pbiomolbio.2006.02.004.
- Wei, S.Q., Qi, H.P., Luo, Z.C., Fraser, W.D. (2013). Maternal vitamin D status and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26(9): 889-899. doi: 10.3109/14767058.2013.765849.
- Zhao, Y., Chen, C., Pan, W., Gao, M., He, W., Mao, R., Lin, T., Huang, J. (2016). Comparative efficacy of vitamin D status in reducing the risk of bladder cancer: A systematic review and network meta-analysis. *Nutrition*, 32: 515-523. doi: 10.1016/j.nut.2015.10.02.



**EFFECT OF CRUDE PECTINASE ON APPLE JUICE QUALITY
CHARACTERISTICS BY DESIRABILITY APPROACH**

Sibel Uzuner*

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Abant İzzet Baysal University, Bolu,
Turkey

Received / Geliş: 31.01.2018; Accepted / Kabul: 29.04.2018; Published online / Online baskı: 08.06.2018

Uzuner, S. (2018). Effect of crude pectinase on apple juice quality characteristics by desirability approach. GIDA (2018) 43 (4): 558-568 doi: 10.15237/gida.GD18024

ABSTRACT

The present study analyzed the efficiency of crude pectinase produced from *Bacillus subtilis* using hazelnut shell hydrolysate during clarification of apple juice. Response surface methodology (RSM) based desirability analysis was carried out to optimize the enzyme load, temperature, and time with respect to lightness, turbidity and clarity. The apple juice clarification was performed at different enzyme loads (0.3-0.7%), pH (4-7), temperature (30-50 °C) and time (2-6 h). The RSM results revealed optimum clarification conditions of 0.3% (w/v) enzyme load, 45.8 °C temperature, and 2 h of time resulting in 70.40 lightness, 49.44 turbidity and 88.33% clarity. To confirm the validity of RSM models, RMSE values of L value, turbidity and clarity were calculated as 4.65, 5.28 and 9.15, respectively. As a conclusion, maximum clarity at a low enzyme load and time makes the enzyme useful for juice industry.

Keywords: Clarification, crude bacterial pectinase, desirability optimization methodology, response surface methodology, depectinization

**İSTENEBİLİRLİK YAKLAŞIMI İLE ELMA SUYU KALİTE ÖZELLİKLERİ
ÜZERİNE HAM PEKTİNAZ ENZİMİNİN ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmada elma suyunun berraklaştırılması sırasında fındık kabuğu hidrolizatı kullanılarak *Bacillus subtilis*'ten üretilen ham pektinaz enziminin etkinliği analiz edilmiştir. Açıklık-koyuluk, bulanıklık ve berraklık açısından enzim yükü, sıcaklık ve süreyi optimize etmek için istenebilirlik analizine dayalı cevap yüzey metodu kullanılmıştır. Elma suyu berraklaştırması, farklı enzim miktarları (% 0.3-0.7), pH (4-7), sıcaklık (30-50 °C) ve süre (2-6 saat) kullanarak gerçekleştirilmiştir. RSM sonuçları, %0.3 (w/v) enzim miktarı, 45.8 °C ve 2 saat optimum berraklaştırma koşullarında 70.40 açıklık-koyuluk, 49.44 bulanıklık ve %88.33 berraklık ile sonuçlanmıştır. RSM modellerinin geçerliliğini doğrulamak için, L değeri, bulanıklık ve berraklığın RMSE değerleri sırasıyla 4.65, 5.28 ve 9.15 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, düşük enzim miktarı ve sürede elde edilen maksimum berraklık enzimi meyve suyu endüstrisi için kullanılabilir yapılmaktadır.

Anahtar kelimeler: Berraklaştırma, ham bakteriyel pektinaz, istenebilirlik optimizasyon metodu, cevap yüzey metodu, depektinasyon

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ suzuner81@yahoo.com

☎ (+90) 374 254 1000/ 4875

☎ (+90) 374 253 4558

INTRODUCTION

Haze and turbidity in freshly pressed juice are caused mainly by pectin and other polysaccharides. Based on the National Nutrient Database for Standard Reference (US), carbohydrate content is very high in raw apples (13.8%), pineapples (13.1%) and tomato (4.0%). A considerable challenge for fruit processing contributes a stable cloud in fruit juice which includes high amount of pectin. Transparency and homogeneity are the two main characteristics for fruit juices (Sakhale et al., 2016). Clarification of fruit juices is desirable to comply with international standards. Effective enzymatic clarification subsequently leads to higher juice yield and short clarification process (Whitaker, 1984; Sandri et al., 2011; Sandri et al., 2013).

The enzymatic hydrolysis of pectin is influenced by several variables including incubation period, temperature, pH and enzyme concentration (Lee et al., 2006; Rai et al., 2004; Sin et al., 2006). Also during clarification, the cost of the enzyme is important. In order to develop economically and environmentally feasible clarification process, a rational design and modeling approach is inevitable for better-describing the effect of process parameters on the clarification. The optimization of operating parameters for pectinase treatments with respect to sweet orange juice (Rai et al., 2004), banana juice (Lee et al., 2006), sapodilla juice (Sin et al., 2006) and star fruit juice (Abdullah et al., 2007) have already been reported. Despite several studies on the optimization of depectinization during enzymatic treatment such as commercial pectinases of fungal origin (Chen et al., 2012; Pinelo et al., 2010; Alam et al., 2014), clarification of fruit juices using bacterial and fungal crude pectinase enzymes are among reported ones. Besides, current literature supports the use of crude enzyme as crude exopolygalacturonase from *B. subtilis* CM5 was more efficient than commercial pectinase (Pectinex) (13.3% more yield) in carrot juice (Swain and Ray, 2010). However, there is no information about influence of parameters on clarification in preliminary study of Swain and Ray (2010). According to Joshi et al. (2011), use of pectin methyl esterase enzyme from *Aspergillus niger* by

apple pomace increased the yield of apple and pear juices. Sandri et al. (2011) tested the efficiency of two crude pectinolytic extracts (*A. niger* T0005007-2 and *A. oryzae* IPT 301) during clarification of apple, butia palm fruit, blueberry, and grape juices. Kumar and Sharma (2015) investigated effects of concentration of crude (*A. niger* NCIM 548) and commercial enzymes (such as cellulase, pectinase, hemicellulase), time and temperature on the enzymatic degumming of pineapple (*Ananas comosus*) mill juice to improve filtration rate, clarity, relative viscosity and percentage overrun. From these studies, it can be seen that pectinases originated from fungi are widely used in beverage industry to clarify fruit juices. Potential use of pectinase produced from *Bacillus* sp. MBRL576 by submerged fermentation to clarify banana, apple and carrot juices has been reported (Bhardwaj and Garg, 2014). Uzunur and Cekmecelioglu (2015) reported potential use of bacterial pectinase originated from *B. subtilis* grown on hazelnut shell hydrolysate in clarification of carrot juice. Optimization of crude pectinase clarification conditions with respect to several responses has not been reported yet. In the present study, a novel approach was applied that dealt with the use of crude bacterial pectinase to obtain low cost clarification process of apple juice for industrial applications such as juice industry.

As a result, the aim of this study was to investigate the enzymatic clarification of apple juice as a model fruit using crude bacterial pectinase produced by *Bacillus subtilis* and also evaluate the performance of clarification process. Optimal enzyme load, temperature and time to provide the highest lightness (L value) and clarity percentage and also lowest turbidity were determined using the Box-Behnken response surface methodology (RSM).

MATERIALS AND METHODS

Materials

The 'Golden Delicious' apples were supplied from a local market in Ankara, Turkey and hazelnut shells were supplied from a local plant in Ordu, Turkey. Pectinex 3XL (from *Aspergillus*

niger) was purchased from Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany).

Preparation of apple juice

After washing with tap water and cutting into halves, apple halves were subsequently squeezed with a fruit and vegetable juicer with a yield of $51.65 \pm 2.90\%$ and manually filtered through two layers of cheesecloth to obtain raw apple juice.

Crude enzyme preparation

The ground hazelnut shells were pretreated with dilute acid (H_2SO_4) and subsequently hydrolyzed with cocktail enzyme (Viscozyme L, Sigma-Aldrich, Denmark) as described in our previous study (Uzuner and Cekmecelioglu, 2014). Enzyme was produced in 500 mL erlenmeyer flask containing 100 mL total hydrolyzate was supplemented with 5% hazelnut shell instead of glucose and pre-specified amounts of nutrients (0.5% (w/v) yeast extract, 0.02% (w/v) K_2HPO_4 , 0.2% (w/v) pectin and 0.02% (w/v) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) and incubated at 30 °C and pH 7.0 for 72 h using *Bacillus subtilis* according to our previous study (Uzuner and Cekmecelioglu, 2015).

Enzymatic clarification

The pH and brix of the apple juice obtained were 3.75 ± 0.07 and 12.65 ± 0.92 °Bx respectively. For each experiment, 100 mL of juice was subject to different enzyme treatment conditions as mentioned in experimental design and shown in Table 1. Based on preliminary experiments, the range of the variables for clarification process was selected. Samples of apple juice (100 mL) were mixed with laboratory produced crude pectinase enzyme (4.00 U/mL) (16) in a flask and placed in a shaking water bath at 120 rpm to control different incubation temperatures (30, 40 and 50 °C) and incubation time (2, 4 and 6 h). Aliquots were taken at the end of the enzymatic treatment and immediately heated the mixture at 90 °C for 5 min to inactivate the enzyme. After cooling, samples were centrifuged at $6272x g$ for 10 min to recover the samples.

Analysis of response variables

Clarity test (%)

The clarification of the juice was evaluated by measuring absorbance at 660 nm. The degree of clarification was expressed by percentage of clarity calculated using (equation 1),

$$Clarity = \frac{[Abs_{untreated\ sample} - (Abs_{control} - Abs_{sample})]}{Abs_{untreated\ sample}} * 100 \quad (1)$$

where $Abs_{untreated}$ is the sample with no enzyme and heating, $Abs_{control}$ is the sample with no enzyme heated at 50 °C, Abs_{sample} is sample with enzyme heated at 50 °C

Turbidity

Turbidimeter (Model-FT. Myers, FL) was used to measure turbidity of the raw and clarified juice samples. The results were measured as a nephelometric turbidity units (NTU).

Color measurement

The color parameters (CIE $L^* a^* b^*$) of the raw and clarified juice samples were measured using a Hunter Laboratory Color Flex Spectrophotometer (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, USA), where L value indicates lightness.

Total phenolic content analysis

The Folin-Ciocalteu assay was used for the determination of total phenolic content in apple

juice samples colorimetrically at 760 nm (Spanos et al., 1990), as follows: 5 mL of 10 fold diluted Folin-Ciocalteu reagent and 4 mL Na_2CO_3 solution (75g/L) were mixed with 1 mL of 1:5 diluted sample and incubated at 50 °C in a water bath for 5 min. Phenolics were expressed as gallic acid equivalents in mg/L.

Experimental design and statistical analysis

The relationships between responses of L value, turbidity and clarity and independent variables of temperature, enzyme load, and time were studied using the Box-Behnken Design (BBD) with a quadratic model using MINITAB 16.0 (Minitab Inc. State College, PA, USA). The BBD matrix was constructed using three independent

Depectinization of apple juice using crude polygalacturonase

variables each having three levels, which were enzyme load (X_1 ; 0.3, 0.5, and 0.7%), temperature (X_2 ; 30, 40, and 50 °C), and time (X_3 ; 2, 4, and 6h) (Table 1).

Table 1. Design summary: Coded and uncoded variables of the response surface design for clarification of apple juice.

Levels/ Run order	Enzyme load (%) X_1	Temp (°C) X_2	Time (h) X_3	L value	Turbidity (NTU)	Clarity (%)	TPC (mg/L)
Low (-1)	0.3	30	2				
Middle (0)	0.5	40	4				
High (+1)	0.7	50	6				
1	0.5	30	2	61.63±2.26 ^{bc}	196.75±2.90 ^b	75.24±1.35 ^b	96.68±0.31 ^g
2	0.7	40	6	63.26±1.87 ^b	89.65±1.65 ^e	75.0±1.14 ^{bc}	146.68±2.82 ^{de}
3	0.7	50	4	62.57±2.54 ^b	59.35±0.46 ^g	75.46±1.28 ^b	136.95±8.45 ^{def}
4	0.5	40	4	54.05±0.62 ^{def}	123.05±3.61 ^d	72.58±4.56 ^{bc}	265.49±1.88 ^a
5	0.5	30	6	50.56±0.66 ^f	277±4.81 ^a	66.24±70.69 ^{cd}	110.62±6.88 ^{fg}
6	0.5	50	2	58.42±1.22 ^{bcd}	75.29±1.90 ^f	72.73±0.00 ^{bc}	252.43±4.69 ^{ab}
7	0.5	50	6	60.34±1.03 ^{bc}	56.81±1.85 ^{gh}	70.0±1.29 ^{bcd}	221.24±10.64 ^c
8	0.3	50	4	63.11±0.62 ^b	79.86±1.68 ^f	73.64±3.86 ^{bc}	233.63±6.88 ^{bc}
9	0.7	30	4	57.56±0.28 ^{cde}	49.40±1.17 ^h	75.63±1.82 ^b	126.99±4.38 ^{efg}
10	0.3	30	4	63.23±0.21 ^b	143.9±0.28 ^c	73.81±0.67 ^{bc}	130.75±2.19 ^{def}
11	0.3	40	2	71.88±0.05 ^a	62.51±0.12 ^g	92.45±0.71 ^a	159.73±0.00 ^d
12	0.7	40	2	62.13±1.14 ^{bc}	59.42±0.099 ^g	74.19±2.28 ^{bc}	158.19±1.56 ^d
13	0.3	40	6	53.26±0.23 ^{ef}	137.85±1.20 ^c	63.71±3.42 ^d	251.77±20.65 ^{abc}

*Within the same column, values not preceded by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

The levels of these variables were determined by preliminary studies. The uncoded and coded independent variables and also the overall BB experimental design are given in Table 2, in which L value, turbidity and clarity are reported as

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 \quad (2)$$

where Y_1 , Y_2 and Y_3 are L value, turbidity and clarity, respectively. b 's are regression coefficients, and X_1 , X_2 , X_3 are enzyme load, temperature and time, respectively. From regression analysis of the Box-Behnken design, optimal conditions for clarity, turbidity and L value were defined. To validate the model, additional five check points at the defined clarification conditions were carried out in duplicate. Analysis of variance (ANOVA) and regression were performed at 95% confidence interval to define the coefficients of the predictive model and significant terms. Analysis of variance (ANOVA) was performed to

averages of three replicates of each run (total 15 runs).

A quadratic mathematical equation was used to fit the collected data.

determine whether statistically significant effect of enzyme load, temperature and time ($p < 0.05$). The pairwise comparisons were made by Tukey's test. Performance of the predictive model was compared by root mean square error (RMSE) value, which reflect the goodness of the predictions, as follows:

$$RMSE = \left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{pred,i} - X_{exp,i})^2 \right)^{0.5} \quad (3)$$

where X_{exp} is the experimental value and X_{pred} is the predicted value of % clarity, N is the number of data.

Optimization and verification

Optimization including the numerical and graphical optimization and point prediction was carried out to establish the optimum level of three independent variables, enzyme load (X_1), temperature (X_2) and time (X_3) to achieve desirable responses such as maximum clarity, maximum L value and minimum turbidity. The optimum value of multiple responses was determined by using MINITAB optimizer tool.

RESULTS AND DISCUSSION

Composition of untreated apple juice

The chemical composition of apples (Golden Delicious) varies with geographic location, fruit season, maturity, light exposure and harvesting time (Kahle et al., 2005). Lightness (L value) and turbidity (NTU) values of apple juice were '41.16±2.84', '458.1±11.03', respectively. pH and Brix of apple juice were also measured as

3.75±0.07 and 12.65±0.92 °Bx, respectively. These results agree well with those of Usaga et al. (2015) who studied the effects of pressing and insoluble solids on the UV treatment of cloudy apple juice. Total phenolic content of apple juice was also found as 358.85±65.70 mg/L.

Depectinization of apple juice and response surface optimization

The efficacy of crude enzyme during clarification of apple juice was evaluated by RSM optimization response surface. The values of L, turbidity, clarity and total phenolic content of apple juice under different conditions are presented in Table 1.

Effects of clarification parameters on L value, turbidity and clarity

L value

L values of apple juice ranged between 53.14-71.88% with crude pectinase under various enzyme load, temperature and time (Table 1). Second order polynomial regression models with interaction terms are presented in Table 2.

Table 2. Revised ANOVA results and estimated regression coefficients for the coded clarification model*

Term	L value		Turbidity (NTU)		Clarity (%)	
	Coeff	P value	Coeff	P value	Coeff	P value
Regression	-	0.000	-	0.000	-	0.000
Linear	-	0.000	-	0.000	-	0.000
Enzyme load	-0.75	0.083*	-0.013	0.880*	0.038	0.783*
Temp.	1.43	0.002	-0.87	0.000	-	-
Time	-3.33	0.000	0.28	0.001	-0.75	0.000
Square	-	0.000	-	0.000	-	0.001
Temp*Temp	1.63	0.014	0.183	0.115*	-	-
Time*Time	2.64	0.000	-0.322	0.009	-0.21	0.292*
Enz.load*Enz.load	6.52	0.000	-0.495	0.000	0.80	0.000
Interaction	-	0.000	-	0.000	-	0.000
Temp*Time	3.25	0.000	-0.42	0.000	-	-
Temp*Enz.load	1.28	0.039	-0.39	0.010	-	-
Time*Enz.load	4.94	0.000	-	-	1.03	0.000
Lack-of-fit	-	0.121	-	0.415	-	0.676
Constant	53.47	0.000	0.59	0.000	-0.21	0.242*
R^2	0.95		0.93		0.79	
R^2 (adj)	0.92		0.88		0.74	
R^2 -pred	0.85		0.79		0.65	
PRESS	139.2		3.5		9.9	

*Result is insignificant when $P>0.05$

Among the variables studied, temperature and time showed significant effects ($p < 0.05$) on L value. Linear ($p > 0.05$) effect of enzyme load was not significant; while the quadratic ($p < 0.05$) effect significantly affected L value during clarification process. Interactions between temperature and time, temperature and enzyme load, and time and enzyme load ($p < 0.05$) showed positive significant effects (Table 2).

Turbidity

Turbidity of apple juice ranged between 49.40-277.00% with crude pectinase under various enzyme load, temperature and time. Temperature and time were found to be the significant main factors ($p < 0.05$) affecting turbidity. Linear ($p > 0.05$) effect of enzyme load was not significant; while the quadratic ($p < 0.05$) effect significantly affected turbidity during clarification process. Interactions between temperature and time and temperature and enzyme load ($p < 0.05$) showed negative significant effects (Table 2).

At constant temperature (40 °C), apple juice turns to turbid, when increasing with time. At constant temperature, the turbidity was found to decrease with enzyme load and temperature up to 0.7% and 40 °C, respectively (Table 1). Pectin caused the turbidity of fruit juices. Turbidity was mostly associated with enzyme load. During the clarification process, the amount of pectin in the juices decreased, therefore turbidity of the juices also decreased (Alvarez et al., 1998).

Clarity

Clarification percentages of apple juice ranged between 63.71-92.45% with crude pectinase under various enzyme load, temperature and time. Time was found to be the only significant main factor ($p < 0.05$) affecting clarity. Linear ($p > 0.05$) effect of enzyme load was not significant; while the quadratic ($p < 0.05$) effect significantly affected clarity during clarification process. Interactions between time and enzyme load ($p < 0.05$) showed a positive significant effect (Table 2).

According to Kilara (1982), the rate of enzymatic clarification process increases with increasing temperature to denaturation temperature (40–60 °C). Therefore, moderate temperature should be

used during clarification of apple juice. At constant temperature, apple juice turns to clear, when increasing with enzyme load. Increase in enzyme load may cause an increase in rate of clarification by exposing the positively charged protein beneath. Thus electrostatic charged between cloud particles is reduced, which cause these particles to aggregate to larger particles and eventually settle down (Sin et al., 2006). However, clarity decreased with increasing time (Table 2).

However, Alam et al. (2014) showed that an increase in time and/or enzyme load was increased the clarification of carrot juice subjected to commercial pectinase at various enzyme loads (0.01% to 0.1%), temperature (35 °C to 55 °C) and time (40 to 120 min).

Total phenolic content (TPC)

Total phenolic content was 358.85 ± 65.70 mg/L in the control samples. After depectinization, total phenolic content of apple juice ranged between 96.68-265.49 mg/L with crude pectinase under various enzyme load, temperature and time. Temperature and enzyme load were found to be the only significant main factors ($p < 0.05$) affecting TPC. Linear ($p > 0.05$) effect of time was not significant; while the quadratic ($p < 0.05$) effect significantly affected TPC during clarification process (data not shown). The TPC was found to increase with temperature and increase with enzyme load up to 0.50 (%) and decreases slowly thereafter (Table 2).

Fitting the model

RSM is a frequently used technique for modeling and determining optimal process conditions. The BBD response surface analysis of experimental results for L value, turbidity and clarity under various enzyme load, temperature and time (Table 1), was used to identify the best pretreatment conditions in the ranges tested. A second-order polynomial equation was developed to identify the relationship between predicted values of L value (Y_1), turbidity (Y_2) and clarity (Y_3) as a function of enzyme load (X_1), temperature (X_2) and time (X_3). Since the original turbidity and clarity values were non-normal distributed

($p > 0.05$), Johnson transformation was applied to the original data of turbidity and clarity. According to ANOVA results, the insignificant terms were excluded and the model was re-written

in terms of coded factors (Table 2). The model for the L value, turbidity and clarity can be derived by using the coefficients (Table 3).

Table 3. Regression equations for apple juice quality characteristics

Responses	Predicted models	R ²
L value (Y_1)	$Y_1 = 53.47 + 1.43 * X_2 - 3.33 * X_3 + 1.63 * X_2^2 + 2.64 * X_3^2 + 6.52 * X_1^2 + 3.25 * X_2 * X_3 + 1.28 * X_1 * X_2 + 4.94 * X_1 * X_3$	0.95
Turbidity (Y_2)	$Y_2 = 0.59 - 0.87 * X_2 + 0.28 * X_3 - 0.322 * X_3^2 - 0.495 * X_1^2 - 0.42 * X_3 * X_2 - 0.39 * X_1 * X_2$	0.93
Clarity (Y_3)	$Y_3 = -0.75 * X_3 - 0.80 * X_1^2 + 1.03 * X_1 * X_3$	0.79

The degree of efficacy of varying treatment conditions on the clarity can be deduced by comparing the magnitude of the coefficients of the second order model (Table 3). The most important factor was time with the highest coefficient (3.33, 0.75) for L value and clarity, respectively whereas the most important factor was temperature with the highest coefficient (0.87) for turbidity (Table 3).

L value, turbidity and clarity were found fairly adequate to represent the data with R² of 0.95, 0.93 and 0.79, respectively. Predicted R² values for L value, turbidity and clarity found to be 0.85, 0.79 and 0.65, respectively. The insignificant lack of fit values for L value, turbidity and clarity ($p = 0.121 > 0.05$), ($p = 0.415 > 0.05$) and ($p = 0.676 > 0.05$) respectively), also proved that the model fit the experimental data well (Table 2). The coefficient of variation (CV) describes the dispersion of the data and smaller values of CV give better reproducibility. CV values were 9.5% and 8.5% for L value and clarity, respectively.

Verification of optimal clarification conditions

The process parameters need to be optimized for maximum L value and clarity and minimum turbidity of apple juice. The multiple response optimization of clarification parameters was carried out using response surface methodology-based on the desirability approach. Approaches based on desirability analysis are an objective

function that ranges from zero to one (least to most desirable, respectively) at the goal.

The optimum clarifying conditions under these constraints were found to be 0.3% of enzyme load, 45.8 °C of temperature and 2h of time. Sin et al. (2006) reported that sapodilla juice was clarified at different incubation times (30–120 min), temperature (30–50 °C) and enzyme load (0.03–0.10%) with optimal conditions of enzyme load (0.1%), temperature (40 °C) and time (120 min). A similar behavior of clarity was observed for the changes in incubation time in the study of Sin et al. (2006) and Alam et al. (2014). As time increased, fine particles in juice slowly settle down (Sin et al., 2006).

The overlaid contour plots for multi-response of clarification process are shown in Figure 1a-c.

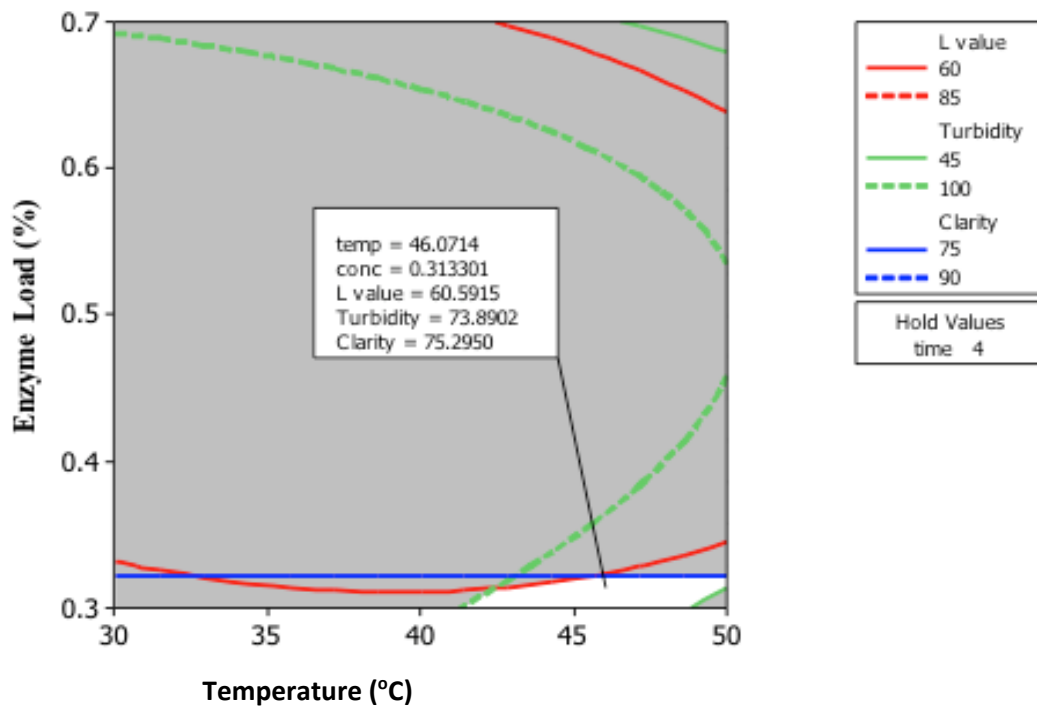
Contour plots are used to illustrate the relationship between experimental factors and one response. The advantage of overlaying the contour plots is to visualize how experimental factors affect many responses simultaneously for any given set of conditions. The white area of the plots shows the range of enzyme load, temperature and time where the criteria for three response variables are satisfied (Figure 1a-c). At optimum time parameter, both temperature and enzyme load parameters are to be maintained within a very narrow range as shown in Figure 1a. Figure 1b shows that holding enzyme load at optimum conditions, a feasible range was

Depectinization of apple juice using crude polygalacturonase

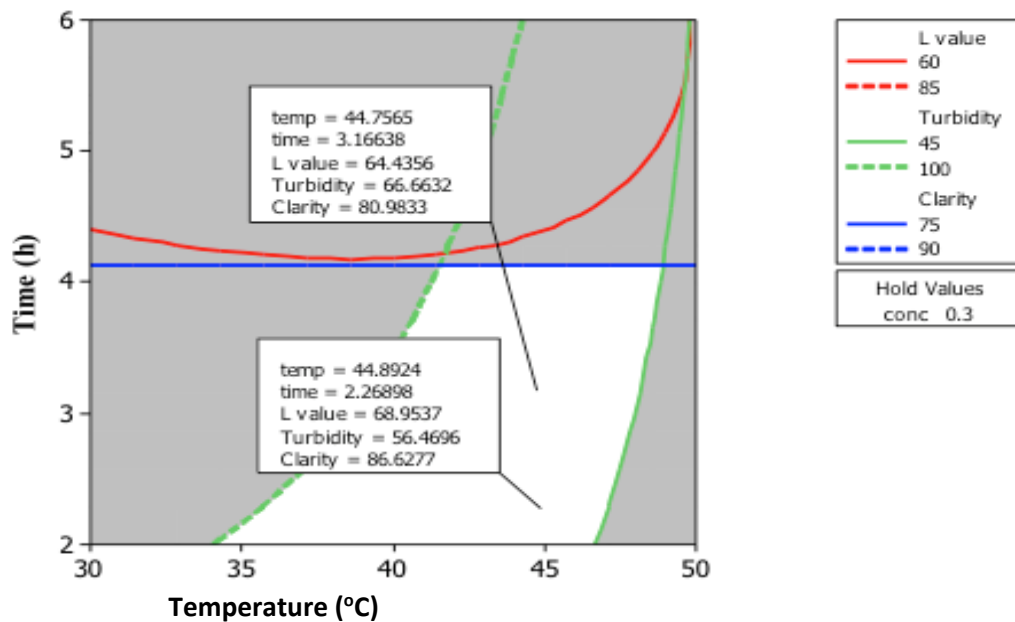
obtained within temperature at (34-47 °C) and time at (2-4 h). Two feasible zones (Figure 1c) were obtained when both the clarification process parameters are optimum (see lower left corner).

To confirm the validity of RSM models, five optimum check points were selected to perform over the entire experimental domain (Table 4).

a)



b)



c)

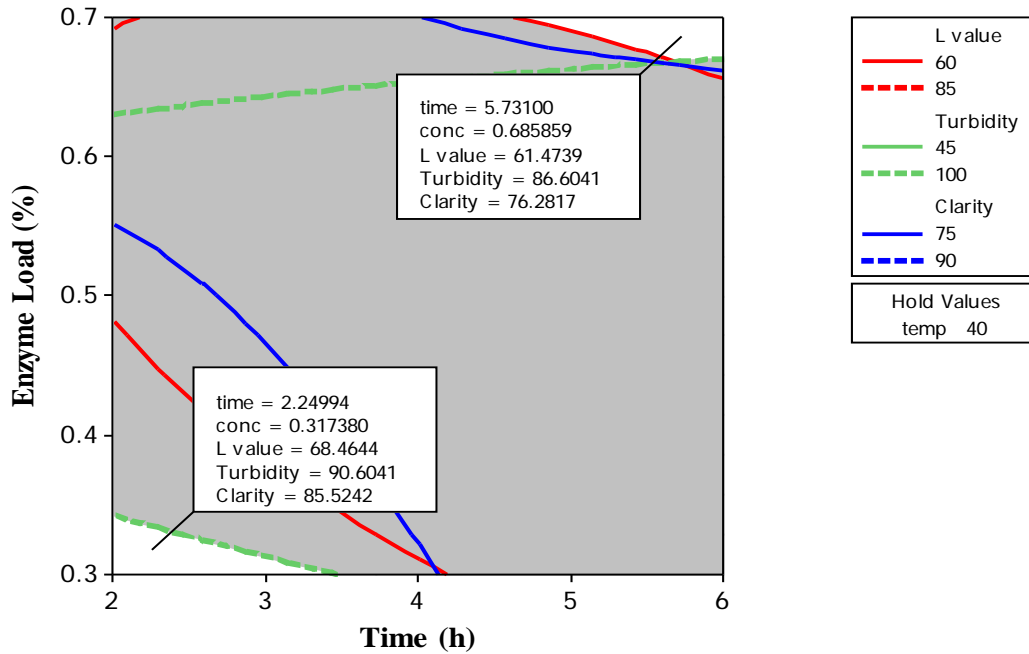


Fig. 1. Over laid surface plots showing the effect of a) pH and time, b) Enzyme load and time, c) Enzyme load and pH on clarification of apple juice.

Table 4. Verification of clarification model

Temperature (°C)		35	35	45	45	45	RMSE
Enzyme Load (%)		3	5	4	3	4	
Time (h)		0.3	0.3	0.4	0.3	0.5	
L value	Experimental	61.52	53.61	61.35	61.14	60.00	4.65
	Predicted	66.67	56.78	56.28	65.2	54.59	
Turbidity (NTU)	Experimental	108.00	114.40	111.40	74.94	108.30	5.28
	Predicted	98.43	110.25	108.77	79.13	110.72	
Clarity (%)	Experimental	77.70	75.40	81.25	64.58	72.92	9.15
	Predicted	81.57	69.22	72.56	81.57	71.62	

The resultant experimental data were compared with that of the predicted values in Table 4. The constructed model was also assessed using error analysis. The RMSE values of L value, turbidity and clarity were calculated as 4.65, 5.28 and 9.15, respectively which both indicate low error or high accuracy of prediction.

CONCLUSIONS

This study assesses how process variables (enzyme load, temperature and time) affect clarification of apple juice. Polynomial regression models successfully defined the clarification as well. Maximal lightness and clarification yield (70.40 and 88.33%, respectively) and minimum turbidity (49.44) were observed with 0.3%

enzyme load at 45 °C for 2 h. Different fruit juices can be treated with the produced bacterial pectinase as part of future work.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank Dr. Nusret Karakaya, Dr. Gulsun Akdemir Evrendilek and Dr. Semra Turan for their help with laboratory logistics.

REFERENCES

- Abdullah, A.G.L., Sulaiman, N.M., Aroua, M.K., Megat Mohd Noor, M.J. (2007). Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. *J Food Eng Essex*, 81(1): 65-71.
- Alam, MdS., Ahuja, G., Gupta, K. (2014). Enzymatic clarification of carrot juice by using response surface methodology. *Agric Eng Int: CIGR J*, 16(3): 173-179.
- Alvarez, S., Alvarez, R., Riera, F.A., Coca, J. (1998). Influence of depectinization on apple juice ultrafiltration. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Asp*, 138: 377-382.
- Bhardwaj, V., Garg, N. (2014). Production, purification of pectinase from *Bacillus sp.* MBRL576 isolate and its application in extraction of juice. *Int J Sci Res*, 3(6): 648-652.
- Chen, X., Xu, F., Qin, W., Ma, L., Zheng, Y. (2012). Optimization of enzymatic clarification of green asparagus juice using response surface methodology. *J Food Sci*, 77(6): 665-670.
- Joshi, V.K., Parmar, M., Rana, N. (2011). Purification and characterization of pectinase produced from apple pomace and evaluation of its efficacy in fruit juice extraction and clarification. *Indian J Nat Prod Resour*, 2(2): 189-197.
- Kahle, K., Kraus, M., Richling, E. (2005). Polyphenol profiles of apple juices. *Mol Nutr Food Res*, 49: 797-806.
- Kilara, A. (1982). Enzymes and their uses in the processed apple industry: A review. *Process Biochem*, 23: 35-41.
- Kumar, S., Sharma, H.K. (2015). Enzymatic degumming of pineapple (*Ananas comosus*) mill juice using crude and commercial enzymes. *J Food Measur Char*, 9(3): 414-425.
- Lee, W.C., Yusof, S., Hamid, N.S.A., Baharin, B.S. (2006). Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *J Food Eng*, 73: 55-63.
- Pinelo, M., Zeuner, B., Meyer, A.S. (2010). Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. *Food Bioprod Process*, 88: 259-265.
- Rai, P., Majumdar, G.C., Dasgupta, S., De, S. (2004). Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. *J Food Eng*, 64: 397-403.
- Sakhale, B.K., Pawar, V.N., Gaikwad, S.S. (2016). Studies on effect of enzymatic liquefaction on quality characteristics of Kesar mango pulp. *Int Food Res J*, 23(2): 860-865.
- Sandri, I.G., Fontana, R.C., Barfknecht, D.M., Silveira, M.M. (2011). Clarification of fruit juices by fungal pectinases. *LWT-Food Sci Technol*, 44 (10): 2217-2222.
- Sandri, I.G., Lorenzoni, C.M.T., Fontana, R.C., Silveira, M.M. (2013). Use of pectinases produced by a new strain of *Aspergillus niger* for the enzymatic treatment of apple and blueberry juice. *LWT-Food Sci Technol*, 51(2): 469-475.
- Sin, H.N., Yusof, S., Hamid, N.S.A., Rahman, R.A. (2006). Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *J Food Eng*, 73: 313-319.
- Spanos, G.A., Wrolstad, R.E., Heatherbell, D.A. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J Agric Food Chem*, 38: 1572-1579.
- Swain, M.R., Ray, R.C. (2010). Production, Characterization and application of a thermostable exo-polygalacturonase by *Bacillus subtilis* CM5. *Food Biotechnol*, 24: 37-50.

Usaga, J., Worobo, R.W., Moraru, C.I., Padilla-Zakour, O.I. (2015). Time after apple pressing and insoluble solids influence the efficiency of the UV treatment of cloudy apple juice. *LWT Food Sci Technol* 62(1): 218-224.

Uzuner, S., Cekmecelioglu, D. (2014). Hydrolysis of hazelnut shells as a carbon source for bioprocessing applications and fermentation. *Int J Food Eng*, 10(4): 799-808.

Uzuner, S., Cekmecelioglu, D. (2015). Enhanced pectinase production by optimizing fermentation conditions of *Bacillus subtilis* growing on hazelnut shell hydrolyzate. *J Mol Catal B: Enzym*, 113: 62-67.

Whitaker, J.R. (1984). Pectic substances, pectic enzymes and haze formation in fruit juices. *Enzyme Microb Technol*, 4: 341-349.

MEYVE SUYU İŞLEMEDE ULTRASES KULLANIMI

Cüneyt Dinçer^{1,2,*}, Ayhan Topuz³

¹Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Finike Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Antalya, Türkiye

³Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / *Received*: 19.03.2018; Kabul / *Accepted*: 13.06.2018; Online baskı / *Published online*: 27.06.2018

Dinçer, C., Topuz, A. (2018). Meyve suyu işlemede ultrases kullanımı. *GIDA* (2018) 43 (4): 569-581 doi: 10.153237/gida.GD18037

ÖZ

Bilinçli tüketicilerin sağlıklı, besleyici ve tazeye eşdeğer ürünleri tercih etmeleri, ısılmayan yenilikçi teknolojilere olan ilgiyi arttırmıştır. Bu kapsamda, ultrases meyve suyu işlemede umut vadeden ısılmayan alternatif yöntemlerden biri olarak tanımlanmaktadır. Gıda endüstrisinde mikrobiyal ve enzim inaktivasyonu için ultrasesin tek başına kullanımı şu anda yeterli değildir. Bununla birlikte ultrases, verimliliği arttırmak için kimyasallar, basınç ve sıcaklık ile kombine olarak da kullanılabilir. Ultrases uygulamasıyla, enzimler ve mikroorganizmalar termal yöntemle kıyasla daha düşük sıcaklıklarda inaktive edilebildiğinden daha kaliteli, lezzetli ve besleyici meyve suyu üretilmesi mümkün olmaktadır. Bu çalışmada ultrases işlemlerinin meyve suyu endüstrisinde kullanılabilirliği, avantaj ve dezavantajları derlenmiştir. Bu işlemin meyve suyu endüstrisinde kullanımına yönelik farkındalığın artırılması, sektör ve bilim insanlarının işbirliğinin sağlanarak kapsamlı araştırmalara konu edilmesine ihtiyaç olduğu değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ultrases, meyve suyu, biyoaktif bileşen, mikroorganizma, enzim inaktivasyon.

THE USE OF ULTRASOUND IN FRUIT JUICE PROCESSING

ABSTRACT

Emerging nonthermal technologies have raised great interest, because conscious consumers are demanding healthy, nutritious and equivalent to fresh products. In this regard, ultrasound has been identified as one of the promising nonthermal alternative methods in fruit juice processing. The use of ultrasound on its own in the food industry for microbial and enzyme inactivation is currently insufficient. However, ultrasound applications can also be used in combination with chemicals, pressure and temperature to increase efficiency. With ultrasound application, producing of higher quality, tasty and nutritious juice is possible because enzymes and microorganism can be inactivated at lower temperatures than thermal treatments. In this study, it has been compiled the advantages, disadvantages and usability of ultrasonic processes in the fruit juice industry. It is assessed necessary to raise awareness of the use of this process in the juice industry, the sector and scientists to be involved in comprehensive research by ensuring collaboration.

Keywords: Ultrasound, fruit juice, bioactive component, microorganism, enzyme, inactivation

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*:

✉ cdincer@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 4345/2598

☎ (+90) 0 242 855 36 66

GİRİŞ

Meyve sularının üretiminde gerek mikrobiyal riskleri ve enzim aktivitesini azaltmak gerek ürün stabilitesini sağlamak ve muhafazasını kolaylaştırmak için ayıklama, presleme, durultma, pastörizasyon ve konsantrasyon gibi işlemlere ihtiyaç duyulmaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001). Bu işlemlerden insan sağlığını ve ürün kalitesini etkileyen en kritik basamaklarından biri pastörizasyondur. Nitekim Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) meyve suyundaki hedef mikroorganizma sayısında 5 log azalma sağlayacak işlemi pastörizasyon normu olarak belirlemiştir (Salleh-Mack ve Roberts, 2007). Meyve suyu pastörizasyonu için genellikle ısıl işlem uygulanmaktadır. Ancak ısıl işlem ile ürünlerin uçucu bileşenler, vitaminler (C ve E), karotenoidler, antosiyaninler, organik asitler, pH ve renk gibi besleyici ve fizikokimyasal özelliklerinde olumsuz değişimler meydana gelebilmektedir (Zinoviadou vd., 2015; Dinçer ve Topuz, 2015; Anaya-Esparza vd., 2017a).

Günümüzde bilinçli tüketicilerin duyuşal ve besinsel özellikleri mümkün olduğunca korunmuş gıda ürünlerini tercih etme eğilimleri ısıl işleme alternatif yeni gıda muhafaza yöntemlerine olan ilgiyi arttırmıştır. Bu doğrultuda çalışmaların yoğunlaştığı alternatif bir pastörizasyon yöntemi, kimyasallar, basınç ve sıcaklık kombinasyonlarıyla birlikte de kullanılabilen ultrases uygulamalarıdır (Condón vd., 2005; Demirdöven ve Baysal 2008; Tiwari vd., 2009a; Zinoviadou vd., 2015). Ultrases, insanların duyma sınırı (16-20 kHz) üzerindeki yüksek frekanslı ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır (Condón vd., 2005). Gıda endüstrisinde, ultrases ile ilgili çalışmalar genel olarak düşük enerjili (düşük güç veya düşük yoğunluklu) ve yüksek enerjili (yüksek güç, yüksek yoğunluk) ultrases olmak üzere iki başlık altında yürütülmektedir. Düşük yoğunluklu ultrases uygulandığı materyalde fiziksel ve kimyasal bir değişime neden olmamaktadır. Gıda sanayinde düşük yoğunluklu ultrases daha çok gıdaların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde ve proses kontrolünde kullanılmaktadır (Knorr vd., 2004; Tiwari ve Mason, 2012). Yüksek enerjili ultrases ise ekstraksiyon, homojenizasyon, emülsiyon oluşturma, kurutma ve kristalizasyon

işlemlerinde, sıvı gıdalardan gazın uzaklaştırılmasında, enzim ve mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesinde uygulanmaktadır (McClements, 1997; Piyasena vd., 2003; Knorr vd., 2004; Tiwari ve Mason, 2012).

Bu derlemede meyve suyu işlemede alternatif bir yöntem olarak ön plana çıkan ultrasesin temel prensipleri, sistem bileşenleri ve etki mekanizmasının yanı sıra meyve suyunun raf ömrü ve bozulmasından sorumlu enzimlerin ve mikroorganizmaların ultrases ile inaktivasyonunu konu alan detaylı çalışmalara yer verilmiştir. Ayrıca ultrasesin meyve suyundaki biyoaktif bileşikler ve ürünün fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkilerinin de ayrıntılı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

ULTRASESİN TEMEL ÖZELLİKLERİ VE ULTRASONİK GÜÇ ÖLÇÜMÜ

Ultrases, katı, sıvı ve gazlardan geçebilen, insan kulağının işitme sınırından (16-20 kHz) daha yüksek frekanslı ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır (Condón vd., 2005). Ses dalgalarındaki birbirine yakın iki tepe arasındaki mesafeye dalga boyu (λ) denilmektedir. Frekans (f) ise 1 saniyede oluşan ses titreşim sayısı veya bir noktadan geçen salınım olarak ifade edilebilmekte olup birimi Hertz (Hz)'dir. Ses dalgalarının yüksekliğine genlik (Amplitude, A) denir ve genlik ses dalgalarının gücünü belirler. Nitekim ses dalgasının içerdiği enerji, genliğin karesiyle doğru orantılıdır (McClements, 1997; Tiwari ve Mason, 2012).

Ultrases sıvı içerisinde uygulandığında sonikasyon olarak adlandırılabilen (Tiwari ve Mason, 2011) ve sonikasyonun temel etki mekanizması kaviteasyon ile açıklanmaktadır: Ses dalgası sıvının içerisinden geçerken boyuna dalgalar oluşturur ve ardışık olarak kasılıp gevşeme olayları gerçekleşir. Ses dalgası gevşeme pozisyonuna geçerken negatif basınç sıvının noktasal çekme kuvvetini aştığı zamanlarda mikro kabarcıklar ve boşluklar oluşur. Sıvı içindeki küçük kabarcıklar ultrases dalgalarının gevşeme-sıkışma hareketleri ile hızlı bir şekilde gelişir ve kritik bir değere ulaştığında patlamaktadır ki buna kaviteasyon denir. Bu olayda

noktasal olarak çok yüksek sıcaklık (5000 °C) ve basınç (100 MPa) oluşur (Piyasena vd., 2003; Tiwari ve Mason, 2011).

Gıda teknolojisinde ultrases kullanımında en önemli hususlarından biri sisteme uygulanacak enerji miktarının belirlenmesidir. Birçok ultrases ekipmanı üretilen gücü yani genliği değiştirebilme özelliğine sahiptir ancak bu gerçekte sisteme giren mutlak gücün bir ölçüsü değildir. Sisteme giren ultrases enerjisi, ultrases gücü (W), ultrases yoğunluğu (W/cm²) veya akustik enerji yoğunluğu (W/mL) olarak ifade edilebilir. Akustik güç yoğunluğu (APD) veya akustik enerji yoğunluğu (AED) işlem gören meyve suyunun birim hacmine uygulanan enerjinin bir göstergesidir (O'Donnell vd., 2010; Tiwari ve Mason, 2011). Bu ölçüm, farklı ultrases sistemlerinin karşılaştırılabilmesi ve daha büyük kapasiteli sistemlerin dizaynında fayda sağlaması bakımından da önem arz etmektedir. Ancak ultrasonik gücün mutlak doğrulukla ölçülmesi de pek mümkün değildir. Çünkü ses enerjisi absorbe edilir, yansıtılır ve kavitasyon üretiminde kullanılır. Bununla birlikte, bir reaktörde ısı kaybı ihmal edildiğinde ultrasonik güç için kalorimetrik yöntemle yaklaşık bir tahmin yapılabilmektedir. Buna göre meyve suyunun sıcaklığı (T) adiabatik koşullarda zamanın bir fonksiyonu olarak bir ısıl çift ile ölçülür. Zamana karşı sıcaklık verilerinden başlangıç sıcaklığının yükselişinin (dT/dt) polinomal kurveye uygunluğu belirlenir. Ultrasonik güç (P) ve APD (W/mL) değerleri aşağıdaki eşitlikler (1 ve 2) kullanılarak hesaplanır (Tiwari ve Mason, 2011).

$$P = mc_p \left(\frac{dT}{dt} \right)_{t=0} \quad (1)$$

$$APD = \frac{P}{V} \quad (2)$$

Formüllerde yer alan, P = Ultrasonik güç (W), m = Örneğin kütlesi (kg), C_p = Meyve suyunun özgül ısı (kJ/kg°C), dT/dt zamana bağlı sıcaklık değişimi (kurvenin eğimi) (°C/s), APD akustik güç yoğunluğu (W/mL) ve V örnek hacmidir (mL). Ayrıca ultrasonik gücün iyodine, Fricke, tereftalat ve nitrofenol gibi kimyasal yöntemlerle

de ölçülebileceği ifade edilmektedir (De Castro ve Capote, 2006).

ULTRASES SİSTEMLERİ VE SİSTEMLERİN BİLEŞENLERİ

Gıdalarda kullanılan ultrases sistemleri genel olarak jeneratör, dönüştürücü ve dağıtıcı olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır. Jeneratör elektrik enerjisini dönüştürücünün kullanabileceği yüksek frekanslı alternatif akıma çevirir. Dönüştürücü ise yüksek frekanslı alternatif akımı mekanik titreşimlere çevirmektedir. Dağıtıcı kısım da titreşimleri sıvı ortama göndermektedir (Mason, 1998; Leadley ve Williams, 2006). Gıda proseslerinde ultrases kullanımında gerekli enerjiyi sağlayan temel bileşen ultrasonik dönüştürücülerdir. Sıvı zorlamalı, manyetostrikatif ve piezoelektrik olmak üzere 3 tip dönüştürücü vardır (Mason, 1998; Leadley ve Williams, 2006). Piezoelektrik dönüştürücüler; ultrases oluşumunda en çok kullanılan dönüştürücü tipidir (Moussatov vd., 2005).

Küçük ve büyük ölçekli ultrases uygulamalarında farklı ultrases cihazları kullanılabilmeyle birlikte yaygın olarak kullanılan ultrasonik banyo ve ultrasonik prob sistemleridir (Mason, 1998; Zinoviadou vd., 2005). Ultrasonik banyolar yıllardır yaygın olarak kullanılan basit ve çok yönlü sistemlerdir. Probu sistemlere kıyasla daha ucuzdur. Bu sistemlerde dönüştürücü elemanlar genellikle tankın alt kısmına sabitlenir ve banyoların büyük kısmı yaklaşık 40 kHz'de çalışırlar. Bu sistemler oluşan kavitasyonun tank duvarlarına zarar vermesini önlemek amacıyla genellikle 1-5 W/cm² gibi düşük güç yoğunluğunda kullanılır (Mason, 1998, Santos ve Capelo, 2007). Bununla birlikte kullanılan ultrasonik banyonun istenen etkiyi gösterebilmesi için kavitasyon oluşumunu sağlaması önemlidir. Ancak ultrases banyolarının tümü bu amaç için yeterince güçlü olmayabilir. Bunu kontrol etmenin en pratik yolunun alüminyum folyo testi olduğu bildirilmektedir. Buna göre ultrasonik banyodaki deterjanlı su içerisine atılan bir parça alüminyum folyoda yaklaşık 30 saniye süre sonunda yoğun bir şekilde delikler oluşuyorsa sistemde kavitasyon oluşumunun gerçekleştiği söylenebilmektedir (De Castro ve Capote, 2006). Probu sistemler ise

genellikle doğrudan materyalin içine daldırılır ve ultrasonik banyolara kıyasla oldukça yüksek ultrases yoğunluğu üretebilmektedirler. Problar genellikle titanyum veya alüminyum alaşımlardan yapılabilmekle birlikte ısıya ve aşındırıcı ortamlara karşı dirençleri göz önüne alındığında titanyum alaşımlı problar daha çok tercih edilir (Mason, 1998). Bununla birlikte kullanıma bağlı olarak problu sistemler prob ucunun kavitasyon etkisiyle aşınması, içine daldırıldığı ürünün ısınması ve serbest radikal oluşumu gibi dezavantajlara da sahiptir. Kavitasyona bağlı olarak uçta meydana gelen aşınma metal kontaminasyonuna neden olabilmektedir. Ayrıca aşınmaya bağlı olarak prob boyunda küçülme ve etkinliğinde azalma da meydana gelebilmektedir. Bu nedenle üretici firmalar prob etkinliğinin ölçülebilmesi için genelde kullanım kılavuzlarında uygun test ve açıklamalara yer vermektedir. Problun kullanımında aşırı ısınma ve aşınmanın azaltılabilmesi için kesikli çalışma modunun kullanılması tavsiye edilmektedir. Problun daldırıldığı ürünün sıcaklığında meydana gelen artışları engellemek için ise soğutucu sıvı dolaşımının sağlandığı çift cidarlı kaplar kullanılabilir (Mason, 1998, De Castro ve Capote 2006, Santos ve Capelo, 2007). Problu sistemlerde dikkat edilmesi gereken diğer bir nokta problun sıvı içerisindeki derinliğidir. Köpük oluşumu ve aerosolü önlemek için prob yeterince derine daldırılmalıdır (De Castro ve Capote, 2006). Yaygın kullanılan 6-19 mm çaplarındaki problarda bu derinliğin 20-30 mm olarak tercih edildiği rapor edilmektedir (Tiwari vd., 2009a; Bevilacqua vd., 2014; Martínez-Flores, 2015; Dinçer ve Topuz, 2015).

Gıdalarda ultrases uygulaması tek başına uygulanabileceği gibi etkinliği artırabilmek için, ısı işlem ve/veya yüksek basınç ile birlikte de kullanılabilir. Ultrases ile ısı işleminin birlikte kullanıldığı uygulamalar termoseler, ultrases ile basınç birlikte kullanıldığı uygulamalar manoses, basınç ve ısı işlemle birlikte uygulanan ultrases işlemine ise manotermoses adı verilmektedir (Lee vd., 2009). Ayrıca ultrases işlemi vurgulu elektrik alan, ultraviyole ışın ve koruyucu maddelerle kombine olarak da kullanılabilir.

(Khandpur ve Gogate, 2015; Ferrario vd., 2015; Sánchez-Rubio vd., 2016).

ULTRASESİN MEYVE SUYU İŞLEMEDE KULLANIMI

Ultrases işlemi meyve suyu işlemede genel olarak hedef mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonu amacıyla uygulanmaktadır. Bununla birlikte ultrases işlemi meyve sularının fizikokimyasal özelliklerinde de değişimlere neden olabilmektedir. Çizelge 1-4'te farklı meyve suları ile yürütülen çalışmalar özetlenmiştir.

ULTRASESİN MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ

Ultrasesin mikrobiyal inaktivasyon mekanizmasıyla ilgili farklı teoriler olmakla birlikte kavitasyonun ana etken olduğu kabul görmektedir. Buna bağlı olarak ultrasesin inaktivasyon etkisinin genel olarak hücre membranlarındaki hasar, bölgesel ısınma ve serbest radikal oluşumundan kaynaklandığı yorumlanmaktadır (Piyasena vd., 2003; Leadley ve Williams, 2006; Tiwari ve Mason, 2011). Zira kavitasyonla oluşan şokların hücrede yeni porlar açması ve fonksiyonel bileşenlere zarar vermesi başlıca bakterisidal etkilerinden biri olarak gösterilmektedir. Kavitasyonun yoğunluğu zayıf şekilde bağlı ATPaz'ı hücre zarından uzaklaştırabilir, bu da hücre inaktivasyonunun olası başka bir mekanizmasıdır. Ultrases işleminin etki mekanizmalarından biri olan kimyasal etki de mikrobiyal inaktivasyonda önemli bir rol almaktadır. Yüksek sıcaklık ve basınç sonucu oluşan OH⁻ ve H⁺ radikalleri ve hidrojen peroksit (H₂O₂) bakterisidal etkiye sahiptir. Bu serbest radikallerin birincil hedef alanı bakteri hücresindeki DNA'dır (Piyasena vd., 2003; Leadley ve Williams, 2006; Tiwari ve Mason, 2011).

Genel olarak ultrasese karşı küçük hücrelerin büyük hücrelerden, Gram-pozitif bakterilerin Gram-negatif bakterilerden, aerobik bakterilerin, anaerobik bakterilerden, kok şeklindeki hücrelerin çubuk şeklindeki hücrelerden ve bakteri sporlarının vejetatif hücrelerden daha dirençli olduğu bildirilmektedir. Ayrıca sıcaklığa karşı dirençli olduğu bilinen mikroorganizmaların

çoğunun benzer şekilde ultrasese de dirençli olduğu rapor edilmektedir (Leadley ve Williams, 2006; Tiwari ve Mason, 2011). Mikroorganizmaların ultrases ile inaktivasyonu üzerine, işlem gören mikroorganizmanın tipi, ultrasesin gücü, uygulama süresi ve sıcaklığı ile işlem gören gıdanın fizikokimyasal özelliklerinin

etkili olduğu bildirilmektedir (Piyasena vd., 2003; Leadley ve Williams, 2006; Tiwari ve Mason, 2011). Nitekim Çizelge 1 incelendiğinde ultrasesin farklı meyve sularında, çeşitli mikroorganizmalar üzerine etkisinin sayılan faktörlere göre nasıl farklılık gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 1. Ultrasesin meyve sularında mikrobiyal inaktivasyon üzerine etkisi

Meyve Suyu	Mikroorganizma	İşlem koşulları	Mikrobiyal azalma (log)	Kaynak
Domates suyu	<i>Pichia fermentans</i>	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik 61 µm, 7.5 dk, 32-45 °C	5	Adekunte vd., 2010
Elma suyu	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4113	400 W, 24 kHz, 22 mm çapında prob, genlik 120 µm; 30 dk, 60 °C	7	Marx vd., 2011
Elma suyu, yaban mersini suyu, turna yemişi suyu	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Rhodotorula sp.</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> DSM 3922	600 W, 20 kHz, 12.7 mm çapında prob, genlik 60, 90, 120 µm, 3,6,9 dk, 60 °C	3.56 -5.93	Jambrak vd., 2018
Karadut suyu	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %100, 1.63 W/mL, 15 dk, 50°C	5.14	Diñçer ve Topuz, 2015
Karışık (Elma%90-havuç%10) meyve suyu	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %100,100kPa basınç, 60 sn, 60°C	6.17	Kahraman vd., 2017
Nar suyu, portakal suyu	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	200W, 24 kHz, 3 mm çapında prop, genlik 105 µm, 33.31 W/mL, 30 dk, 50 °C, 0.02 mg/mL Tarçın yaprağı uçucu yağı ile kombine	2.81 2.52	Sánchez-Rubio vd., 2016
Portakal suyu	<i>Escherichia coli</i> K12	400 W, 24 kHz, 22 mm çapında prob, genlik 100 µm, 2.8 dk, 40 °C	1.6	Muñoz vd., 2011
Portakal suyu	<i>Staphylococcus aureus</i>	100 W, 30 kHz Ultrasonik banyo, 20 dk, 55°C	3.3	Walkling-Ribeiro vd., 2009

ULTRASESİN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ

Meyvelerde bulunan pektin metil esteraz, polifenoloksidaz, peroksidaz ve lipoksigenaz gibi enzimler meyve suyunun kalite özelliklerini olumsuz biçimde etkileyebilmektedir. Bu nedenle

meyve suyu işlemede genel olarak enzimlerin inaktivasyonu hedeflenmektedir. Çizelge 2'de ultrasesin meyve sularında enzimler üzerine etkilerini konu alan bazı çalışmalar özetlenmiştir.

Ultrasesin enzimlerin inaktivasyonundaki etkisi mikroorganizmaların inaktivasyonunda olduğu gibi kavitasyon kaynaklıdır. Bununla birlikte ultrasesin etkisi uygulanan ultrases gücü, ürün hacmi, pH, enzim konsantrasyonu, inhibitör ve mikroorganizma varlığı ile çözünmüş haldeki gazların konsantrasyonuna göre değişebilmektedir (Anaya-Esparza vd., 2017a). Ayrıca ultrases etkisinin enzime spesifik olduğu ve bunun da amino asit kompozisyonuna ve enzimin konformasyonel yapısına bağlı olarak da değiştiği bildirilmektedir. Nitekim manotermoses uygulaması ile peroksidazların inaktivasyonunda etkili olan mekanizmanın termal etkide olduğu gibi prostetik grubun ayrılmasıyla gerçekleştiği bildirilirken lipoksigenazın inaktivasyonunda ise oluşan serbest radikallerin etkisi ile proteinlerin denatürasyonuna dayandırılmaktadır. Katalaz,

invertaz ve pepsin gibi bazı enzimlerin ise ultrasese karşı daha dirençli oldukları ifade edilmektedir (O'Donnell vd., 2010; Tiwari ve Mason, 2011). Diğer taraftan Cheng vd (2007), 35 kHz'de 30 dakika süreyle ultrases uygulanmış guava suyu içinde polifenoloksidazda bir artış bildirmişlerdir. Bu artış muhtemelen uygulanan ultrases işleminin düşük güçte uygulanmasından kaynaklanmaktadır. Zira ultrasonik banyoların çoğu duvarlarında kavitasyon hasarını önlemek için genellikle düşük güçlerde dizayn edilir ve dolayısıyla büyük işlem hacmi nedeniyle akustik enerji yoğunlukları düşüktür. Nitekim düşük güç seviyelerinde uygulanan ultrasesin enzim aktivitesini teşvik edici yönde bir etki gösterebileceği farklı kaynaklarda da bildirilmektedir (O'Donnell vd., 2010).

Çizelge 2. Ultrasesin meyve sularında enzimlerin inaktivasyonu üzerine etkisi

Meyve Suyu	İşlem koşulları	Etki/Sonuç*	Kaynak
Çin koca yemişi suyu	600W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %100, 452 W/ cm ² , 12 dk,	PPO ve POD %100 oranında inaktivasyon	Cao vd., 2018
Domates suyu	20 kHz, 10 mm çapında prob, genlik 75 µm, 40 W güç girişi, 4 dk, 75°C	PME yaklaşık tamamı, PG yaklaşık %72 oranında inaktivasyon	Terefe vd., 2009
Elma suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %70, 0.3 W/cm ³ , 10 dk, 60°C	POD %91, PPO %93.85, PME %92.9 oranında inaktivasyon	Abid vd., 2014
	500 W, 25 kHz, Ultrasonik banyo, genlik %70, 0.06 W/cm ³ , 30 dk, 60°C	POD %30, PPO %37, PME %38 oranında inaktivasyon	
Greyfurt suyu	420 W, 28 kHz, Ultrasonik banyo, %70, 60 dk, 60°C	PME %91, PPO %90, POD %89 oranında inaktivasyon	Aadil vd., 2015
Portakal suyu	200W, 24 kHz, 3 mm çapında prob, 80W güç girişi, 9.8 dk, 63°C	PME %91 oranında inaktivasyon	Koshani vd., 2015
Guava suyu	35 kHz, Ultrasonik banyo, 30 dk 20°C	PPO oranında artış	Cheng vd., 2007
Havuç suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %70, 48 W/cm ² , 10 dk, 60°C	POD, PME, PPO, LOX enzimlerinde %90'ın üzerinde inaktivasyon	Jabbar vd., 2015
Portakal suyu	1500W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, 1.05 W/mL, 10 dk, 25-45°C	PME %62 oranında inaktivasyon	Martínez-Flores vd., 2015
Tarçın elması suyu	400 W, 24 kHz, 7 mm çapında prob, 1.4 W/mL, 10 dk, 50-56.4°C	PPO %99 oranında inaktivasyon	Anaya-Esparza vd., 2017b

*PME = Pektin Metilesteraz, PPO = Polifenol oksidaz, POD = Peroksidaz, LOX = Lipoksigenaz, PG = Poligalakturonaz

ULTRASESİN BİYOAKTİF BİLEŞENLER ÜZERİNE ETKİSİ

Meyve sularında askorbik asit, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşiklerin varlığı bu ürünlerin kalitesi ve besin değerini tanımlar. Bu nedenle, ultrases uygulamasının biyoaktif bileşikler üzerindeki etkisi büyük önem taşımaktadır. Çizelge 3'te ultrasesin farklı meyve sularında biyoaktif bileşenler üzerine etkileri özetlenmiştir.

Meyve sularında askorbik asit korunumu bir kalite göstergesi olarak kullanılmaktadır. Askorbik asit başlangıç konsantrasyonu % 50 azaldığında raf ömrünün sona ermiş olduğu varsayılır (Anaya-Esparza vd., 2017a). Çizelge 3 incelendiğinde askorbik asit içeriğinin uygulanan ultrases gücü, uygulama süresi ve sıcaklığının yanında meyve suyu çeşidi ve içeriğine göre önemli farklılıklar gösterdiği ve askorbik asit kaybının genel olarak %15'in altında (Karpuz suyu hariç, Rawson vd., 2011) olduğu görülmektedir.

Mikroorganizmalar ve enzimlerin inaktivasyonunda olduğu gibi biyoaktif bileşenlerin degradasyonundan da ana etken olarak kavitasyon gösterilmektedir. Bununla birlikte ısı ve kavitasyonun meyve suyunda çözülmüş oksijenin ortamdan uzaklaştırılmasına yardımcı olduğu ve böylece askorbik asidin degradasyonunu geciktirebildiği de bildirilmektedir (Cheng vd., 2007). Askorbik asit degradasyonunun özellikle kavitasyon sonucu oluşan serbest radikallerle ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Anaya-Esparza vd., 2017a). Genellikle, ultrases uygulamasıyla askorbik asit ile antosiyaninlerin meyve sularında aynı anda azaldığı, bu nedenle aralarında doğrudan bir etkileşim olabileceği rapor edilmektedir (Tiwari vd., 2008). Bununla birlikte Çizelge 3 incelendiğinde antosiyanin kaybının askorbik asit kaybına kıyasla daha düşük oranda seyrettiği dikkat çekmektedir. Antosiyanin içeriğinin de uygulanan ultrases gücü, uygulama süresi ve sıcaklığının yanında meyve suyu çeşidi ve içeriğine göre önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir. Özellikle uygulanan ultrases gücü ve süresi antosiyanin içeriğini önemli düzeyde etkilemektedir (Zinoviadou vd., 2015; Weber ve

Larsen, 2017). Nitekim Tiwari vd. (2010) kırmızı üzüm suyunda gerçekleştirdikleri ultrases uygulamasında düşük genlik ve kısa uygulama sürelerinde antosiyanin miktarında cüzi bir artış gözlemlenmişler, bu artışın matriksteki bağlı antosiyaninlerin ekstraksiyonu nedeniyle olabileceğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde çilek suyunda pelargonidin-3-glikozitin de düşük genlik ve kısa süre ultrases işlemi ile içeriğinde bir miktar artış gerçekleştiği bildirilmektedir. Bununla birlikte ultrases gücü ve sürenin artışıyla antosiyaninlerde azalış bildirilmektedir (Tiwari vd., 2008; Tiwari vd., 2009b). Benzer durum karotenoidler için de geçerlidir. Rawson vd., (2011) karpuz suyunda likopen içeriğinin düşük ultrases gücünde bir miktar artış gösterdiğini, ultrases gücü ve uygulama süresinin artışıyla ise azaldığını rapor etmişlerdir.

ULTRASESİN MEYVE SULARININ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ultrases uygulaması meyve sularında elektriksel iletkenlik, bulanıklık, renk, pH, asitlik, briks ve viskozite gibi özelliklerde değişime neden olabilmektedir (Çizelge 3). Söz konusu özelliklerdeki değişimlerin uygulanan ultrases gücü, uygulama süresi ve sıcaklığının yanında meyve suyu çeşidi ve içeriğine göre farklılıklar gösterebilmesi kaçınılmazdır. Nitekim ultrases uygulamasıyla asitlik ve pH karadut (Dinçer ve Topuz, 2015), havuç (Jabbar vd., 2015), tarçın elması (Anaya-Esparza vd., 2017b), elma (Abid vd., 2014), domates (Adekunte vd., 2010) ve portakal (Walkling-Ribeiro vd., 2009) suyunda önemli bir değişim göstermezken muz suyunda (Bora vd., 2017) pH'nın azaldığı bildirilmiştir. Portakal suyu gibi ürünlerde önemli bir kalite kriteri olan bulanıklık değerlerinde ise ultrases uygulamasıyla genel olarak bir artış rapor edilmektedir (Dinçer ve Topuz, 2015; Aadir vd., 2015; Martínez-Flores vd., 2015). Gıda ürünlerinin işlenmesinde önemli bir parametre olan viskozitedeki değişimin ultrasonik güç ve uygulama süresine göre farklılık gösterebileceği rapor edilmektedir. Ayrıca bu değişimin artış veya azalış eğiliminde, kalıcı veya geçici bir şekilde olabileceği bildirilmektedir (Zinoviadou vd., 2015). Ultrasesin meyve suyundaki uçucu

bileşenler üzerine ise negatif bir etkisi olduğu bununla birlikte bu etkinin termal yöntemle kıyasla

daha kabul edilebilir seviyelerde gerçekleştiği ifade edilmektedir (Anaya-Esparza vd., 2017a).

Çizelge 3. Ultrasesin meyve sularında biyoaktif bileşenler üzerine etkisi

Meyve Suyu	İşlem koşulları	Etki/Sonuç	Kaynak
Böğürtlen suyu	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik %100, 22.79 W/cm ² , 10 dk, 25°C	Antosiyanin kaybı <%6	Tiwari vd., 2009c
Çilek suyu	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik %100 (61 µm), 0.81 W/mL, 10 dk, 30-40°C	Antosiyanin %3.2, askorbik asit %11 azalış	Tiwari vd., 2008
Elma suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %70, 0.3 W/cm ³ , 10 dk, 60°C	Askorbik asit ~%7 fenolik madde ~%26.4, flavonoid ~%8.48 flavonol ~%25.9, azalış.	Abid vd., 2014
	500 W, 25 kHz, Ultrasonik banyo, genlik %70, 0.06 W/cm ³ , 30 dk, 60°C	Askorbik asit ~%9.96, fenolik madde ~%31, flavonoid ~%14.4, flavonol ~%33.7, azalış.	
Greyfurt suyu	420 W, 28 kHz, Ultrasonik banyo, genlik %70, 60 dk, 60°C	Fenolik madde ~%3.8 flavonoid ~%6.8 flavonol ~%15.4, DPPH radikal süpürücü etki ~%39.9, toplam antioksidan kapasite ~%11.3 azalış.	Aadil vd., 2015
Havuç suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %70, 48 W/cm ² , 10 dk, 60°C	Fenolik madde ~%4.2, flavonoid ~%8.5, tanninler ~%10.1, askorbik asit ~%15 azalış. Karotenoidlerde (özellikle lutein ve likopen) artış	Jabbar vd., 2015
Havuç suyu	400 W, 24 kHz, 22 mm çapında prob, genlik 120 µm, 2181 mW/mL, 10 dk, 58°C	Karotenoidlerde %3.44 ve antioksidan kapasitede %5.21 artış, fenolik madde ve askorbik asitte önemli bir değişim bildirilmemiş	Martínez-Flores vd., 2015
Karadut suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %100, 1.63 W/mL, 15 dk, 50°C	Antosiyanin ~%2.44 azalış	Dinçer ve Topuz, 2015
Karpuz suyu	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik 60 µm, 5 dk, 45°C	Askorbik asit, likopen ve toplam fenolik madde %25-35 azalış	Rawson vd., 2011
Portakal suyu	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik %100, 0.81 W/mL, 10 dk, 25°C	Askorbik asit kaybı <%5	Tiwari vd., 2009e
Portakal ve mandarin suyu	700 W, 25 kHz, Ultrasonik banyo, 0.016 W/mL 60 dk, 55°C	Askorbik asitte önemli bir değişim bildirilmemiş	Aguilar vd., 2017

Çizelge 4. Ultrasesin meyve sularında fizikokimyasal özellikler üzerine etkisi

Meyve Suyu	İşlem koşulları	Etki/Sonuç	Kaynak
Böğürtlen suyu	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik %100, 22.79 W/cm ² , 10 dk, 25°C	Renk değişimleri %5'in altında	Tiwari vd., 2009c
Domates suyu	1500 W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, genlik 61 µm, 7.5 dk, 32-45 °C	pH, briks ve titre edilebilir asitlikte önemli bir değişim gözlenmezken, renk değerlerinde değişim bildirilmiş	Adekunte vd., 2010
Elma suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %70, 0.3 W/cm ³ , 10 dk, 60°C 500 W, 25 kHz, Ultrasonik banyo, genlik %70, 0.06 W/cm ³ , 30 dk, 60°C	pH, briks ve titre edilebilir asitlikte önemli bir değişim gözlenmezken, <i>L, a, b</i> renk değerlerinde artış bildirilmiş	Abid vd., 2014
Elma suyu	400 W, 24 kHz, 22 mm çapında prob, genlik 50-100 µm, 5-10 dk, 40-60°C	Bulanıklık değerinde artış	Ertugay ve Başlar, 2014
Greyfurt suyu	420 W, 28 kHz, Ultrasonik banyo, genlik %70, 60 dk, 60°C	Elektriksel iletkenlik azalış, bulanıklık ve viskozitede artış	Aadil vd., 2015
Havuç suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %70, 48 W/cm ² , 10 dk, 60°C	pH, briks ve titre edilebilir asitlikte önemli bir değişim gözlenmezken, <i>L, a, b</i> renk değerlerinde artış bildirilmiş	Jabbar vd., 2015
Havuç suyu	400 W, 24 kHz, 22 mm çapında prob, genlik 120 µm, 2181 mW/mL, 10 dk, 58°C	Viskozitede kısmi bir artış	Martínez-Flores vd., 2015
Karadut suyu	750 W, 20 kHz, 13 mm çapında prob, genlik %100, 1.63 W/mL, 15 dk, 50°C	pH ve titre edilebilir asitlikte önemli bir değişim gözlenmezken, bulanıklık ve <i>L, a, b</i> renk değerlerinde artış bildirilmiş	Diñçer ve Topuz, 2015
Muz suyu	50 W, 40 kHz, Ultrasonik banyo, 30 dk	pH ve viskozitede düşüş	Bora vd., 2017
Portakal suyu	100 W, 30 kHz Ultrasonik banyo, 20 dk, 55°C	pH, briks ve elektriksel iletkenlikte önemli bir değişim gözlenmezken, <i>L</i> ve <i>a</i> renk değerlerinde artış, <i>b</i> de ise azalış belirlenmiş	Walkling-Ribeiro vd., 2009
Portakal suyu	1500W, 20 kHz, 19 mm çapında prob, 1.05 W/mL, 10 dk, 25-45°C	Bulanıklık değerinde artış	Tiwari vd., 2009d
Tarçın elması suyu	400 W, 24 kHz, 7 mm çapında prob, 1.4 W/mL, 10 dk, 50-56.4°C	pH, briks ve titre edilebilir asitlikte önemli bir değişim gözlenmemiş	Anaya-Esparza vd., 2017b

SONUÇ

Ultrasenin meyve suyunda mikroorganizma ve enzimlerin inaktivasyonunda tek başına kullanımının genel olarak istenen etki düzeyinde olmadığı ve bu nedenle diğer yöntemlerle kombine bir biçimde daha etkin ve verimli olarak kullanılabileceği vurgulanmaktadır. Bu kullanımıyla termal yöntemle kıyasla meyve suyu işlemede güvenilir ve umut vadeden bir alternatif yöntem olarak kabul edilmektedir. Termal yöntemle kıyasla özellikle biyoaktif ve besleyici bileşenler üzerindeki olumsuz etkinin daha düşük seviyede olması ultrases işleminin önemini arttırmaktadır. Bununla birlikte ultrases işleminin viskozite ve bulanıklık stabilitesine olumlu etkilerinin olması ayrıca bir avantaj sağlamaktadır. Diğer taraftan ultrasesin etkileri, uygulanan ultrases gücü, hedef alınan mikroorganizma cinsi ve gıda matrisine göre oldukça farklılık göstermektedir. Bu nedenle ultrases işlemi her gıda matrisi için ayrı ayrı incelenmeli ve endüstriyel tasarımlar için şartlar ürün bazında optimize edilmelidir.

KAYNAKLAR

Aadil, R. M., Zeng, X. A., Zhang, Z. H., Wang, M. S., Han, Z., Jing, H., Jabbar, S. (2015). Thermosonication: A potential technique that influences the quality of grapefruit juice. *Int J Food Sci Technol*, 50(5), 1275-1282, doi:10.1111/ijfs.12766

Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Wu, T., Lei, S., Khan, M. A., Zeng, X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrason Sonochem*, 21(3), 984-990, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.003

Adekunte, A.O., Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Scannell, A.G.M. And O'Donnell, C.P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chem* 122 (3):500-507, doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.026

Aguilar, K., Garvín, A., Ibarz, A., Augusto, P. E. (2017). Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication. *Ultrason Sonochem*, 37, 375-381, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.029

Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., García-Galindo, H. S., Sayago-Ayerdi, S. G., Montalvo-González, E. (2017a). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends Food Sci Technol*, 61, 26-37, doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.020

Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Sayago-Ayerdi, S. G., Sánchez-Burgos, J. A., Ramírez-Mares, M. V., de Lourdes García-Magana, M., Montalvo-González, E. (2017b). Effect of thermosonication on polyphenol oxidase inactivation and quality parameters of soursoop nectar. *LWT Food Sci Technol*, 75, 545-551, doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.002

Bevilacqua, A., Speranza, B., Campaniello, D., Sinigaglia, M., Corbo, M. R. (2014). Inactivation of spoiling yeasts of fruit juices by pulsed ultrasound. *Food Bioprocess Technol*, 7(8), 2189-2197, doi:10.1007/s11947-013-1178-5

Bora, S. J., Handique, J., Sit, N. (2017). Effect of ultrasound and enzymatic pre-treatment on yield and properties of banana juice. *Ultrason Sonochem*, 37, 445-451, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.039

Cao, X., Cai, C., Wang, Y., Zheng, X. (2018). The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 45, 169-178, doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.018

Cemeroğlu, B., Karadeniz, F. (2001). *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 2. Meyve Suyu Üretim Teknolojisi*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 25, Ankara.384s. ISBN:975-93575-0-X

Cheng, L. H., Soh, C. Y., Liew, S. C., Teh, F. F. (2007). Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chem*, 104(4), 1396-1401, doi:10.1016/j.foodchem.2007.02.001

Condón, S., Raso, J., Pagán, R. (2005). Microbial inactivation by ultrasound. In: *Novel Food Processing Technologies*. Barbosa-Cánovas, G. V., Tapia, S. M., Cano M. P. CRC Press pp. 423-442. New York.

De Castro, M.D.L., Capote, F.P. (2006). *Introduction: fundamentals of ultrasound and*

- basis of its analytical uses: In: Analytical Applications of Ultrasound. Elsevier. De Castro M. D. L. and Capote F. P. (Editors) pp. 1-34 Oxford.
- Demirdöven, A., Baysal, T. (2008). The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. *Food Rev Int*, 25(1), 1-11. doi.org/10.1080/87559120802306157
- Dinçer, C., Topuz, A. (2015). Inactivation of *Escherichia coli* and quality changes in black mulberry juice under pulsed sonication and continuous thermosonication treatments. *J Food Process Preserv*, 39(6), 1744-1753. doi:10.1111/jfpp.12406
- Ertugay, M. F., Başlar, M. (2014). The effect of ultrasonic treatments on cloudy quality-related quality parameters in apple juice. *Innovative Food Sci Emerg Technol* 26, 226-231, doi.org/10.1016/j.ifset.2014.06.013
- Ferrario, M., Alzamora, S. M., Guerrero, S. (2015). Study of the inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. *Food Microbiol*, 46, 635-642, doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.017
- Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Hashim, M. M., Lei, S., Wu, T., Zeng, X. (2015). Exploring the potential of thermosonication in carrot juice processing. *J Food Sci Technol*, 52(11), 7002-7013, doi:10.1007/s13197-015-1847-7
- Jambrak, A. R., Šimunek, M., Evačić, S., Markov, K., Smoljanić, G., Frece, J. (2018). Influence of high power ultrasound on selected moulds, yeasts and *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple, cranberry and blueberry juice and nectar. *Ultrasonics*, 83, 3-17. doi.org/10.1016/j.ultras.2017.02.011
- Kahraman, O., Lee, H., Zhang, W., Feng, H. (2017). Manothermosonication (MTS) treatment of apple-carrot juice blend for inactivation of *Escherichia coli* O157: H7. *Ultrason Sonochem*, 38, 820-828, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.024
- Khandpur, P., Gogate, P. R. (2015). Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. *Ultrason Sonochem*, 27, 125-136, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.05.008
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci Tech*, 15 (5): 261-266, doi:10.1016/j.tifs.2003.12.001
- Koshani, R., Ziaee, E., Niakousari, M., Golmakani, M. T. (2015). Optimization of thermal and thermosonication treatments on pectin methyl esterase inactivation of sour orange juice (*Citrus aurantium*). *J Food Process Preserv*, 39(6), 567-573, doi:10.1111/jfpp.12262
- Leadley, C. E., Williams, A. (2006). Pulsed electric field processing, power ultrasound and other emerging technologies. In: Food processing handbook, Brennan, J. G., (Editor) 201-235.
- Lee, H., Zhou, B., Liang, W., Feng, H., Martin, S.E. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manothermosonication, thermosonication, and manothermosonication: Microbial responses and kinetics modeling. *J Food Eng* 93 (3): 354-364, doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.01.037
- Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. R., Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chem*, 172, 650-656, doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.0
- Marx, G., Moody, A., Bermúdez-Aguirre, D. (2011). A comparative study on the structure of *Saccharomyces cerevisiae* under nonthermal technologies: high hydrostatic pressure, pulsed electric fields and thermo-sonication. *Int J Food Microbiol*, 151(3), 327-337,
- Mason, T.J. (1998). Power ultrasound in food processing-the way forward. In: Ultrasound in Food Processing. Povey, M. J.W. and Mason, J.T. (Editors), Blackie Academic & Professional, pp.105-126 London.
- McClements, D.J. (1997). Ultrasonic characterization of foods and drinks: Principles, methods, and applications. *Crit Rev Food Sci*, 37 (1): 1-46, doi.org/10.1080/10408399709527766

- Moussatov, A., Granger, C., Dubus, B. (2005). Ultrasonic cavitation in thin liquid layers. *Ultrason Sonochem* 12(6), 415-422, doi:10.1016/j.ultsonch.2004.09.001
- Muñoz, A., Palgan, I., Noci, F., Morgan, D. J., Cronin, D. A., Whyte, P., Lyng, J. G. (2011). Combinations of high intensity light pulses and thermosonication for the inactivation of *Escherichia coli* in orange juice. *Food Microbiol*, 28(6), 1200-1204, doi:10.1016/j.fm.2011.04.005
- O'Donnell, C. P., Tiwari, B. K., Bourke, P., Cullen, P. J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends Food Sci Technol* 21(7), 358-367. doi:10.1016/j.tifs.2010.04.007
- Piyasena, P. Mohareb, E., Mckellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int J Food Microbiol*, 87 (3): 207-216, doi:10.1016/S0168-1605(03)00075-8
- Rawson, A., Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P. J., O'Donnell, C. (2011). Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Res Int*, 44(5), 1168-1173, doi:10.1016/j.foodres.2010.07.005
- Salleh-Mack, S.Z., Roberts. J.S. (2007). Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Ultrason Sonochem*, 14 (3): 323-329, doi:10.1016/j.ultsonch.2006.07.004
- Sánchez-Rubio, M., Taboada-Rodríguez, A., Cava-Roda, R., López-Gómez, A., Marín-Iñiesta, F. (2016). Combined use of thermo-ultrasound and cinnamon leaf essential oil to inactivate *Saccharomyces cerevisiae* in natural orange and pomegranate juices. *LWT Food Sci Technol*, 73, 140-146, doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.005
- Santos, H.M. and Capelo, J.L. 2007. Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment. *Talanta*, 73 (5): 795-802, doi:10.1016/j.talanta.2007.05.039
- Soria, A. C., Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends Food Sci Technol*, 21(7), 323-331, doi:10.1016/j.tifs.2010.04.003
- Terefe, N. S., Gamage, M., Vilku, K., Simons, L., Mawson, R., Versteeg, C. (2009). The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. *Food Chem*, 117(1), 20-27, doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.067
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'donnell, C. P., Cullen, P. J. (2009d). Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 10(2), 166-171, doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.072
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Cullen, P. J. (2009c). Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *J Food Eng*, 93(2), 166-171, doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.01.027
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Cullen, P. J. (2009e). Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice. *LWT Food Sci Technol*, 42(3), 700-704, doi:10.1016/j.lwt.2008.10.009
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Patras, A., Cullen, P. J. (2008). Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *J Agric Food Chem*, 56(21), 10071-10077, doi:10.1021/jf801824v
- Tiwari, B.K., Mason, T.J. (2011). Ultrasound processing of fluid foods. In: Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. Cullen, P.J., Tiwari, B. K., Valdramidis V. (Editors) Academic Press, pp. 135-165, Waltham.
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Cullen, P. J. (2009a). Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends Food Sci Tech*, 20 (3-4): 137-145, doi:10.1016/j.tifs.2009.01.058
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J. (2009b). Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *Eur Food Res Technol*, 228 (5): 717-724, doi:10.1007/s00217-008-0982-z

Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J., O'donnell, C.P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrason Sonochem*, 17 (3): 598-604, doi:10.1016/j.ultsonch.2009.10.009

Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Riener, J., Cronin, D. A., Lyng, J. G., Morgan, D. J. (2009). The impact of thermosonication and pulsed electric fields on *Staphylococcus aureus* inactivation and selected quality parameters in orange juice. *Food Bioprocess Technol*, 2(4), 422-430, doi:10.1007/s11947-007-0045-7

Weber, F., Larsen, L. R. (2017). Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability. *Food Res Int*, 100, 354-365, doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.033

Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J., ... & Barba, F. J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Res Int*, 77, 743-752, doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.032



TRIBOLOGY OF PEKMEZ (GRAPE MOLASSES)-TAHİN (SESAME PASTE) MIXTURES

İpek Altay, Filiz Lokumcu Altay*

Istanbul Technical University, Ayazaga Campus, School of Chemical-Metallurgical, Department of Food Engineering, Istanbul, Turkey

Received / Geliş: 15.02.2018; *Accepted / Kabul:* 04.06.2018; *Published online / Online baskı:* 27.06.2018

Altay, İ., Lokumcu Altay, F. (2018). Tribology of Pekmez (Grape Molasses)-Tahin (Sesame Paste) mixtures. GIDA (2018) 43 (4): 582-590 doi: 10.15237/gida.GD18026

ABSTRACT

A new field of texture analysis called “tribology” or “thin film rheology” that might explain the food texture throughout oral processing has become important. In this study, tribological experiments for samples containing pekmez and tahin at 30:70, 40:60 and 50:50 (w/w) were conducted by using a modified pin-on-disk tribometer. In the Stribeck curves hydrodynamic and boundary regions were determined. For the mixture containing pekmez:tahin at 50:50, hydrodynamic region started at a lower speed compared to other samples, which indicated a developing a thin lubrication film between contact surfaces. The friction decreased with the oil content of the sample. This was more profound in the lower speed region for all samples. Tribological data provided more distinct evaluation compared to the viscosity data which were close to each other due to similar composition of samples. Further research are needed on tribological properties of foods, their relation to rheology and sensory analysis.

Keywords: tribology, friction, lubrication, sesame paste, grape molasses

PEKMEZ-TAHİN KARIŞIMLARININ TRİBOLOJİSİ

ÖZ

Son zamanlarda, gıdanın ağızda çiğnenirkenki yapısını açıklayabilecek “triboloji” ya da “ince film reolojisi” adı verilen bir yaklaşım önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada, ağırlıkça 30:70, 40:60, 50:50 oranlarındaki pekmez-tahin karışımlarının tribolojik deneyleri modifiye edilmiş bir sensörle tribometre kullanılarak yürütülmüştür. Bu ölçümlerden sürüklenme hızına karşı sürtünme katsayılarının çizildiği Stribeck eğrisi adı verilen grafikleri elde edilmiştir. Bu grafiklerde her bir örnek için hidrodinamik (sürtünme viskozite yüzünden hız ile doğrusal olarak artar) ve sınır bölgeleri (nispeten sabit sürtünme görülür) tespit edilmiştir. Ağırlıkça 50:50 pekmez-tahin içeren örnek diğer örneklerle göre daha düşük bir hızda, temas yüzeyleri arasında ince bir yağlama tabakasının geliştiğini gösteren hidrodinamik bölgeye girmiştir. Diğer yandan sürtünme, örneklerin yağ içeriği arttıkça azalmıştır. Bu durum bütün örnekler için düşük hız bölgesinde daha belirgindir. Bileşimi birbirine yakın dolayısıyla viskoziteleri birbirine yakın bu örneklerin tribolojik ölçümleri, yapısal farklılıkları daha iyi ortaya koymuştur. Gıdaların tribolojik özellikleri, bunların reolojik ve duyusal özelliklerle ilişkisinin araştırılması için çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: triboloji, sürtünme, yağlama, tahin, pekmez

* *Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar*

✉ lokumcu@itu.edu.tr

☎ (+90) 212 285 69 48

☎ (+90) 212 285 73 33

INTRODUCTION

Oral sensation (texture and mouthfeel) of a food product is one of the most significant quality factor that influences consumer acceptance and satisfaction about the product (Prakash et al., 2013). Oral processing of the food involves breaking and deforming the particles of foods besides continuous secretion and interaction with saliva that leads to a mixing process. In the first responses against deformation of the food between the teeth and manipulation by the tongue can be explained by rheological and mechanical properties of the food. However, as the oral process continues, chewing and mastication causes constant change of food condition. Some of these changes can be counted as reduction of particle size, wetting by saliva, softening due to moisture absorption etc. Consequently, sensory feel of the food might be very distinctive (especially change in length-scale) between the first and later stages of oral processing. It makes the rheological and mechanical food properties less dominant in the perception of texture (Prakash, 2017).

The study of tribology becomes more important in the food texture sensation through the later stages of oral processing since it investigates relative motion of interacting surfaces (Chen & Stokes, 2012). Lubrication, wear, and friction between surfaces with relative motion (food interacting with tongue, teeth, palate etc.) are analysed by tribological measurements which are more related to evaluation of oral processing of the food than rheological measurements that are based on shear deformation and bulk flow of the materials (Prakash, 2017). Another reason of limitation in texture studies with rheology approach and inconsistent findings on oral experience of shear rates might be subjective individuals and reasons in evaluation of texture sensation. Additionally, throughout the oral processing of foods, shearing length-scale keeps changing, due to continuous texture evolving, which may also cause incoherence. (Chen & Stokes, 2012).

After realizing the limitation of rheological approaches to explain some parts of the oral

sensation, tribology which is a study of thin film and lubrication, became more popular (Prakash et al., 2013). Tribology is discipline about friction, lubrication and wear of interacting surfaces with relative movement. Chen & Stokes (2012) state that even a little observation of mouth proves the significance of lubrication and tribology during oral processing. Additionally, tribology can be used for developing new formulations that lead to reduce some eating problems like worldwide fat related diseases.

Tribology characterises food materials at constant load where the gap might differentiate till the point of two surfaces (tongue and palate) touch whereas a rheometer characterization of foods takes place in a fixed gap (Stokes, 2012). When the two surfaces in relative motion reach the steady speed (V), the frictional force (F_R) can be given as:

$$F_R = \mu \times F_L \quad \text{Eq (1)}$$

where μ is dimensionless friction coefficient and F_L is the normal force or surface load (N) (Prakash et al., 2013).

The Stribeck curve, which is a plot of friction coefficient against the combination of speed, load and viscosity, helps to explain lubrication behavior of food samples. In this plot, friction coefficient is indicated on the vertical axis while other parameter, that consists of the fluid viscosity, η (Pa.s), surface load P_L (Pa) and relative speed of surfaces V (m/s), is shown on the horizontal axis. It can be concluded that the combined parameter, which has a length unit (m), resembles the lubricant film thickness between the surfaces in relative motion. Generally, Stribeck curves show three different regimes which are boundary regime, mixed regime and hydrodynamic regime (Prakash et al., 2013). In the hydrodynamic regime, the aim of the lubrication is introducing a food film that has low-shear-strength between the palate and tongue. This lubricant film should be able to sustain the applied load by these two surfaces since it is wanted to be separate them. When the food entered to the mouth, the entrainment rate of the food has a sufficient high fluid pressure in order to completely separate the surfaces. That is called

hydrodynamic lubrication. In this kind of lubrication, viscosity parameter of the food affects the generated friction and film thickness which means perceived sensory thickness depends on food viscosity. The mixed regime region stands in between boundary and hydrodynamic regimes. The food entrainment to the moving surfaces (palate-tongue) is not enough to separate them in the mixed regime unlike the complete separation in the hydrodynamic regime (Prakash et al., 2013). In that regime, friction coefficient decreases till a minimum and it might increase by elevated roughness contact or lubricant layer thickness (Dresselhuis et al., 2008). In addition, Malone et al. (2003) suggests that the friction measured in mixed regime is the most related regime to describe slipperiness and smoothness sensory perceptions during oral processes. In case of boundary regime, the lubrication features rely on capability of food constituents to form boundary films because of insufficient hydrodynamic fluid pressure to separate the tongue and palate surfaces. There is an “immobile” layer, which is an asperity contact point between two surfaces (tongue and palate), characteristic for that kind of regime. This layer does not involve in the hydrodynamic flow of the bulk food. That one is considered as the regime that is closely associated with slipperiness and astringency of human perception (Prakash et al., 2013).

The researchers adjust the roughness and wetting characteristics of the artificial surfaces instead of human tongue in tribology experiments. Mostly poly dimethyl siloxane (PDMS) is used (Dresselhuis et al., 2008). It has a low elasticity modulus and can easily be fabricated to desired shapes (e.g. spherical, plane) with smooth surface finishes (Lee & Spencer, 2005).

Pekmez, has excellent nutritional properties, and is a popular traditional food in Turkey. Pekmez is a kind of fruit juice concentrate from mostly grape. The processing of pekmez includes washing, sorting, crushing, pressing and boiling of grape (Karababa & Isikli, 2005). Tahin is obtained by milling roasted dehulled sesame seeds. It is rich in lipids, proteins, carbohydrates and dietary fiber (Arslan et al., 2005). Pekmez/tahin blends can be

considered as an oil-in-water emulsion (Alparslan & Hayta, 2002), however the type of the emulsion should depend on the ratios of pekmez and tahin. In this mixture, tahin is the oil phase and pekmez is the water phase. The stability of the blends can be attributed to sesame proteins acting as emulsifier at the oil-water interface (Arslan et al., 2005). Reliable rheological data is essential for design, process and quality control, sensory assesment, stability and consumer acceptane of a given product (Abu-Jdayil et al., 2002; Steffe, 1996). Even though there are research on rheology of pekmez, tahin and their blends (Abu-Jdayil et al., 2002; Alparslan & Hayta, 2002; Arslan et al., 2005; Lokumcu & Ak, 2000); there is no study on the tribological properties of these blends. Sensory perception and the preference of food products with high fat and sugar contents are affected by friction and lubrication between the tongue, palate, teeth, food products and saliva during oral processing (Campbell et al., 2017). Therefore, tribological analysis of pekmez-tahin blends may provide an evaluation for their lubrication behavior and the friction between moving surfaces which imitate oral surfaces.

The objective of this study was to determine the tribological properties of pekmez (grape molasses)- tahin (sesame paste) mixtures at the ratios of 30:70, 40:60 and 50:50. The outcomes of this study may be helpful to evaluate the structural behavior of these mixtures, which have very similar rheological parameters. In the future, tribology can be combined with rheology and sensory analysis for better understanding of the texture of any given food material from manufacturing to chewing/swallowing.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Preparation of PDMS

Polydimethylsiloxane (PDMS) probes were prepared by using the Sylogard 184 elastomer kit (DOW Corning, USA) containing liquid PDMS and its curing agent (crosslinker : Dimethyl, methylhydrogen siloxane). The PDMS was mixed with the cross linker at a ratio of 10:1 with a magnetic stirrer and poured into the moulds. The moulds were chosen as 6 mm diameter for probes

and as small cylindrical-shaped moulds for the disks. After filling the moulds, they were put into a vacuum oven in order to get rid of gas bubbles inside the PDMS mix. The oven was set to 60 °C and waited for overnight to take out the moulds as shown in Figure 1.

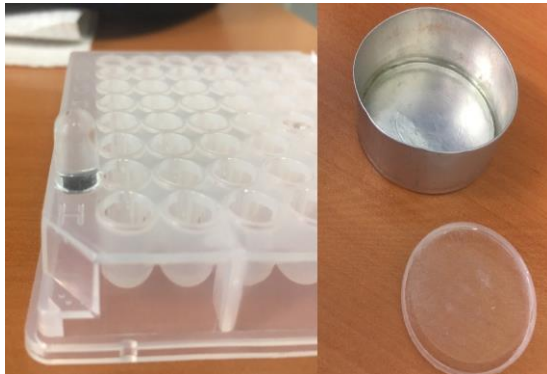


Figure 1. Prepared PDMS pin and disc for the tribological measurements

Preparation of samples

The commercial pekmez (grape molasses) and tahin (sesame paste) products were obtained from a local market. The ratios of pekmez (grape molasses):tahin (sesame paste) mixtures (w/w) were 30:70 (sample 1), 40:60 (sample 2) and 50:50 (sample 3). The reason for choosing these ratios was that tahin-dominated flavor in the mixture is preferred according to the talks with our colleagues, associates, friends and families. In addition, Arslan et al. (2005) reported that average acceptable ratio of pekmez to tahin in the blends as 40-60%. Prior to the experiment in the tribometer, the mixtures are mixed with a spatula in order to obtain a homogenous mixture.

Methods

Tribological measurements

A pin-on-disk tribometer (CSM instruments, Needham, USA) (Figure 2 on the right) was used during the experiments which was modified with the prepared PDMS tribopairs (pin and disc) (Figure 2 on the left). The method was modified based on the method reported by Campbell et al. (2017). The pin and disc were changed after every measurement considering the possible effect of surface deformation. The load was set as 0.5 N as it is done in most of the the literature (Campbell

et al., 2017; Van Stee et al., 2017). Tahin and pekmez mixtures were spread on top of the disc in the mould as a thin layer. The disc part was rotating in one direction by the machine while pin was fixed. The speeds used for the each measurement were 5 mm/s, 15 mm/s, 25 mm/s, 50 mm/s, 100 mm/s, 200 mm/s, 400 mm/s and ~525 mm/s (the maximum speed that can be adjusted in the equipment). The sample temperature was 25 °C during the experiments. All measurements were conducted in triplicates.



Figure 2. Modified tribometer probe with PDMS pin (on the left) and the CSM tribometer during experiments (on the right).

After each speed measurement, friction coefficients at that specific speed and a standard deviation values were obtained. The Stribeck curves were obtained by plotting the mean values of friction coefficients (-) versus the speeds (mm/s) used during the experiments.

RESULTS AND DISCUSSION

The tribology datas for all three samples were presented as the Stribeck curves in Figures 3-6. The average of the friction coefficient means of each three parallel measurements were calculated and plotted against the speed in mm/s including standard deviations. The reasons that the obtained deviations might seem a little higher than expected can be lack of calibration in the tribometer and also probe shaking especially in high speeds due to low load of 0.5 N. However, a comparison can still be done using the obtained means in this study.

As seen from these figures, as the content of tahin increased the maximum friction force decreased. It is clearly seen that when the oil content of the mixture increased depending on the tahin content, the friction decreased. This is especially more profound in the lower speed region for all samples.

different mechanisms of samples between the two contact surfaces. The zone in which the friction is governed by the internal friction (or viscosity of fluid) and increases linearly with speed is called as hydrodynamic region (Butt et al., 2004; Williams, 2005) It appears that the hydrodynamic regions for each samples started at different speed even though they finished at the same speed.

As seen from Figure 3-5, the Stribeck curves of the mixtures had different zones corresponding Figure 3, 4, 5

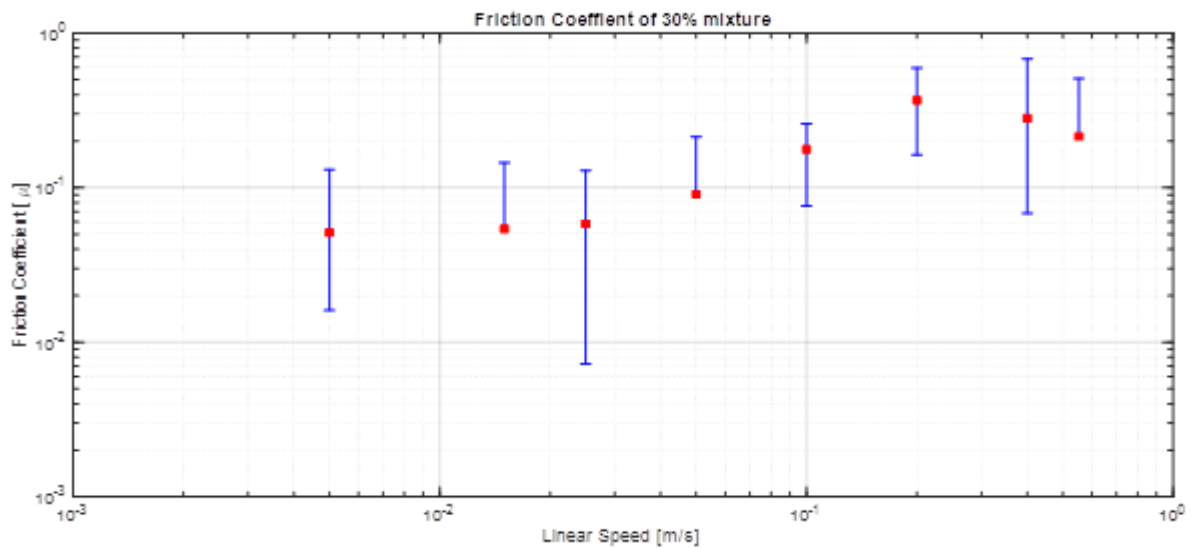


Figure 3. The tribology data for the sample 1 (pekmez:tahin ratio was 30:70)

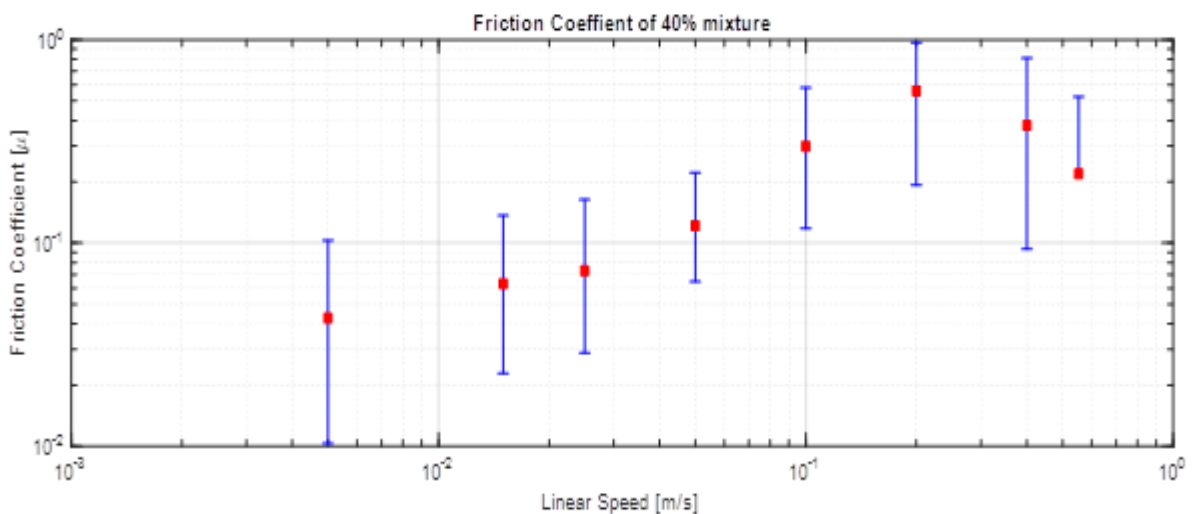


Figure 4. The tribology data for the sample 2 (pekmez:tahin ratio was 40:60)

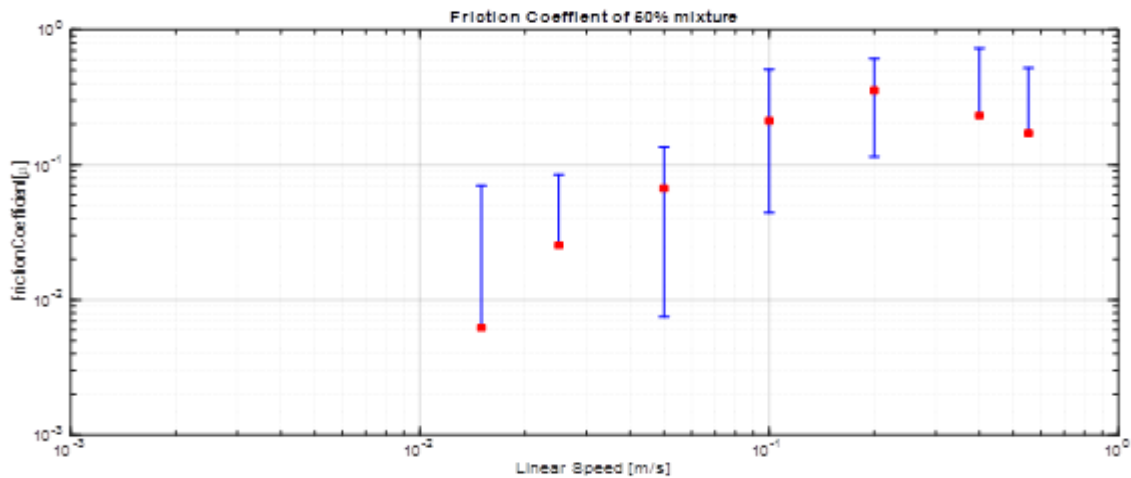


Figure 5. The tribology data for the sample 3 (pekmez:tahin ratio was 50:50)

For instance, the hydrodynamic region for sample 1 (Fig 3) started at 2×10^{-2} m/s whereas it was 1.5×10^{-2} for sample 2 (Fig 4) and 0.5×10^{-2} sample 3 (Fig 5). Probably, the oil content may have an effect on the hydrodynamic region of samples. The friction reached at its maximum at 1×10^{-1} m/s for all samples as a thin lubrication film between the contact surfaces developed. After this point, the friction reduced gradually when the sample structures probably broke down at high speeds.

Except for sample 3, the curves showed a relatively constant friction coefficient region at lower speeds. This region is called as boundary region (Nguyen et al., 2017). This boundary region is more clearly seen for the sample 1 (Fig 3) compared to sample 2 (Fig 4). In this region, the two contact surfaces are not affected by the sliding speed or the lubricant viscosity, instead the ability of the sample to adsorb and form a lubrication film between the contact surfaces takes over (Butt et al., 2004).

The lubrication effects of three samples were given in the Figure 6. It can be seen that in different entrainment speeds, all the mixtures shows different friction coefficients. The mixtures with different compositions showed different lubrication behaviours than each other even though some measurement data overlaps at some of the speed parameters (e.g. at 200 mm/s

for sample 1 and sample 3). Looking at the comparison graph in Figure 6, sample 1 and sample 2 showed higher frictions than sample 3 at low speeds. It is probably due to the higher oil content of the sample 3. As the speed gets higher (especially after 100 mm/s) the lubrication behaviour started to become similar for all the mixtures but sample 2 showed a higher friction coefficient while sample 1 and sample 3 exhibited very similar coefficient. At the speed of 200 mm/s all the mixture samples reaches their maximum friction coefficient.

In rheological measurements, viscosities of the samples with similar compositions would also be similar and generally one can not tell the structural differences easily. The one of the advantage of the tribological measurement over rheological measurement is that tribology may offer a better evaluation for the structural behavior of samples especially during oral processing. From Fig 6, it can be seen that the boundary regions of sample containing 50% tahin and the other two samples are different (almost one log) at lower speeds. On the other hand the viscosities of the samples 1, 2 and 3 at 10 s^{-1} were 7.31, 7.01 and 5.22 Pa.s, respectively (Akbulut, 2016).

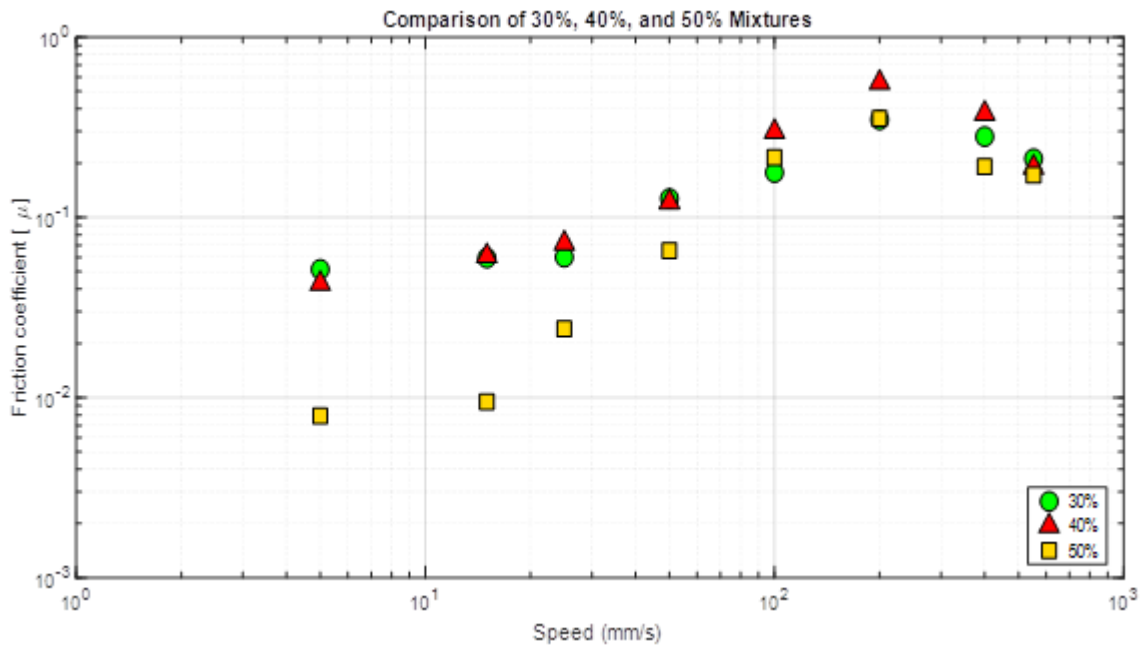


Figure 6. The comparison of tribological data for all samples (circle: sample 1, triangle: sample 2, square: sample3)

Arslan et al. (2005) indicated that the average acceptable ratio of pekmez to tahin in the blends as 40-60%. Even though the preference of any given ratio depends on personal choice, it may be explained by the oral processing of the blends from tribological measurements. The friction behavior of samples and the development of a lubrication film in the mouth influence sensory perception (Campbell et al., 2017). Tribological analysis can provide a better understanding of the oral processing for pekmez-tahin mixtures, and this may help to evaluate their sensory perception and eventually overall hedonic liking, which may help to design new food products. These three blends resulted in two distinct tribologic regions (hydrodynamic and boundary regions) in the range of the study. The development of the lubrication film depended on the oil content of the sample. The sample with the least oil content (sample 3) developed the lubrication film between contact surfaces at a lower speed compared to the other samples. This may be attributed that depending on the oral processing in the mouth the sensory perception of the blend may be adjusted with the oil content.

CONCLUSION

It is important to understand the food texture, structure and mouthfeel characteristics to improve current food products and increase their quality as well as consumer acceptability. Textural properties have a big impact on sensory perception during eating which is a dynamic process. Many studies have been conducted to analyse food texture and behaviour using rheological applications but it has been determined that it is not enough to investigate whole textual features of a food product after its first bite. Due to certain limitations of rheology, a new field “Tribology” gained popularity where rheology seemed to be insufficient in explaining further steps of oral processing. It has been shown that products even with a really similar rheological properties might show pretty different behavior by using tribological approaches. Plenty of researches and experiments have been done in order to figure out the correlation between sensory properties and in-vitro tribological experiments. Additionally, experimental set up features like surface properties, entrainment speed, saliva, and load or movement effects have

been discussed and analysed to give a more realistic oral mimicing during food process.

In the experiment conducted during this study, the aim was to show that tribology can provide a better differentiation between the products with similar rheological behaviors. The tribological results obtained from the experiment was satisfactory since the difference can be seen between the mixtures. It should be noted that although the temperature of 30 °C is thought to be reasonable for texture-related studies of intra-oral surfaces, the experiment was conducted at room temperature and saliva factor was neglected as in most of the studies in the literature. The tribological analyses can be improved by using a better modified tribopair material. For more detailed and clear explanation of these behaviors more experimental analysis should still need to be conducted.

Food tribology still needs some improvement since it has plenty of technological limitations and uncertainties. However, the studies done so far showed a promising potential in association of tribological parameters with sensory and mouthfeel properties.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors would like to thank Prof. Dr. Ersin Serhatlı, Prof. Dr. Birgül Tantekin-Ersolmaz, and Dr. Çiğdem Oral for their help to provide the PDMS kit to adapt the tribometer for our samples. We also would like to thank Prof. Dr. Mustafa Ürgen who provided the tribometer in his lab and research assistant Erkan Kaçar who helped us for conducting experiments with the tribometer.

REFERENCES

Abu-Jdayil, B., Al-Malah, K., & Asoud, H. (2002). Rheological characterization of milled sesame. *Food Hydrocoll*, 16(1), 55-61.

Akbulut, E. 2016. Rheology and sensory characteristics of pekmez-tahin mixtures. Graduation thesis project, ITU Department of Food Engineering, Istanbul, Turkey.

Alparslan, M., & Hayta, M. (2002). Rheological and sensory properties of pekmez (grape molasses)/tahin (sesame paste) blends. *J Food Eng*, 54(1), 89-93.

Arslan, E., Yener, M.E., & Esin, A. (2005). Rheological characterization of tahin/pekmez (sesame paste/concentrated grape juice) blends. *J Food Eng*, 69, 167-172.

Butt, H.-J., Graf, K., & Kappl, M. (2004). Friction, lubrication, and wear. In *Physics and chemistry of interfaces*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Campbell, C.L., Foegeding, E.A., & van de Velde, F. (2017). A comparison of the lubrication behavior of whey protein model foods using tribology in linear and elliptical movement. *J Texture Stud*, 48, 335-341.

Chen, J., & Stokes, J. (2012). Rheology and tribology: Two distinctive regimes of food texture sensation. *Trends Food Sci Technol*, 25(1), 4-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.11.006>

Chen, J., Liu, Z., & Prakash, S. (2014). Lubrication studies of fluid food using a simple experimental set up. *Food Hydrocoll*, 42,100-105 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.01.003>

Dresselhuis, D., Dehoog, E., Cohenstuart, M., & Vanaken, G. (2008). Application of oral tissue in tribological measurements in an emulsion perception context. *Food Hydrocoll*, 22(2). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.12.008>

Foster, K., Grigor, J., Cheong, J., Yoo, M., Bronlund, J., & Morgenstern, M. (2011). The Role of Oral Processing in Dynamic Sensory Perception. *J Food Sci*, 76(2). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02029.x>

Guinard, J., & Mazzucchelli, R. (1996). The sensory perception of texture and mouthfeel. *Trends Food Sci Technol*, 7(7), 213-219. [http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10025-x](http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244(96)10025-x)

Karababa, E., Isikli, N.D. (2005). Pekmez: A traditional concentrated fruit product. *Food Rev Int*, 21, 357-366.

- Lokumcu, F., & Ak, M.M. (2000). Rheology of pekmez, tahin, and their mixtures. 2nd International Symposium on Food Rheology and Structure, March, 12-16, Zurich, Switzerland.
- Malone, M., Appelqvist, I., & Norton, I. (2003). Oral behaviour of food hydrocolloids and emulsions. Part 1. Lubrication and deposition considerations. *Food Hydrocoll*, 17(6), 763-773. [http://dx.doi.org/10.1016/s0268-005x\(03\)00097-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0268-005x(03)00097-3)
- Mohammadifar, A., (2017), Rheology in Food Process Operation, DTU Food process design course.
- Nguyen, P.T.M., Kravchuk, O., Bhandari, B., Prakash, S. 2017. Effect of different hydrocolloids on texture, rheology, tribology and sensory perception of texture and mouthfeel of low-fat pot-set yoghurt. *Food Hydrocoll*. 72:90-104.
- Prakash, S. (2017). From Rheology to Tribology: Applications of Tribology in Studying Food Oral Processing and Texture Perception. In J. Ahmed, P. Ptaszek & S. Basu, *Adv Food Rheol Appl* (pp. 65-86). Woodhead.
- Prakash, S., Tan, D., & Chen, J. (2013). Applications of tribology in studying food oral processing and texture perception. *Food Res Int*, 54(2), 1627-1635. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.010>
- Stieger, M., & van de Velde, F. (2013). Microstructure, texture and oral processing: New ways to reduce sugar and salt in foods. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 18(4), 334-348. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2013.04.007>
- Steffe, J.F. (1996). Rheological methods in food process engineering (2nd ed.), East Lansing, MI, Freeman Press.
- Stokes, J. R. (2012) 'Oral' Tribology, in Food Oral Processing: Fundamentals of Eating and Sensory Perception (eds J. Chen and L. Engelen), Wiley-Blackwell, Oxford, UK. doi: 10.1002/9781444360943.ch12
- Stokes, J., Boehm, M., & Baier, S. (2013). Oral processing, texture and mouthfeel: From rheology to tribology and beyond. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 18(4), 349-359. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2013.04.010>
- Van Stee, M., de Hoog, E., & van de Velde, F. (2017). Oral parameters affecting ex-vivo tribology. *Biotribology*, 11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotri.2017.05.001>
- Williams, J. A. (2005). Engineering tribology. New York: Cambridge University Press.



FARKLI FORM VE ORANLARDA YERFİSTİĞİ ÜRÜNLERİ KULLANILMASININ TOP KEK KALİTESİNE ETKİSİ

Turgay İpek, Halef Dizlek*

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Osmaniye

Geliş / *Received*: 22.02.2018; Kabul / *Accepted*: 11.06.2018; Online baskı / *Published online*: 27.06.2018

İpek, T., Dizlek, H. (2018). Farklı form ve oranlarda yerfıstığı ürünleri kullanılmasının top kek kalitesine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (4): 591-604 doi: 10.15237/gida.GD18027

İpek, T., Dizlek, H. (2018). *The effects of various forms and ratios of peanut products on cupcake quality. GIDA* (2018) 43 (4): 591-604 doi: 10.15237/gida.GD18027

ÖZ

Bu çalışmada; yerfıstığı formlarının (Püre ve Susam) ve bunların farklı kullanım oranlarının (%0, %7.5, %15 ve %22.5) sanayi tipi kek (top kek) nitelikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Böylece katkı maddesiz ve doğal yerfıstığı formlarını içeren kek üretimi gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. Üretilen keklerin yapısal ve tekstürel özelliklerini de kapsayan analitik nitelikleri ve duyuşal özellikleri saptanmıştır. Farklı formlarda ve oranlarda yerfıstığı kullanımı kek niteliklerini etkilemiştir. Belirli bir düzeye (%15) kadar yerfıstığı kullanılması kek niteliklerinde sınırlı ölçüde, %22.5 düzeyinde yerfıstığı kullanılması ise ürün niteliklerinde belirgin gerilemelere yol açmıştır. Sırasıyla, %7.5 ve %15 düzeylerinde Püre ve Susam yerfıstığı kullanılarak beğenilir nitelikte, üstün kalitede top kek üretilebileceği ve bu ürünlerin gıda sanayisine sunulabileceği kanısına varılmıştır. Araştırmadan elde edilen veriler bir arada incelendiğinde, yerfıstığı türevlerinin kek formülüne başarıyla adapte edilebileceği ve bunların duyuşal olarak kek niteliklerini geriletmediği hatta keklerde hoşça giden güzel bir lezzet ve aroma oluşturdıkları ve yerfıstıklı keklerin çeşnili kek olarak piyasaya arz edilebilecekleri kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Yerfıstığı, top kek, yerfıstığı formları, kek nitelikleri

THE EFFECTS OF VARIOUS FORMS AND RATIOS OF PEANUT PRODUCTS ON CUPCAKE QUALITY

ABSTRACT

In this study; the effects of peanut forms (Puree and Sesame) and their various usage ratios (0%, 7.5%, 15%, and 22.5%) on the industrial-type cake (cupcake) properties were investigated. Therefore, we aimed to produce additive-free cake which includes natural peanut forms. Sensorial properties and analytical characteristics that include structural and textural properties of the cakes have been determined. The use of peanuts in different forms and proportions has affected cupcake qualities. Using peanut in cake production up to a particular level (15%) resulted in a limited deterioration, while peanut use of 22.5% resulted in certain deterioration in the product quality. High-quality and preferable cupcake can be produced by using peanut in Puree and Sesame forms at the levels of 7.5% and 15% and these products can be used in the food industry. It is concluded based on the examined together of data obtained from the study that, peanut by-products can be efficiently adapted to the cake formula, which did not deteriorate the sensorial cake quality, even created a delicious taste and aroma in the cake and the cakes with peanut can be put in the food industry as flavored cakes.

Keywords: Peanut, cupcake, peanut forms, cake characteristics

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ hdizlek@osmaniye.edu.tr,

☎ (+90) 328 827 1000 / 3655

☎ (+90) 328 825 0097

GİRİŞ

Tüketiciler tarafından gıda ürünlerinin kalitesinin değerlendirilmesinde dikkat edilen en önemli hususlardan biri ürünün bileşimi olup; doğal, besleyici, sağlık için faydalı bileşen(ler) içeren gıda maddelerine olan ilgi tüketici bilincinin artmasına koşut olarak artış göstermektedir. Katkı maddesi içerikleri yüksek olan ürünlerin kullanılması insan sağlığını akut veya kronik olarak tehdit etmekte ve kanserojen olduğu bildirilen maddelerin vücutta birikimine zemin oluşturmaktadır. İnsanların ortalama yaşam sürelerinin azalmasında tükettikleri çok sayıda katkı maddeli ürünlerin etkili olduğu artık hemen herkes tarafından kabul edilmektedir. Bu nedenle, son yıllarda bilinçli tüketiciler, insan sağlığını ve doğal dengeyi etkilemeyen ürünlere (Demirkol et al., 2008), daha az işlenen ve daha az paketlenen taze gıdalara, tamamı doğal olan ürünlere ve “clean label” olarak ifade edilen katkı maddesi içermeyen sağlıklı gıdalara yönelmişlerdir (Özbilge, 2007; Ataseven ve Olhan, 2008).

Yerfıstığı; *Rosales* takımından, *Leguminosae* familyasından ve *Arachis* cinsinden tek yıllık bir bitkidir. Dünyada yetiştirilen başlıca yerfıstığı çeşitleri Virginia, Runner, Spanish ve Valencia'dır. Ülkemizde hemen tamamı Virginia kökenli olan (özellikle NC-7 çeşidi) yarı yatık formlu yerfıstıkları yetiştirilmektedir. Genellikle ülkemizde üreticiler tohumlarını kendi ürünlerinden seçerek ayırdıkları için henüz standartlara uygun yerfıstığı tohumu üretilememiştir. Yerfıstığı, içerdiği yağ oranına göre; yağlık (yağ oranı %45-60) ve çerezlik (yağ oranı %35-40) olarak tasnif edilmektedir. Yerfıstığının bileşiminde; %45-55 yağ, %20-25 protein, %16-18 karbonhidrat, %6-8 nem, %4-6 mineral madde bulunur, ayrıca B (140-240 mg/kg) ve E vitaminleri (83-220 mg/kg) ile az miktarda C ve D vitaminleri de mevcuttur. (Arioğlu, 1999; Gül et al., 2001; Dizlek et al., 2012). 2014 yılı verilerine göre ülkemizde yerfıstığı üretimi yaklaşık 124.000 ton olup (TÜİK, 2016), bunun önemli bir bölümü çerezlik olarak tüketilmektedir (Emeksiz, 1994; Şahin, 2014). Çerezlik olarak piyasaya sürülen kavrulmuş yerfıstığının atmosfer oksijeni ile temas etmesi durumunda ürün nemlenir ve çerezlik kalitesi önemli ölçüde sekteye uğrar. Dolayısı ile ürün albenisini yitirir. Ayrıca,

ülkemizde üretilen yerfıstığının iç pazarda tekdüze bir tüketim alışkanlığı ile çerezlik olarak tüketilmesi, besleyici değeri yüksek olan bu ürünün tüketimini sınırlamaktadır. Nitekim günümüzde bireyler, aynı ürünleri sürekli olarak rutin bir biçimde tüketmemekte, farklı ürünlere yönelim göstermektedirler.

Bu çalışmada, son yıllarda tüketicilerin bilinçlenmesine koşut olarak artan; tüketicilerin kimyasal katkı maddesi içermeyen ya da katkı maddesi içeriği az olan ürünleri tercih etme yönündeki eğilimleri göz önünde bulundurularak, kek yapımında kimyasal katkı maddeleri (emülgatörler, stabilizatörler, çeşitli ajanlar [köpük oluşturucu, kek içi yumuşaklığı artırıcı], koruyucular vb.) kullanılmadan sadece temel kek bileşenleri (un, yumurta, şeker, bitkisel yağ, su/süt ve kabartma tozu) ile hazırlanan mamul ürün üretiminin gerçekleştirilmesi ve bu anlamda tüketicilere sağlıklı, alternatif bir ürün/ürünler sunulması hedeflenmiştir. Ayrıca, başta Adana ve takiben Osmaniye'de önemli bir potansiyele sahip olan (bu iki il ülkemiz yerfıstığı üretiminin sırasıyla %57 ve %29'unu gerçekleştirmektedir; TÜİK, 2016) ve daha çok çerezlik olarak tüketilen yerfıstığının, kek üretiminde kullanılarak kullanım sahasının genişletilmesi, böylece tüketim yelpazesinin genişletilememesinden (tekdüze bir tüketime sahip olmasından) dolayı zaman zaman piyasaya arz/talebinde ciddi sıkıntılar yaşanan yerfıstığının farklı şekilde kullanılmasına olanak tanınmıştır. Yapılan literatür çalışmalarında, ülkemizde daha önce, yerfıstığının kek ve diğer unlu mamullerin üretiminde kullanıldığına dair bilimsel eksenli bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yine katkısız kek araştırmalarının pek yapılmadığı, bunun yerine farklı katkı maddelerini değişik form, nitelik ve oranda içeren çok sayıda kek araştırmalarına ve bunların ürün kalitesine etkilerine rastlanılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmanın, yerfıstığının kek ve diğer unlu mamullerin üretiminde kullanımı konusunda ülkemizde mevcut olan zafiyeti giderme hususunda önemli bir misyon üstlendiği düşünülmektedir. Yerfıstığının unlu mamullerde kullanımı, söz konusu ürünün üretim marjının yüksek olduğu Çin, Hindistan ve ABD gibi ülkelerde mevcuttur.

Kavrulmuş yerfıstığı bütun halde ya da ikiye bölünmüş bir biçimde (şak fıstık) vals yüzeyi düz olan değirmenden (ezme, kırma makinesinden) geçirilerek boyutu küçültülür ve sonra eleme işlemine tabi tutulur. Burada amaç Pirinç yerfıstığı (3-7 mm parçacık büyüklüğüne sahip) elde etmektir. Çünkü Pirinç yerfıstığı pastalarda, çikolatalarda, dondurma türlerinde ve şekerlemecilikte süsleyici bileşen olarak kullanılır. Pirinç yerfıstığı elde edilirken istenilmeyen fabrikasyon ürünleri de (Un ve Susam yerfıstıklar) oluşur. Un yerfıstığının parçacık büyüklüğü 0-1 mm, Susam yerfıstığının parçacık büyüklüğü ise 1-3 mm arasındadır. 3-5 mm Pirinç yerfıstığı üretilirken 3 mm'den daha düşük iriliğe sahip olan kısım fire olarak değerlendirilmektedir. Kalibrasyon arttıkça fire miktarının arttığı ve fire ismi ile anılan yerfıstıkların (Un ve Susam yerfıstığı) çok ucuz bir fiyata satıldığı, yerfıstığı işletmecilerinin üretim sırasında bu ürünlerin oluşmasını istemedikleri bildirilmektedir. Söz konusu yerfıstığı ürünlerinin, sağlam iç yerfıstığına göre önemli ölçüde ekonomik değer kaybına uğradığı bilinmektedir. Püre yerfıstığı (yerfıstığı tahini) ise, iç yerfıstığının 160-175 °C sıcaklıkta 5-10 d süre ile kavurma işlemine tabi tutulması, takiben zararın soyulması ve püre makinesine beslenmesi suretiyle elde edilmektedir.

Katkı maddesiz ve doğal yerfıstığı ürünlerinin farklı formlarda ve oranlarda kullanılması ile kek üretimi, ülkemiz kek endüstrisi alanında bir ilk olacağından elde edilecek sonuçların, bu sahada çalışacak olan araştırmacılara ve potansiyel üreticilere önemli ipuçları sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmada, sanayi tipi kek üretiminde önemli bir potansiyele sahip olan top kek üretiminde yerfıstığının 2 farklı formda (Püre yerfıstığı ve Susam yerfıstığı) ve değişik oranlarda (kek hamur ağırlığının %0 [kontrol], %7.5, %15 ve %22.5) kullanılması, yerfıstığının top keklerde üst kullanım limitinin belirlenmesi planlanmış, elde edilen bu verilerin ışığında sanayi tipi katkı maddesiz ve yerfıstıklı top kek üretiminin uygulamaya geçirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçlarla üretilen keklerin, yapısal ve analitik özelliklerinin yanı sıra duyuusal nitelikleri de saptanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmada, Güney Un Anonim Şirketinden (Adana) temin edilen özel amaçlı buğday unu (Türk Gıda Kodeksi [TGK], 2013), Katsan Gıda Sanayi ve Ticaret Ltd. Şirketinden (İstanbul) temin edilen yağsız süt tozu (TS 1329; TSE, 2007b) ve kabartma tozu (TS 9053; TSE, 2002), Elita Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.den (Adana) temin edilen margarin (TS 2812; TSE, 2014), Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi (OKÜ) kampüsü şebeke suyundan temin edilen içme suyu, yerel bir marketten temin edilen A sınıfı (63-72 g, beyaz) CP marka kabuklu yumurta (TS 1068; TSE, 2009), sakaroz (pudra şekeri) (TS 861; TSE, 2007a) ve tuz (TS 933; TSE, 2003) kullanılmıştır. Çalışmaya esas teşkil eden ve araştırmada incelenen etmenler olan doğal yerfıstığına ait ürünler (Püre ve Susam yerfıstığı) Osmaniye'de yerfıstığı işleyen bir firmadan (Özyeksek Toprak Mahsulleri Ltd. Şirketi) sağlanmıştır. Yerfıstığı ürünleri NC7 cinsi yerfıstığından elde edilmiştir. Materyal olarak kullanılan malzemelerin üretim yöntemleri ve bazı özellikleri aşağıda verilmiştir: Buğday ununun nem, kül, protein, ham yağ (Randall, 1974), yağ ve kuru gluten miktarları, gluten indeks, sedimantasyon ve gecikmeli sedimantasyon (Greenaway et al., 1965) değerleri sırasıyla %12.0, %0.47, %7.9, %0.01, %17.4 ve %5.7, %62.5, 24.7 ml ve 26.1 ml'dir (AACCI, 2000). Kabartma tozu; "mısır nişastası, sodyum bikarbonat ve sodyum asit pirofosfattan" oluşmaktadır. Margarin "60 yağlı, bitkisel yağlar (palm yağı ve turevleri), su, emülgatörler, tuz, asitlik düzenleyici, koruyucu, renklendirici ve aroma verici" den oluşmaktadır. Susam yerfıstığı, yerfıstığının boyut küçültme işlemine tabi tutulması ile elde olunan ve parçacık boyutu 1-3 mm arasında olan bir üründür (Şekil 1). Püre yerfıstığı ise, 100 kg zarı soyulmuş ve kavrulmuş yerfıstığının püre makinesinden geçirilmesi suretiyle hazırlanmıştır. Püre ve Susam yerfıstıkların nem içerikleri sırasıyla %3.48 ve %5.02'dir (AACCI, 2000).



Şekil 1. Araştırmada kullanılan püre ve susam yerfıstığı türevleri.
Figure 1. Puree and sesame peanut derivatives used in the research.

Denemelerde; “Kitchen Aid” marka “KSM45” model mikser, Siemens marka “HB 331 S2T” model fırın kullanılmıştır. Top kek numuneleri yerel bir marketten (BİM) temin edilen 12’li top kek kalıbının (Heifer marka) gözlerinde pişirilmiştir. Pişirme işleminde kek hamuru, kalıbın gözlerine yalın halde konulmamış, bu amaçla Kullanatmarket Elektronik Pazarlama Ticaret A.Ş.den (İstanbul) temin edilen top kek

pişirme kâğıtlarından yararlanılmıştır. Beher kek kalıbı gözünün üst çapı 62 mm, alt çapı 48 mm ve yüksekliği 30 mm’dir.

Top Kek Formülü ve Yapım Yöntemi

Top kek üretiminde kullanılan formül Çizelge 1’de (Giritlioğlu, 2017), hamurun hazırlanmasında kullanılan çırpma metoduna (Sultan, 1976) ait detaylar aşağıda verilmiştir:

Çizelge 1. Top kek hamuru formülü.
Table 1. Cupcake batter formula.

Bileşenler <i>Ingredients</i>	Miktar <i>Amount (g)</i>
Buğday unu <i>Wheat flour</i> ⁽¹⁾	100
Şeker <i>Sugar</i> ⁽¹⁾	80
Yumurta <i>Egg</i> ⁽¹⁾	60
Margarin <i>Margarine</i> ⁽¹⁾	60
Su <i>Water</i> ^(1,2)	35
Yerfıstığı ürünleri <i>Peanut products</i> ⁽³⁾	25.95-77.85
Yağsız süt tozu <i>Non-fat dry milk</i> ⁽¹⁾	7.5
Kabartma tozu <i>Baking powder</i> ⁽¹⁾	3
Tuz <i>Salt</i> ⁽¹⁾	0.5

⁽¹⁾ Değişken miktarlarda. Çizelgede sunulan veriler bileşiminde yerfıstığı ürünü içermeyen kontrol örneği için geçerlidir.

⁽²⁾ Hamur formülüne katılan yerfıstığı ürünü miktarının artmasına koşut olarak su ilavesi artırılmıştır. Formülde kullanılan su miktarı tüm hamur bileşenlerinin su/kuru madde oranı esas alınarak dengelenmiştir.

⁽³⁾ Kek hamur ağırlığına göre %7.5, %15 ve %22.5 oranlarında kullanılmıştır.

⁽¹⁾ *Variable quantities. Data presented in the table applies to control sample (without the peanut product in the composition).*

⁽²⁾ *The addition of water is increased in parallel with the increase in the amount of peanut product added to batter formula. The amount of water used in the formulation is balanced based on the water/dry matter ratio of all batter components.*

⁽³⁾ *It was used at the rates of 7.5%, 15% and 22.5% according to the batter weight.*

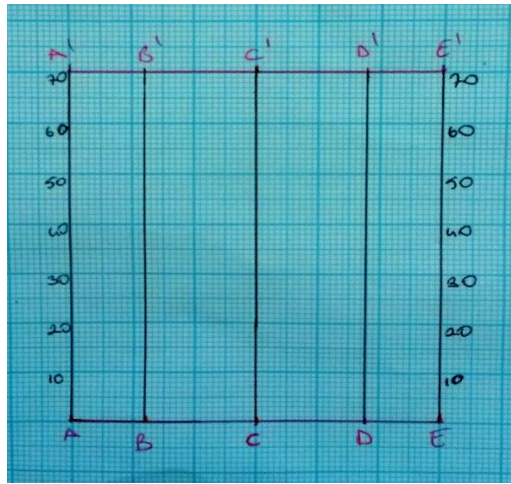
Yumurtalar 190 d/d hızında 2 d süre ile çırpılmıştır. 95 d/d hızında su eklenerek 190 d/d hızında 1 d süreyle karıştırılmıştır. Yine 95 d/d hızında sırasıyla şeker ve margarin ayrı ayrı eklenerek 190 d/d hızında 1'er d süreyle karıştırılmıştır. 95 d/d hızında, 1 d içerisinde un + kabartma tozu + süt tozu + tuz + yerfistığı ürünleri ilavesi yapılarak 190 d/d hızında 1 d süreyle karıştırılmıştır. Özetle, top kek bileşenleri mikserde 7 d süre ile çırpılmış, sonrasında elde edilen hamur, top kek pişirme kâğıtlarına 35'er g tartularak kalıplara yerleştirilmiştir. Top kek kalıbı fırın ızgarası üzerine ortalı olacak biçimde konulmuştur. Ön denemeler neticesinde pişirme işleminin 4 bölmeli fırının üstten üçüncü bölmesinde yapılmasına, keklerin 205 °C'de 18 d süreyle pişirilmesine karar verilmiştir. Pişirme işlemi sonunda fırında çıkarılan top kekler 20 d süre ile kalıp içerisinde, 40 d süre ile tel ızgara üzerinde, toplam 1 saat soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan kekler analizlere tabi tutulmuşlardır. Hamur formülüne yerfistığı formlarının değişik oranlarda katılmasında hamur ağırlığı esas alınmıştır. Burada formüle giren farklı yerfistığı formlarının gerek nem ve gerekse miktarlarının farklı olmasından dolayı hamur formülünün nem/kuru madde oranı sabit tutularak ayarlama yapılmış, bu suretle değişken bileşenlerin etkisinin daha net bir biçimde izlenmesine çalışılmıştır. Araştırmada, Püre ve Susam yerfistığının 3 farklı

oranda top kek üretiminde kullanılmasının ürün niteliklerine etkisi araştırılmıştır. Püre ve Susam yerfistığı top kek bileşiminde hamur ağırlığına göre %7.5, %15 ve %22.5 düzeylerinde kullanılmıştır. Bu suretle elde edilen top kekler, yerfistığı kullanılmaksızın yapılan kontrol keki ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Analizler

Top kek hamurlarının yoğunluğu; hacmi bilinen bir kaptaki hamurun ağırlığının, aynı kaptaki suyun hacmine bölünmesi suretiyle (Masoodi et al., 2002) belirlenmiştir.

Top kek örneklerinin; hacim, simetri ve tekdüzelik indeksleri ile büzülme değeri (AACCI Metot 10-91.01; AACCI, 2000) ve toplam hacim indeksi değerleri (Bath et al., 1992) belirlenmiştir. Top kek örneklerinin yapısal özelliklerinin belirlenmesinde kek ölçüm şablonu (AACCI Metot 10-91.01; AACCI, 2000) top kek kalıbının ebatlarına göre modifiye edilerek kullanılmıştır. Modifikasyon şu şekilde yapılmıştır: Şablonun uzunluğu 6 cm'ye düşürülmüş, B ve D noktaları merkezin sağ ve solunda merkeze 1.8 cm uzaklıkta, A ve E noktaları ise yine merkezin sağ ve solunda merkeze 3'er cm uzaklıkta yer almıştır. Kullanılan top kek ölçüm şablonu Şekil 2'de verilmiştir. Bu değerler daha sonra keklerin yapısal özellikleri hakkında fikir veren indekslerin hesaplanması sırasında kullanılmıştır.



Şekil 2. Top keklerin yapısal analizinde kullanılan ölçüm şablonu.

Figure 2. Measurement template used in the structural analysis of cupcakes.

- Hacim İndeksi (mm) = $IBB'I + ICC'I + IDD'I$ (1)
Simetri İndeksi (mm) = $2 \times ICC'I - IBB'I - IDD'I$ (2)
Tekdüzelik İndeksi (mm) = $IBB'I - IDD'I$ (3)
Alt Büzülme Değeri (mm) = Kek kalıbının alt çapı – Kekin alt çapı (IAEI) (4)
Üst Büzülme Değeri (mm) = Kek kalıbının üst çapı – Kekin üst çapı (IA'E'I) (5)
Toplam Hacim İndeksi (mm) = $IAA'I + IBB'I + ICC'I + IDD'I + IEE'I + IAEI + IA'E'I$ (6)

Kek örneklerinin nem içerikleri AACCI Metot 44-19.01'e (AACCI, 2000), hacimleri ise hardal tohumu ile yer değiştirme metoduna (Uluöz, 1965) göre tespit edilmiştir. Ayrıca, kek örneklerinin pişme kayıpları (Dizlek ve Gül, 2009) belirlenmiştir. Deneme kek örneklerinin tekstürel özellikleri Brookfield CT3 4500 tekstür analiz cihazı (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Massachusetts, ABD) ile belirlenmiştir. Bu analizde kullanılan parametreler şu şekildedir; Test hızı: 1 mm/s, Ön-test hızı: 1 mm/s, Trigger yükü: 0.098 N, Sıkıştırma oranı: %25 ve Prob: TA-BT-KI TA4/1000. Keklerin iç kısımlarından 2 cm x 2 cm x 2 cm boyutlarında dilimler kesilmiş ve yukarıda verilen parametreler uygulanarak tekstür profil analizi (TPA) yapılmıştır (Guadarrama-Lezama et al., 2016). TPA ile keklerin elastikiyet, yapışkanlık, sertlik, çignenebilirlik ve sakızimsılık özellikleri değerlendirilmiştir. Kek örneklerinin renk ölçümleri 3 boyutlu, Konica Minolta marka CR-400 model renk ölçüm cihazı (Konica Minolta Inc., Osaka, Japonya) kullanılarak, keklerin iç kısımlarında, yapılmıştır. Soğuyan keklerin yüzeyinin 3 farklı noktasından renk değerleri ölçülmüştür (Wrolstad ve Smith, 2010). Top kek örneklerinin duyusal olarak değerlendirilmeleri Özer et al. (2004)'e göre yapılmıştır. Bu amaçla; 5 kişilik eğitilmiş panelist grubundan kek örneklerini dış özellikler (kabuk görünümü ve kabuk kalınlığı), iç özellikler (elastikiyet, gözenek yapısı, kek içi rengi ve tekstür [elde ve ağızda hissedilen yumuşaklık] ve lezzet (aroma ve tat) bakımından değerlendirmeleri istenmiştir. Sigara kullanmayan kişilerden oluşturulan panelist grubunun 3'ü bayan, 2'si erkektir. Numuneler arasındaki geçişte ağızın temizlenmesi su ile yapılmıştır. Tüm teknolojik işlemler 2'şer kez tekrar edilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Araştırmada üretilen top kek örneklerinin ölçülen tüm özelliklerine ilişkin verilere "SPSS" paket programı (SPSS, version 18.0 for Windows, SPSS

Inc., Chicago, ABD) kullanılarak öncelikle varyans analizi (ANOVA) uygulanmış, sonra önemli bulunan değerler Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuşlardır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı formlarda ve oranlarda yerfıstığı ürünleri kullanılarak üretilen top keklerin; bazı kimyasal ve yapısal özelliklerine ilişkin ortalama veriler Çizelge 2'de, renk ve tekstürel özellikleri Çizelge 3'de, duyusal nitelikleri Çizelge 4'de, resimleri ise Şekil 3'de verilmiştir. Top kek formülünde kullanılan yerfıstığı formlarının ve oranlarının hamur yoğunluğu üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli ($p < 0.05$) ancak anlamsız bulunmuştur. Fırın ısısının yüzey alanı küçük olan top keklerin hemen tamamına nüfuz etmesiyle ilişkili olarak bu keklerin pişme kaybı değerleri nispeten yüksek bulunmuştur (Çizelge 2). Bu durum literatür bilgileri ile uyumludur.

Dizlek ve Gül (2009), fırıncılar açısından önem taşıyan pişme kaybı değerinin, birim miktardaki undan elde edilen hamur ve ekmek miktarının hesaplanmasında ve işletmenin rantabilitesinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir ölçüt olduğunu ve pişme kaybının düşük olmasının istendiğini bildirmişlerdir. Araştırmada, hamur bileşimine giren yerfıstığı miktarının artması ile orantılı olarak pişme kaybı değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Top kek örneklerinin nem içerikleri nispeten dar bir aralıkta (%25.7-%28.5 arasında) değişmiştir (Çizelge 2). Hamura %7.5 düzeyinde yerfıstığı girmesi kontrol örneğine göre nem içeriğinde kayda değer bir değişikliğe yol açmamış ancak daha yüksek düzeylerde yerfıstığı kullanılması ve yerfıstığı düzeyinin hamur bileşimindeki payının artmasına koşut olarak top kek örneklerinin nem düzeylerinde artış gözlenmiştir. Buna göre, en yüksek nem değerleri yerfıstığı türevlerini %22.5 düzeyinde içeren kek örneklerinde görülmüştür.

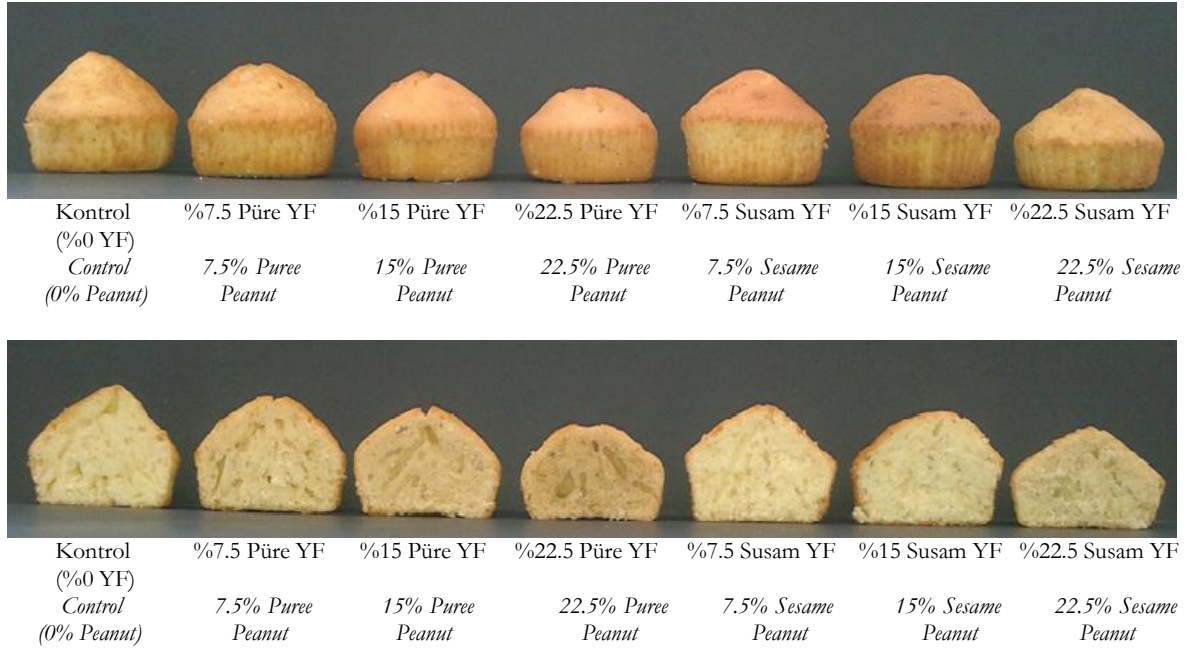
Çizelge 2. Farklı formlarda ve oranlarda yerfistığı kullanılarak yapılan top keklerin kimyasal ve yapısal özelliklerine ilişkin ortalama değerler. ⁽¹⁾

Table 2. Average values for the chemical and structural properties of the cupcake samples produced with peanut at various forms and ratios. ⁽¹⁾

Yerfistığı Formu <i>Peanut Form</i>	Yerfistığı Türevinin Kullanım Oranı Usage Ratio of Peanut Derivative (%)			
	0	7.5	15	22.5
	Hamur Yoğunluğu <i>Batter Density</i> (g/cm ³)			
Kontrol <i>Control</i>	1.079 ^b			
Püre <i>Puree</i>		1.106 ^a	0.982 ^f	1.020 ^c
Susam <i>Sesame</i>		0.943 ^g	0.987 ^e	1.016 ^d
	Pişme Kaybı <i>Weight Loss</i> (%)			
Kontrol <i>Control</i>	16.0 ^b			
Püre <i>Puree</i>		15.9 ^b	15.0 ^{cd}	14.4 ^{de}
Susam <i>Sesame</i>		16.9 ^a	15.2 ^c	14.1 ^e
	Nem Miktarı <i>Moisture Content</i> (%)			
Kontrol <i>Control</i>	26.1 ^d			
Püre <i>Puree</i>		25.7 ^e	26.9 ^c	28.5 ^a
Susam <i>Sesame</i>		26.3 ^d	26.6 ^c	28.2 ^b
	Hacim <i>Volume</i> (cm ³)			
Kontrol <i>Control</i>	66 ^a			
Püre <i>Puree</i>		62 ^b	56 ^d	53 ^e
Susam <i>Sesame</i>		63 ^b	58 ^c	53 ^e
	Hacim İndeksi <i>Volume Index</i> (mm)			
Kontrol <i>Control</i>	108 ^a			
Püre <i>Puree</i>		104 ^b	96 ^c	87 ^e
Susam <i>Sesame</i>		108 ^a	92 ^d	88 ^e
	Toplam Hacim İndeksi <i>Total Volume Index</i> (mm)			
Kontrol <i>Control</i>	247 ^b			
Püre <i>Puree</i>		247 ^b	237 ^c	220 ^e
Susam <i>Sesame</i>		254 ^a	231 ^d	218 ^e
	Simetri İndeksi <i>Symmetry Index</i> (mm)			
Kontrol <i>Control</i>	21.0 ^{abc}			
Püre <i>Puree</i>		15.0 ^c	16.2 ^c	22.3 ^{ab}
Susam <i>Sesame</i>		20.8 ^{abc}	24.8 ^a	17.8 ^{bc}
	Tekdüzelik İndeksi <i>Uniformity Index</i> (mm)			
Kontrol <i>Control</i>	4.0			
Püre <i>Puree</i>		1.7	1.8	1.3
Susam <i>Sesame</i>		3.2	0.8	0.8
	Alt Büzülme Değeri <i>Bottom Shrinkage Value</i> (mm)			
Kontrol <i>Control</i>	1.7 ^c			
Püre <i>Puree</i>		1.0 ^c	1.8 ^c	3.8 ^b
Susam <i>Sesame</i>		1.7 ^c	1.8 ^c	5.0 ^a
	Üst Büzülme Değeri <i>Top Shrinkage Value</i> (mm)			
Kontrol <i>Control</i>	8.5			
Püre <i>Puree</i>		12.8	10.8	13.5
Susam <i>Sesame</i>		8.0	12.3	13.3

⁽¹⁾ Çizelgede aynı özellik için farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

⁽¹⁾ Values in the table shown for same property with the different letter is significantly different (P < 0.05).



Şekil 3. Farklı formlarda (püre ve susam) ve oranlarda (%0, %7.5, %15 ve %22.5) yerfıstığı kullanılarak üretilen top kek örnekleri. YF = Yerfıstığı

Figure 3. Cupcake samples produced with peanut at various forms (puree and sesame) and ratios (0%, 7.5%, 15% and 22.5%).

Hacme İlişkin Özellikler

Dış görünüş bakımından kekin en önemli ölçütü hacimdir (Dizlek ve Altan, 2015). Kek üretiminde hacim indeksi ve toplam hacim indeksi değerleri, keklerin gerçek hacmini ölçmemekle beraber, keklerin hacimleri hakkında fikir verir. Simetri indeksi, keklerin üst yüzlerinin yüzey görünümünü belirlemek için kullanılır. Simetri indeksi değerinin negatif (-) olması kekin çökük (içe doğru bombeli), sıfıra yakın olması kek yüzeyinin düz (bombesiz), pozitif (+) olması ise kek üst yüzeyinin kabarık (bombeli) olduğunu işaret eder. Tekdüzelik indeksi, keklerin yanal olarak simetrisini belirlemek için kullanılır ve bu değer sıfır ya da sıfıra olabildiğine yakın olması istenir. Keklerin alt büzülme değeri, kalıba doldurulan hamur tabanı çapında; üst büzülme değeri ise hamurun üst çapında meydana gelen küçülmeyi ifade etmek için kullanılır (Dizlek et al., 2008). Hamur formülüne yerfıstığının girmesi ve bunun miktarının artmasına bağlı olarak top kek örneklerinin hacimleri azalmıştır ($p < 0.05$). Hamur formülüne %7.5, %15 ve %22.5 oranlarında yerfıstığı katılması kontrol örneğine göre kek

hacminde sırasıyla yaklaşık %5, %14 ve %20 oranında düşüşe yol açmıştır (Yerfıstıklı keklerin hacimleri – yaklaşık olarak – hamur formülüne katılan yerfıstığı oranı kadar azalma göstermiştir). Yerfıstığı formları arasında hacim değerleri açısından belirgin bir farklılık oluşmadığı gözlenmiştir. Yerfıstığı katılmasına koşut olarak top kek örneklerinin hacimlerinin azalması Şekil 3'ün incelenmesiyle de görülebilir. Kullanılan yerfıstığı formunun ve oranının top keklerin hacim indeksi değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Hacim indeksi değerlerinin hacim değerleriyle uyum içerisinde olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Bu bulgu, keklerin hacim ve hacim indeksleri arasında doğrusal ilişki olduğunu bildiren Karaoğlu et al. (2001), Gomez et al. (2008) ve Dizlek ve Altan (2015)'nin bildiriyle uyumludur. Toplam hacim indeksi değerlerinde de genel olarak benzer bir değişim gözlemlenmiş olmasına karşın keklerin hacimlerinde yerfıstığı katılması ile meydana gelen azalma miktarı analitik olarak toplam hacim indeksi değerlerinde daha az düzeyde ortaya çıkmıştır.

Farklı form ve oranlarda yerfistığı kullanılarak üretilen top kek örneklerinin simetri indeks değerleri kontrol örneği ile benzer bulunmuştur. Buna göre deneme kek örneklerinin tümünün kabardığı ve iyi bir bombe yapısına sahip oldukları kanısına varılmıştır. Beklenildiği üzere, top kek numunelerinin tekdüzelik indeksleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Benzer etkiden üst büzülme değeri için de söz etmek mümkündür. Top kek üretiminde %7.5 ve %15 oranlarında Püre ve Susam yerfistığı kullanılması keklerin tabanlarında bir büzülmeye yol açmamış, ancak %22.5 oranında kullanılması 0.5 cm civarında bir fireye neden olmuştur. Bu noktada Susam yerfistığı ile üretilen top kek numunesinin Püre yerfistığı örneğine göre daha fazla büzüldüğü belirlenmiştir. Özetle, top kek hamuru formülüne %22.5 oranında yerfistığı eklenmesi keklerin tabanlarının büzülmesinde negatif bir etkiye yol açmıştır (Çizelge 2).

Renk Özellikleri

Top keklerin renk özelliklerine ilişkin bulgular Çizelge 3'de verilmiştir. Renk ölçümünde L* değeri matlığı (0)/parlaklığı (100), a*/-a* değeri kırmızılığı/yeşillliği, b*/-b* değeri sarılığı/maviliği ifade etmektedir (Francis, 1998). Çizelgenin incelenmesiyle, hamur formülünde kullanılan yerfistığı türevinin ve bunun kullanım oranının top kek örneklerinin L* değeri üzerine sınırlı, a* ve b* renk değerleri üzerine ise daha belirgin düzeyde etki ettiği saptanmıştır.

Tekstürel Özellikler

Kek örneklerine uygulanan tekstür analizinde elastikiyet, keke uygulanan kuvvet ortadan kaldırıldıktan sonra kekin kuvvet uygulanmadan önceki haline dönme hızı; yapışkanlık, kek ile kekin temas ettiği yüzey arasındaki çekim kuvvetini yenebilmesi için ortaya konulan iş olarak tanımlanmaktadır. Sakızimsılık kekin yapısını oluşturan bağların gücünü ifade etmektedir. Sertlik, kekin sıkıştırılması sırasında ölçülen maksimum kuvvet; çignenebilirlik ise kekin yutulmaya hazır hale gelene kadar ağızda parçalanması için gerekli iş olarak tanımlanmaktadır (Bourne, 2002). Tekstür ölçümlerine ait ortalama sonuçların incelenmesiyle (Çizelge 3), Susam yerfistığı ile üretilen top keklerin Püre yerfistığı ile üretilen top keklerle göre daha elastik

oldukları saptanmıştır. Elastikiyet bakımından kontrol örneği ile yerfistıklı örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamış, sadece %7.5 oranında Susam yerfistığının kek elastikiyetini artırdığı belirlenmiştir. Farklı formlarda ve oranlarda yerfistığı kullanılmasının top keklerin yapışkanlık değerleri üzerindeki etkisi önemsiz bulunmuştur. Hamur formülüne belirli orana (%7.5) kadar yerfistığı katılması top keklerin sertliklerinde bir değişiklik oluşturmamış, daha yüksek düzeylerde yerfistığı katılması keklerin sertliğini artırmıştır. Yerfistığı formları arasında kek sertliği bakımından istatistiksel olarak fark oluşmamıştır. En düşük sertlik değerinin bileşiminde %7.5 oranında yerfistığı ihtiva eden örneklerde gözlemlendiği, yerfistığı miktarının artışı ile doğru orantılı olarak keklerin sertlik değerinin önemli ölçüde ($p<0.05$) arttığı saptanmıştır. Sertlik değerleriyle de uyumlu olarak %15 Susam ve %22.5 Püre ve Susam yerfistığı ile üretilen keklerin yutulmaya hazır hale gelene kadar ağızda parçalanmaları için gerekli iş miktarının bileşiminde yerfistığı ihtiva etmeyen kontrol örneğinden daha fazla olduğu saptanmıştır. Püre yerfistığı ile hazırlanan top keklerin Susam yerfistığı ile hazırlanan örneklere göre daha rahat bir biçimde çignenebildikleri belirlenmiştir. Hamur formülünde %22.5 oranında yerfistığı bulunan top keklerin en sakızimsı yapıya sahip oldukları, kullanılan yerfistığı türevleri arasında sakızimsılık açısından bir farklılık oluşmadığı gözlemlenmiştir.

Duyusal Özellikler

Top kek örneklerinin duysal özelliklerine ait ölçüm sonuçlarının incelenmesiyle (Çizelge 4), üretilen örnekler arasında kabukla ilgili olan dış özellikler, ağızda hissedilen yumuşaklık ve tat bakımından bir farklılık oluşmadığı, Susam yerfistığı ile üretilen keklerin Püre yerfistığı ile üretilen top keklerle göre panelistler tarafından daha fazla beğenildiği, hamur formülüne özellikle %7.5 ve %15 oranlarında yerfistığı katılmasının yadırganmadığı hatta duysal olarak kontrol örneğine göre – genel olarak – daha fazla beğeni topladıkları, hamur bileşimine giren yerfistığı miktarının artmasına koşut olarak top keklerin duysal niteliklerinin gerilediği, bu anlamda %22.5 düzeyinde yerfistığı içeren örneklerin toplamda en az puana sahip oldukları, ancak bunların bile kabul

edilebilir nitelikte olduğu ve top kekin duyuşal özelliklerinde çok büyük bir gerilemeye yol açmadığı belirlenmiştir. Susam yerfıstığı'nın %7.5 oranında kullanıldığı örneğın duyuşal nitelikler

bakımından en üstün özelliklere sahip olduğu, anılan örneğın aroma ve elde hissedilen yumuşaklık açısından kontrol örneğine göre daha üstün olduğu saptanmıştır.

Çizelge 3. Farklı formlarda ve oranlarda yerfıstığı kullanılarak yapılan top keklerin renk ve tekstürel özelliklerine ilişkin ortalama değerler. ⁽¹⁾

Table 3. Average values for the color and textural properties of the cupcake samples produced with peanut at various forms and ratios. ⁽¹⁾

Yerfıstığı Formu <i>Peanut Form</i>	Yerfıstığı Türevinin Kullanım Oranı Usage Ratio of Peanut Derivative (%)			
	0	7.5	15	22.5
<u>Renk Özellikleri Color Properties</u>				
L* değeri L* value				
Kontrol <i>Control</i>	72.38 ^{ab}			
Püre <i>Puree</i>		72.04 ^{ab}	70.41 ^b	62.81 ^c
Susam <i>Sesame</i>		75.24 ^a	72.39 ^{ab}	68.87 ^b
a* değeri a* value				
Kontrol <i>Control</i>	-3.36 ^e			
Püre <i>Puree</i>		-2.07 ^c	0.66 ^b	2.24 ^a
Susam <i>Sesame</i>		-2.97 ^{de}	-2.47 ^{cd}	-1.95 ^c
b* değeri b* value				
Kontrol <i>Control</i>	28.44 ^b			
Püre <i>Puree</i>		27.88 ^b	30.72 ^a	31.02 ^a
Susam <i>Sesame</i>		27.06 ^b	26.59 ^{bc}	24.93 ^c
<u>Tekstürel Özellikler Textural Properties</u>				
Elastikiyet Springiness (mm)				
Kontrol <i>Control</i>	3.87 ^{bc}			
Püre <i>Puree</i>		4.10 ^{bc}	3.58 ^c	3.74 ^{bc}
Susam <i>Sesame</i>		4.93 ^a	4.44 ^{ab}	4.08 ^{bc}
Yapışkanlık Adhesiveness (mJ)				
Kontrol <i>Control</i>	0.21			
Püre <i>Puree</i>		0.14	0.27	0.19
Susam <i>Sesame</i>		0.16	0.15	0.18
Sertlik Hardness (N)				
Kontrol <i>Control</i>	1.37 ^d			
Püre <i>Puree</i>		1.26 ^d	1.53 ^{cd}	2.11 ^{ab}
Susam <i>Sesame</i>		1.22 ^d	1.84 ^{bc}	2.24 ^a
Çiğnenebilirlik Chewiness (mJ)				
Kontrol <i>Control</i>	4.00 ^c			
Püre <i>Puree</i>		3.97 ^c	3.72 ^c	5.81 ^a
Susam <i>Sesame</i>		4.27 ^{bc}	5.67 ^{ab}	6.07 ^a
Sakızımsılık Gumminess (N)				
Kontrol <i>Control</i>	1.04 ^{cd}			
Püre <i>Puree</i>		0.97 ^{cd}	1.04 ^{cd}	1.57 ^a
Susam <i>Sesame</i>		0.88 ^d	1.24 ^{bc}	1.47 ^{ab}

⁽¹⁾ Çizelgede aynı özellik için farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

⁽¹⁾ Values in the table shown for same property with the different letter is significantly different (P < 0.05).

Çizelge 4. Farklı formlarda ve oranlarda yerfıstığı kullanılarak yapılan top keklerin duyusal analiz sonuçları. ⁽¹⁾Table 4. Sensory analyses results of the cupcake samples produced with peanut at various forms and ratios. ⁽¹⁾

Yerfıstığı Formu Peanut Form	Yerfıstığı Oranı Peanut Ratio	Dış Özellikler Exterior Features		İç Özellikler Internal Features				Lezzet Flavor		Toplam (100 Puan) Total (100 Point)	
		Kabuk Görünümü (0-5 Puan) Crust Appearance (0-5 Point)	Kabuk Kalınlığı (0-5 Puan) Crust Thickness (0-5 Point)	Elastikiyet (0-20 Puan) Springness (0-20 Point)	Gözenek Yapısı (0-20 Puan) Grain Structure (0-20 Point)	Kek İçi Rengi (0-5 Puan) Crumbs Color (0-5 Point)	Elde Hissedilen Yumuşaklık (0-5 Puan) Softness feel in the hand (0-5 Point)	Ağızda Hissedilen Yumuşaklık (0-5 Puan) Softness feel in the mouth (0-5 Point)	Aroma (0-20 Puan) Aroma (0-20 Point)		Tat (0-15 Puan) Taste (0-15 Point)
Kontrol Control	0	5.0	4.4	17.8 ^{ab}	13.0 ^{abc}	5.0 ^a	3.8 ^{bc}	4.4	15.2 ^b	13.8	82.4 ^{bc}
Püre Puree	7.5	4.4	4.2	16.4 ^{ab}	12.8 ^{abc}	4.2 ^b	4.2 ^{abc}	4.0	14.8 ^b	12.8	77.8 ^c
Püre Puree	15	4.6	5.0	16.6 ^{ab}	14.6 ^{abc}	4.0 ^b	4.4 ^{ab}	4.2	17.2 ^{ab}	13.4	84.0 ^{bc}
Püre Puree	22.5	3.6	4.0	13.4 ^c	9.8 ^c	2.6 ^c	3.4 ^c	3.2	15.6 ^{ab}	11.8	67.4 ^d
Susam Sesame	7.5	4.8	5.0	18.4 ^a	17.2 ^a	5.0 ^a	5.0 ^a	4.6	18.8 ^a	14.6	93.4 ^a
Susam Sesame	15	4.6	4.2	17.8 ^{ab}	16.6 ^{ab}	5.0 ^a	4.0 ^{bc}	4.4	18.8 ^a	14.6	90.0 ^{ab}
Susam Sesame	22.5	4.2	4.4	15.0 ^{bc}	12.0 ^{bc}	4.8 ^a	4.2 ^{abc}	3.2	17.0 ^{ab}	14.4	79.2 ^c

⁽¹⁾Çizelgede aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

⁽¹⁾ Values in the table shown in the same column with the different letter is significantly different ($P < 0.05$).

Araştırmadan elde edilen veriler bir arada incelendiğinde (Çizelge 2-4), yerfıstığı türevlerinin kek formülüne başarı ile adapte edilebildiği ve bunun duyusal olarak kek niteliklerinde önemli bir sakınca oluşturmadığı, ayrı bir lezzet, aroma oluşturduğu ve çeşnili kek olarak yerfıstıklı keklerin piyasaya arz edilebileceği kanısına varılmıştır. Literatürde iyi bir top kekin; yüksek hacimli, hafif dairesel bombeli, simetrik ve tekdüze bir yapıya, yumuşak-nemli-süngerimsi bir tekstüre ve düşük büzülme değerine (fire payına) sahip olması, yine yenildiğinde ağızda kolayca dağılabilmesi, ele ve damağa yapışmaması ve hoş giden lezzetli bir tat-aromaya sahip olması gerektiği bildirilmiştir (Stinson, 1986; Dizlek, 2015). Araştırmada üretilen ve %15'e kadar

yerfıstığı içeren top kek örneklerinin genel olarak bu hususiyetlere sahip oldukları gözlenmiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, besleyici özelliği yüksek olan doğal yerfıstığı ürünlerinin farklı formlarda ve oranlarda kullanılmasıyla top kek formülüne monte edilmesi ve katkı maddesi içermeyen yeni bir kek formülünün geliştirilmesi hedeflenmiş, böylece bu alanda sektörde yer alan ürün çeşitliliğine bir halka ekleyerek yeni ürün geliştirilebileceği öngörülmüştür. Ülkemizde daha çok çerezlik amaçla kullanılan ve salt bu nedenle pazarlanmasında zaman zaman darboğazların oluştuğu yerfıstığına, çerezlik dışında alternatif kullanım alanları oluşturulmuştur. Bu konuda yerfıstığının pilot uygulama sahası olarak kek, ana

uygulama sahası olarak ise unlu mamuller alanında daha geniş düzeylerde kullanılmasının önu açılmıştır. Böylece genelde tarıma özelde ise yerfıstığına dayalı sanayi ile geçimini sağlayan Osmaniye çiftçisi ve tüccarına ürünlerini pazarlama konusunda yeni bir saha açılmıştır. Yürütülen çalışma ile Osmaniye'nin başlıca tarımsal ürünü olan yerfıstığının farklı kulvarlarda işlenmesine kapı aralanmış, uzun vadede ilin ekonomisine katkı sağlanmış, ürünün pazarlanmasında karşılaşılan sorunların kısmen de olsa aşılmasına destek sunulmuştur. Yerfıstıklı kekin endüstriyel olarak üretimine ışık tutacak araştırma bulgularının, ürün üzerinden Osmaniye'nin tanıtımına katkı sunacağı, ayrıca yeni bir lezzet-damak tadının ortaya çıkmasına doğrudan etki edeceği düşünülmektedir. Yine yerfıstığı sektöründe, fabrikasyonda istenmeyen ve yerfıstığı fabrikasyon atığı olarak kabul edilen yan ürünlerin (Un ve Susam yerfıstığı) farklı bir alanda değerlendirilmesi ile katma değerleri yükseltilerek ülke ekonomisine katkı sağlanmıştır. Ayrıca yerfıstığının ve dolayısıyla yerfıstığı türevlerinin yağ içeriğinin yüksek olması, kek formülünde kullanılacak nebati yağın diğer bitkisel kaynaklardan karşılanması yerine kısmen ya da tamamen yerfıstığından tahsis edilmesi ile karşılanmış, bu açıdan kekte yerfıstığı, lezzet ve çeşni sağlamanın yanı sıra kitle oluşturucu bileşen olarak da görev yapmıştır. Özellikle küçük yaştaki çocukların kek vb. ürünleri yaygın bir biçimde tükettikleri göz önüne alındığında, onlara katkı maddesi içermeyen sağlıklı ve daha besleyici bir ürün alternatifi sunulmuştur.

Araştırmadan elde edilen veriler bir arada incelendiğinde (Çizelge 2-4), %7.5 ve %15 düzeylerinde Püre ve Susam yerfıstığı kullanılarak beğenilir nitelikte, üstün kalitede top kek üretilebileceği ve bu ürünlerin gıda sanayisine sunulabileceği kanısına varılmıştır. Yine yerfıstığı türevlerinin kek formülüne başarı ile adapte edilebildiği ve bunların duyuşal olarak kek niteliklerini geriletmediği hatta kekte hoşça giden güzel bir lezzet ve aroma oluşturdukları ve yerfıstıklı keklerin çeşnili kek olarak piyasaya arz edilebileceği kanısına varılmıştır. Özellikle duyuşal analizlere ait sonuçlar, deneme yerfıstığı ürünlerinin kek formülüne kolaylıkla ve beğeniyle monte edilebileceğine işaret etmektedir.

Çalışmada, top kek hamuruna yerfıstığı eklenmesi ile hamurun özelliklerinde önemli ölçüde modifikasyon oluşmuştur. Bu olumsuz durumların; hamur formülüne yumurta akı, soya albumini ve jelatin gibi kabartıcı protein; guar, ksantan gam ve karboksimetilsellüloz gibi hidrokolloid ve lesitin, mono ve digliserid türevleri cinsi yüzey aktif madde katkılarının dâhil edilmesiyle kısmen ya da tamamen bertaraf edilebileceği düşünülmektedir. Çalışmada doğal yerfıstığı ürünlerini kek formülüne adapte etmek amaçlandığından katkı maddesi kullanımına gidilmemiştir. Ancak yukarıda anılan katkıların yerfıstıklı top kek reçetelerine dâhil edilmesi durumunda sertlik değeri daha düşük ve hacmi daha yüksek kek örneklerinin üretilebileceği düşünülmektedir (Uygun katkı maddelerinin uygun düzeylerde kullanılması ile deneme kek örneklerinin niteliklerinin geliştirilebileceği aşikârdır.). Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bu konu üzerinde durula bilinir.

TS 13375 Hazır kekler (sade, çeşnili ve dolgulu) standardında (TSE, 2008); dilimlenmiş ya da muhtelif geometrik şekiller verilerek ticari amaçla üretilmiş ve ambalajlı olarak piyasaya/tüketime sunulan sade, çeşnili ve dolgulu hazır keklerin içermesi gereken azami nem miktarı %20 (m/m) olarak belirtilmiştir. Bu araştırma kapsamında üretilen top kek numunelerinin nem içeriklerinin söz konusu standartta belirtilen üst limiti yaklaşık %6 düzeyinde aştığı gözlenmiştir. Farklı etmenlerin kullanılması ile ele alınan bilimsel eksenli bu çalışmada üretilen kekler, hazır kek statüsüne girmemektedir. Çünkü deneme kek örnekleri ambalajlı olarak üretilmediği gibi doğrudan piyasaya sunulma hedefi de güdülmemiştir. Bununla birlikte deneme örneklerinin standartta belirtilen "Hazır kekler" statüsüne girdirilerek piyasaya arz edilmeleri söz konusu olduğunda, kek örneklerinin nihai nem içeriklerinin standartta belirtilen üst limit olan %20'ye ayarlanabileceği, bu noktada hamur reçetesinde ve pişirme normlarında uygun modifikasyonların yapılabileceği öngörülmektedir.

Çalışmada kek üretiminde ele alınan yerfıstığı ürünlerinin kullanılmasının kek kalitesinde çok belirgin bir sakınca oluşturmamasından dolayı bunların diğer unlu mamullerin üretiminde de

kullanılabileceği öngörülmektedir. Ancak araştırmadan elde edilen bulgular ışığında yerfıstığı formlarının hamurdaki payının azami %15 olmasına özen gösterilmesi gerekmektedir. Yerfıstığı formlarının hamur bileşiminde %15'den daha fazla kullanılması durumunda formülasyona uygun katkı maddelerinin uygun düzeyde katılmasının, mamul ürün kalitesinin ıslahında – teknik olarak – gerekli bir uygulama olacağı düşünülmektedir. Kek hamuru formülüne fonksiyonel gıda bileşeni olan yerfıstığına ait ürünler girdiğinde hamur formülünde yer alan un, şeker ve yumurta gibi bileşenlerin miktarında/oranında azalma/sevrelme olmaktadır. Dolayısı ile kekin daha besleyici bir biçimde üretilebildiği düşünülmektedir. Çünkü un ve şeker hemen tamamı karbonhidrattan oluşan temel gıda hammaddeleridir.

Bu çalışma ile ülkemizdeki yerfıstığı konusundaki bilimsel bilgi birikimine katkı sağlanmış, tüketicilere yeni bir/birkaç ürün sunulmuş, kek sanayisine yeni ürün çeşit(ler)i kazandırılmış, yerfıstığı tarzı doğal bileşenlerin özelde kek genelde unlu mamullerin formüllerinde yer alma potansiyeli teşvik edilmiştir. Çalışmanın, gerek ulusal ve gerekse uluslararası platformda bilime de önemli katkılar sağladığı düşünülmektedir. En önemli ulusal katkısı; ülkemizde kek endüstrisinde katkı maddesi (emülgatör vs.) kullanılmadan üretilen kek çeşidinin hali hazırda mevcut olmaması ve söz konusu çalışma ile bu konuda bir ilkin gerçekleştirilmiş olmasıdır. Elde edilen ümit var sonuçların kek endüstrisinde söz sahibi olan firmalar tarafından dikkate alınacağı ve onlara bu alanda yol gösterici yararlar sunacağı düşünülmektedir. Araştırma kapsamında hedeflenen amaçlara büyük ölçüde ulaşılmıştır. Ayrıca, katkı maddesi kullanılmadan ve doğal yerfıstığı ürünlerine kek formülünde izin vererek üretilen kekler, bu sistemin pratikte (kek endüstrisinde) uygulanmasının önünü açmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma OKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından OKÜBAP-2016-PT3-002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- AACCI (2000). International approved methods of the American association of cereal chemists. 10th Edition, St. Paul, MN, the USA.
- Arıoğlu, H. (1999). *Yerfıstığı yetiştirme ıslahı*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Basımevi, Adana, Türkiye, 204 s.
- Ataseven, Y. and Olhan, E. (2008). Turkey's organic agriculture potential: an opportunity for the Mediterranean region. 16th IFOAM Organic World Congress, 16-20 June, Modena, Italy, 507 p.
- Bath, D.E., Shelke, K., Hosene, R.C. (1992). Fat replacers in high- ratio layer cakes. *Cereal Food World*, 37(7): 495-500.
- Bourne, M.C. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. 2nd Edition, Academic Press, 416 p. ISBN: 978-0-12-119062-0.
- Demirkol, C., Karadeniz, C.F., Pezikoğlu, F., Doğan, S. (2008). Development of organic agriculture in Turkey. *Cabiers Options Mediterrannes*, 61: 23-30.
- Dizlek, H. (2015). Effects of amount of batter in baking cup on muffin quality. *Int J Food Eng*, 11(5): 629-640.
- Dizlek, H., Altan, A. (2015). Determination of sponge cake volume with a mathematical method. *Qual Assur Saf Crop*, 7(4): 551-557.
- Dizlek, H., Duman, A.D., Tenekeci, O. (2012). Yerfıstığı ve Osmaniye'nin yerfıstığı potansiyeli. Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay, Türkiye, 604 s.
- Dizlek, H., Gül, H. (2009). Required criteria for the definition of bread attributes I. *Miller*, 16: 56-65.
- Dizlek, H., Özer, M.S., Gül, H. (2008). Keklerin yapısal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan ölçütler. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 1172 s.
- Emeksiz, F. (1994). Adana ilinde yerfıstığı üretilen işletmelerin üretimle ilgili bazı yapısal özellikleri. *Çukurova Üni Zir Fak Der*, 9(2): 17-32.

- Giritlioğlu, E. (2017). Kinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) ve şeker otu (*Stevia rebaudiana bertonii*) kullanılarak yeni bisküvi ve kek formülleri geliştirme üzerine bir araştırma. Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Osmaniye, Türkiye, 97 s.
- Gomez, M., Oliete, B., Rosell, C.M., Pando, V., Fernández, E. (2008). Studies on cake quality made of wheat–chickpea flour blends. *Food Sci Tech-Brazıl*, 41: 1701-1709.
- Greenaway, W.T., Neustadt, M.H., Zeleny, L. (1965). Communication to the editor: A test for stink bug damage in wheat. *Cereal Chem*, 42(6): 577-579.
- Guadarrama-Lezama, A.Y., Carrillo-Navas, H., Perez-Alonso, C., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. (2016). Thermal and rheological properties of sponge cake batters and texture and microstructural characteristics of sponge cake made with native corn starch in partial or total replacement of wheat flour. *Food Sci Tech-Brazıl*, 70: 46-54.
- Gül, A., Arıoğlu, H., Tülücu, K., Biçici, M., Özgür, F., Fenercioğlu, H. (2001). Osmaniye'nin simgesi: yerfıstığı ekonomisi, üretim tekniği, hastalık ve zararlıları, gıda sanayi açısından önemi. 1. Osmaniye Fıstık Festivali Etkinlikleri, Osmaniye Gazeteciler Cemiyeti Kültür Yayını, Sayı 1.
- Karaoğlu, M.M., Kotancılar, H.G., Çelik, İ. (2001). Effects of utilization of modified starches on the cake quality. *Starch-Starke*, 53: 162-169.
- Masoodi, F.A., Sharma, B., Chauhan, G.S. (2002). Use of apple pomace as a source of diet dry fiber in cakes. *Plant Food Hum Nutr*, 57: 121-128.
- Özbiğe, Z. (2007). An analysis of organic agriculture in Turkey: The current situation and basic constraints. *J Cent Eur Agric*, 8(2): 213-222.
- Özer, M.S., Dizlek, H., Kola, O., Altan, A. (2004). Değişik gaz salınımı hızlarına sahip kabartma tozlarının pandispanya tipi keklerin nitelikleri üzerindeki etkileri. *GIDA*, 29(1): 43-50.
- Randall, E.L. (1974). Improved method for fat and oil analysis by a new process of extraction. *J Assoc Off Anal Chem*, 57: 1165-1168.
- Stinson, C.T. (1986). Effects of microwave/convection baking and pan characteristics on cake quality. *J Food Sci*, 51: 1580-1582.
- Sultan, W.J. (1976). *Practical baking*. The Avi Publishing Company, USA, 755 p.
- Şahin, G. (2014). Türkiye'de yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) yetiştiriciliği ve bir coğrafi işaret olarak Osmaniye yerfıstığı. *Gaziantep University J Social Sci*, 13(3): 619-644.
- TGK (2013). Buğday unu tebliği. Tebliğ No: 2013/9, Ankara, Türkiye.
- TSE (2002). Kabartma tozu-hamur için standardı. TS 9053, Ankara, Türkiye.
- TSE (2003). Yemeklik tuz standardı. TS 933, Ankara, Türkiye.
- TSE (2007a). Beyaz şeker (Sakaroz) standardı. TS 861, Ankara, Türkiye.
- TSE (2007b). Süt tozu standardı. TS 1329, Ankara, Türkiye.
- TSE (2008). Hazır kekler – sade, çeşnili ve dolgulu standardı. TS 13375, Ankara, Türkiye.
- TSE (2009). Tavuk yumurtası (kabuklu) standardı. TS 1068, Ankara, Türkiye.
- TSE (2014). Yemeklik margarin standardı. TS 2812, Ankara, Türkiye.
- TÜİK (2016). Türkiye istatistik kurumu, 2005-2014 yılları imalat sanayi üretim, satış, miktar, değer ve girişim sayıları. http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=773 (Erişim tarihi: 15.10.2016).
- Uluöz, M. (1965). *Buğday, un ve ekmeke analiz metodları*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisleri, İzmir, Türkiye, 91 s.
- Wrolstad, R.E., Smith, D.E. (2010). Color analysis. In: *Food Analysis*. Nielson, S.S. (ed.), Springer New York Dordrecht Heidelberg, London, UK. pp. 573-586.



B. CEREBUS BİYOFİLMLEİNİN SİTRİK ASİT UYGULAMALARI İLE KONTROLÜ

Taner Şar, Meltem Yeşilçimen Akbaş*

Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli, Türkiye

Geliş / Received: 29.03.2018; Kabul / Accepted: 04.06.2018; Online baskı / Published online: 27.06.2018

Şar, T., Yeşilçimen Akbaş, M. (2018). *B. cereus* biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü. GIDA (2018) 43 (4): 605-616 doi: 10.15237/gida.GD18041

Şar, T., Yeşilçimen Akbaş, M. (2018). *Control of B. cereus biofilms by citric acid treatments. GIDA (2018) 43 (4): 605-616 doi: 10.15237/gida.GD18041*

ÖZ

Bu çalışmada, önemli bir gıda patojeni olan *B. cereus* vejetatif hücrelerinin ve sporlarının mikrotitrasyon plaklarında, glukoz ve süt içeren besiyerleri kullanılarak (TSB_G ve TSB_S) oluşturduğu 24-72 saatlik biyofilmlerinin, %2 sitrik asit ve 200 ppm klor uygulamaları ile önlenmesi ve ortadan kaldırılması araştırılmıştır. *B. cereus* vejetatif hücrelerinin TSB_G ve TSB_S besiyerleri kullanıldığında oluşan biyofilmlerinin, sitrik asit uygulamaları ile %59 oranında önlendiği ve %38-63 oranlarında giderildiği belirlenmiştir. *B. cereus* spor biyofilmlerinin ise, %56 oranında önlenildiği ve %40-56 oranlarında giderilebildiği görülmüştür. Sitrik asit uygulamasının (%2) oluşan *B. cereus* vejetatif hücrelerinin ve sporlarının biyofilmleri üzerinde klor kadar etkili olabildiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *B. cereus*, biyofilm önlenmesi, biyofilm ortadan kaldırılması, sitrik asit, *B. cereus* sporları

CONTROL OF *B. CEREBUS* BIOFILMS BY CITRIC ACID TREATMENTS

ABSTRACT

In this work, the prevention and removal of biofilm formations of *B. cereus* vegetative cells and spore formations by citric acid (2%) and chlorine (200 ppm) treatments on microtitration plates were investigated. The biofilms were produced in the presence of glucose and milk (TSB_G and TSB_M) for 24-72 hours. *B. cereus* biofilms, formed by vegetative cells in TSB_G and TSB_M were inhibited by citric acid treatments by up to 59% and removed about 38-63%, respectively. However, biofilms of *B. cereus* spores were prevented about 56% and removed by 40-56%. It was shown that citric acid treatment (2%) could be as effective as chlorine treatment for biofilms of *B. cereus* vegetative cells and spores.

Keywords: *B. cereus*, prevention of biofilm, removal of biofilm, citric acid, spores of *B. cereus*

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ akbasam@gtu.edu.tr

☎ (+90) 262 605 2530

☎ (+90) 262 605 2505

GİRİŞ

Bacillus sp. süt ve süt ürünleri, pirinç ve pirinç ile ilgili gıdalar, et ve et ürünleri, çorba ve baharat gibi ürünlerden sıklıkla izole edilebilen ve spor oluşturabilen bakteri cinsidir (Te Giffel vd., 1996; Organji vd., 2015; Grutsch vd., 2018). Özellikle *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* türleri gıdaların kalitesini etkilemesinden ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmelerinden dolayı gıda endüstrisinde sorun yaratan önemli patojen bakterilerdendir (Bennett ve Belay, 2001; Faille vd., 2001; Simões vd., 2010; Lücking vd., 2013). Bakterilerin spor formları, vejetatif formlarına göre ısı işlem ve dezenfektanlara karşı daha dayanıklıdır (Granum ve Lund, 1997; Carlin vd., 2010). Bu özelliklerinden dolayı sporlar, gıda ve gıda ile ilgili yüzeylerde uzun süre kalabilmektedirler (Kreske vd., 2006; Ryu ve Beuchat, 2005). Ayrıca, sporların fizyolojik özellikleri nedeniyle vejetatif hücrelere göre daha fazla biyofilm oluşturma potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir (Pagedar ve Singh, 2012).

Biyofilmler, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Salmonella* ve *Escherichia* gibi çeşitli bakterilerin ekzopolisakkaritler (EPS) üreterek yüzeyler üzerine tutunmaları ile oluşmaktadır (Austin ve Berferin, 1995; Oulahal vd., 2008; Abee vd., 2011; Corcoran vd., 2014). Gıda endüstrisinde oluşan biyofilm yapıları protein ve kalsiyum fosfat gibi süt kalıntılarını içerebilmektedir (Flint vd., 1997; Mittelman, 1998; Flemming vd., 2000; Koutina ve Skibsted, 2015).

Bacillus cinsi bakteriler (özellikle *B. cereus*) gıda ile ilişkili yüzeylere tutunabilir ve bu ortamlara tutunarak proteaz ve lipaz gibi enzimler üretebilmektedir. Böylece, gıda ürünleri ve gıda işleme ekipmanları kontamine olabilir ve süt ürünlerinin bozulmasına neden olabilmektedir (Lindsay vd., 2000). Ayrıca, çiğ süt örneklerinden izole edilen *B. cereus* izolatlarının bazı antibiyotiklere (penisilin, ampisilin, amoksisilin ve aefoksitin) karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir (Abraha vd., 2017). Sporulasyon süt endüstrisi gibi pek çok gıda endüstrisinde önemli bir olaydır. Sporlar süt üretim sürecinde kimyasal işlemler ve pastörizasyon gibi ısı işlemlere karşı dirençlidirler. Sporların ortamda bulunması ve bir yüzeye

tutunması biyofilm oluşumunun önemli bir başlatıcısı olabilmektedir (Flint vd., 1997; Parkar vd., 2001). Ayrıca, sporlar uygun koşullar altında vejetatif hücre formuna dönebilir ve biyofilm oluşumuna dahil olabilirler (Parkar vd., 2001).

Süt endüstrisinde biyofilm oluşumu, süt ürünlerinin bozulmasına bağlı olarak ekonomik kayıplara ve hijyen sorunlarına neden olabilmektedir (Bremer vd., 2006). Biyofilm kontrolü için gıda endüstrisinde genellikle klorlu bileşikler ve perasetik asit kullanılmaktadır (Sánchez vd., 2015). Endüstride kullanılan bu bileşikler sudaki organik maddeleri oksitleyerek kanserojenik trihalometanları ve haloasetik asitleri oluşturabilmektedir (Sadiq ve Rodriguez, 2004; Gómez-López vd., 2013; Van Haute vd., 2013; Waters ve Hung, 2014).

Organik asitler, “Genel Olarak Güvenilir” (GRAS) kabul edilen ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bileşiklerdir (US FDA, United States Food and Drug Administration). Bu nedenle biyofilm kontrolünde organik asitlerin (özellikle sitrik asit) alternatif olarak kullanılabileceği çeşitli çalışmalarca gösterilmiştir (Ntrouka vd., 2011; Faot vd., 2014; Akbas ve Kokumer, 2015; Akbas ve Cag, 2016).

Yapılan bu çalışmada, *B. cereus* vejetatif hücreleri ve sporları ile biyofilm oluşumu glukoz ve süt içeren besiyerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Biyofilm oluşumunun önlenmesi ve oluşan biyofilmin ortadan kaldırılması için, %2 sitrik asit uygulaması 200 ppm klor uygulaması ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bakteri suşları

Bu çalışmada biyofilm oluşumunun incelenmesi için *B. cereus* ATCC 11778 suşu kullanılmıştır.

B. cereus spor oluşumu

Spor oluşumu için, *B. cereus* ATCC 11778 suşu, LB besiyeri (Luria Broth) içerisine inoküle edilerek 30°C’de bir gece boyunca çalkalamalı bir inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, 500 µL bakteri kültüründen alınarak dekstroza (500 ppm) ve MnSO₄.H₂O (3 ppm) ile

zenginleştirilmiş Nutrient Agar ekim yapılarak 7 gün boyunca 30°C'de inkübasyon gerçekleştirilmiştir (López vd., 1996). İnkübasyondan sonra, petri üzerinden bir öze yardımı ile alınan kültür 10 mL steril distile su ile karıştırılmış ve hazırlanan süspansiyon cam elyaf kullanılarak süzümüştür. Elde edilen süzüntüdeki vejetatif hücreleri elimine etmek için, süzüntü 80°C'de 10 dakika süre ile ısıtılmıştır. Spor sayısı, spor süspansiyonunun ısıtılmadan önce ve ısıtıldıktan sonraki seri dilüsyonlarının hazırlanarak Nutrient Agar besiyerine yayma plak yöntemi ile ekimlerinin yapılması ve 30°C sıcaklıkta 24-48 saat inkübasyonu ile belirlenmiştir. Spor süspansiyonu +4°C'de en fazla 30 gün süre ile saklanmıştır.

Spor oluşumu Schaeffer-Fulton yöntemi ile tespit edilmiştir (Schaeffer ve Fulton, 1933). Bu yöntemde, 10 µL spor süspansiyonu lam üzerine yayılmış, alevden geçirilerek fikse edilmiş ve daha sonra preparat üzerine 1 mL %0.5 (a/h) malaşit yeşili ilave edilerek preparat 5 dakika alttan ısıtılarak boyanmış ve distile su ile yıkanmıştır. Durulamadan sonra numune, %1 (a/h) safranin ile boyanmıştır. Sporulasyon ışık mikroskopu altında incelenmiş ve sporlar yeşil renkli vejetatif hücreler ise kırmızı renkli olarak belirlenmiştir.

Bakteri kültürü ve biyofilm oluşum koşulları

Biyofilm çalışmalarında bakteri büyüme besiyeri olarak %2 (a/h) D-glukoz veya %10 (h/h) süt ile zenginleştirilmiş Triptik Soy Broth (TSB_G ve TSB_S) kullanılmıştır.

Biyofilm oluşumu 96 kuyulu polistren mikrotitrasyon plağı kullanılarak belirlenmiştir (Akbas ve Kokumer, 2015). Biyofilm oluşumunun tespiti için, *B. cereus* vejetatif hücreleri bir gece boyunca 30°C'de TSB_G'de büyütülmüştür. İnkübasyondan sonra vejetatif hücre kültürü ve spor süspansiyonu, taze TSB_G veya TSB_S besiyerleri içerisinde 1:200 oranında (başlangıç hücre veya spor konsantrasyonu yaklaşık 10⁵ kob/mL) olacak şekilde hazırlanmıştır. *B. cereus* vejetatif hücrelerini veya sporlarını içeren ve TSB_G veya TSB_S besiyerleri içerisinde hazırlanan bu kültürlerden, 150 µL alınarak 96 kuyulu polistren mikrotitrasyon plağı kuyuları içerisine

aktarılmıştır. Mikrotitrasyon plağı kuyularında bakteri içeren kültürler 24, 48 ve 72 saat, spor içeren kültürler ise 72 saat süreler ile 30°C'de inkübe edilmiştir. Bakteri veya spor süspansiyonu bulunmayan besiyerleri (TSB_G ve TSB_S) ise kör olarak kullanılmıştır.

İnkübasyondan sonra, *B. cereus* kültürleri uzaklaştırılmış ve kuyular distile su ile yıkanmıştır. Polistren yüzeylere tutunan hücreler veya sporlar, 150 µL (%0.5, a/h) kristal viyole solüsyonu ile 20 dakika boyunca muamele edilmiş, daha sonra kristal viyole solüsyonu uzaklaştırılarak distile su ile yıkanmıştır. Biyofilm oluşturan hücreler veya sporlar tarafından tutulan boya 150 µL glasiyal asetik asit (%33, h/h; Merck) ile 10 dakika süreyle bekletilerek boyanın çözünmesi sağlanmıştır. Mikrotitrasyon plaklarındaki biyofilm oluşumları 570 nm'de bir mikrotitrasyon plağı okuyucusu (BMG Labtech Fluostar Omega ELISA, Offenburg, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir (Stepanović vd., 2000).

Biyofilm kontrolünde sitrik asit uygulaması

Biyofilm oluşumunun önlenmesi için, 96 kuyulu polistren mikrotitrasyon plağı kuyuları 20 dakika süreyle sitrik asit (%2, a/h) veya klor (200 ppm) ile bekletilmiş ve sonra mikrotitrasyon plakları ters çevrilerek 30 dakika süre ile oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra, biyofilm oluşumu (yukarıda anlatıldığı gibi) gerçekleştirilmiştir. Bakteri veya spor inokülasyonu yapılmamış besiyerleri (TSB_G ve TSB_S) kör olarak kullanılmıştır.

Oluşan biyofilmin ortadan kaldırılması için ise öncelikle biyofilm oluşumu gerçekleştirilmiştir. Biyofilm oluşumu için inkübasyon sonrası, kültür ortamları uzaklaştırılmış ve kuyular distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra, mikrotitrasyon kuyuları sitrik asit (%2, a/h) veya klor (200 ppm) ile farklı sürelerle (5, 10 ve 20 dakika) muamele edilmiştir. Uygulama sonrası, kuyular 150 µL %0.5 (a/h) kristal viyole ile 20 dakika boyunca bekletilmiş ve boya ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ardından, mikrotitrasyon plakları 150 µL glasiyal asetik asit (%33, h/h; Merck) ile 10 dakika süre ile bekletilmiş ve boyanın tekrar çözünür hale gelmesi sağlanmıştır. Bakteri veya spor

süspansiyonu bulunmayan besiyerleri (TSB_G ve TSB_S) kör olarak kullanılmıştır. Biyofilm oluşumları 570 nm'de bir mikrotitrasyon plağı okuyucusu (BMG Labtech Fluostar Omega ELISA, Offenburg, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir (Stepanović vd., 2000).

Sitrik asit ve aktif klorun antibiyofilm etkileri (%)

Biyofilm oluşumunun engellenmesi ve ortadan kaldırılmasındaki azalma oranları aşağıda belirtilen formüle göre belirlenmiştir (Pitts vd., 2003).

Biyofilm oluşumunun azalma oranı (%) = $\frac{[(C-B) - (T-B)]}{(C-B)} \times 100$

B kör olarak kullanılan kuyulardaki ortalama absorbans değeri, C biyofilm oluşan kuyulardaki ortalama absorbans değeri, T ise sitrik asit veya klor uygulanan kuyulardaki ortalama absorbans değeridir.

İstatistiksel analiz

Tüm analizler en az üç kez tekrar edilmiştir. İstatistiksel analizde Student's t-testi kullanılmıştır. *P* değerinin 0.05'den küçük olan değerler istatistiksel açıdan önemli olarak değerlendirilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

***B. cereus* vejetatif hücrelerinin biyofilmlerinin kontrolü**

Klor ve sitrik asit uygulamaları ile B. cereus biyofilmlerinin önlenmesi

Klor uygulaması (200 ppm) ile, *B. cereus* vejetatif hücrelerinin biyofilm oluşumunun TSB_G besiyeri içeren mikrotitrasyon plaklarında %63-67 (*p* <0.05) oranında ve TSB_S besiyeri içeren mikrotitrasyon plaklarında %52-59 (*p* <0.05) arasında önlendiği belirlenmiştir (Şekil 1). Biyofilm oluşumunun önlenmesinde, 5-20 dakika sürelerle, %2 (a/h) konsantrasyonda sitrik asit uygulaması ile ise her iki besiyerinde de biyofilmlerin %56-59 arasında (*P* <0.05) olacak şekilde önlendiği belirlenmiştir (Şekil 2).

Klor ve sitrik asit uygulamaları ile B. cereus biyofilmlerinin ortadan kaldırılması

TSB_G içeren mikrotitrasyon plaklarında oluşan *B. cereus* biyofilmlerin, klor uygulamaları (200 ppm, 5-20 dakika sürelerle) ile %38-61 (*p* <0.05) oranında

ortadan kaldırıldığı belirlenmiştir (Şekil 1 (a)). Benzer şekilde, klor uygulamaları ile TSB_S besiyeri kullanıldığında oluşan biyofilmlerin %42-64 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 1 (b)).

TSB_G kullanıldığında oluşan *B. cereus* biyofilmlerin, 5 dakika süre ile sitrik asit (%2, a/h) uygulaması ile %52-58 oranında ortadan kaldırıldığı (*P* <0.05) belirlenmiştir. Aynı sitrik asit konsantrasyonunun 10 dakika süre ile uygulanması ile oluşan biyofilmlerin %55-61 (*p* >0.05) oranında, 20 dakika süre ile uygulanmasında ise %57-63 (*P* <0.05) oranında ortadan kaldırıldığı tespit edilmiştir (Şekil 2 (a)). TSB_S kullanıldığında oluşan *B. cereus* biyofilmlerinin ortadan kaldırılmasında, 5 ve 10 dakika süre ile sitrik asit uygulamasının sırasıyla %38-42 ve %50-56 (*P* <0.05) azaltıcı etkileri olduğu belirlenmiştir. Aynı ortamda 72 saat süre ile oluşan *B. cereus* biyofilmlerinin 20 dakika süre ile sitrik asit uygulaması ile ise %54-63 (*p* <0.05) oranında olacak şekilde önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Şekil 2 (b)).

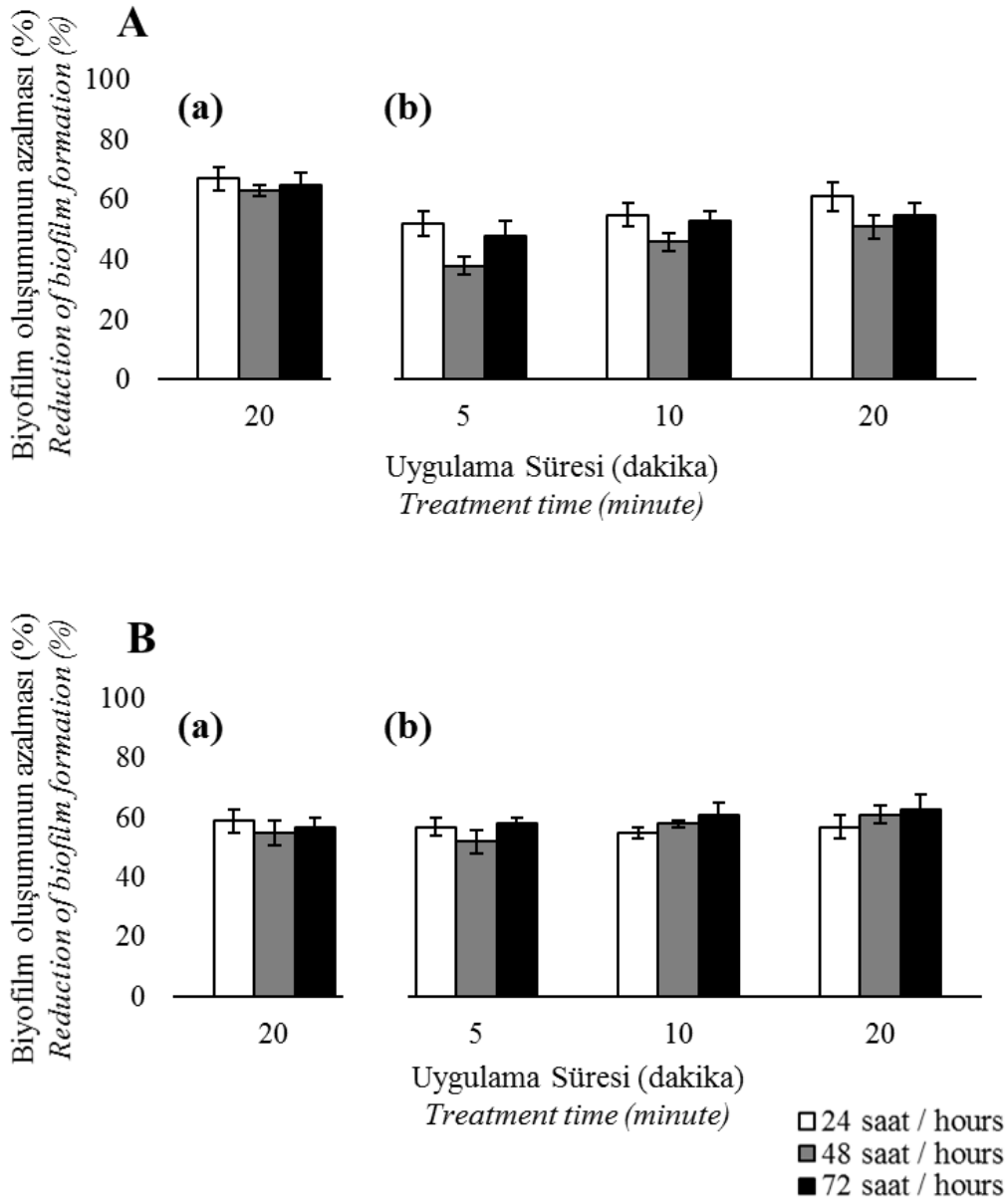
***B. cereus* sporlarının biyofilmlerinin kontrolü**

Klor ve sitrik asit uygulamaları ile B. cereus spor biyofilmlerinin önlenmesi

B. cereus sporları tarafından TSB_G ve TSB_S besiyerleri kullanıldığında 72 saat sonunda oluşan biyofilmlerin klor uygulamaları ile sırasıyla %58 ve %56 (*P* <0.05) oranlarında engellendiği belirlenmiştir. Sitrik asit (%2, a/h) uygulamaları ile ise, *B. cereus* sporlarının TSB_G ve TSB_S besiyerleri kullanıldığında oluşan biyofilmlerinin, yine sırasıyla %56 ve %52 (*P* <0.05) oranında engellendiği tespit edilmiştir (Şekil 3).

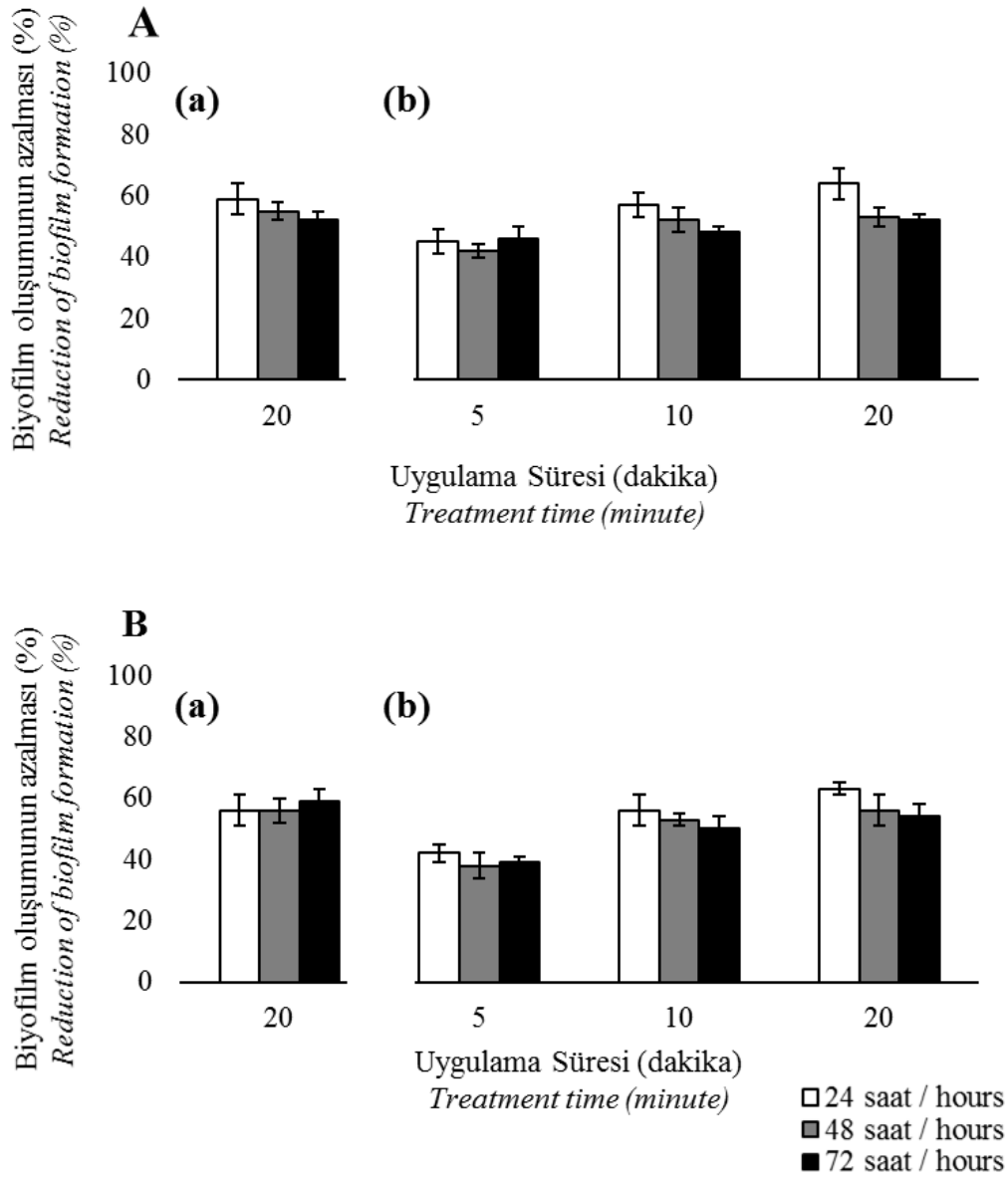
Klor ve sitrik asit uygulamaları ile B. cereus spor biyofilmlerinin ortadan kaldırılması

Her iki besiyeri kullanıldığında da *B. cereus* sporlarının oluşturduğu 72 saatlik biyofilmlerin, klor uygulamaları (farklı sürelerde; 5, 10 ve 20 dakika) ile %47-59 oranında ortadan kaldırıldığı belirlenmiştir (Şekil 3). Oluşan biyofilm yapısının sitrik asit muamelesi ile, TSB_G besiyerini içeren mikroplaklarda yaklaşık %44-56 oranında, TSB_S besiyerini içeren mikroplaklarda ise %40-52 oranlarında ortadan kaldırıldığı tespit edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 1. *B. cereus* vejetatif hücrelerinin TSB_G (A) ve TSB_S (B) besiyerlerini içeren mikrotitrasyon plaklarında oluşturduğu 24, 48 ve 72 saatlik biyofilmlerin klor (200 ppm) uygulaması ile önlenmesi (a) ve ortadan kaldırılması (b) oranları (%). Her değer en az üç tekrarın ortalamasıdır. Hata çubukları standart sapmaları göstermektedir.

Figure 1. Prevention (a) and removal (b) ratios (%) of 24, 48 and 72 hour *B. cereus* biofilms formed by vegetative cells in TSB_G (A) and TSB_M (B) media containing microtiter plates with chlorine treatments (200 ppm). Values are averages of at least three independent determinations. Error bars represent standard deviations.



Şekil 2. *B. cereus* vejetatif hücrelerinin TSB_G (A) ve TSB_S (B) besiyerlerini içeren mikrotitrasyon plaklarında oluşturduğu 24, 48 ve 72 saatlik biyofilmlerin sitrik asit (%2, a/h) uygulaması ile önlenmesi (a) ve ortadan kaldırılması (b) oranları (%). Her değer en az üç tekrarın ortalamasıdır. Hata çubukları standart sapmaları göstermektedir.

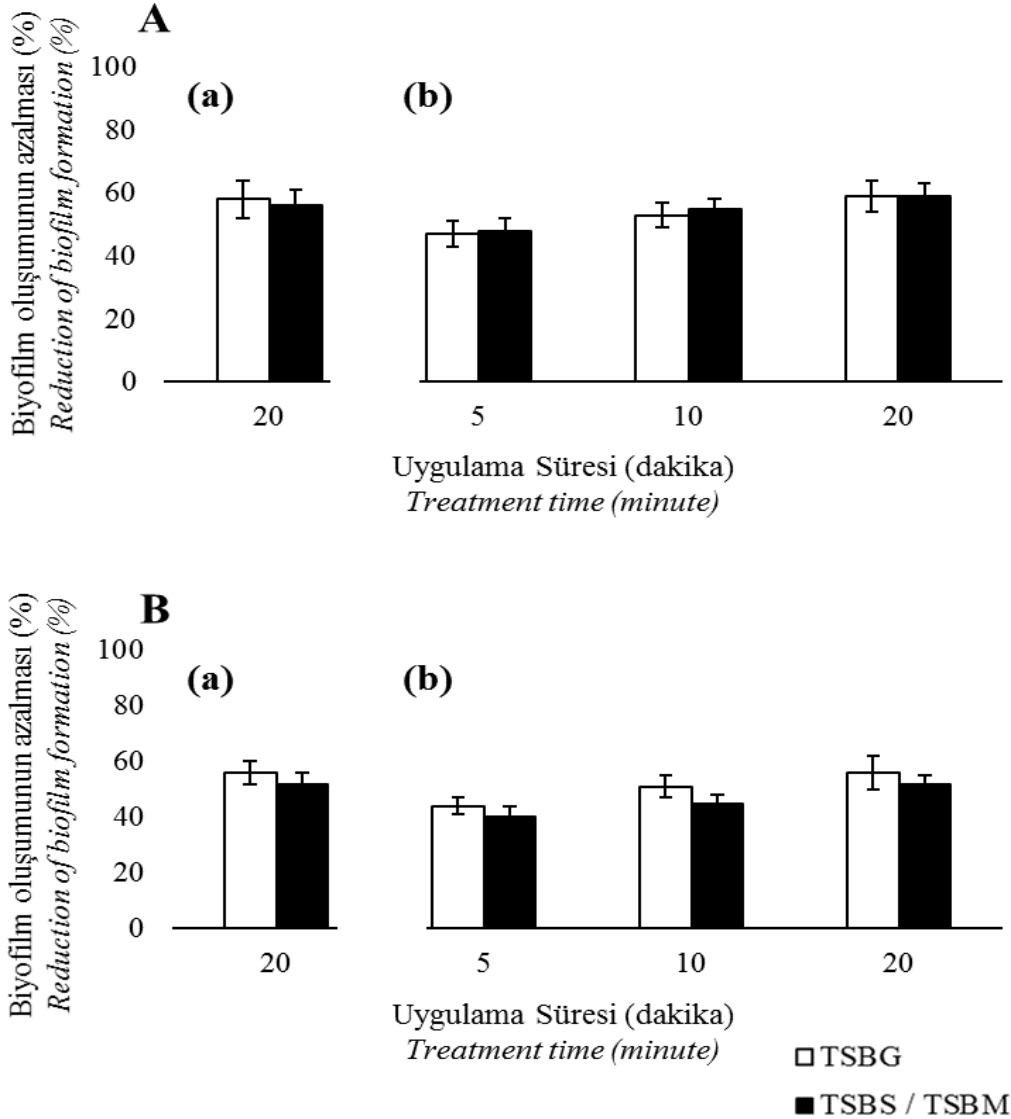
Figure 2. Prevention (a) and removal (b) ratios (%) of 24, 48 and 72 hour *B. cereus* biofilms formed by vegetative cells in TSB_G (A) and TSB_M (B) media containing microtiter plates with citric acid treatments (2%, w/v). Values are averages of at least three independent determinations. Error bars represent standard deviations.

Bu çalışmada, TSB_G ve TSB_S besiyerlerini içeren mikrotitrasyon plaklarında *B. cereus* vejetatif hücreleri ve sporları ile biyofilm oluşumunun önlenmesi ve ortadan kaldırılmasında sitrik asit

uygulamasının etkileri, klor uygulaması ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Biyofilm oluşumunun önlenmesi için, biyofilm oluşumu öncesi, 96 kuyulu mikropoplaklara %2 sitrik asit veya

200 ppm klor solüsyonu ilave edilerek 20 dakika süre ile bekletilmiştir. Oluşan biyofilmin ortadan kaldırılması için ise, biyofilm oluşumunun

gerçekleştiği mikrotitrasyon plakları %2 sitrik asit veya 200 ppm klor solüsyonu ile 5, 10 ve 20 dakika süreler ile muamele edilmiştir.



Şekil 3. *B. cereus* sporlarının TSB_G ve TSB_S besiyerlerini içeren mikrotitrasyon plaklarında oluşturduğu 72 saatlik biyofilmlerin klor (A) ve sitrik asit (%2, a/h) (B) uygulamaları ile önlenme (a) ve ortadan kaldırılma (b) oranları (%). Her değer en az üç tekrarin ortalamasıdır. Hata çubukları standart sapmaları göstermektedir.

Figure 3. Prevention (a) and removal (b) ratios (%) of 24, 48 and 72 hour *B. cereus* biofilms formed by spore formations in TSB_G and TSB_M media containing microtiter plates with chlorine (A) and citric acid (B) (2%, w/v) treatments. Values are averages of at least three independent determinations. Error bars represent standard deviations.

B. cereus vejetatif hücrelerinin biyofilm oluşumunun inkübasyon süresinin artması ile arttığı tespit edilmiştir. *B. cereus* spor biyofilmlerinin oluşumunun ise, ilk 48 saatte 570 nm'deki absorpsiyon değerlerine göre çok az olduğu görülmüştür. Bu nedenle, *B. cereus* spor biyofilmlerinin oluşumu için 72 saatlik inkübasyon süresi kullanılmıştır. Ayrıca, polistren mikrotitrasyon plaklarında, *B. cereus* sporlarının, TSB_G ve TSB_S besiyerleri ile 72 saatlik inkübasyonları sonunda, 570 nm'deki absorpsiyon değerlerine göre, vejetatif hücrelerden daha fazla biyofilm (%10) oluşturduğu belirlenmiştir. Bunun nedeninin biyofilm oluşturulan yüzeyin hidrofilik veya hidrofobik özellikte olması ve bakterilerin/sporların sahip olduğu yüzey yapılarının özellikleri olduğu rapor edilmiştir (Williams ve Fletcher, 1996; Marques vd., 2007; Elhariry, 2011).

Biyofilm oluşumunun besiyeri bileşenleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, TSB_S besiyeri kullanıldığında biyofilm oluşumunun, TSB_G besiyeri kullanıldığında göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Besiyerinde süt bileşenlerinin varlığının mikroorganizmaların yüzeye tutunmasında kolaylık sağladığı düşünülebilir. Bu ortamlarda oluşan biyofilm yapısı ve bileşimi hakkında bilgiler sınırlı olup biyofilm oluşumunu önlemek için uygulanan stratejiler çok başarılı olmamıştır (Burgess vd., 2010; Marchand vd., 2012). Ayrıca TSB_G ve TSB_S besiyerleri kullanıldığında, biyofilm oluşumunun önlenmesi ve ortadan kaldırılması oranları birbirine yakın bulunmuştur. Bu da besiyerine glukoz ilavesinin gıda işleme sanayisi ortamlarını yansıtabileceğini göstermektedir.

B. cereus vejetatif hücreleri ve sporları ile biyofilm oluşumunun klor ve sitrik asit uygulamaları ile önlenmesi ve ortadan kaldırılması oranlarının, uygulama süresine bağlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, %2 oranında sitrik asit uygulamasının zamana bağlı olarak *B. cereus* vejetatif hücrelerinin ve sporlarının biyofilm oluşumunu klor kadar etkin bir şekilde önlediği ve ortadan kaldırdığı belirlenmiştir. Ayrıca vejetatif hücrelerin biyofilm yaşı arttıkça, özellikle 72 saatlik biyofilm oluşumlarının, sitrik asit veya klor uygulamaları ile

daha az oranlarda önlenebildiği ve ortadan kaldırıldığı görülmüştür.

Biyofilm kontrolü için genellikle sodyum hipokloritli solüsyonlar kullanılmaktadır (Ryu vd., 2005). Klor membran proteinleri ve lipidler ile reaksiyona girerek, membran geçirgenliğini artırır (Noss vd., 1983; Ghandbari vd., 1983; Virto vd., 2005). Klorlu solüsyonların karsinojenik bileşiklerin oluşmasına sebep olması ve kalıntı bırakmasından dolayı, biyofilm oluşumunun kontrolünde biyogüvenilir potansiyel yeni uygulamalara olan ilgi artmaktadır (Sánchez vd., 2015). Organik asitler ise pH düşürme, hücre membranı transport sistemini bozması, makromoleküllerin sentezini önlemesi ve DNA denatürasyonuna etki etmesi nedeniyle bakteriler üzerinde engelleyici etki gösterirler (Ricke 2003, Neal-McKinney vd., 2012; Ramos-Villarreal vd., 2015). Son zamanlarda, pek çok araştırmacı biyofilm kontrolü için organik asitlerin etkisini incelemişlerdir (Almasoud vd., 2015; Almasoud vd., 2016; Zhang vd., 2017). Ntrouka ve arkadaşları (2011) sitrik asit solüsyonunun *Streptococcus mutans* ve karışık kültür biyofilmlerine karşı etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Faot ve arkadaşları (2014) sitrik asitin *C. albicans* biyofilm oluşumunu ve hücre canlılığını azalttığını bildirmişlerdir. Akbaş ve Kokumer (2015) ise *S. aureus* izolatları ile biyofilm oluşumunda perasetik asite kıyasla sitrik asitin etkin olabileceğini ve alternatif dezenfektan olabileceğini bildirmişlerdir. Sitrik asit dışında, malik asit gibi diğer organik asitlerin de biyofilm kontrolünde etkili olarak kullanılabilirliği farklı çalışmalar ile tespit edilmiştir. (Akbaş ve Çağ, 2015; Almasoud vd., 2015). Ayrıca organik asitler gibi bazı fenolik asitlerin de (ferulik ve salisilik asit) bakterilerin yüzey yükünü arttırdığı, hareketini kısıtladığı ve fizikokimyasal yüzey özelliklerini etkilediği belirlenmiş ve biyofilm oluşumunun kontrolünde doğal antibiyofilm ajanları olarak değerlendirilebilecekleri gösterilmiştir (Lemos vd., 2014). Yapılan bu çalışma ile gıda sanayisi ile ilişkili olabilen *B. cereus* suşunun hem vejetatif hem de sporlarının biyofilm oluşumlarında sitrik asitin doğal bir antibiyofilm ajanı olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonucunda, glukoz ve süt içeren besiyerleri kullanılarak (TSB_G ve TSB_S) *B. cereus* bakterisinin vejetatif hücreleri ve sporları ile oluşturulan biyofilmlerin önlenmesi ve ortadan kaldırılmasında sitrik asit uygulamalarının klor uygulamaları kadar etkili olduğu belirlenmiştir. *B. cereus* vejetatif hücrelerinin biyofilmlerinin, sitrik asit uygulamaları ile TSB_G ve TSB_S besiyerleri kullanıldığında, %59 oranında önlendiği ve %38-63 oranlarında giderildiği gösterilmiştir. *B. cereus* spor biyofilmlerinin ise sitrik asit uygulamaları ile %56 oranlarında önlenebildiği ve %40-56 oranlarında giderilebildiği tespit edilmiştir. Biyofilm kontrolü için sitrik asit uygulaması etkili ve alternatif bir yaklaşım olarak kullanılabilir. Yapılabilecek sonraki çalışmalarda farklı organik asitlerin *B. cereus* biyofilmleri üzerindeki etkileri araştırılabilir. Ayrıca, gıda işleme endüstrisinde kullanılan paslanmaz çelik gibi farklı yüzeylerde de sitrik asit uygulamasının oluşan *B. cereus* biyofilmlerinin kontrolündeki etkisi incelenebilir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar özellikle *B. cereus* gibi spor oluşturan gıda patojenlerinin sorun olduğu biyofilmlerin kontrolünde sitrik asidin kullanılabilirliğini göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gebze Teknik Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Abee, T., Kovács, Á.T., Kuipers, O.P., Van der Veen, S. (2011). Biofilm formation and dispersal in Gram-positive bacteria. *Curr Opin Biotechnol*, 22(2): 172-179.

Abraha, A., Bikila, T., Alemu, S., Muktar, Y. (2017). *Bacillus cereus* isolation and load from raw cow milk sold in Markets of Haramaya District, eastern Ethiopia. *Int. J. Food Contam*, 4(1): 15.

Akbas, M.Y., Cag, S. (2016). Use of organic acids for prevention and removal of *Bacillus subtilis* biofilms on food contact surfaces. *RVCTA*, 22(7): 587-597.

Akbas, M.Y., Kokumer, T. (2015). The prevention and removal of biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk

samples by citric acid treatments. *Int J Food Sci Technol*, 50(7): 1666-1672.

Almasoud, A., Hettiarachchy, N., Rayaprolu, S., Babu, D., Kwon, Y.M., Mauromoustakos, A. (2016). Inhibitory effects of lactic and malic organic acids on autoinducer type 2 (AI-2) quorum sensing of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium*. *LWT-Food Sci Technol*, 66: 560-564.

Almasoud, A., Hettiarachchy, N., Rayaprolu, S., Horax, R., Eswaranandam, S. (2015). Electrostatic spraying of organic acids on biofilms formed by *E. coli* O157: H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh produce. *Food Res Int.*, 78: 27-33.

Austin, J.W., Berferin, G. (1995). Development of bacterial biofilms in dairy processing lines. *J Dairy Res.*, 62: 509-519.

Bennet, R.W., Belay, N. (2001). *Bacillus cereus*. In Compendium of methods for the microbiological examination of food, Downes, F.P., Ito, K. (Eds.), 4th edition, American Public Health Association, Washington, DC, Chapter 32, pp. 311-316.

Bremer, P.J., Fillery, S., McQuillan, A.J. (2006). Laboratory scale clean-in-place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms. *Int J Food Microbiol*, 106(3): 254-262.

Burgess, S.A., Lindsay, D., Flint, S.H. (2010). Thermophilic bacilli and their importance in dairy processing. *Int J Food Microbiol*, 144(2): 215-225.

Carlin, F., Brillard, J., Broussolle, V., Clavel, T., Duport, C., Jobin, M., Guinebretiere, M.H., Auger, S., Sorokine, A., Nguyen-The, C. (2010). Adaptation of *Bacillus cereus*, an ubiquitous worldwide-distributed foodborne pathogen, to a changing environment. *Food Res. Int.*, 43(7): 1885-1894.

Corcoran, M., Morris, D., De Lappe, N., O'connor, J., Lalor, P., Dockery, P., Cormican, M. (2014). Commonly used disinfectants fail to eradicate *Salmonella enterica* biofilms from food contact surface materials. *Appl Environ Microbiol*, 80: 1507-1514.

- Elhariry, H.M. (2011). Attachment strength and biofilm forming ability of *Bacillus cereus* on green-leafy vegetables: cabbage and lettuce. *Food Microbiol.*, 28(7): 1266-1274.
- Faile, C., Lequette, Y., Ronse, A., Slomianny, C., Garénaux, E., Guerardel, Y. (2010). Morphology and physico-chemical properties of *Bacillus* spores surrounded or not with an exosporium: consequences on their ability to adhere to stainless steel. *Int J Food Microbiol*, 143(3): 125-135.
- Faot, F., Cavalcanti, Y.W., e Bertolini, M.D.M., de Rezende Pinto, L., da Silva, W.J., Cury, A.A.D.B. (2014). Efficacy of citric acid denture cleanser on the *Candida albicans* biofilm formed on poly (methyl methacrylate): effects on residual biofilm and recolonization process. *BMC Oral Health*, 14(1): 77.
- Flemming, H.C., Wingender, J., Mayer, C., Korstgens, V., Borchard, W. (2000). Cohesiveness in biofilm matrix polymers. In *Symposia-Society for General Microbiology*, Cambridge; Cambridge University Press, pp. 87-106.
- Flint, S.H., Bremer, P.J., Brooks, J.D. (1997). Biofilms in dairy manufacturing plant description, current concerns and methods of control. *Biofouling*, 11(1): 81-97.
- Ghandbari, E.H. (1983). Reactions of Chlorine and Chlorine Dioxide with Free Fatty Acids, Fatty Acid Esters, and Triglycerides. In *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*, Vol. 4 (Jolley, R.L., Brungs, W.A., Cotruvo, J.A., Cumming, R.B., Mattice, J.S., Jacobs, V.A., Eds.). Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor. Mich, 167-180.
- Gómez-López, V.M., Marín, A., Medina-Martínez, M.S., Gil, M.I., Allende, A. (2013). Generation of trihalomethanes with chlorine-based sanitizers and impact on microbial, nutritional and sensory quality of baby spinach. *Postharvest Biol Technol.*, 85: 210-217.
- Granum, P.E., Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Lett*, 157(2), 223-228.
- Grutsch, A.A., Nimmer, P.S., Pittsley, R.H., McKillip, J.L. (2018). *Bacillus* spp. as Pathogens in the Dairy Industry. *Foodborne Diseases*, 193-211.
- Koutina, G., Skibsted, L.H. (2015). Calcium and phosphorus equilibria during acidification of skim milk at elevated temperature. *Int Dairy J.*, 45: 1-7.
- Kreske, A.C., Ryu, J.H., Pettigrew, C.A., Beuchat, L.R. (2006). Lethality of chlorine, chlorine dioxide, and a commercial produce sanitizer to *Bacillus cereus* and *Pseudomonas* in a liquid detergent, on stainless steel, and in biofilm. *J Food Prot*, 69(11): 2621-2634.
- Lemos, M., Borges, A., Teodósio, J., Araújo, P., Mergulhão, F., Melo, L., Simões, M. (2014). The effects of ferulic and salicylic acids on *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens* single-and dual-species biofilms. *Int Biodeterior Biodegradation*, 86: 42-51.
- Lindsay, D., Brözel, V.S., Mostert, J.F., Von Holy, A. (2000). Physiology of dairy-associated *Bacillus* spp. over a wide pH range. *Int J Food Microbiol.*, 54(1): 49-62.
- López, M., González, I., Condón, S., Bernardo, A. (1996). Effect of pH heating medium on the thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. *Int J Food Microbiol.*, 28(3): 405-410.
- Lücking, G., Stoeckel, M., Atamer, Z., Hinrichs, J., Ehling-Schulz, M. (2013). Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. *Int J Food Microbiol.*, 166(2): 270-279.
- Marchand, S., De Block, J., De Jonghe, V., Coorevits, A., Heyndrickx, M., Herman, L. (2012). Biofilm formation in milk production and processing environments; influence on milk quality and safety. *Comp Rev Food Sci Food Safety*, 11(2): 133-147.
- Marques, S.C., Rezende, J.G.O.S., Alves, L.A.F., Silva, B.C, Alves, E., Abreu, L.R., Piccoli, R.H. (2007). Formation of biofilms by *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces and its resistance to some selected chemical sanitizers. *Braz J Microbiol*, 38: 538-543.

- Mittelman, M. W. (1998). Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. *J Dairy Sci.*, 8(10), 2760-2764.
- Neal-McKinney, J.M., Lu, X., Duong, T., Larson, C.L., Call, D.R., Shah, D.H., Konkel, M.E. (2012). Production of organic acids by probiotic lactobacilli can be used to reduce pathogen load in poultry. *PLoS One*, 7(9): e43928.
- Noss, C.I., Dennis, W.H., Olivieri, V.P., 1983. Reactivity of Chlorine Dioxide with Nucleic-acids and Proteins. In *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*, Vol. 4 (Jolley, R.L., Brungs, W.A., Cotruvo, J.A., Cumming, R.B., Mattice, J.S., Jacobs, V.A., Eds.). Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor. Mich, 1077-1086
- Ntrouka, V., Hoogenkamp, M., Zaura, E., van der Weijden, F. (2011). The effect of chemotherapeutic agents on titanium-adherent biofilms. *Clin Oral Implants*, 22(11): 1227-1234.
- Organji, R.S., Abulreesh, H.H., Elbanna, K., Osman, G.E.H., Khider, M. (2015). Occurrence and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* in food and infant feces. *Asian Pac J Trop Biomed.*, 5(7): 515-520.
- Oulahal, N., Brice, W., Martial, A. Degraeve, P. (2008). Quantitative analysis of survival of *Staphylococcus aureus* or *Listeria innocua* on two types of surfaces: polypropylene and stainless steel in contact with different dairy products. *Food Control*, 19: 178-185
- Pagedar, A., Singh, J. (2012). Influence of physiological cell stages on biofilm formation by *Bacillus cereus* of dairy origin. *Int Dairy J.*, 23(1): 30-35.
- Parkar, S.G., Flint, S.H., Palmer, J.S., Brooks, J.D. (2001). Factors influencing attachment of thermophilic bacilli to stainless steel. *J Appl Microbiol*, 90(6): 901-908.
- Pitts, B., Hamilton, M.A., Zilver, N., Stewart, P.S. (2003). A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. *J Microbiol Methods*, 54:269-276.
- Ramos-Villaruel, A.Y., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. (2015). Combined effects of malic acid dip and pulsed light treatments on the inactivation of *Listeria innocua* and *Escherichia coli* on fresh-cut produce. *Food Control*, 52: 112-118.
- Ricke S.C. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Sciences*, 82: 632-639.
- Ryu, J.H., Beuchat, L.R. (2005). Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on a stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyacetic acid-based sanitizer. *J Food Prot*, 68(12), 2614-2622.
- Sadiq, R., Rodriguez, M.J. (2004). Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: A review. *Sci Total Environ*. 321: 21-46.
- Sánchez, G., Elizaguível, P., Aznar, R., Selma, M.V. (2015). Virucidal effect of high power ultrasound combined with a chemical sanitizer containing peroxyacetic acid for water reconditioning in the fresh-cut industry. *Food Control*, 52: 126-131.
- Schaeffer, A.B., Fulton, M.D. (1933). A simplified method of staining endospores. *Science*, 77(1990): 194-194.
- Simões, M., Simoes, L.C., Vieira, M.J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Sci Technol*, 43(4): 573-583.
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*, 40(2): 175-179.
- Te Giffel, M.C., Beumer, R.R., Leijendekkers, S., Rombouts, F.M. (1996). Incidence of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* in foods in the Netherlands. *Food Microbiology*, 13(1), 53-58.
- Van Haute, S., Sampers, I., Holvoet, K., Uyttendaele, M. (2013). Physicochemical quality and chemical safety of chlorine as a reconditioning agent and wash water disinfectant for fresh-cut lettuce washing. *Appl Environ Microbiol*, 79(9): 2850-2861.

Virto, R., Manas, P., Alvarez, I., Condon, S., Raso, J. (2005). Membrane damage and microbial inactivation by chlorine in the absence and presence of a chlorine-demanding substrate. *Appl Environ Microbiol*, 71(9): 5022-5028.

Waters, B.W., Hung, Y.C. (2014). The effect of organic loads on stability of various chlorine-based sanitisers. *Int J Food Sci Technol*, 49(3): 867-875.

Williams, V., Fletcher, M. (1996). *Pseudomonas fluorescens* adhesion and transport through porous media are affected by lipopolysaccharide composition. *Appl Environ Microbiol*, 62: 100-104.

Zhang, Q.Q., Ye, K.P., Juneja, V.K., Xu, X. (2017). Response surface model for the reduction of *Salmonella* biofilm on stainless steel with lactic acid, ethanol, and chlorine as controlling factors. *J. Food Saf.*, 37(3).1-7.



AROMATİK BİTKİ VE YAĞLARININ MİNERAL ELEMENT MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Serpil KILIÇ*

Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Antalya, Türkiye

Geliş / *Received*: 21.02.2018; Kabul / *Accepted*: 13.06.2018; Online baskı / *Published online*: 05.07.2018

Kılıç, S. (2018). Aromatik bitkiler ve yağlarının mineral içeriklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (4): 617-623 doi: 10.15237/gida.GD18028

Kılıç, S. (2018). Determination of mineral element contents of aromatic plants and oils. GIDA (2018) 43 (4): 617-623 doi: 10.15237/gida.GD18028

ÖZ

Ülkemiz zengin bitki çeşidiyle çok sayıda tıbbi aromatik bitkiyi bünyesinde barındırmaktadır. Bu bitkilerin de tedavide kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Son zamanlarda ise bu bitkilerin kullanımlarının yanı sıra soğuk sıkma yöntemiyle elde edilen yağları da tercih edilmektedir. Buna bağlı olarak yapılan bu çalışmada; Burdur ilinde yetiştirilen tıbbi aromatik bitkilerin (adaçayı, çörek otu, kekik, keten tohumu ve susam) ve bunlardan elde edilen yağlarının insan sağlığı açısından mineral element (Cu, Cr, Fe, Mn, Se ve Zn) miktarları İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) cihazı ile tayin edilmiştir. Bulunan sonuçlara göre tıbbi bitkilerin mineral element miktarı, elde edilen yağlarına göre daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Aromatik bitkiler ve yağları, Mineral element tayini, ICP-MS

COMPARISON OF MINERAL ELEMENT AMOUNTS OF AROMATIC PLANT AND THEIR OILS

ABSTRACT

Our country has a rich variety of plant species and contains a large number of medical aromatic plants. The use of these plants in therapy has also begun with the history of mankind. In recent times, besides the use of these plants, oils obtained by cold squeezing method are also preferred. In this study, Amounts of mineral elements (Cu, Cr, Fe, Mn, Se and Zn) in terms of human health of medical aromatic plants (sage, black cumin, thyme, flaxseed and sesame) grown in Burdur province and the oils obtained from them were determined by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) According to the results, it has been determined that the amount of mineral elements in medical plants is richer than the oils obtained.

Keywords: Aromatic plants and oils, mineral element determination, ICP-MS

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ serpilkilic@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 227 4400-2585

☎ (+90) 242 227 2058

GİRİŞ

Bitkiler tarih boyunca Uzak Doğu ülkelerinde şifa amaçlı hastalıklardan korunmak amacıyla kullanılmıştır (Polat ve Satıl, 2012). Son yıllarda ise tıbbi aromatik bitkiler genetik çeşitliliğin korunması açısından son derece önem kazanmıştır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, hastalıkları önlemek, sağlığı sürdürmek veya hastalıkları iyileştirmek için ilaç olarak kullanılan bitkiler şeklinde tanımlanmaktadır. Türkiye florası yaklaşık 3500'ü endemik olan 10000 dolayında bitki türüne ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemizde kültürü yaygın olarak yapılan tıbbi ve aromatik bitkiler arasında adaçayı, çörek otu, kekik, keten tohumu ve susam sayılabilir.

Ticarete konu olan tıbbi ve aromatik bitkiler tarımsal üretim veya doğadan toplama yoluyla elde edilmektedir. Tarımsal üretimi yapılan bitkiler ülkeden ülkeye göre değişmekle birlikte genel olarak lavanta (*Lavandula spp.*), nane (*Mentha spp.*), haşhaş (*Papaver somniferum*), kekik (*Origanum spp.*) kimyon (*Carum carvi*), rezene (*Foeniculum vulgare*), papatya (*Matricaria recutita*), maydanoz (*Petroselinum crispum*), sinemaki (*Cassia angustifolia*), sarı kantaron, (*Hypericum perforatum*), gibi bitkiler uzun yıllardan beri üretilmekte ve satışa sunulmaktadır. Doğadan toplanan bitkiler ve bunların toplama miktarı ile ilgili sağlıklı bir veri bulunmamaktadır. Çin'de ticarete konu olan tıbbi ve aromatik bitkilerin % 60'ının doğadan toplandığı ifade edilmektedir. Bu oran ülkelere göre değişmekle birlikte % 80'lere kadar çıkmaktadır (Lange, 2000). Ülkemizde tıbbi bitkilerin sayısı 500 civarında olup, neredeyse tamamı doğal olarak yetişmektedir. Bunlardan çok az bir kısmı kültüre alınmıştır. Ülkemizde kültürü yaygın olarak yapılan tıbbi ve aromatik bitkiler arasında çay, gül, anason, nane, kimyon, kırmızı biber, rezene, defne yaprağı, keçiyoynuzu, haşhaş, kekik vb. sayılabilir. 2000'li yıllarda, genetik çeşitliliğin korunması ve uçucu yağlarının standardizasyonuna yönelik çalışmalar son derece önem kazanmıştır. Bu amaçla öncelikli olarak gelişmiş ülkeler, bitkisel ilaçlarla ilgili etkin kanun ve yönetmelikleri yeniden gözden geçirmeye başlamıştır (Baser vd., 1986). Türkiye'de bitki ürünlerinin hazırlanması ve pazarlanması ile ilgili değerlendirmeler Sağlık Bakanlığı, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı düzenlemeleri ile yapılmaktadır. Bu açıdan

Türkiye'de yaygın olarak kullanılan sözlü standardizasyonun sağlanması için kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerin mineral bileşimleri için bir veri tabanı oluşturmak önemlidir.

Türkiye'de bitki ürünlerinin hazırlanması ve pazarlanması ile ilgili değerlendirmeler Sağlık Bakanlığı ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı düzenlemeleri ile gerçekleştirilmektedir. Sanayiciler, bu ürünlere ait yağ talebinin çok fazla olduğunu ve hammadde talebi için yerel üretimi artırmanın gerekliliğini vurgulamaktadırlar (Bayram vd., 2010). Bunlardan biri olan Kekik (*Origanum spp.*) halk arasında baharat, soğuk algınlığı tedavisi gibi farklı amaçlar için kullanılmaktadır (Büyükgebiz, 2006). Kekik bitkisinin yağı ise genellikle organ krampları, kas erimesi, romatizma, burkulmalar, adale ezilmeleri, boğmaca, zatürre ve alkol bağımlılığına karşı tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Azırak, 2007). Adaçayı (*Salvia officinalis*) baharat, aromaterapi ve gıda sanayinde doğal koruyucu amaçlarla kullanımı mevcuttur. Adaçayı aynı zamanda kuvvetli bir antibakteriyel olmakla birlikte tıbbi amaçlı kullanımları da oldukça fazladır. Terlemeyi önleyici ve östrojen hormonunu salgılayıcı etkisi sayesinde menapoz dönemi sıkıntılarının atlatılmasında da etkili olduğu bildirilmektedir (Baytop, 1999). Modern tıbbın yoğun ilgi gösterdiği çörek otu (*Nigella sativa* L.), yara iyileştirici özelliklerinin yanı sıra mideyle ilgili hastalıklar, bazı kanser türleri (karaciğer, meme, bağırsak), şeker, alerjik hastalıklar, böbrek ve kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Al-Ghamdi, 2001; 2003). Susam (*Sesamum indicum* L.), kalp ve iltihaplı eklem romatizması gibi hastalıkların önlenmesinde etkili olduğu gibi ayrıca ω -6 kanamaları azaltmada, ω -3 ise antitrombotik, antiritmik ve damar genişletici özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Çelik ve Demirel, 2004). Keten tohumu (*Linum usitatissimum*), ise yüksek tansiyon, kalp rahatsızlığı şeker hastalığı ve dikkat eksikliği tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Xing, 2014).

Literatürlerde bildirildiği gibi tıbbi ve aromatik bitkilerdeki mineral analizinin avantajlarını veya dezavantajlarını değerlendirmek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Kalny vd. (2007) GF-

AAS (grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi), Başgel ve Erdemoğlu (2006), ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi), Milani vd (2015), ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi) gibi cihazları kullanarak tespit etmişlerdir. ICP-MS cihazı, gıda analizlerinde basit, hızlı bir yöntem ve daha yaygın halde kullanıldığı için tercih edilmiştir.

Çalışma için alınan bitki örnekleri, Burdur ilinin yerleşim bölgelerine aittir. Çalışmamızda tıbbi amaçlı tüketilen veya geleneksel hastalık tedavisinde kullanılan 5 farklı bitkilerin ve soğuk sıkma yöntemiyle elde edilen yağlarının Cu, Cr, Fe, Mn, Se and Zn miktarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Böyle bir karşılaştırma çalışmasına daha önce rastlanılmamıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Kullanılan Kimyasallar

Örneklerin hazırlanmasında Suprapur Grade %65 (m/m) HNO₃ (Merck, Germany) ve %30 H₂O₂ (m/m) (Merck, Germany) kimyasallar kullanıldı. Kullanılan Millipore Elix 10 UV, Milli-Q Syntesis marka saf su sistemi tercih edilmiştir. Kullanılan argon gazı ise sertifikalı % 99.996 saflıktadır.

Standart olarak 10 mg/kg VHG Multi element CRM kullanılmıştır. NIST 1640A kodlu Sertifikalı Referans Maddesi ile ön hazırlık metodunun ve cihazın performansı takip edilmiştir.

Örnek Hazırlama

Araştırmada materyal olarak Burdur ilinin yerleşim bölgelerinde yetiştirilen adaçayı, çörek otu, kekik, keten tohumu ve susam bitkileri ve bu bitkilerden soğuk sıkma yöntemiyle elde edilmiş yağları kullanılmıştır. Analizlerde homojen hale getirilmiş olan katı örneklerden yaklaşık 0.2 g tartılarak mikrodalga ünitesinin (Berghof Speedwave® Four Microwave System, Eningen, Almanya) teflon kapları içine konulmuş ve üzerine 6 mL HNO₃, 1 mL H₂O₂ ve 2 mL H₂O eklenmiştir. Mikrodalga ünitesinin sıcaklık koşulları, oda sıcaklığından 170°C'ye 5 dakika ve ardından 190°C'ye 15 dakika artış şeklinde programlanarak numunelerin tamamen çözünür hale getirilmesi sağlanmıştır. Yakma işlemi sonucunda örnekler oda sıcaklığına soğutularak hacimleri 25 mL'ye ultra saf su kullanılarak tamamlanmıştır (Kılıç vd., 2015). Hazırlanan numuneler Çizelge 1'de çalışma şartları verilen Perkin Elmer ELAN DRC e model ICP-MS cihazında analiz edilmiştir.

Çizelge 1. ICP-MS çalışma şartları
Table 1. ICP-MS operating conditions

Spektrometre <i>Spectrometer</i>	Elan DRC-e (Perkin Elmer SCIEX, Norwalk, CT, USA)
Örnek Girişi <i>Sample Introduction</i>	Scott sprej odası <i>Scott Spray Chamber</i>
RF Gücü <i>Power</i>	1000
Skimmer Cone <i>Skimmer Cone</i>	Nikel <i>Nickel</i>
Sampler Cone <i>Sampler Cone</i>	Nikel <i>Nickel</i>
Gaz akış oranı (L dak ⁻¹) <i>Gas flow rates (L min⁻¹)</i>	Nebulizer gaz akışı <i>Nebulizer gas flow</i> : 0.81, Auxillary gaz akışı <i>Auxillary gas flow</i> : 1.20, Plazma gaz akışı <i>Plasma gas flow</i> : 19
Tarama modu <i>Scannig mode</i>	Pik sekmesi <i>Peak hopping</i>
Analitik kütleler (amu) <i>Analytical masses</i>	Standart mod <i>Standard mode</i> ⁶³ Cu, ⁵² Cr, ⁵⁷ Fe, ⁵⁵ Mn, ⁸² Se, ⁶⁶ Zn
Tarama sayısı <i>Number of sweeps</i>	20
Okuma sayısı <i>Number of readings</i>	1
Tekrar sayısı <i>Number of replicates</i>	3
Oto örnekleme <i>Auto sampler</i>	CETAX ASX-520
Bekleme süresi <i>Dwell time per AMU (ms)</i>	50
Örnek akışı <i>Sample flush</i>	Zaman Time (50), Hız Speed (+/- rpm)-48
Internal standart <i>Internal standard</i>	Tb

Metot Validasyonu

Metot validasyonu için sertifikalı referans madde olarak NIST 1640A kullanılmıştır. Uygulanan yöntemin amaca uygunluğu kapsamında elementel analizleri için yöntemin doğrusal aralıkları, kalibrasyon denklemleri, kalibrasyon katsayıları, tespit sınırları, tayin sınırları, tekrarlanabilirlik değerleri ve geri kazanım değerleri hesaplanırken; ana bileşen analizleri için ise adaçayı, çörek otu, kekik, keten tohumu ve susam bitkileri ve bu bitkilerden soğuk sıkma yöntemiyle elde edilen yağları örnekleri ile yapılan analizler sonucu elde edilen sonuçların tekrarlanabilirlik değerleri hesaplanmıştır. Yöntem doğrulama çalışmalarında kullanılan parametreler ve hesaplama teknikleri aşağıda maddeler halinde sunulmaktadır:

Doğrusal aralık

Bu çalışma için 10 mg kg⁻¹ VHG Multi element CRM standardından 6 farklı (2, 5, 10, 25, 50 ve 100 µg L⁻¹) konsantrasyon noktasında ve üç tekrarlı olmak üzere cihazlara enjekte edilmiş ve elde edilen sonuçlar değerlendirilerek kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur.

Kalibrasyon denklemi

Doğrusal aralık çalışmasına elde edilen verilerin lineer regresyon analizi ile oluşturulan denklemini ifade etmektedir.

Kalibrasyon katsayısı

Kalibrasyon denkleminin R² değerini ifade etmektedir. Korelasyon katsayısı 0.9931-0.9980 aralığında değişim göstermiştir.

Tespit ve tayin sınırı

Kalibrasyon doğrusunda kullanılan en düşük konsantrasyondaki analiz çözeltisinin ve analitik parametreye ait sertifikalı referans standart madde standart örneğin ilgili analitik teknik kullanılarak en az 6 kez analizi gerçekleştirilmiş ve cihazın ürettiği sinyale karşılık gelen konsantrasyon değerinin standart sapma değerinin 3 katı tespit sınırı (LOD) ve 10 katı ise ölçüm sınırı (LOQ) olarak ifade edilmiştir (Traverniers vd., 2004). ICP-MS cihazında analiz çalışmalarının doğruluğu ve güvenilirliği açısından NIST 1640A kodlu referans madde kullanılarak LOD, geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. LOD değerleri 0.14-1.88 µg/L aralığında; LOQ değerleri ise 0.46-6.26 µg/L aralığında tespit edilmiştir.

Tekrarlanabilirlik

Geri kazanım çalışmasından elde edilen sonuçların bağıl standart sapma değeri (%RSD) tekrarlanabilirlik değeri olarak ifade edilmiştir. %RSD değerleri 0.2-1.6 aralığında değişim göstermektedir.

Geri kazanım

Bu kapsamda analitleri içeren standart çözelti geri kazanım çalışma örneklerine eklenerek en az 6 paralel örnek hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler ilgili cihaza üç kez verilmiş ve elde edilen sonuçlardan geri kazanım değerleri belirlenmiştir. Geri kazanım çalışması ise 92.5±0.5-100.0±1.6 aralığında bulunmuştur. Bu metodun analitik sonuçları ise Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışılan elementlerin metot validasyon sonuçları

Table 2. Method validation results of working elements

Elementler Elements	R ²	Kalibrasyon denklemi Calibration equation	Lineer aralık Linear range (µg.L ⁻¹)	LOD (µg.L ⁻¹)	LOQ (µg.L ⁻¹)	Geri Kazanım Recovery (1640A)	%RSD
Cu	0.9965	y= 6288.8x – 2329.4	2-100	1.03	3.42	98.2±0.3	0.4
Cr	0.9946	y=9430.4x + 32302	2-100	0.14	0.46	92.5±0.5	0.5
Fe	0.9931	y=319.25x + 1363.1	2-100	1.88	6.26	100.1±0.6	0.6
Mn	0.9950	y=13534x + 36080	2-100	1.01	3.37	97.3±0.7	0.7
Se	0.9978	y = 148.9x + 314.74	2-100	0.47	1.55	100.0±1.6	1.6
Zn	0.9980	y = 1545.1x + 6584.6	2-100	0.60	1.99	97.0±0.2	0.2

SONUÇ VE TARTIŞMA

İncelenen 5 farklı bitki türünden ve bu bitkilerin soğuk sıkma ile elde edilmiş yağlarının (Cu, Cr, Fe,

Mn, Se ve Zn) konsantrasyonları Çizelge 3'de sunulmuştur.

Çizelge 3. Aromatik bitkilerin ve soğuk sıkma ile elde edilen yağlarının mineral içeriği (mg/kg)
Table 3. Mineral content of aromatic plants and oils obtained by cold pressing (mg/kg)

Numuneler Samples	Cu	Cr	Fe	Mn	Se	Zn
Susam <i>Sesame</i>	4.5±0.5	2.0 ±0.2	38.1±3.4	7.5±0.6	0.01±0.001	15.0±1.2
Susam yağı <i>Sesame oil</i>	<LOQ	1.4±0.1	4.6±0.5	0.13±0.01	<LOQ	1.0±0.1
Çörek otu <i>Black cumin</i>	3.8±0.3	1.7±0.2	28.6±2.0	12.0±1.0	<LOQ	13.6±1.2
Çörek otu yağı <i>Black cumin oil</i>	<LOQ	1.4±0.1	2.3±0.3	0.02±0.001	<LOQ	<LOQ
Kekik <i>Thyme</i>	15.6±1.1	3.1±0.3	71.2±4.1	47.1±3.2	<LOQ	24.4±2.1
Kekik yağı <i>Thyme oil</i>	<LOQ	4.0±0.4	8.4±0.7	0.07±0.005	<LOQ	<LOQ
Adaçayı <i>Sage</i>	6.5±0.5	4.7±0.4	67.3±3.0	30.0±2.1	0.11±0.01	23.2±2.1
Adaçayı yağı <i>Sage oil</i>	<LOQ	2.7±0.3	1.7±0.1	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Keten tohumu <i>Flaxseed</i>	4.1±0.3	1.7±0.1	19.4±2.0	12.0±1.2	0.14±0.01	13.1±1.2
Keten tohumu yağı <i>Flaxseed oil</i>	<LOQ	1.2±0.1	2.7±0.2	0.03±0.003	<LOQ	<LOQ

Bu esansiyel primer besin maddeleri, tüm canlıların gelişimi için önemlidir. Çalışmamızda çıkan sonuçlara göre demir (Fe) en az adaçayı yağında 1.7 mg/kg iken en çok ise kekikte 71.2 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Esetlili vd (2014) tarafından yapılan susam, kekik ve çörek otundaki çalışmada Fe (83-221 mg/kg) değerlerinin daha yüksek bulunduğu görülmektedir. Mevcut konsantrasyonların bitkiler için farklılık gösterdiği bilinmektedir. Mengel ve Kirkby (2004) bitkilerin bakır (Cu) konsantrasyonunun genel olarak 16-20 mg/kg arasında değiştiğini rapor etmiş, Bowen (1966) da tarım ürünlerinin 4-15 mg/kg aralığında tespit etmiştir. Bizim çalışmamız da ise Cu miktarı bitki yağlarında tespit edilemezken bitki özlerinde ise 3.8-15.6 mg/kg aralığında bulunmuştur. Bakır; bitkiler, hayvanlar ve insanlar için vazgeçilmez bir elementtir ancak aşırı miktarda alımı sağlık sorunlarına neden olabildiği bildirilmektedir. Mangan (Mn) değerleri ise bitki yağlarında (<LOQ-0.13 mg/kg iken 7.5-47.1 mg/kg sonuçları ile en yüksek bitki özlerinde tespit edilmiştir. Allaway (1968), tarım ürünlerinin 15-200 mg/kg çinko (Zn) içerdiğini belirtmiştir. Pytlakowska vd (2012), tarafından yapılan çalışmada ise adaçayıdaki Zn içeriği 6.22- µg/g olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda Zn, bitki

yağlarında <LOQ iken, bitki özlerinde 13.1-24.4 mg/kg aralığında bulunmuştur. Krom (Cr), en düşük keten tohumu yağında 1.2 mg/kg, en yüksek ise 4.7 mg/kg adaçayıda tespit edilmiştir. Esetlili vd (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, susam, kekik ve çörek otunun Cr içeriği, 0.10-1.36 mg/kg aralığında belirlenmiştir. Ayrıca esansiyel ikincil bitki besin maddelerinin/eser elementlerinin (Zn, Fe, Mn, Cu, Cr) alınımının, vücut ağırlığının % 0.01'ini aşmaması önerilmektedir. Başka bir çalışmada, diğer ağır metaller hariç tüm canlılar için sadece eser miktarda Ni, Al, Cr ve Co gerektiği bulunmuştur (Imelouane vd., 2011). Cu ve Zn için kritik limit değerleri ise WHO (2004) raporlarında verilmemiştir. Selenyum (Se) ise sadece susam, adaçayı ve keten tohumda sırasıyla 0.01, 0.11 ve 0.14 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Vücut için sağlığı için önemli olan tıbbi aromatik bitkilerin mineral miktarlarının analiz edilmesinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Mevcut araştırmada, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen bitkilerin mineral bakımdan da zengin olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerde tespit edilen Cu, Cr, Fe, Mn, Se, Zn miktarlarının, bu bitkilerin soğuk sıkma ile elde edilen ve satışa

sunulan yağlarına göre daha fazla olduğu görülmüştür. İlk defa aromatik tıbbi bitkilerin ve bunlara ait soğuk sıkma ile elde edilen yağlarının mineral element açısından karşılaştırma çalışması yapılmıştır. Çıkan sonuçlara göre bakılan değerli elementlerin soğuk sıkma esnasında posada kaldığı düşünülmüştür. Bu nedenle bitkilerin elde edilen yağlarının yerine belirli miktarlarda olmak koşuluyla tohum veya bitki olarak tüketilmesinin az da olsa daha faydalı olacağı düşüncesini akla getirmektedir.

KAYNAKLAR

- Al-Ghamdi, M.S. (2001). The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella Sativa*. *J Ethnopharmacol*, 76 (1), 45-48.
- Al-Ghamdi, M.S. (2003). Protective effect of *Nigella Sativa* seeds against carbon tetrachloride-induced liver damage. *Am J Chin Med*, 31(5), 721-728.
- Allaway, W.H. (1968). Agronomic controls over the environment cycling of trace elements. *Advances in Agronomy*, 49, 55–118.
- Azırak, S. (2007). Thymol ve Carvacrol'un in vivo genotoksik etkilerinin araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 142s.
- Baser, K, H, C., Honda, G., Miki, W. (1986). *Herb drugs and herbalists in Turkey*. Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa, Tokyo, 27p.
- Başgel, S., Erdemoğlu. S.B. (2006). Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. *Sci Tot Env*, 359, 82–89.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkiler ile tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, Türkiye, 520s.
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, D. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak, Ankara, Türkiye, 437–456.
- Bowen, H.J.M. (1966). *Trace elements in biochemistry*. Academic press, London and New York, pp 241.
- Büyükgebiz, T. (2006). Sütçüler (Isparta) Yöresi'nin odun dışı orman ürünleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 76s.
- Çelik, S., Demirel, M. (2004). İnsan ve hayvan sağlığı bakımından ω yağ asitleri ve konjuge linoleik asidin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1, 25-35.
- Esetlili, B.Ç., Pekcan, T., Çobanoğlu, Ö., Aydoğdu, E., Turan, S., Anaç, D. (2014). Essential plant nutrients and heavy metals concentrations of some medicinal and aromatic plants. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences*, 20, 239-247.
- Imelouane, B., Tahri, M., Elbastrioui, M., Aouinti, F., Elbachiri. A. (2011). Mineral contents of some medicinal and aromatic plants growing in Eastern Morocco. *Journal of Material Environmental Science*, 2(2), 104-111.
- Kalny, P., Fijalek, Z., Daszczyk, A., Ostapczuk, P. (2007). Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. *Science of The Total Environment*, 381, 99–104.
- Kılıç, S., Yenisoy-Karakaş, S., Kılıç, M. (2015). Metal contamination in fruit juices in Turkey: Method validation and uncertainty budget. *Food Anal Methods*, 8, 2487–2495. Doi:10.1007/s12161-015-0136-4.
- Lange, D. (2000). *The role of Europe and Germany within the worldwide trade in medicinal and aromatic plants, in medicinal utilization of wild species: Challenges for man and nature in the new millennium*. Honnef, S. and Melisch, R. (eds). WWF Germany/Traffic Europe Germany, Hannover, Germany. 48-49p.
- Mengel, K., Kirkby, E.A. (2004). *Principles of plant nutrition*. 5th Edition, Springer Verlag, Doordrecht, The Netherlands, pp 849.
- Milani, R.F., Morgano, M.A., Saron, E.S., Silva, F.F., Cadore, S. (2015). Evaluation of direct analysis for trace elements in tea and herbal beverages by ICP-MS. *J Braz Chem Soc*, 26(6), 1211-1217.
- Polat, R., Satıl, F. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf

(Balıkesir-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 139: 626-641.

Pytlakowska, K., Kita, A., Janoska, P., Polowniak, M., Kozik, V. (2012). Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chemistry*, 135, 494-501.

Traverniers, I., De Loose, M., Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory: II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends Anal Chem*, 23, 535-552.

Xing, L., Zhao, F.M., Cao, Y.F., Wang, M., Mei, S., Li, S.P., Cai, Z.Y. (2014). Principal component analysis of mineral elements and fatty acids composition in flaxseed from ten different regions, *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*, 34(9), 2538-2543.

WHO (2004). Monographs on Selected Medicinal Plants. World Health Organisation. Vol. 2.



UÇUCU YAĞ İÇEREN KİTOSAN BAZLI FİLMLEİN KARAKTERİZASYONU

Ece Söğüt*, Atıf Can Seydim

Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta/Türkiye

Geliş / Received: 26.03.2018; Kabul / Accepted: 02.06.2018; Online baskı / Published online: 05.07.2018

Söğüt, E., Seydim, A.C. (2018). Uçucu yağ içeren kitosan bazlı filmlerin karakterizasyonu. *GIDA* (2018) 43 (4): 624-634 doi: 10.15237/gida.GD18040

Söğüt, E., Seydim, A.C. (2018). Characterization of chitosan based films incorporated with essential oils. *GIDA* (2018) 43 (4): 624-634 doi: 10.15237/gida.GD18040

ÖZ

Bu çalışmada, kekik yağı (TO, %2), üzüm çekirdeği yağı (GSO, %2) ve nar çekirdeği yağı (PSO, %2) eklenmiş kitosan (CH) filmler hazırlanmıştır. Film örnekleri, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile elde edilen görüntüleri, su buharı geçirgenliği (WVP), mekanik testler ve optik özellikler ile karakterize edilmiştir. Antimikrobiyel aktivite ve filmlerin salım davranışı da incelenmiştir. SEM görüntüleri, CH-TO filmlerin, CH-GSO ve CH-PSO filmlerle karşılaştırıldığında daha homojen bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. CH filmlerin elastikiyeti yağ ilavesiyle geliştirilirken, filmlerin gerilme kuvvetinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. CH filmlere esansiyel yağ ilavesi, filmlerin kalınlık, WVP ve su tutma kapasitesi değerlerinde önemli ölçüde azalışa neden olurken ($p<0.05$), filmlerin çözünürlük değerleri etkilenmemiştir. CH filmlere esansiyel yağ ilavesi, filmlerin optik özelliklerini etkilememiştir ($p>0.05$). En yüksek salım hızı, CH-TO film örneklerinde gözlenmiştir ($p<0.05$). Tüm film örnekleri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Kitosan, kekik yağı, üzüm çekirdeği yağı, nar çekirdeği yağı, antimikrobiyel

CHARACTERIZATION OF CHITOSAN BASED FILMS INCORPORATED WITH ESSENTIAL OILS

ABSTRACT

In this study, thyme oil (TO, 2%), grape seed oil (GSO, 2%), and pomegranate seed oil (PSO, 2%) added chitosan (CH) films were prepared. Film samples were characterized by scanning electron microscopy (SEM), water vapor permeability (WVP), tensile, and optical properties. The antimicrobial activity and release behavior of films were also studied. SEM images showed that CH-TO films were more homogeneous when compared to CH-GSO, and CH-PSO films. The elasticity of films was improved upon the addition of oils while there was no significant change in tensile strength. The incorporation of oils significantly reduced thickness, WVP and water-uptake values of films ($p<0.05$) while the solubility did not change significantly. The optical properties of films were not significantly affected by the addition of oils. The highest release rate was observed in CH-TO film samples ($p<0.05$). All film samples showed antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Chitosan, thyme oil, grape seed oil, pomegranate seed oil, antimicrobial

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ececgdas@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1734

☎ (+90) 246 237 0859

GİRİŞ

Petrol türevli plastik ambalaj malzemelerinin kullanımının artması ve doğada çok uzun süreçlerde bozunmaları, bu materyallerin çevreye ve yer altı sularına zarar vermesine neden olmaktadır. Bu nedenle, yenilebilir ve biyobozunur ambalaj malzemeleri üzerine yapılan çalışmalarda önemli bir artış görülmektedir (Xu vd., 2005). Bu alanda, yenilenebilir kaynaklardan elde edilen polimerler içerisinde en çok çalışılanlardan birisi kitosandır (CH). CH, biyobozunur, toksik etki göstermeyen, antimikrobiyel etkiye sahip ve pek çok polimerle uyum sağlayabilen bir materyaldir (Dutta vd., 2004; Weska vd., 2007; Youn vd., 2007). Esansiyel yağlar; terpenler, flavonoidler, karotenler gibi çeşitli biyoaktif bileşenler içerdikleri için hem antioksidatif hem de antimikrobiyel etkiye sahip bileşenlerdir (Burt, 2004). Ancak, esansiyel yağların sahip olduğu güçlü aroma, renk gibi özellikleri bu bileşenlerin doğrudan gıda içerisinde kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle, esansiyel yağlar gibi aktif bileşenlerin doğrudan gıda içerisinde değil gıda ambalaj malzemelerinin içerisinde kullanımı tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra, tüketicilerin gıda güvenliği konusunda bilinçlenmesi, özellikle taze ürünler ve az işlem görmüş ürünler için de aktif bileşen içeren ambalaj materyallerinin kullanımını desteklemektedir (Lee, 2005). Antimikrobiyel özellik gösteren esansiyel yağlar içerisinde kekik yağı en yüksek potansiyele sahip olanlardan biridir. Kekik yağında bulunan baskın bileşen karvakroldür (%50-80), halen gıda katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Kulisic vd., 2004). Kekik yağının pek çok mikroorganizmayı etkin bir şekilde inhibe ettiği ve gıdaların raf ömrü üzerine olumlu etkileri olduğu faklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Seydim ve Sarıküş, 2006; Martínez-Romero vd., 2007; Guarda vd., 2011; De Sousa vd., 2012). Benzer şekilde nar çekirdeği ve üzüm çekirdeği yağı gibi esansiyel yağların da antimikrobiyel ve antioksidan özelliklere (Abbasi vd., 2008; Lutterodt vd., 2011; Agostini vd., 2012; Costantini vd., 2014; Rombaut vd., 2014; Shinagawa vd., 2015; Garavaglia vd., 2016; Xylia vd., 2017; Çavdar vd., 2017) sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Antimikrobiyel ve/veya antioksidan etki gösteren bileşenlerin CH

filmlere eklenmesi, CH filmlerin aktif özelliklerini geliştirmek için kullanılabilecek yöntemlerden birisidir (Bakkali vd., 2008; Bonilla vd., 2014). Esansiyel yağlar ve aktif bileşenler, CH filmlerin kapladıkları gıda yüzeyine diffüze olarak antioksidan ya da antimikrobiyel etki gösterebilirler. Bu sayede, aktif bileşenlerle yenilebilir veya biyobozunur polimerlerin kombinasyonu ile yeni ambalaj materyallerinin geliştirilmesi sağlanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kekik (TO), nar (PSO) ve üzüm çekirdeği yağı (GSO) içeren CH filmlerin su buharı geçirgenliği, mekanik ve optik özellikleri ile antimikrobiyel etkilerini belirlemektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmalarda kullanılan kitosan (CH, %85 asetilleşme derecesi), magnezyum nitrat $Mg(NO_3)_2$, gliserol, asetik asit, etanol ve diğer kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD) den temin edilmiştir. Esansiyel yağlar (kekik yağı, TO; üzüm çekirdeği yağı, GSO; nar çekirdeği yağı, PSO) sırasıyla Denizli'de faaliyet gösteren yerel bir firma ve Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM)'den temin edilmiştir.

Film Üretimi

Kitosan filmler, dökme yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. CH (%1.5, ağırlıkça) %1'lik (ağırlıkça) asetik asit çözeltisinde tamamen çözüldürüldükten sonra, %0.3 (ağırlıkça) gliserol eklenerek homojen hale getirilmiştir. Esansiyel yağlar, TO, GSO ve PSO, CH ağırlığı bazında %2 oranında CH film çözeltisine eklenmiş ve 5 dakika boyunca homojenizatörde (DAIHAN HG-15A, Kore) homojenize edilmiştir. Yapılan ön çalışmalarda %2'nin altındaki konsantrasyonlar (özellikle GSO ve PSO için) için filmlerin zayıf aktif özellik gösterdiği ve %2'den daha yüksek oranlarda (özellikle TO için keskin ve rahatsız edici bir aroma ile birlikte) ise filmin yapısının bozulduğu gözlenmiştir. Bu yüzden, hem seçilen üç uçucu yağ için karşılaştırma yapılabilecek bir oran olarak hem de filmin yapısını bozmadan film içerisinde bile aktif özellikler gösterebilecek minimum değer olarak %2 seçilmiştir. Her bir film çözeltisinden 50 g teflon kaplı petrilerin

(Ø=150mm) merkezine dökülüp homojen bir şekilde yayılmıştır. Dökülen film çözeltileri oda koşullarında kurutulduktan sonra 25°C ve % 50 bağıl nemde bir hafta boyunca bekletilmiş ardından karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Filmler, içerisine eklenen TO, GSO ve PSO için filmler sırasıyla CH-TO, CH-GSO ve CH-PSO şeklinde kodlanmıştır. Koşullandırılan film örneklerinin kalınlıkları rastgele 6 bölüm seçilerek dijital mikrometre (QuantuMike IP65, Mitutoyo, Japonya) ile ölçülmüştür.

Karakterizasyon Analizleri

Film örneklerinin yüzey ve kesit özelliklerinin belirlenmesi

Film örneklerinin yüzey ve kesit görüntüleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) (FEI Quanta 250 FEG, Oregon USA) kullanılarak düşük vakum altında görüntülenmiştir (10 kV). Örneklerin mikro-yapılarının belirlenmesi için görüntüler 500-2000 kat büyütme altında elde edilmiştir.

Mekanik özellikler ve su buharı geçirgenliği (WVP)

Film örneklerinin mekanik özellikleri; çekme dayanımı (TS) ve kopma noktasındaki uzama (ϵ , %) değerleri ASTM D882 standart metodu (ASTM, 2001) kullanılarak Lloyd LR5 universal test (Londra, Birleşik Krallık) cihazı ile ölçülmüştür. Film örneklerinin su buharı geçirgenlik değerleri ise (WVP) E96-95 gravimetrik metodu (ASTM, 1995) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geçirgenlik ölçümleri film katmanının %100 bağıl neme maruz bırakılıp, %50 bağıl nem ortam koşullarında kapların periyodik olarak (2 gün boyunca her 1.5 saatte) ağırlıklarının alınması ile gerçekleştirilmiştir. Film örneklerinin (2x2 cm) suda çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri Pereda vd. (2010)'un önerdiği yöntem ile belirlenmiştir.

Optik özellikler

Opaklık testi, Friesen vd. (2015)'in uyguladığı metot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Test edilecek her bir film spektrofotometre kuvetinin boyutlarına uyacak şekilde 1x4 cm boyutlarında kesilmiştir. Film örneklerinin 400-800 nm dalga boyları arasındaki absorbans spektrumları ve 450

nm dalga boylarındaki transmittans değerleri (T, %) UV-Visible (Schimadzu, UV-1601, Japonya) spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Film örneklerine ait renk değerleri ise renk ölçüm cihazı (CR-400, Konica Minolta, Inc., Japonya) ile beyaz kalibrasyon plakası (Y=92.7, x=0.3160, y=0.3321) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler kalibrasyon levhası ile kalibre edildikten sonra CIE L^* , a^* ve b^* (parlaklık 'L', kırmızı-yeşil 'a' ve sarı-mavi 'b') değerleri alınarak gerçekleştirilmiştir.

Salım Çalışmaları

Film örneklerinden aktif bileşen salımı miktarının belirlenmesi için gıda simülantı olarak Simülant A (etanol, hacimce %10) seçilmiştir (Avrupa Birliği Yönetmeliği No: 2016/1416). Simülant ile muamele edilen film örnekleri (5 mg film/mL) çalkalamalı karıştırıcıda tutularak (25°C) analiz boyunca örnekleme yapılmış ve farklı zaman aralıklarında absorbansları ölçülmüştür. Film örneklerinden aktif bileşen salınım miktarının belirlenmesi için zamana bağlı olarak elde edilen aktif bileşen absorbans değerleri ile Korsmeyer-Peppas model (Korsmeyer vd., 1983) kullanılmıştır. M_t/M_∞ t zamanda salınan aktif bileşen oranını, K hız sabitini ve n difüzyon sabitini vermek üzere aşağıdaki denklik kullanılmıştır.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (1)$$

Antimikrobiyel Aktivite

Filmlerin antimikrobiyel aktivitelerini test etmek için *Escherichia coli* (ATCC 26922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115) kültürleri kullanılmıştır. Brain Heart Infusion (BHI) Broth, kullanılarak 37°C'de geliştirilen kültürlerin konsantrasyonu McFarland dansitometresi (Biosan, Litvanya) yardımıyla 10^5 - 10^6 kob/mL konsantrasyona ayarlanmıştır. Yaklaşık 5 log konsantrasyondaki kültürden BHI agar içeren petrilere 200 µL aktarılmış ve besi yerinin mikroorganizmayı tamamen absorbe etmesi beklenmiştir. Film örnekleri (1 cm çapında) inoküle edilen petrilere yerleştirilip belli bir süre beklendikten sonra 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 16-24 saat inkübasyondan sonra film

örneklerinin altında gelişim olup olmadığı kontrol edilmiş ve film etrafında mikroorganizma gelişimi gözlenmeyen inhibisyon alan çapları (cm) ölçülmüştür.

İstatistiksel analiz

Uygulamalar arasındaki fark, varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak %95 güven aralığında belirlenmiştir (Minitab 18, Brandon, UK). Tüm analizler aynı formülasyona ait farklı film örnekleri kullanılarak 2 tekrar ve 3 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Film Karakterizasyon Analizleri

Film örneklerine ait SEM yüzey ve kesit görüntüleri Şekil 1'de gösterildiği gibidir. Film örnekleri, CH ve esansiyel yağlar arasındaki etkileşime bağlı olarak farklı yapılar sergilemiştir. GSO ve PSO içeren CH filmler, CH ve CH-TO filmlerle karşılaştırıldığında daha düzensiz/pürüzlü bir yapı sergilemiştir. CH-PSO ve CH-GSO filmlerde yağ damlaları kolaylıkla seçilirken, CH-TO filmlerinin daha homojen bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Farklı araştırmacılar tarafından, *Carum copticum* (Jahed vd., 2017a) ve *Origanum vulgare ssp. gracile* esansiyel yağı (Jahed vd., 2017b) içeren CH filmler ve CH bazlı kompozit filmler (Choo vd., 2016; Soni vd., 2016) için benzer yapılar rapor edilmiştir.

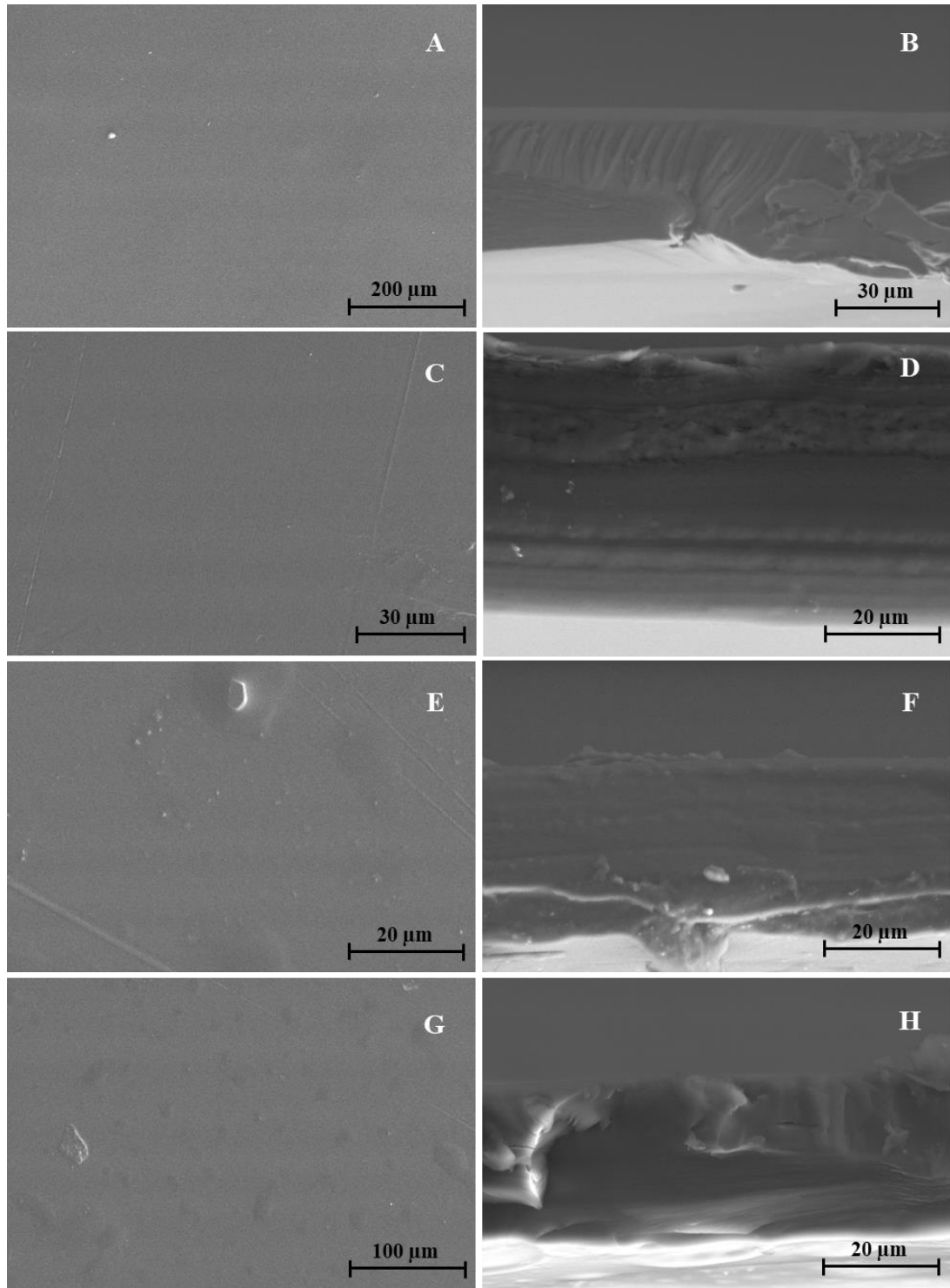
Film örneklerine ait kalınlık ve mekanik özellikler Çizelge 1'de verildiği gibidir. CH filmlerin kalınlık değerleri film içerisine TO, GSO ve PSO eklenmesiyle önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0.05$). Film örneklerinin kalınlıklarında görülen bu farklılık CH film yapısı ve bu yapıya eklenen diğer bileşenler arasındaki etkileşimler nedeniyle oluşabilmektedir (Talon vd., 2017). Film örneklerine ait TS değerleri $32.14 \pm 1.28 - 38.58 \pm 2.36$ MPa değerleri arasında değişmektedir. En yüksek TS değerini CH-GSO film örnekleri gösterirken ($p < 0.05$), en düşük TS değeri CH filmlerde görülmüştür. CH filmlere esansiyel yağ ilavesi CH filmlerin TS değerlerinde artışa neden olmuştur. Filmlerin elastikiyet değerleri arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). En düşük elastikiyet değerleri ise en yüksek TS değerlerine bağlı olarak CH-GSO filmlerde gözlenmiştir. TS değerindeki artış, CH film ve esansiyel yağlar arasında çapraz bağ oluşumunun gerçekleşmiş olabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, Abdollahi vd. (2012), biberiye yağı içeren CH filmler için CH kontrol filmlerin TS ve elastikiyet değerlerinde sırasıyla %7 ve %40 artış meydana geldiğini göstermişlerdir. Hossenli vd. (2009) aynı zamanda CH filmlerle kekik, tarçın ve karanfil yağının kombine edilmesiyle CH filmlerin elastikiyet özelliklerinin geliştirildiğini göstermiştir.

Çizelge 1. Örneklerine ait kalınlık, gerilme kuvveti (TS) ve elastikiyet (ϵ , %) değerleri
Table 1. Thickness, tensile strength (TS), and elasticity (ϵ , %) values of film samples

Film Örnekleri <i>Film samples</i>	Kalınlık (μm) <i>Thickness (μm)</i>	TS (MPa) <i>TS (MPa)</i>	ϵ (%) <i>ϵ (%)</i>
CH	50.33 ± 2.52^a	32.14 ± 1.28^b	35.05 ± 7.03^a
CH-TO	41.67 ± 2.50^b	33.23 ± 3.09^{ab}	40.71 ± 3.82^a
CH-PSO	40.33 ± 3.21^b	33.56 ± 3.03^{ab}	36.92 ± 1.36^a
CH-GSO	43.67 ± 4.16^b	38.58 ± 2.36^a	33.98 ± 5.79^a

^{a-b} Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$)

^{a-b} Different letters in the same column indicate significant differences between samples ($p < 0.05$)



Şekil 1. Film örneklerine ait SEM görüntüleri (500-2000X büyütme) (A:CH yüzey, B:CH kesit, C:CH-TO yüzey, D:CH-TO kesit, E:CH-PSO yüzey, F:CH-PSO kesit, G:CH-GSO yüzey, H:CH-GSO kesit)
Figure 1. SEM images of film samples (500-2000X magnification) (A:CH surface, B:CH cross-section, C:CH-TO surface, D:CH-TO cross-section, E:CH-PSO surface, F:CH-PSO cross-section, G:CH-GSO surface, H:CH-GSO cross-section)

Çizelge 2, film örneklerinin su buharı geçirgenlik, suda çözünürlük değerlerini ve su tutma kapasitelerini göstermektedir. CH filmler en yüksek WVP değerlerini gösterirken, en düşük WVP değeri GSO içeren CH filmlerde gözlenmiştir ($p<0.05$). CH filmlere TO ve PSO ilavesi de CH filmlerin WVP değerlerinde azalmaya neden olmuştur ($p<0.05$). Benzer sonuçlar, Yasser, (2017) tarafından *Ziziphora clinopodioides* esansiyel yağı ve üzüm çekirdeği ekstraktı içeren CH filmler için gösterilmiştir. CH filmlerin suda çözünürlük değerleri, CH filmlere esansiyel yağ ilavesi ile istatistiksel olarak değişim göstermemiştir, ancak esansiyel yağ içeren CH filmlerin çözünürlük değerlerinin CH filmlerden daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlar kekik yağı (Abdollahi vd., 2012) ve tarçın yağı (Ojagh vd., 2010), içeren CH filmlerle ilgili yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. CH-PSO ve CH-GSO filmlerin su tutma kapasitesi, CH-TO ve CH filmlere göre daha düşük değerlere sahiptir ($p<0.05$). CH

filmlerin su tutma kapasitesi esansiyel yağ içeren filmlerden daha yüksektir ($p<0.05$). Uçucu yağların hidrofobik karakterleri nedeniyle, filmlere ilave edilen uçucu yağlar, filmlerin daha az su tutmasına, suda çözünürlüklerinin azalmasına ve su buharı geçirgenlik değerlerinin düşmesine neden olmuştur. Bunun yanı sıra, polimerik yapıların su tutma kapasiteleri polimerdeki moleküller arası zincirlerin etkileşimlerine de bağlıdır (Mayachiew ve Devahastin, 2010). CH filmlere ilave edilen esansiyel yağlar ve CH film ağı arasındaki kovalent ve hidrojen bağları hidrojen gruplarının oluşumunu kısıtlayarak su molekülleri ile hidrofilik bağların oluşmasına engel olmaktadır. Bu şekilde elde edilen yapı CH filmlerin suya olan ilgisini azaltarak hidrofobik bir yapı oluşturmaktadır (Siripatrawan ve Harte, 2010). Çalışma bulguları, aktif bileşen içeren CH filmler için farklı araştırmacıların elde ettiği sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Vargas vd., 2009; Mayachiew ve Devahastin, 2010; Pereda vd., 2010).

Çizelge 2. Film örneklerine ait su buharı geçirgenlik (WVP), suda çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri

Table 2. Water vapor permeability (WVP), water solubility, and water uptake values of film samples

	WVP (g-mm/kPa-h-m ²) WVP (g-mm/kPa-h-m ²)	Suda çözünürlük (%) Water solubility (%)	Su tutma (%) Water uptake (%)
CH	77.59±1.64 ^a	24.91±4.82 ^a	316.52±20.03 ^a
CH-TO	27.95±0.82 ^c	18.27±3.76 ^a	289.93±6.31 ^{ab}
CH-PSO	35.07±0.32 ^b	18.20±4.64 ^a	253.72±14.54 ^c
CH-GSO	29.37±1.92 ^c	20.97±3.90 ^a	264.69±9.46 ^{bc}

^{a-c} Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$)

^{a-c} Different letters in the same column indicate significant differences between samples ($p<0.05$)

Film örneklerinin transmittans, opaklık ve renk değerleri (L^* , a^* ve b^*) Çizelge 3'te gösterilmiştir. En yüksek transmittans ($p>0.05$) ve en düşük opaklık ($p<0.05$) değerleri CH filmlerde gözlenmiştir. CH filmlere esansiyel yağ ilavesiyle, CH filmlerin transmittans değerlerinde istatistiki olarak fark gözlenmezken, TO ve PSO ilavesi CH filmlerin opaklık değerlerini önemli ölçüde arttırmıştır ($p<0.05$). Genel olarak, yüksek transmittans değerlerine sahip filmler düşük

opaklık değerleri göstermiştir. Bu durum, film yapısı içerisindeki yağ damlalarının, ışığın film boyunca dağılımını arttırarak, CH filmlerin ışığa geçirgenliğini azaltmasıyla açıklanabilir (Tongnuanchan vd., 2013). Aynı zamanda, yüksek transmittans değerlerinin film yapısına giren bileşenler ile film arasındaki homojen karışım ve etkileşimle pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmektedir (Li vd., 2006). Benzer şekilde, Riberio-Santos vd., (2017) esansiyel yağ ilavesinin

filmlerin transmittans değerlerini azalttığını göstermiştir. Filmlerin renk değerleri arasında önemli bir fark bulunmazken en düşük a^* değerleri ve en yüksek b^* değerleri CH-GSO

filmlerde gözlenmiştir. CH filmlere TO ve PSO ilavesi filmlerin b^* değerlerini önemli ölçüde düşürmüştür ($p<0.05$).

Çizelge 3. Film örneklerinin optik özellikleri
Table 3. Optical properties of film samples

	T (%) T (%)	Opaklık (AU nm/mm) Opacity (AU nm/mm)	L^* L^*	a^* a^*	b^* b^*
CH	82.03±0.61 ^a	384.47±50.01 ^b	95.93±0.13 ^a	-0.27±0.05 ^a	4.20±0.13 ^{ab}
CH-TO	78.63±2.14 ^a	618.44±26.79 ^a	95.99±0.15 ^a	-0.27±0.01 ^a	3.71±0.21 ^c
CH-PSO	78.10±0.46 ^a	675.64±63.89 ^a	95.90±0.05 ^a	-0.31±0.01 ^a	4.16±0.09 ^b
CH-GSO	80.60±2.33 ^a	446.57±49.54 ^b	95.51±0.17 ^b	-0.37±0.01 ^b	4.54±0.11 ^a

^{a-c} Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$)

^{a-b} Different letters in the same column indicate significant differences between samples ($p < 0.05$)

Salım Çalışmaları

Çizelge 4, gıda simülantı A için film örneklerine ait Korsmeyer-Peppas sabitlerini (salım hızları) göstermektedir. Salım kinetikleri, deneysel verilerin Korsmeyer-Peppas denkliği kullanılarak hesaplanması sonucu elde edilmiş ve salımın modele uygunluğu R^2 değerleri ile gösterilmiştir

(Çizelge 4). CH-TO ve CH-GSO film örnekleri 0.5'ten yüksek n değerlerine sahip olup difüzyon bu film örnekleri için Fick kuralına uymaktadır. Ancak, CH-PSO örneklerine ait n değerleri oldukça düşüktür, bu durum bu film örneklerinin seçilen simülant içerisinde kısmi olarak çözünmesi ile açıklanabilir.

Çizelge 4. Gıda simülantı A için Korsmeyer-Peppas sabitleri
Table 4. Korsmeyer-Peppas constants for food simulant A

	n	K	R^2
CH-TO	0.44±0.12 ^{ab}	3.52±0.33 ^a	0.93
CH-PSO	0.33±0.06 ^b	2.72±0.31 ^b	0.94
CH-GSO	0.65±0.01 ^a	1.81±0.33 ^c	0.96

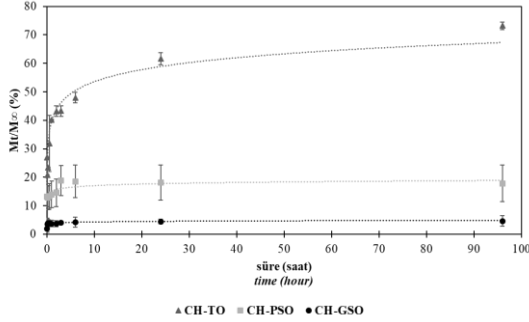
^{a-c} Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$)

^{a-b} Different letters in the same column indicate significant differences between samples ($p < 0.05$)

CH filmlere ilave edilen esansiyel yağların gıda simülantı A'ya salım hızı, ilave edilen esansiyel yağ için baskın bulunan aktif bileşen kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmalarda kullanılan PSO, linoleik asit, konjuge linoleik asit (pünisik asit), α -eleostearik asit, hidroksisinamik asit ve flavonoidler gibi pek çok aktif bileşen içermektedir (Abbasi vd., 2008; Kiralan vd., 2009; Costantini vd. 2014) ve baskın bileşen %73 oranında içerdiği pünisik asittir (Kiralan vd.,

2009). Benzer şekilde, TO ve GSO salınımı için, sırasıyla baskın aktif bileşenler olan karvakrol (Safaei-Ghomi vd., 2009) ve gallik asit (Garavaglia vd., 2016) kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır. Şekil 2, zamanın bir fonksiyonu olarak film örneklerinden aktif bileşen salım değerlerini göstermektedir. Farklı esansiyel yağların simülant A için farklı salım davranışı sergilediği görülmektedir. CH-TO filmler en yüksek salım hızına sahipken, en düşük salım hızı CH-GSO

filmlerde gözlenmiştir. Bu durum TO'nun etanolde diğer esansiyel yağlara göre daha fazla çözündüğünü göstermektedir.



Şekil 2. Film örneklerinden zamanla kümülatif aktif bileşen salım miktarı
Figure 2. Cumulative release rate of film samples

Çizelge 5. Film örneklerine ait inhibisyon çapları (mm)
Table 5. Zone of inhibition diameters of film samples (mm)

	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
CH	*	*	*	*
CH-TO	15	20	17	22
CH-GSO	13	*	*	15
CH-PSO	*	*	*	13

*Film örneklerinin altında gelişim gözlenmemiştir.

*Not observed any growth under film samples

SONUÇ

Bu çalışmada, TO, PSO ve GSO içeren CH filmler üretilmiş ve bu yağların CH filmlerin fiziksel özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. CH filmlere esansiyel yağ ilavesi, filmlerin kalınlık, WVP ve su tutma kapasitesi değerlerinde önemli ölçüde azalışa neden olurken, filmlerin çözünürlük değerleri etkilenmemiştir. CH filmlere esansiyel yağ ilavesi, filmlerin optik özelliklerini ve gerilme kuvvetini etkilememiş ancak elastikiyet değerlerinde artışa neden olmuştur. En yüksek salınım hızı ise, CH-TO film örneklerinde gözlenmiştir. Tüm film örnekleri, test mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, TO, PSO ve GSO içeren CH filmlerin sahip oldukları aktif özellikler sayesinde gıda ambalajlama

Antimikrobiyel Aktivite

CH, doğal olarak antimikrobiyel etkiye sahip olduğu için tüm film örneklerinin altında mikrobiyal gelişim gözlenmemiştir (Çizelge 5). Ancak, CH filmlerin etrafında inhibisyon alanı oluşmamıştır. Bu durum, agar difüzyon tekniğinde CH'ın agar boyunca diffüze olmaması ile bağlantılıdır ve CH'ın ancak direkt temas halinde olan mikroorganizmalara karşı etkili olabileceği anlaşılmaktadır (Coma vd., 2002). CH-GSO film örnekleri *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı ve CH-PSO film örnekleri ise sadece *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon alanı oluştururken CH-TO film örneklerinin tüm mikroorganizmalara karşı inhibisyon alanı oluşturduğu gözlenmiştir (Çizelge 5).

uygulamalarında kullanılacak potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

Abbasi, H., Rezaei, K., Emamdjomeh, Z., & Mousavi, S.M.E. (2008). Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil. *Eur J Lipid Sci Tech* 110(5):435-440.

Abdollahi, M., Rezaei, M., Farzi, G. (2012). Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *Int J Food Sci Tech* 47(4):847-853.

Agostini, F., Bertussi, R.A., Agostini, G., Dos, A., Santos, A.C., Rossato, M., Vanderlinde, R. (2012). Supercritical extraction from vinification residues: fatty acids, α -tocopherol, and phenolic

- compounds in the oil seeds from different varieties of grape. *Sci World J* 2012:790486.
- ASTM (1995). American Society for Testing and Materials. Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standard Designations: E96-95. Philadelphia, PA.
- ASTM. (2001). American Society for Testing and Materials. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard Designations: D882. Philadelphia, PA.
- Avrupa Birliği Yönetmeliği. (2016). 2016/1416 of 24 August 2016 amending and correcting Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.
- Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., Idaomar, I. (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem Toxicol* 46(2):446-475.
- Bonilla, J., Vargas, M., Atares, A., Chiralt, A. (2014). Effect of chitosan essential oil films on the storage-keeping quality of pork meat products. *Food Bioprocess Tech* 7(8):2443-2450.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-A review. *Int J Food Microbiol* 94(3):223-253.
- Choo, K., Ching, Y.C., Chuah, C.H., Julai, S., Liou, N.S. (2016). Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-chitosan composite films reinforced with cellulose nanofiber. *Materials* 9(8):E644.
- Coma, V., Martial Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *J Food Sci* 67(3):1162-1169.
- Costantini, S., Rusolo, F., De Vito, V., Moccia, S., Picariello, G., Capone, F., Guerriero, E., Castello, G., Volpe, M. G. (2014). Potential anti-inflammatory effects of the hydrophilic fraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil on breast cancer cell lines. *Molecules* 19(6):8644-60.
- Çavdar, H.K., Yanık, D.K., Gök, U., Göğüş, F. (2017). Optimisation of Microwave Assisted Extraction of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Seed Oil and Evaluation of Its Physicochemical and Bioactive Properties. *Food Technol Biotech* 55(1):86-94.
- De Sousa, J.P., de Azeredo, G.A., de Araújo Torres, R., da Silva Vasconcelos, M.A., da Conceição, M.L., de Souza, E.L. (2012). Synergies of carvacrol and 1,8-cineole to inhibit bacteria associated with minimally processed vegetables. *Int J Food Microbiol* 154(3):145-151.
- Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *J Sci Ind Res India* 63(1):20-31.
- Friesen, K., Chang, C., Nickerson, M. (2015). Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. *Food Chem* 172:18-23.
- Garavaglia, J., Markoski, M.M., Oliveira, A., Marcadenti, A. (2016). Grape Seed Oil Compounds: Biological and Chemical Actions for Health. *Nutr Metab Insights* 9:59-64.
- Guarda, A., Rubilar, J.F., Miltz, J., Galotto, M.J. (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *Int J Food Microbiol* 146(2):144-150.
- Hosseini, M.H., Razavi, S.H., Mousavi, M.A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *J Food Process Pres* 33(6):727-743.
- Jahed, E., Khaledabad, M.A., Almasi, H., Hasanzadeh, R. (2017a). Physicochemical properties of *Carum copticum* essential oil loaded chitosan films containing organic nanoreinforcements. *Carbohydr Polym* 164:325-338.
- Jahed, E., Khaledabad, M.A., Bari, M.R., Almasi, H. (2017b). Effect of cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* essential oil-loaded chitosan films. *React Funct Polym* 117:70-80.
- Kıralan, M., Gölükçü, M., Tokgöz, H. (2009). Oil and Conjugated Linolenic Acid Contents of Seeds from Important Pomegranate Cultivars (*Punica granatum* L.) Grown in Turkey. *J Am Oil Chem Soc* 86(10):985-990.

- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem* 85(4):633–640.
- Lee, D.S. (2005). Packaging containing natural antimicrobial or antioxidative agents. In: *Innovations in Food Packaging*, Han, J. (ed.), Elsevier Science & Technology Books, pp. 108–119.
- Li, B., Kennedy, J.F., Jiang, Q.G., Xie, B.J. (2006). Quick dissolvable, edible and heat sealable blend films based on konjac glucomannan-gelatin. *Food Res Int* 39:544–549.
- Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., Yu, L.L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chem* 128(2):391–399.
- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Bailén, G., Zapata, P., Serrano, Castillo, S., Valero, D. (2007). Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. *Int J Food Microbiol* 115(2):144–148.
- Mayachiew, P., Devahastin, S. (2010). Effects of drying methods and conditions on release characteristics of edible chitosan films enriched with Indian gooseberry extract. *Food Chem* 118(3):594–601.
- Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini S.M.H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chem* 122(1):161–166.
- Pereda, M., Aranguren, M.I., Marcovich, N.E. (2010). Caseinate films modified with tung oil. *Food Hydrocolloid* 24(8):800–808.
- Riberio-Santos, R., Ramos de Melo, N., Andrade, M., Azevedo, G., Machado, A. V., Carvalho-Costa, D., Sanches-Silva, A. (2017). Whey protein active films incorporated with a blend of essential oils: Characterization and effectiveness. *Packag Technol Sci* 31(1):27–40.
- Rombaut, N., Savoie, R., Thomasset, B., Bélliard, T., Castello, J. Hecke, E., Lanoisellé, J.L. (2014). Grape seed oil extraction: interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. *CR Chim* 17(3):284–292.
- Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z., Batooli, H. (2009). GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chem* 115(4):1524–1528.
- Seydim, A.C., Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res Int* 39(5):639–644.
- Shinagawa, F.B., Santana, F.C., Torres, L.R.O., Mancini-Filho, J. (2015). Grape seed oil: a potential functional food. *Food Sci Technol (Campinas)* 35(3):399–406.
- Siripatrawan, U., Harte, B.R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloid* 24(8):770–775.
- Soni, B., Schilling, M.W., Mahmoud, B. (2016). Transparent bionanocomposite films based on chitosan and tempo-oxidized cellulose nanofibers with enhanced mechanical and barrier properties. *Carbohydr Polym* 151:779–789.
- Talon, E., Trifkovic, K.T., Vargas, M., Chiralt, A., Gonzalez-Martinez, C. (2017). Release of polyphenols from starch chitosan based films containing thyme extract. *Carbohydr Polym* 175:122–130.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T. (2013). Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelation incorporated with root essential oils. *J Food Eng* 117(3):350–360.
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A. Gonzalez-Martinez, C. (2009). Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloid* 23(2):536–547.
- Weska, R., Moura, J., Batista, L., Rizzi, J., Pinto, L. (2007). Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. *J Food Eng* 80(3):749–753.

Xu, Y.X., Kimb, K.M., Hanna, M.A., Nag, D. (2005). Chitosan- starch composite film: Preparation and characterization. *Ind Crop Prod* 21(2):185-192.

Xylia, P., Chrysargyris, A., Botsairs, G., Tzortzakis, N. (2017). Mint and pomegranate extracts/oils as antibacterial agents against *Escherichia coli* O157:57 and *Listeria monocytogenes* on shredded carrots. *J Food Safety* 38(1):1-8.

Yasser, S. (2017). The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil as biodegradable materials for active food packaging. *Int J Biol Macromol* 99:746-753.

Youn, D., No, H., Prinyawiwatkul, W. (2007). Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. *Carbohydr Polym* 69:707-712.

MINERAL COMPOSITION AND SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF ICE CREAMS MANUFACTURED WITH THE ADDITION OF BLUEBERRY

Tuba Erkaya Kotan*

Department of Food Processing, Erzurum Vocational High School, Atatürk University, Erzurum, Turkey

Received / Geliş: 30.03.2018; Accepted / Kabul: 08.06.2018; Published online / Online baskı: 05.07.2018

Erkaya Kotan, T. (2018). Mineral composition and some quality characteristics of ice creams manufactured with the addition of blueberry. *GIDA* (2018) 43 (4): 635-643 doi: 10.15237/gida.GD18042

ABSTRACT

In this study, determination of some physicochemical (total dry matter, fat, ash, protein, titratable acidity, pH, complete melting time and first dripping times), sensory properties (color and appearance, resistant to melting, body and texture, flavor, gumming structure, general acceptability), and mineral contents of ice cream produced by adding blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) at different ratios was aimed. Ice creams consisted of four different samples which are control, containing 5%, 10% and 15% blueberry (BB), respectively. In the experimental ice cream samples, a decrease in total solid, fat, protein, pH and complete melting time was observed with the increment of BB, while an increase was determined in overrun and viscosity values. BB addition was also increased the contents of K, Zn, Mn and Se minerals of the ice creams. While there was no statistically significant difference in the scores given by panelists to ice cream samples, a significant ($p < 0.05$) decrease in only gumming structure scores was observed with the increase in BB addition.

Keywords: Ice cream, blueberry, mineral composition, physicochemical and sensory analyses

YABAN MERSİNİ İLAVESİYLE ÜRETİLEN DONDURMALARIN MİNERAL İÇERİKLERİ VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİ

ÖZ

Bu çalışmada farklı oranlarda yaban mersini (*Vaccinium myrtillus* L.) ilavesiyle üretilen dondurmaların bazı fizikokimyasal (toplam kurumadde, yağ, kül, protein, titrasyon asitliği, pH, toplam erime süresi ve ilk damlama süreleri) ve duyuşal özellikleri (renk ve görünüş, erime direnci, yapı ve tekstür, lezzet, sakızimsı yapı, genel kabul edilebilirlik) ile mineral içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Dondurmalar sırasıyla kontrol, %5, %10 ve %15 oranlarında yaban mersini (YM) içeren olmak üzere 4 farklı örnekten oluşmuştur. Deneme dondurma örneklerinde YM oranının artışıyla toplam kurumadde, yağ, protein, pH ve toplam erime süresi değerlerinde azalma görülürken, hacim artışı ve viskozite değerlerinde ise artış tespit edilmiştir. YM ilavesi dondurmaların K, Zn, Mn ve Se mineralleri içeriklerini de artırmıştır. Dondurma örneklerine panelistler tarafından verilen puanlarda genel olarak istatistiksel bir fark görülmezken, YM ilavesinin artışı ile yalnızca sakızimsı yapı puanlarında önemli ($p < 0.05$) bir azalma saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Dondurma, yaban mersini, mineral kompozisyon, fizikokimyasal ve duyuşal analizler

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ terkaya@atauni.edu.tr,

☎ (+90) 442 231 2288

☎ (+90) 442 231 2503

INTRODUCTION

Ice cream is one of the most consumed frozen dairy products in worldwide (Gorski, 1997), and in recent years, its production has increased rapidly. However, the commercially available ice cream is generally lacking in natural antioxidants like vitamin C, polyphenols and pigments. Therefore, it is interesting to find out the possibilities of improving the nutritional properties of ice cream using some ingredients having health benefits (El-Nagar et al., 2002; Van Kleef et al., 2002; Gidley, 2004). Using fruits in the ice cream production provides some nutritional benefits due to their natural antioxidants, anthocyanin, colorants, vitamins and minerals in light of consumer demands. The fundamental characteristics of many fruits or plants, especially their potential use as novel nutraceuticals in functional foods are being investigated. Recently, use of some ingredients with nutritional and physiological properties such as some fruits, fruit products, fruit juices, alternative sweeteners, dietary fibers, probiotics and other additives in ice cream production has rapidly increased owing to demand of consumers to the beneficial foods (Diplock et al., 1999; Balthazar et al., 2015).

Berries have comparatively high antioxidant activity with their contents of anthocyanin and total phenolic compounds (Heinonen et al., 1998; Pior et al., 1998; Connor et al., 2002; Primetta et al., 2013). Many of the beneficial effects related with berry fruits may be due to the high concentrations of anthocyanin compounds. Scientific reports recommend that anthocyanin-rich berries or its products show great protective effects with potential advantages for human and animal health. Anthocyanins may also act as antioxidative, anti-inflammatory, neuroprotective, vasoprotective and inhibitor for the growth of cancerous cells have been stated (Kong et al., 2003). Among the berry species, blueberry is also rich source of the naturally occurring phenolic pigments, anthocyanins and antioxidants. Also, blueberry is an excellent source of fiber and has a low amount of calories and sodium content (Sara1 et al., 2014). Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) is generally growth different regions in Northern

America, Europe and Northern Asia. In Turkey, *Vaccinium myrtillus* L. is largely found in Artvin, Rize, Trabzon, Giresun and Ordu, and offer a variety of wildlife (Çelik, 2004; Sara1 et al., 2014). Recently, cultivation of blueberry has become popular, because of increasing international demand for its berries (Gümü1 et al., 2009).

Chemical composition of blueberry forms of 87.70% moisture, 0.48% protein, 0.19% lipid, 11.54% carbohydrates, 1.90% dietary fibres, vitamins and mineral substances (calcium, magnesium, potassium, iron, zinc and phosphorus) (de Souza et al., 2014). Konic´-Ristic´ et al. (2011) investigated mineral composition of berry juices and they emphasized that berry juices are good sources of some minerals, and based on average intake of berries and related products contribute significantly to daily intake of these micronutrients. The consumption of blueberries has been suggested by the researchers due to their effects on suppression oxidative stress (Sellappan et al. 2002; Ahmet et al. 2009), infections (Sweeney et al., 2002), and kidney injury (Nair et al., 2014), and improvement of vascular health (Erlund et al., 2008). These useful properties have been imputed to bioactive berry compounds, relatively high phenolic compounds, in particular anthocyanins (Subash et al., 2014). In spite of its useful effects, the consumption of blueberry fruit is not very common in Turkey. Owing to many beneficial effects of this fruit, one of the goals of this study is to contribute to its consumption investigating the possibilities of producing ice cream with blueberry. Furthermore, consumer demands for processed foods are that they are in their natural colors. From this point, another aim of this study to enhance the color of ice cream using this fruit.

Briefly, the aims of this work were to study possibility of production a new functional food, to increase the nutraceutical potential and nutritive value of ice cream using blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) as a natural ingredient and to evaluate the effect of blueberry on the chemical and sensory characteristics and mineral concentrations of ice cream.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Cows' milk and cream were obtained by the Research and Application Farm of Atatürk University. The blueberry was collected from cultivated fields in Rize in Turkey. Sugar, salep and emulsifier (mono- and di-glycerides) were obtained from local markets. Skim milk powder was supplied by Pınar Dairy Products Co. (Turkey).

Ice cream Manufacture

Ice cream samples were produced in the Pilot Plant of Food Engineering Department, Atatürk University. The mixes of ice creams were prepared by setting fat ratio of cows' milk to 6% with cream addition. Afterwards, the milk was divided into 4 equal parts of 3.5 kg. For each mix 3.75% skim milk powder, 10% sugar, 0.7% salep (stabilizer) and 0.25% emulsifier (mono- and di-glycerides) were added. The sugar ratio was 15% in control mix. The mixes were pasteurized at 85 °C for 25 min and were rapidly cooled to 4 °C and remained at constant temperature for 24 h to be aged. The first mix was taken as the control (C) and the other mixes (BB_{5%}, BB_{10%}, BB_{15%}) were prepared with different levels of the blueberry (BB) after the fruit minced into small pieces. They were frozen in ice cream machinery (-5 °C) (Ugur Cooling Machineries Co., Nazilli Turkey) and hardened at -22 °C for one day and stored at -18 °C throughout physical, chemical and sensory analysis. Ice cream manufacture was performed in duplicate.

Chemical and Mineral Analyses

The total solid (%) and ash (%) contents of ice cream samples were determined using the gravimetric method, fat content (%) by the Gerber method and protein content (%) using the Kjeldahl method. The pH was measured using a pH meter (model WTW pH-340-A, Weilheim, Germany) fitted with a combined glass electrode. The titratable acidity was determined as lactic acid percentage by titrating with 0.1 N NaOH, using phenolphthalein as an indicator (AOAC International, 2000).

For the measurement of nutraceutical potential of blueberry, mineral composition were determined in ice cream samples. Mineral contents (Ca, Mg, Na, P, K, Fe, Mn, Ni, S, Zn) of ice cream samples were detected using an Inductively Couple Plasma spectrophotometer (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT, USA) and following the method proposed by Güler (2007). Decomposition of ice cream samples was performed in a microwave oven (Berghof speed wave, Germany). For this purpose, about 0.5 g ice-cream sample was weighed into the digestion vessels. Concentrated nitric acid (10 mL) was added and after that, digestion was carried out to each sample at 210 °C and 176 psi pressure for 10 min. After cooling, the carousels were removed from the oven, 30% hydrogen peroxide (2 mL) was added to samples and then second digestion was applied at 195 °C and 95 psi pressure for 5 min. The vessels were immediately closed after the addition of oxidants. At the end of the digestion process, the samples were diluted with distilled water to a suitable concentration, and were filtered through Whatman no. 42 filter paper. All diluted digests were eventually analyzed by an Inductively Couple Plasma spectrophotometer (ICP-OES).

Physical Analyses

For determination of first dripping and complete melting times, the method of Güven and Karaca (2002) was used. The tempered samples (25 g) were left to melt (at room temperature, 20 °C) on a 0.2 cm wire mesh screen above a beaker. First dripping and complete melting times of samples were determined as seconds. Overrun was calculated according to the equation $[(\text{volume of ice cream}) - (\text{volume of mix}) / \text{volume of mix} \times 100]$ given by Jimenez-Florez, Klipfel and Tobias (1993), using a standard 100 ml cup. The viscosities of the mixes were taken at 4 °C using a digital Brookfield Viscometer, Model DV-II (Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, MA, USA) with an RV spindle set (spindle No. 2) at 50 rpm. Before measurement of the viscosity, the samples were stirred gently (Özer et al., 1997).

Sensory Analysis

The sensory evaluation of the ice cream samples was conducted by 8 panelists using a score test for flavour, body and texture, colour and appearance, resistant to melting and general acceptability. Hardened ice cream samples were tested at a serving temperature of -10 °C. The sensory characteristics were assessed on a scale from 1, for very poor, to 9, for excellent (Roland et al., 1999).

Statistical Analysis

The data were analyzed statistically using SPSS statistical software programme version 13 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) Analysis of variance (ANOVA) and Duncan's Multiple Range Test was used to determine significant differences among results.

RESULTS AND DISCUSSION

Physical and chemical characteristics of ice creams

Table 1 shows the results of gross chemical composition and physicochemical properties of ice cream samples. For compositional properties of the ice cream samples total solids, protein, fat and ash contents were detected. The addition of BB significantly affected the gross chemical composition except for ash values of ice cream samples ($P < 0.05$). As expected, the increment of BB caused a decrease in total solids, protein and fat values of the ice creams. Also, Öztürk et al. (2018) detected that dark and white blue fruits pulp addition caused a decrease in the protein, ash and fat contents of ice creams. On the hand, this result was in contrast with the results in ice cream added Cape gooseberry found by Erkaya *et al.* (2012).

Table 1. Effect of the addition of blueberry on the gross chemical composition of ice creams

Ice cream samples	Total Solids (%)	Ash (%)	Fat (%)	Protein (%)
C	28.73±0.93 ^c	0.73±0.01 ^a	5.60±0.00 ^c	5.11±0.16 ^b
BB _{5%}	29.07±0.23 ^c	0.71±0.03 ^a	5.40±0.14 ^{bc}	4.53±0.52 ^{ab}
BB _{10%}	27.91±0.13 ^b	0.70±0.04 ^a	4.85±0.07 ^{ab}	3.92±0.31 ^a
BB _{15%}	26.83±0.04 ^a	0.69±0.02 ^a	4.30±0.42 ^a	3.95±0.07 ^a

¹ Mean values followed by different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$)

² C: control without blueberry, BB_{5%}: 5% (w/w) blueberry added, BB_{10%}: 10% (w/w) blueberry added, BB_{15%}: 15% (w/w) blueberry added.

The titratable acidity values of the samples ranged from 0.24-0.44%. It was observed that a constant increase in titratable acidity while a decrease in pH values of the samples as increasing concentrations of BB (Table 2). The decrease of pH may be

resulted from the existence of various natural acid compounds in berries, such as ascorbic acid, fatty acids, etc. So, these acids naturally found in BB might be reduced pH values of the ice cream samples as well as to increase the acidity values.

Table 2. Effect of the addition of blueberry on the physicochemical properties of ice creams

Ice cream samples	Titratable acidity (%)	pH	Viscosity (cP)	Overrun (%)	Complete Melting Times (s)	First dripping time (s)
C	0.24±0.00 ^a	6.56±0.02 ^d	950±14.14 ^a	20.33±1.39 ^a	7470±42.43 ^d	1380±169.70 ^a
BB _{5%}	0.35±0.03 ^b	6.14±0.04 ^c	1165±21.21 ^b	22.96±1.27 ^{ab}	6300±0.00 ^c	1500±69.71 ^a
BB _{10%}	0.38±0.01 ^b	5.96±0.04 ^b	1645±35.35 ^b	24.45±1.27 ^b	4680±0.00 ^b	1440±84.85 ^a
BB _{15%}	0.44±0.00 ^c	5.76±0.05 ^a	1350±141.4 ^c	25.61±1.06 ^b	4530±42.43 ^a	1440±169.71 ^a

¹ Mean values followed by different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$)

² C: control without blueberry, BB_{5%}: 5% (w/w) blueberry added, BB_{10%}: 10% (w/w) blueberry added, BB_{15%}: 15% (w/w) blueberry added.

Overrun value is a measure of air amount of ice cream for identifying of the final product's structure (Sofjan and Hartel, 2004). As seen in Table 2, the percentage of overrun among ice cream samples with BB was significantly different than control sample and the highest overrun value was determined in sample BB_{15%} (25.61%). Akin (1990) denoted that the difficulty in increasing the overrun over 35–40% in soft and semisoft ice creams produced in batch-type freezing machines. However, BB addition increased overrun values of the ice creams. This may be resulted from the physicochemical properties of BB which had a juicy and soft structure. Viscosity of mix affects body and texture for this reason it is an important characteristic of ice cream. The viscosity values of ice cream samples with BB increased significantly when compared to the control group (Table 2). Similar results were found in grape wine lees added ice cream by Hwang et al. (2009), in frozen yogurt by Güven and Karaca (2002) and in ice cream with green tea powder Yüksel et al. (2017).

The melting resistance of ice cream is affected by many factors, including the amount of air incorporated, the nature of the ice crystals, and the network of fat globules formed during freezing (Bolliger et al., 2000; Muse and Hartel, 2004). As shown in Table 2., control sample (C) had the longest complete melting times value (7470 s) followed by BB_{5%}, BB_{10%} and BB_{15%} samples (6300, 4680, 4530 s, respectively). This might be explained by the physicochemical properties of BB. The decrease of complete melting times for ice creams with BB was in agreement with the results indicated by Kavaz Yüksel (2015) who studied the effects of blackthorn addition on the ice cream characteristics. The first dripping times values ranged from 1380 to 1500 s. The addition of BB to the ice cream did not affected the first dripping times values. In light of these results, it could be stated that BB had major significance on melting times of ice cream.

Mineral contents of ice cream samples

Table 3. demonstrates the major elements detected in the ice cream samples. In general, the

major elements of ice cream samples were not significantly affected by addition of BB. However, Ca and K minerals demonstrated statistically significant differences between control ice cream and others ($P < 0.05$). Ca levels of ice creams showed a significant decrease with the addition of BB, it was ranged as 533.25-1051.21 mg/kg from control sample to BB_{15%} sample. Conversely, K content reached to level of 14264 mg/kg with the addition of 15% BB to the ice cream samples. Konic'-Ristic' et al. (2011) investigated the chemical composition of different berry juices and also compared mineral contents of them. They reported that the major element in berry juices was K and its content ranged from 92.9 mg/100 g to 208.7 mg/100 g. They also stated that berry fruits were good sources of some minerals and contributed significantly to daily intake of these micronutrients. Szefer and Nriagu (2007) reported that K had a crucial importance on the physiological functions of the human body. Erkaya et al. (2012) reported that the addition of CG increased the K content of the ice cream samples and the highest mineral was found to be K in all samples. On the other hand, Ca contents of ice cream samples added BB decreased with the increase of fruit levels. The decrease in the concentration of Ca in the enriched ice cream samples was due to the low Ca content of the blueberry fruit. In the contrary, the increase in the concentration of K in the enriched ice cream samples was due to the high amount of K in the blueberry fruit.

Fe, Mn, Ni, Cu, Zn, Se and Mo are defined as micro elements. The essential minor elements have four major functions as stabilizers, essential elements for hormonal function, elements of structure and cofactors in enzymes (Feinendegen and Kasperek, 1980). Changes in micro element values in ice cream samples are presented in Table 4. Cu, Fe, Zn, Mn, Se and Ni were determined as minor elements in ice cream samples. The addition of BB significantly increased Zn, Mn and Se contents of the ice creams ($P < 0.05$). Zn and Se play an important role in the human body such as enzymes and proteins, hormones, growth, antioxidant property, skin and wound healing, immune systems, water and caution balance,

behavior and learning ability. The bioavailability of Se in fruits, vegetables and cereal products are higher than that in other foods (Şimşek et al., 2004). Similarly, Mn affects enzyme activity, bone growth, lipid and carbohydrate metabolism, cell structure, immune and brain functions (McDowell, 2003). As seen in Table 4, BB supplementation up to 15% provided an increase

approximately 10 times in Mn contents of ice cream sample when compared to control sample. Besides, Se and Zn values increased approximately 2 times in ice cream with the addition of 15% BB. These results are important especially in terms of increasing the nutritional value of ice cream.

Table 3. Effect of the addition of blueberry on the major elements (mg/kg) of ice creams

Ice cream samples	Ca	K	P	S	Na	Mg
C	1051.21±72 ^b	8994±8.48 ^a	5226.61±551 ^a	2091.93±942 ^a	10354.50±715 ^a	670.58±53.21 ^a
BB _{5%}	649.91±194 ^a	12076±643.46 ^b	5075.63±772 ^a	1649.23±89 ^a	10896.65±12 ^a	725.50±8.47 ^a
BB _{10%}	469.36±39 ^a	13183±830.85 ^{bc}	5065.86±941 ^a	1442.61±94 ^a	10855.65±176 ^a	731.01±0.04 ^a
BB _{15%}	533.25±77 ^a	14264±562.14 ^c	4754.46±125 ^a	1344.64±48 ^a	10870.65±613 ^a	762.82±56.71 ^a

¹ Mean values followed by different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$)

² C: control without blueberry, BB_{5%}: 5% (w/w) blueberry added, BB_{10%}: 10% (w/w) blueberry added, BB_{15%}: 15% (w/w) blueberry added.

Table 4. Effect of the addition of blueberry on the minor elements (mg/kg) of ice creams

Ice cream samples	Cu	Fe	Mn	Ni	Se	Zn
C	25.33±4.70 ^a	57.06±23.18 ^a	0.30±0.14 ^a	1.52±0.99 ^a	1.57±0.09 ^a	47.71±0.42 ^a
BB _{5%}	21.43±0.22 ^a	77.80±37.58 ^a	4.27±0.14 ^b	3.87±1.31 ^a	2.49±0.26 ^b	50.84±16.28 ^a
BB _{10%}	20.25±39.11 ^a	64.11±25.45 ^a	8.17±0.13 ^c	2.78±0.41 ^a	2.71±0.23 ^b	48.30±1.26 ^a
BB _{15%}	23.64±9.59 ^a	49.36±5.21 ^a	11.81±0.38 ^d	2.92±0.30 ^a	2.97±0.38 ^b	89.04±12.08 ^b

¹ Mean values followed by different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$)

² C: control without blueberry, BB_{5%}: 5% (w/w) blueberry added, BB_{10%}: 10% (w/w) blueberry added, BB_{15%}: 15% (w/w) blueberry added.

Sensory characteristics of ice cream samples

Sensory attributes of the ice cream samples on a scale from 1 (very bad) to 9 (excellent) are profiled in a radar in Figure 1. All the samples received high scores for total evaluation in terms of sensory properties. According to the statistical evaluations, the addition of BB had no effect ($P > 0.05$) on the scores of colour and appearance, resistant to melting, flavour, body and texture, and general acceptability characteristics.

However, gumming structure scores of the ice cream samples were significantly affected ($P < 0.05$) by the incorporation of BB. The scores for gumming structure were significantly decreased with the increase of BB concentration. This result was parallel to the analysis of complete melting times. So, the improved mouthfeel of the samples containing fruit may be associated with increased meltability.

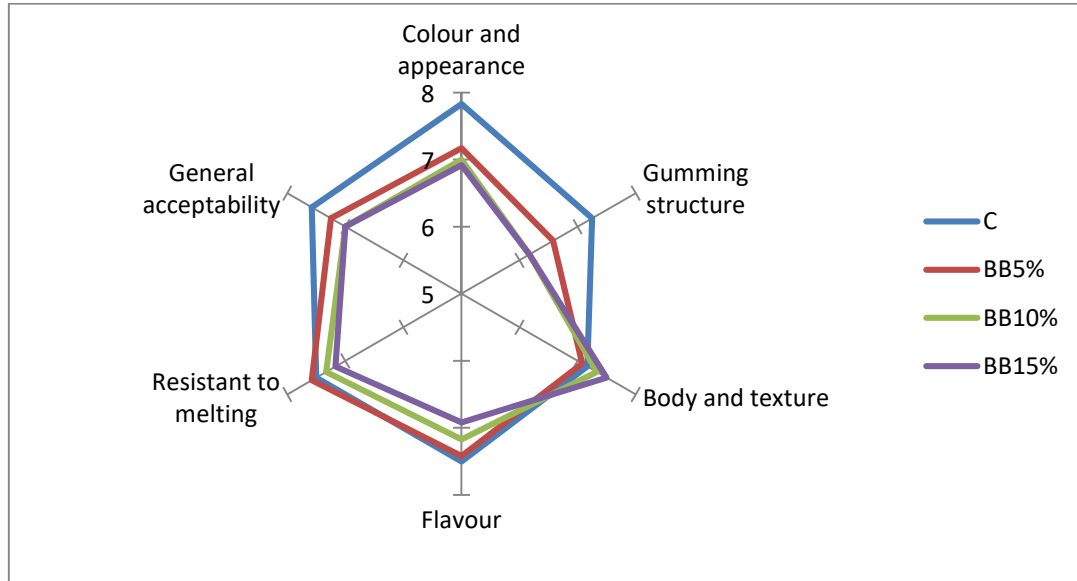


Fig. 1. Changes in sensory profiles of ice cream samples (C: control without blueberry, BB_{5%}: 5% (w/w) blueberry added, BB_{10%}: 10% (w/w) blueberry added, BB_{15%}: 15% (w/w) blueberry added.)

CONCLUSION

In conclusion, results of this study demonstrated that the addition of blueberry improved some quality and nutritional properties of ice cream. It was observed that BB addition significantly contributed to increase some major and minor elements of ice cream such as K, Se, Mn and Zn which have vital importance for the human body. Also, ice cream samples with BB had taken good scores by the panelists. Therefore, it can be recommended that BB may be added to ice cream as a natural source to increase nutritional values and to develop physicochemical properties.

REFERENCES

Ahmet, I., Spangler, E., Shukitt-Hale, B., Juhaszova, M., Sollott, S.J., Joseph, J.A. (2009). Blueberry-enriched diet protects rat heart from ischemic damage. *PLoS ONE*, 4(6): e5954.

Akin, M.S. (1990). Inek, Keci ve Koyan Sutlerinden Uretilen Dondurmaların Kimyasal, Fiziksel ve Duyusal Bazı Özelliklerinin Saptanması Uzerine Karsilastirmali Arastirma. Adana: Yuksek Lisans Tezi, Cukurova Universitesi Ziraat Fakultesi Basimevi.

AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Balthazar, C.F., Silva, H.L.A., Celeguini, R.M.S., Santos, R., Pastore, G.M., Junior, C.C.A., Freitas, M.Q., Nogueira, L.C., Silva, M.C., Cruz, A.G. (2015). Effect of galactooligosaccharide addition on the physical, optical, and sensory acceptance of vanilla ice cream. *J Dairy Sci*, 98, 4266-4272.

Bolliger, S., Wildmoser, H., Goff, H.D., Tharp, B.W. (2000). Relationships between ice cream mix viscosity and ice crystal growth in ice cream *Int Dairy J*, 10, 791-797.

Çelik, H. (2004). Karadeniz için yeni bir meyve türü likapa (yaban mersini) (in Turkish). *Ekoloji Magazin* 1, 50-53.

Connor, A.M., Luby, J.J., Hancock, J.F., Berkheimer, S., Hanson, E.J. (2002). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *J Agric Food Chem*, 50, 893-898.

de Souza, V.R., Pereira, P.A.P., da Silva, T.L.T., de Oliveira Lima, L.C., Pio, R., Queiroz F. (2014). Determination of the bioactive compounds,

- antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem*, 156, 362-368.
- Diplock, A.T., Aggett, P.J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E.B., Roberfroid, M.B. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *Br J Nutr*, 81, 1-27.
- El-Nagar, G., Clowes, G., Tudorik, C.M., Kuri, V., Brennan, C.S. (2002). Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. *Int J Dairy Technol* 55, 89–93.
- Erkaya, T., Dağdemir, E., Şengül, M. (2012). Influence of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) addition on the chemical and sensory characteristics and mineral concentrations of ice cream. *Food Res Int*, 45,331–335.
- Erlund, I., Koli, R., Alfthan, G., Marniemi, J., Puukka, P., Mustonen, P., Jula, A. (2008). Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr*, 87(2), 323-331.
- Feinendegen, L.E., Kasperek, K. (1980). Medical aspects of trace element research. *Trace Elem Anal Chem Med Biol*, 45, 1–17.
- Gidley, M.J. (2004). Naturally functional foods-challenges and opportunities. *Asia Pac J Clin Nutr*, 13, 31 p.
- Gorski, D. (1997). *American market trends*. W. Buchheim (Ed.), Session V: Market trends in ice cream. Proceedings of the international symposium, International Dairy Federation, Athens, Greece, 145-151 pp.
- Güler, Z. (2007). Levels of 24 mineral elements in local goat milk, strained yoghurt and salted yoghurt (tuzlu yoğurt). *Small Rumin Res*, 71,130-137.
- Gümüş, C., Ölmez, Z., Ölmez, G., Kalender, Ç. (2009). Artvin’de yaban mersini (*Vaccinium* sp., Likapa) yetiştiriciliği eğitimi konulu AB projesinin tanıtımı ve projenin yürütülmesinde karşılaşılan güçlükler ve sorunlar (in Turkish). II. Ormanlıkta Sosyo-Ekonomik Sorunlar Kongresi, 19-21 Şubat, Isparta, 81-88.
- Guven, M., Karaca, O.B. (2002). The effects of varying sugar content and fruit concentration on the physical properties of vanilla and fruit ice-cream-type frozen yogurts. *Int J Dairy Technol*, 55, 27-31.
- Heinonen, I.M., Meyer, A.S., Frankel, E.N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J Agric Food Chem*, 46, 4107-4112.
- Hwang, J.Y., Shyu, Y.S., Hsu, C.K. (2009). Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. *LWT - Food Sci Technol*, 42,312–318.
- Jimenez-Florez, R., Klipfel, N.J. and Tobias, J. (1993). Ice cream and frozen desserts. In Dairy Science and Technology Handbook, Product Manufacturing (Y.H. Hui, ed.) pp. 57–159, VCH Publishers, New York, NY.
- Kavaz Yuksel, A. (2015). The effects of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) addition on certain quality characteristics of ice cream. *J Food Qual*, 38(6), 413-421.
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923–933.
- Konić-Ristić, A., Šavikin, K., Zdunić, G., Janković, T., Juranic, Z., Menković, N., Stanković, I. (2011). Biological activity and chemical composition of different berry juices. *Food Chem*, 125 (4), 1412-1417.
- McDowell LR. 2003. *Minerals in Animal and Human Nutrition*, Elsevier Science B.V. Amsterdam, Netherland, 644 p.
- Muse, M.R., Hartel, R.W. (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *J Dairy Sci*, 87, 1-10.
- Nair, A.R., Elks, C.M., Vila, J., Del Piero, F., Paulsen, D.B., Francis, J. (2014). A blueberry-enriched diet improves renal function and reduces oxidative stress in metabolic syndrome animals: potential mechanism of TLR4-MAPK signaling pathway. *PLoS One*, 9 (11), e111976.

- Özer, B., Robinson, R.K., Grandison, A.S., Bell, A.E. (1997). Comparison of Techniques for Measuring the Rheological Properties of Labneh (Concentrated Yoghurt). *Int J Dairy Technol*, 50, 129–133.
- Öztürk, H. İ., Demirci, T., & Akın, N. (2017). Production of functional probiotic ice creams with white and dark blue fruits of *Myrtus communis*: The comparison of the prebiotic potentials on *Lactobacillus casei* 431 and functional characteristics. *LWT. Food Sci Technol*, 90, 339-345.
- Pior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainland, C.M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J Agric Food Chem*, 46, 2686-2693.
- Primetta, A.K., Jaakola, L., Ayaz, F.A., Inceer, H., Riihinen, K.R. (2013). Anthocyanin fingerprinting for authenticity studies of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Food Control*, 30, 662–667.
- Roland, A.M., Phillips, L.G., Boor, K.J. (1999). Effects of fat content on the sensory properties, melting, color, and hardness of ice cream. *J Dairy Sci*, 82, 32–38.
- Saral, Ö., Ölmez, Z., Şahin, H. (2014). Comparison of antioxidant properties of wild blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L. and *Vaccinium myrtillus* L.) with cultivated blueberry varieties (*Vaccinium corymbosum* L.) in Artvin region of Turkey. *Türk Tarım Gıda Bilim Teknoloj Derg*, 3(1), 40-44.
- Sellappan, S., Akoh, C.C., Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J Agric Food Chem*, 50(8): 2432–2438.
- Sofjan, R., Hartel, R.W. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice-cream. *Int Dairy J*, 14, 255–262.
- Subash, S., Essa, M.M., Al-Adawi, S., Memon, M.A., Manivasagam, T., Akbar, M. (2014). Neuroprotective effects of berry fruits on neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*, 9(16), 1557.
- Sweeney, M.I., Kalt, W., MacKinnon, S.L., Ashby, J., Gottschall-Pass, K.T. (2002). Feeding rats diets enriched in lowbush blueberries for six weeks decreases ischemia-induced brain damage. *Nutr Neurosci*, 5(6), 427-431.
- Szefer, P., Nriagu, J.O. (2007). Mineral Components in Foods. CRC Press, New York, NY.
- Van Kleef, E., Van Trijp, H.C., Luning, P., Jongen, W.M. (2002). Consumer-oriented functional food development: how well do functional disciplines reflect the 'voice of the consumer?'. *Trends Food Sci Technol*, 13(3), 93-101.
- Şimşek, A., Sarı, F., Artık, N. (2004). Selenyumun insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi. *Anadolu Univ J Sci Technol*, 5 (2), 245-251.
- Yüksel, A.K., Yüksel, M., Şat, İ.G. (2017). Determination of certain physicochemical characteristics and sensory properties of green tea powder (matcha) added ice creams and detection of their organic acid and mineral contents. *GIDA/ J Food*, 42 (2): 116-126.

THE EFFECTS OF CHIA (*Salvia hispanica* L.) AND QUINOA FLOURS ON THE QUALITY OF RICE FLOUR AND STARCH BASED-CAKES

Kübra Aktaş¹. Hacer Levent^{2*}

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

²Department of Nutrition and Dietetics, Health Sciences Faculty, Karamanoğlu Mehmetbey University, Karaman, Turkey

Received / Geliş: 28.03.2018; Accepted / Kabul: 13.06.2018; Published online / Online baskı: 16.07.2018

Aktaş, K., Levent, H. (2018). The effects of chia (*Salvia hispanica* L.) and quinoa flours on the quality of rice flour and starch based-cakes. GIDA (2018) 43 (4): 644-654 doi: 10.15237/gida.GD18042

ABSTRACT

The rice flour and corn starch mixture used in the gluten-free cake formulation was replaced with chia flour (CF) and quinoa flour (QF) up to 25% CF and 25% QF level. The effects of CF and QF on the physical, chemical and sensory properties of gluten-free cakes were investigated. CF and QF replacement increased the ash, protein, fat, total phenolic content and antioxidant capacity of gluten-free cakes by 1.5, 1.8, 1.3, 3.5 and 2.9 times, respectively, when compared to the control samples. Statistically significant increases were found in Ca, P, K, Mg, Fe and Zn contents of cake samples ($P < 0.05$). The cakes containing CF and QF, received higher texture and taste-odour scores than control. According to the sensory analyses results it can be concluded that QF and CF can be used in gluten-free cakes up to 20% and 20% levels, respectively.

Keywords: Chia, quinoa, gluten-free cake, cake quality.

CHIA (*Salvia hispanica* L.) VE KİNOA UNLARININ PİRİNÇ UNU VE NIŞASTA BAZLI KEKLERİN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZ

Glutensiz kek formülasyonunda kullanılan pirinç unu ve mısır nişastası karışımı, %25 chia unu (CF) ve %25 kinoa unu (QF) oranına kadar CF ve QF ile yer değiştirilmiştir. Glutensiz keklerin fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerine CF ve QF'nin etkisi araştırılmıştır. CF ve QF'nin kullanımı, kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında glutensiz keklerin kül, protein, yağ, toplam fenolik içeriğini ve antioksidan kapasitesini sırasıyla 1.5, 1.8, 1.3, 3.5 ve 2.9 kat artırmıştır. Kek örneklerinin Ca, P, K, Mg, Fe ve Zn içeriklerinde istatistiksel olarak önemli artışlar belirlenmiştir ($P < 0.05$). CF ve QF içeren kekler, kontrolden daha yüksek tekstür ve tat-koku puanı almıştır. Duyuşsal analiz sonuçlarına göre QF ve CF'nin sırasıyla %20 ve %20 oranına kadar glutensiz keklerde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Chia, kinoa, glutensiz kek, kek kalitesi

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ hacrlevent@hotmail.com,

☎ (+90) 338 226 20 00/4330

☎ (+90) 338 226 21 34

INTRODUCTION

Celiac disease (CD) is a chronic inflammatory disorder of the small intestine caused by a permanent intolerance to gluten proteins found in cereal grains such as wheat, barley and rye in genetically susceptible individuals (Murray *et al.*, 2003; Saturni *et al.*, 2010). Clinical and histological improvement was achieved in celiac patients with gluten-free diet but lifelong adherence of CD patients to gluten-free diet is very difficult because products found in modern diets usually contain gluten (Green *et al.*, 2005; Caruso *et al.*, 2013). Moreover, many gluten-free products are poorer in nutrients than that of wheat-based foods intended to replace. CD affects approximately 1% of the population worldwide and there has been growing number of people diagnosed with CD by improved analytical methods. CD can occur at any age and it is necessary to produce high quality gluten-free products as an alternative to people who traditionally consume wheat-based products (Saturni *et al.*, 2010; Caruso *et al.*, 2013; Marti and Pagani, 2013; Steffolani *et al.*, 2014).

Quinoa, a pseudocereal that belongs to the *Chenopodiaceae* family (Jancurová *et al.*, 2009), has a higher nutritive value than traditional cereals (Vega-Gálvez *et al.*, 2010). It has high protein content (10-18%) with balanced amino acid composition, supplying high contents of lysine and methionine (Coulter and Lorenz, 1990; Nowak *et al.*, 2016). The fat content of raw quinoa seeds was 9.7% (dry-weight basis) and it has similar fatty acid composition with soybean oils with high amounts of essential fatty acids linoleic (52.3%) and linolenic acids (3.9%) (Coulter and Lorenz, 1990; Ruales and Nair, 1993; Jancurová *et al.*, 2009). These essential fatty acids required for good health, cannot be synthesized in human body and must be obtained from the diet (Costantini *et al.*, 2014). It contains a significant amount of fibre (2.1-4.9%), more calcium, magnesium, potassium, iron, copper, riboflavin (B2), α -Tocopherol (vitamin E), β -Carotene and ascorbic acid (vitamin C) than wheat, barley and rice (Coulter and Lorenz, 1990; Koziol, 1992; Jancurová *et al.*, 2009). It is also a rich source of other bioactive compounds (polyphenols, phytosterols, etc.) (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Furthermore, quinoa does not contain gluten and can be used safely in the production of foods for CD patients (Pagano, 2006).

The *Salvia hispanica* L., an oilseed plant, is commonly known as chia and is native from southern Mexico and northern Guatemala. It is a traditional food in Central and South America (Coates and Ayerza, 1996; Ixtania *et al.*, 2008; Norlaily *et al.*, 2012). Chia seed contains 25 to 40% oil with high essential fatty acids (omega) ω -3 alpha-linolenic acid (60%) and (omega) ω -6 linoleic acid (20%). It is also high in protein (19-23%), dietary fibre (18-30%), vitamins, minerals and antioxidants (Taga *et al.*, 1984; Ixtania *et al.*, 2008; Norlaily *et al.*, 2012). Due to its unique nutritional composition, especially its high unsaturated fatty acid composition, dietary fibre and antioxidant activities its consumption helps to increase satiety index and decreases the risk of various types of diseases such as cardiovascular diseases, cancer, diabetes, inflammatory and autoimmune diseases (Simopoulos, 2002; Muñoz *et al.*, 2013).

The aim of this study was to formulate gluten-free cake prepared from quinoa and chia flour to increase the nutritional value of gluten-free cakes and to ensure that CD patients have adequate amounts of nutrients.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Chia seeds, whole quinoa flour, rice flour, corn starch, fine granulating sucrose, all purpose shortening, skimmed milk powder, whole egg, salt, baking powder and ethyl vanillin were obtained from local markets in Konya. Chia flour (CF) was obtained by milling of chia seeds with coffee grinder (Tefal, Istanbul, Turkey). Xanthan gum (Vatan Gıda, Istanbul, Turkey) and diacetyl tartaric acid esters of mono and diglycerides (DATEM; Rikevita, Malaysia) were used in cake formulations.

Methods

Cake preparation

Control gluten-free cake sample was prepared using the following recipe: Gluten free flour

mixture (50 g rice flour: 50 g corn starch), fine granulating sucrose (75 g), shortening (75 g), whole egg (75 g), skimmed milk powder (5 g), salt (0.5 g), baking powder (4.5 g), xanthan gum (1 g), DATEM (0.5 g), ethyl vanillin (0.1 g). In CF and quinoa flour (QF) enriched cake samples, gluten-free flour mixture was replaced with 5% CF:5% QF, 10% CF:10% QF, 15% CF:15% QF, 20% CF:20% QF and 25% CF: 25% QF (w/w), respectively. All purpose shortening and fine granulating sucrose were whipped to a white cream in a Hobart mixer (Hobart N50, Canada Inc., North York, Ontario, Canada). Then eggs were added and whipped for 5 minutes then the other ingredients were added and the batter was mixed for additional 1 minute. One hundred and thirty grams of cake batter was placed into baking pans with $7.5 \times 6.6 \times 12$ cm dimensions and baked at 175 °C for 35 min in the oven (Bosch HBT 112, Athens, Greece). After baking, cakes were removed from the pan and left for 30 minutes to cool. Cooled cakes were packed in polyethylene bags and sealed at room temperature (22 °C) until their test and analyses.

Chemical properties

The cake samples were analysed for moisture (AACC Method 44-01), ash (AACC Method 08-01), protein (AACC Method 46-12) and fat (AACC Method 30-25) content according to AACC (1990). Mineral element contents of the samples were determined by inductively-coupled plasma spectroscopy, ICP-AES (Vista series, Varian International AG, Switzerland). Dry samples were digested using closed vessel microwave digestion oven (MARS 5, CEM Corporation, USA) with concentrated nitric acid and sulphuric acid. Mineral concentrations were determined by ICP-AES (Bubert and Hagenah, 1987).

Phytic acid (PA) was measured by a colorimetric method according to Haug and Lantzsch (1983). PA in the sample was extracted using a solution of HCl (0.2 mol/L) and precipitated by solution of ammonium iron (III) sulphate dodecahydrate. For determining PA, phytate phosphorus value was multiplied by a factor 3.546.

The extracts for the measurement of total phenolic content (TPC) and antioxidant capacity were prepared according to modified methods of Wronkowska *et al.* (2010). The 1 g of freshly ground samples were extracted with 10 mL of 80% aqueous methanol by shaking for 2 hours at 37 °C. Then samples centrifuged at 2600 g for 15 minutes. The fresh methanolic extracts were used to determine the TPC and their ability to scavenge DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) radicals.

The TPC of the methanolic extracts was determined by using Folin-Ciocalteu reagent as described by Wronkowska *et al.* (2010) with some modifications. Briefly, 0.1 mL aliquot extract was mixed with 0.9 mL of de-ionized water, 2 mL of sodium carbonate (10% w/v) and 1 mL of Folin–Ciocalteu reagent (90% v/v). The mixture was incubated in the dark for 1 hour at room temperature. The absorbance was then measured at 765 nm by using a spectrophotometer (Mecasys Optizen Pop UV-Vis Single Beams Spectrophotometer, 10F, 640-3, Banseok-dong, Yuseong-gu, Daejeon, Korea). The results are expressed in µg of gallic acid equivalent (GAE) per g dry weight basis.

The free radical scavenging capacity of the sample extracts was measured using a stable 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical according to the method given also by Wronkowska *et al.*, (2010) with some modifications. The extract (100 µL) was mixed with freshly made methanolic DPPH solution (250 µL, 10 mg DPPH/25 mL 80% methanol) and 80% methanol (2 mL). The mixture was left in the dark for 20 minutes at room temperature. The absorbance was then measured at 517 nm against the blank. The blank consisted of 80% methanol and the reagent solution without 80% methanolic extract added and the procedure was performed as described above. Antioxidant capacity was calculated as percentage of discolouration defined as in “Eq. 1”.

$$\text{Antioxidant capacity} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}_{t=20}} / \text{Abs}_{\text{control}_{t=0}})] \times 100$$

Eq. 1

Physical measurements

Volume index, symmetry index and uniformity index of the cakes were measured by using AACC template method 10-91 (AACC, 1990). Color measurements were made on the cake's crust and crumb by measuring L^* (light /dark), a^* (red/green), and b^* (yellow/blue) parameters with a chromo meter (Model CR 400, Minolta Camera, Co. Ltd., Osaka, Japan). The chroma (C^*) ($\sqrt{a^{*2}+b^{*2}}$) describes the brightness or vividness of color. Hue angle (H), which indicates the tone (0: reddish tones; ~ 90 =yellowish tones), was calculated as $\arctan [b^*/a^*]$ (if $a>0$ and $b>0$) or $\arctan [b^*/a^*] + 180^\circ$ (if $a<0$ and $b>0$) (Francis, 1998; Gómez *et al.*, 2008).

Specific gravity of the cake batter was calculated by dividing of the weight of a certain volume of cake batter to the weight of the same volume of distilled water (Gómez *et al.*, 2008).

Sensory properties

Cakes were evaluated by untrained panellists ($n=26$) on the basis of acceptance of appearance, texture, taste-odour, mouthfeel and overall acceptability on a nine-point hedonic scale where 1- dislike extremely, 2- dislike very much, 3- dislike moderately, 4- dislike slightly, 5- neither like nor dislike, 6- like slightly, 7- like moderately, 8- like very much, 9- like extremely.

Statistical analysis

The data were analysed by using statistical software JMP 8.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA). The values are average of triplicate determinations on two replicate cake preparations. Tukey HSD was used to determine significant differences between the treatments. Significant differences were based on a $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Analytical results

CF and QF used to prepare gluten-free cakes contain 4.21% and 3.47% ash, 19.56% and 12.36% protein, 31.87% and 5.65% fat, 2165.48 mg/100g and 1640.89 mg/100g PA, 610.68 mg/100g and 462.74 mg/100 g phytate phosphorus, 1628.45 $\mu\text{g/g}$ and 1260.14 $\mu\text{g/g}$ TPC and 88.45% and 59.95% antioxidant capacity in dry weight basis, respectively. The Ca, P, K, Mg,

Fe and Zn contents of CF and QF were 612.31 mg/100g, 987.52 mg/100g, 748.65 mg/100g, 332.14 mg/100g, 7.21 mg/100g, 4.38 mg/100g (CF) and 42.10 mg/100g, 369.94 mg/100g, 803.77 mg/100g, 182.99 mg/100g, 7.51 mg/100g and 2.25 mg/100g (QF), respectively. L^* , a^* , b^* , C^* and hue values were 42.14, 2.39, 8.42, 8.75 and 74.15 for CF; 87.08, -0.29, 11.61, 11.61 and 91.43 for QF, respectively. Similar results have been reported in previous works (Bilgiçli and Ibanoglu, 2015; Muñoz *et al.*, 2013; Pizarro *et al.*, 2013; Ranhotra *et al.*, 1993).

Chemical properties

Proximate composition, phytic acid, phytate phosphorus, total phenolic contents and antioxidant capacity of gluten-free cakes are given in Table 1 and Table 2. The moisture contents of gluten-free cakes containing CF and QF were found higher than that of control prepared with rice flour and corn starch. This may be caused by the mucilage which is known to have excellent water holding properties found in chia fibre. It was reported that chia has possible applications in bakery products requiring hydration and conservation of freshness (Vázquez- Ovando *et al.*, 2009). Increasing amount of CF and QF increased the ash, protein, fat, TPC and antioxidant capacity of the cake samples significantly ($P < 0.05$). These increases were 1.5 times in ash, 1.8 times in protein, 1.3 times in fat, 3.5 times in TPC and 2.9 times in antioxidant capacity. The rich composition of CF and QF affected the chemical composition of the final product. Similarly, Barrientos *et al.* (2012) prepared sugar-snap cookies by replacing wheat flour with CF at 10% and 20% (flour basis) and reported that cookies supplemented with CF contained more ash, protein, fat, crude fibre, calcium and zinc than control cookies. Alencar *et al.* (2015) studied the effects of whole quinoa and amaranth flour (20%, flour and starch basis) with sweeteners on gluten-free bread quality and reported that the bread containing amaranth, quinoa and sweeteners showed higher protein, lipid and ash content than that of control bread.

Table 1. Proximate composition of gluten-free cakes

	Moisture (%)	Ash (%) [*]	Protein (%) [*]	Fat (%) [*]
Control	25.77±0.08 ^e	1.58±0.03 ^f	5.46±0.08 ^f	25.42±0.10 ^f
5% CF-5% QF	27.37±0.06 ^b	1.72±0.04 ^e	6.40±0.14 ^e	26.93±0.07 ^e
10% CF-10% QF	26.01±0.04 ^d	1.83±0.01 ^d	7.11±0.16 ^d	28.23±0.16 ^d
15% CF-15% QF	27.17±0.07 ^c	2.01±0.03 ^c	7.92±0.17 ^c	29.87±0.14 ^c
20% CF-20% QF	28.33±0.03 ^a	2.16±0.04 ^b	8.83±0.10 ^b	31.42±0.06 ^b
25% CF-25% QF	28.40±0.07 ^a	2.35±0.01 ^a	9.61±0.16 ^a	32.82±0.10 ^a

Values are the average of triplicate measurements on the duplicate sample ± standard deviation;

^{*} Results are dry-weight basis; CF, Chia flour; QF, Quinoa flour; Data in the same column sharing a lowercase common letter are not significantly ($P < 0.05$) different.

Table 2. Phytic acid, phytate phosphorus, total phenolic contents and antioxidant capacity of gluten-free cakes

	Phytic acid (mg/100g) [*]	Phytate phosphorus (mg/100g) [*]	Total phenolic content (µg/g) [*]	Antioxidant capacity (%) [*]
Control	133.59±2.40 ^f	37.67±2.88 ^f	151.11±4.23 ^f	16.43±0.35 ^f
5% CF-5% QF	272.99±2.29 ^e	76.99±2.61 ^e	218.74±2.83 ^e	27.03±0.23 ^e
10% CF-10% QF	435.70±2.12 ^d	122.87±1.22 ^d	301.33±3.49 ^d	34.92±0.52 ^d
15% CF-15% QF	583.61±2.62 ^c	164.58±2.32 ^c	345.56±5.60 ^c	40.98±0.47 ^c
20% CF-20% QF	736.58±2.14 ^b	207.72±2.79 ^b	433.21±2.74 ^b	43.99±0.38 ^b
25% CF-25% QF	878.75±2.18 ^a	247.81±1.84 ^a	525.19±5.84 ^a	48.14±0.17 ^a

Values are the average of triplicate measurements on the duplicate sample ± standard deviation;

^{*} Results are dry-weight basis; CF, Chia flour; QF, Quinoa flour; Data in the same column sharing a lowercase common letter are not significantly ($P < 0.05$) different.

Repo-Carrasco-Valencia and Serna (2011) reported that quinoa can be considered as a good source of polyphenol and other antioxidant compounds. Costantini *et al.* (2014) reported that the use of chia flour (at 10% level) led to a significant increase in the TPC and antioxidant capacity of bread samples. The PA and phytate phosphorus content of cake samples were ranged from 133.59 mg/100 g to 878.75 mg/100g and 37.67 mg/100g to 247.81 mg/100g, respectively. As expected, the use of CF and QF caused substantial increase in the levels of PA and phytate phosphorus content of gluten-free cakes. Phytic acid is considered to be an antinutrient due to its ability to bind minerals, proteins and starch either indirectly or directly. This binding alters the bioavailability or digestibility of these nutrients (Zhou and Erdman, 1995; Rickard and Thompson, 1997; Oatway *et al.* 2001; Kumar *et al.* 2010). However, some healthful effects of phytic acid including antioxidant and anticarcinogenic effects have been reported by many researchers (Graf and Eaton, 1993;

Thompson 1993; Zhou and Erdman, 1995; Febles *et al.* 2002). But, dosage information is limited for humans to elicit beneficial effects (Kumar *et al.* 2010).

Mineral contents

Mineral contents of gluten-free cakes are given in Table 3. In general, all the mineral content of gluten-free cakes increased significantly ($P < 0.05$) by the addition of CF and QF, and the richest mineral composition was obtained at highest enrichment ratio. The Ca, P, K, Mg, Fe and Zn contents of gluten-free cakes containing 25% CF and 25% QF were found to be 7.2, 2.4, 3.1, 10.3, 4.4 and 3.0 times higher than the control. The Recommended Dietary Allowances (RDAs) for adults are 900 mg of calcium, 1.4-1.5 g phosphorus, 2 g of potassium, 350 mg of magnesium, 10 mg of iron and 13 mg of zinc (Demirci, 2011).

The effects of chia and quinoa flours on the gluten- free cake quality

Table 3. Mineral contents of gluten-free cakes (mg/100g)*

	Ca	P	K	Mg	Fe	Zn
Control	21.06±0.25 ^f	178.51±0.57 ^f	127.75±0.42 ^f	6.91±0.14 ^f	0.56±0.03 ^f	0.49±0.03 ^f
5% CF-5% QF	48.33±0.17 ^e	224.67±0.85 ^e	185.93±0.68 ^e	18.23±0.31 ^e	0.93±0.01 ^e	0.66±0.01 ^e
10% CF-10% QF	69.42±0.20 ^d	277.38±0.37 ^d	236.32±0.35 ^d	33.09±0.45 ^d	1.22±0.06 ^d	0.87±0.04 ^d
15% CF-15% QF	94.76±0.28 ^c	326.60±0.61 ^c	280.61±0.71 ^c	42.10±0.27 ^c	1.65±0.01 ^c	1.06±0.03 ^c
20% CF-20% QF	125.18±0.14 ^b	381.36±0.44 ^b	343.18±0.54 ^b	55.86±0.18 ^b	2.11±0.03 ^b	1.22±0.01 ^b
25% CF-25% QF	151.40±0.21 ^a	422.18±0.71 ^a	394.72±0.28 ^a	71.40±0.59 ^a	2.46±0.04 ^a	1.45±0.04 ^a

*Results are dry-weight basis; Values are the average of triplicate measurements on the duplicate sample ±standard deviation; CF, Chia flour; QF, Quinoa flour; Data in the same column sharing a lowercase common letter are not significantly ($P < 0.05$) different.

Gluten-free cake (100 g, dry weight) containing 25% CF and 25% QF meets the daily requirements of Ca, P, K, Mg, Fe and Zn for adults by 16.8%, 29.1%, 19.7 %, 20.4%, 24.6% and 11.2% respectively. These RDA ratios were 2.3% of Ca, 12.3% of P, 6.4 % of K, 2.0% of Mg, 5.6% of Fe and 3.8% of Zn in the control gluten-free cake.

The rich mineral contents of CF and QF affected the mineral content of the final product. It is reported that quinoa is also an excellent source of Fe, Ca, Mg, B vitamins and fibre (Pagano, 2006). Gohara *et al.* (2013) used chia and azuki flour in gluten-free chocolate cakes and conclude that the addition of 20% of both flours introduced higher mineral contents in chocolate cakes. (Levent, 2017) reported that chia seed flour usage in gluten-free noodles caused significant increase in Ca, P, K, Mg, Fe and Zn contents ($P < 0.05$). In the study conducted by Giménez *et al.* (2016), gluten-free spaghetti-type pasta made with corn flour enriched with 30% broad bean flour and 20% quinoa flour and it is reported that the substitution of broad bean and quinoa flour separately increased remarkably the contents of dietary fibre, unsaturated fatty acids, iron and zinc. The mineral enrichment of gluten-free foods is important for celiac patients because iron, folate, vitamin B12, vitamin D, zinc, and magnesium deficiencies are common in untreated celiac disease and nutrient deficiencies may be responsible for extra intestinal signs/symptoms of celiac disease (Caruso *et al.*, 2013).

Physical properties of cake samples

Some physical properties of cake batters and cake samples are given in Table 4. The specific gravity values of the gluten-free cake batters were found to be higher than the control samples except for the 5% CF and 5% QF replacement level. The volume index is an indicator of cake volume which is strongly influences consumer preference (Gómez *et al.*, 2008). 10% CF-10% QF and 15% CF-15% QF gave the highest volume index value. All gluten-free cakes containing CF and QF had higher volume index values than control ($P < 0.05$). Borneo *et al.*, (2010) studied the effect of replacing 25g/100g, 50g/100 and 75g/100g of the eggs or the oil in cake formulation by chia gel and reported that substituting egg or oil with chia gel up to 25% level maintained the functional properties of cake samples. The symmetry index values varied between -1 mm and 13 mm and the lowest symmetry index value was obtained at 20% CF and 20% QF level. The high symmetry index value showed that cakes mainly rise in the central part (Borneo *et al.*, 2010). The uniformity index values of gluten-free cakes ranged from -2 mm to 3 mm which are near zero. Uniformity index is desired to be close to zero for good cake quality (Bath *et al.*, 1992).

In the study conducted by Lorenz *et al.* (1995), quinoa flour was used in bread, cake and cookie formulations at 5, 10, 20 and 30% levels and it was reported that cake pore structure became more open and the texture less silky as the level of quinoa substitution increased. In the same study, cake quality was found acceptable at 5% and 10% quinoa flour usage levels.

Table 4. Physical properties of gluten-free cake batter and cake samples

	Specific gravity (g/cm ³)	Volume Index (mm)	Symmetry Index (mm)	Uniformity Index (mm)
Control	1.01±0.03 ^b	133±0.57 ^d	5±0.28 ^b	1±0.14 ^b
5% CF-5% QF	1.05±0.01 ^{ab}	137±0.71 ^c	4±0.14 ^c	-2±0.00 ^e
10% CF-10% QF	1.09±0.04 ^a	146±0.48 ^a	4±0.14 ^c	0±0.14 ^c
15% CF-15% QF	1.08±0.01 ^a	146±0.85 ^a	13±0.00 ^a	3±0.42 ^a
20% CF-20% QF	1.10±0.04 ^a	142±0.57 ^b	-1±0.14 ^d	3±0.00 ^a
25% CF-25% QF	1.09±0.02 ^a	136±0.71 ^c	5±0.28 ^b	-1±0.14 ^d

Values are the average of triplicate measurements on the duplicate sample ±standard deviation. CF, Chia flour; QF, Quinoa flour; Data in the same column sharing a lowercase common letter are not significantly ($P < 0.05$) different.

Color values of cake crumb and crust

The color of the cakes is one of the most important characteristics which affect the acceptability of product by consumers. Color values of gluten-free cake samples prepared with CF and QF are given in Table 5. In general, as the levels of CF and QF increased in the formulation, lightness (L^*), yellowness (b^*) and hue values of gluten-free cakes decreased and redness (a^*) values increased. At the 25% CF and 25% QF level, the highest redness (a^*) and the lowest chroma (C^*) values were obtained in cake crumb. High chroma values indicate vivid colors whilst low values near 0 indicate subdued colors (Gómez *et al.*, 2008). Similarly, Pizarro *et al.* (2013) reported that whole chia powder usage (15 g /100 g flour mixture) in pound cake formulation contributed

to a decrease in L^* (making the crumb darker), C^* (with a less saturated color) and h values (tending more red) of samples. Demir (2014) studied the effect of quinoa flour on the quality of gluten-free tarhana and observed a decrease in L^* , b^* and an increase in a^* values of tarhana samples with the addition of quinoa at 40-60 % levels.

Color values of CF and QF had a significant effect ($P < 0.05$) on color parameters of the final product. In addition, the rich composition of CF and QF may accelerate the Maillard reaction which may increase darkness and redness of gluten-free cakes. But the cake crumb does not reach temperatures above 100 °C and Maillard or caramelization reactions occur on the cake crust rather than cake crumb. Therefore, the color of raw materials and their interactions are effective on cake crumb color (Gómez *et al.*, 2008).

Table 5. Crust and crumb color values of gluten-free cakes

CAKE CRUST	L^*	a^*	b^*	C^*	hue
Control	48.91±0.27 ^a	3.27±0.07 ^f	20.82±0.12 ^a	21.08±0.14 ^a	81.08±0.12 ^a
5% CF-5% QF	41.16±0.30 ^b	7.99±0.10 ^e	15.98±0.07 ^b	17.87±0.11 ^c	63.43±0.18 ^b
10% CF-10% QF	37.81±0.18 ^c	9.34±0.04 ^d	14.98±0.05 ^c	17.65±0.06 ^c	58.07±0.03 ^c
15% CF-15% QF	36.88±0.25 ^d	10.02±0.06 ^c	13.22±0.04 ^e	16.58±0.02 ^d	52.88±0.30 ^d
20% CF-20% QF	36.44±0.23 ^d	12.84±0.05 ^a	14.72±0.09 ^d	19.53±0.10 ^b	48.89±0.08 ^f
25% CF-25% QF	31.86±0.17 ^e	10.84±0.13 ^b	12.87±0.07 ^f	16.83±0.14 ^d	49.88±0.19 ^e
CAKE CRUMB					
Control	62.10±0.21 ^a	-2.10±0.04 ^e	17.78±0.08 ^a	17.90±0.09 ^a	96.74±0.11 ^a
5% CF-5% QF	61.20±0.14 ^b	-0.62±0.03 ^d	15.19±0.06 ^b	15.20±0.06 ^b	92.34±0.11 ^b
10% CF-10% QF	56.16±0.28 ^c	0.53±0.05 ^c	13.87±0.03 ^c	13.88±0.04 ^c	87.82±0.21 ^c
15% CF-15% QF	54.61±0.16 ^d	0.77±0.08 ^b	13.21±0.04 ^d	13.23±0.06 ^d	86.65±0.31 ^d
20% CF-20% QF	49.03±0.11 ^e	1.88±0.01 ^a	12.04±0.08 ^e	12.18±0.07 ^e	81.12±0.11 ^e
25% CF-25% QF	49.45±0.09 ^e	1.89±0.05 ^a	11.88±0.06 ^f	12.03±0.04 ^f	80.98±0.27 ^e

Values are the average of triplicate measurements on the duplicate sample ±standard deviation. CF, Chia flour; QF, Quinoa flour; Data in the same column sharing a lowercase common letter are not significantly ($P < 0.05$) different.

Sensory properties

Sensory properties of gluten-free cake samples are presented in Figure 1. CF and QF usage improved the taste-odour score of gluten-free cakes compared to control. Cakes with 10% CF and 10% QF received the highest appearance, texture, mouthfeel and overall acceptability score in all cake samples. Usage of 25% CF and 25% QF decreased especially appearance, mouthfeel and overall acceptability scores of gluten-free cakes. Pizarro *et al.* (2013) reported that pound

cake produced with whole chia powder (15 g/ 100 g flour mixture) showed good sensory acceptance. In a study by Steffolani *et al.* (2014), it was found that the use of chia flour at 15% (rice flour basis) in gluten-free bread formulation did not reduced sensorial acceptability of these products. In the study conducted by Turkut *et al.* (2016) it was reported that quinoa flour can be successfully used in gluten-free bread formulation and 25% quinoa bread gained higher sensory scores with its softer texture.

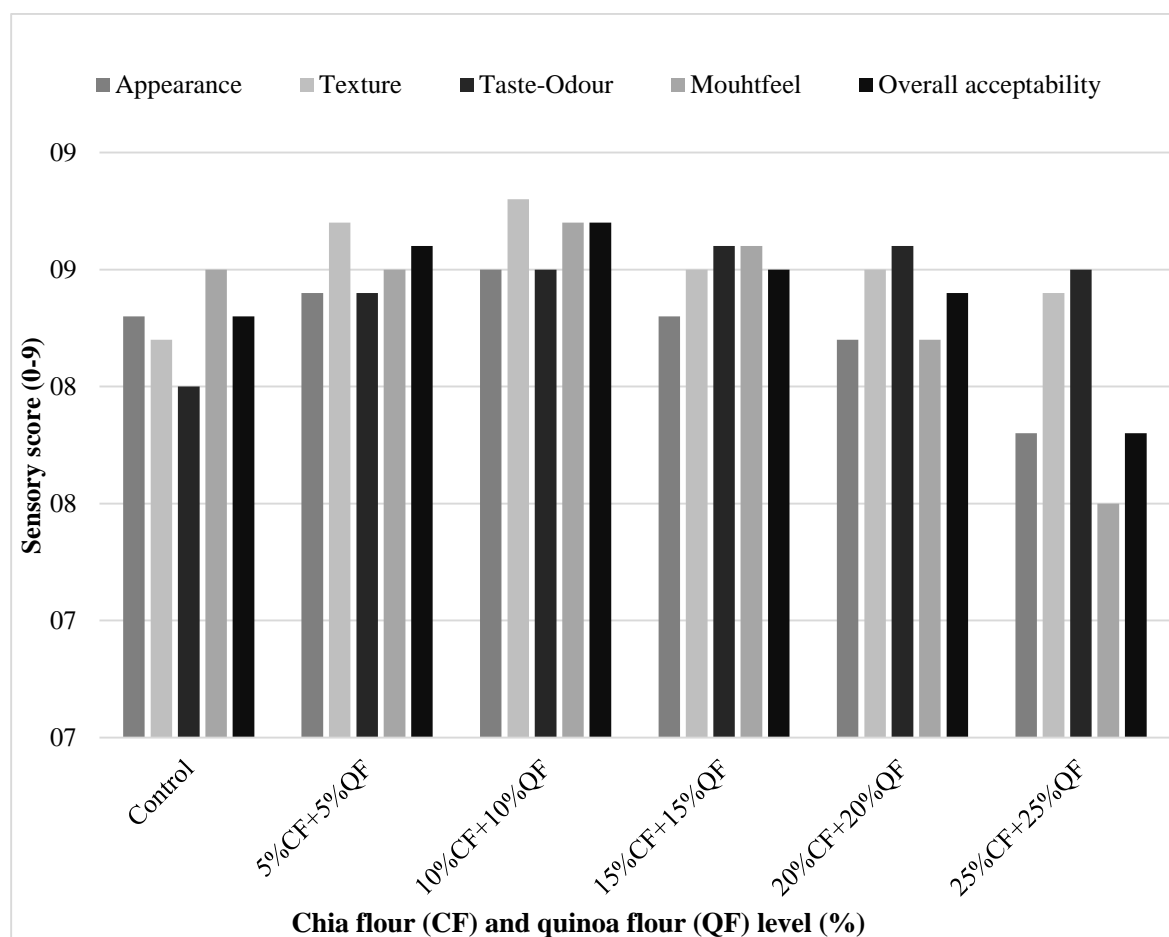


Figure 1. Sensory properties of gluten-free cake samples

CONCLUSION

CF and QF were successfully incorporated in gluten-free cake formulation. The usage of CF and QF increased the ash, protein, fat, TPC, antioxidant capacity, Ca, P, K, Mg, Fe and Zn contents of gluten free cakes. As the CF and QF levels increased, the PA content of gluten-free

cakes increased significantly ($P < 0.05$). All the gluten-free cakes containing CF and QF had higher volume index values than control. Gluten-free cakes containing CF and QF up to 20% and 20% level were appreciated by the panellists in terms of texture, taste-odour and overall acceptability.

REFERENCES

- AACC (1990). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 8th ed. St Paul, U.S.A.
- Alencar, N.M.M., Steel, C.J., Alvim, I.D., de Moraes, E.C. and Bolini, H.M.A. (2015). Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. *LWT- Food Sci Technol*, 62: 1011-1018.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E.K. and Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem*, 119: 770-778.
- Barrientos, V.A., Aguirre, A. and Borneo, R. (2012). Chia (*Salvia hispanica*) can be used to manufacture sugar-snap cookies with an improved nutritional value. *Int J Food Stud*, 1: 135-143.
- Bath, D.E., Shelke, K. and Hosney, R.C. (1992). Fat replacers in high ratio cake layer cakes. *Cereal Foods World*, 37: 495-500.
- Bilgiçli, N. and İbanoğlu, Ş. (2015). Effect of pseudo cereal flours on some physical, chemical and sensory properties of bread. *J Food Sci Technol*, 52: 7525-7529.
- Borneo, R., Aguirre, A. and León, A.E. (2010). Chia (*Salvia hispanica* L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *J Am Diet Assoc*, 110: 946-949.
- Bubert, H. and Hagenah, W.D. (1987). Detection and measurement. In "Inductively coupled plasma emission spectroscopy", Boumans PWJM (ed.), Wiley, New York, 536-567.
- Caruso, R., Pallone, F., Stasi, E., Romeo, S. and Monteleone, G. (2013). Appropriate nutrient supplementation in celiac disease. *Ann Med*, 45: 522-531.
- Coates, W. and Ayerza, R. (1996). Production potential of chia in northwestern Argentina. *Ind Crops and Prod*, 5: 229-233.
- Costantini, L., Lukšič, L., Molinari, R., Kreft, I., Bonafaccia, G., Manzi, L. and Merendino, N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chem*, 165: 232-240.
- Coulter, L. and Lorenz, K. (1990). Quinoa-composition, nutritional value, food applications. *Lebensm-Wiss Technol*, 23: 203-207.
- Demir, M.K. (2014). Use of quinoa flour in the production of gluten-free tarhana. *Food Sci Technol Res*, 20: 1087-1092.
- Demirci, M. (2011). Beslenme (Nutrition), Onur Graphic Publishing House, Tekirdağ, Turkey, ISBN: 975-97146-4-2.
- Febles, C.I., Arias, A., Hardisson, A., Rodriguez-Alvarez, C. and Sierra, A. (2002). Phytic acid level in wheat flours. *J Cereal Sci*, 36(1): 19-23.
- Francis, F.J. (1998). Colour analysis. In "Food Analysis" S.S. Nielsen (ed.), Aspen Publishers, New York.
- Giménez, M.A., Drago, S.R., Bassett, M.N., Lobo, M.O. and Sammán, N.C. (2016). Nutritional improvement of corn pasta-like product with broad bean (*Vicia faba*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chem*, 199: 150-156.
- Gohara, A.K., Souza, A.H., Rodrigues, Â.C., Stroher, G.L., Gomes, S. and Souza, N.E. (2013). Chemometric methods applied to the mineral content increase in chocolate cakes containing chia and azuki. *J Braz Chem Soc*, 24, 771-776.
- Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C.M., Pando, V. and Fernandez, E. (2008). Studies on cake quality made of wheat-chickpea flour blends. *LWT- Food Sci Technol*, 41: 1701-1709.
- Graf, E. and Eaton, J.W. (1993). Suppression of colonic cancer by dietary phytic acid. *Nutr Cancer*, 19(1): 11-19.
- Green, P.H., Rostami, K. and Marsh, M.N. (2005). Diagnosis of coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 19: 389-400.
- Haug, W. and Lantzsch, H.J. (1983). Sensitive method for rapid determination of phytate in cereals and cereals products. *J Sci Food Agric*, 34: 1423-1426.

- Ixtaina, V.Y., Nolasco, S.M. and Tomas, M.C. (2008). Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Ind Crops Prod*, 28: 286-293.
- Jancurová, M., Minarovicová, L. and Dandar, A. (2009). Quinoa—a review. *Czech J Food Sci*, 27: 71-79.
- Kozioł, M. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *J Food Compos Anal*, 5: 35–68.
- Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P. and Becker, K. (2010). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem*, 120(4): 945-959.
- Levent, H. (2017). Effect of partial substitution of gluten-free flour mixtures with chia (*Salvia hispanica* L.) flour on quality of gluten-free noodles. *J Food Sci Technol*, 54(7): 1971-1978.
- Lorenz, K., Coulter, L. and Johnson, D. (1995). Functional and sensory characteristics of quinoa in foods. *Dev Food Sci*, 37: 1031-1041.
- Marti, A. and Pagani, M.A. (2013). What can play the role of gluten in gluten-free pasta? *Trends Food Sci Technol*, 31: 63-71.
- Muñoz, L.A., Cobos, A., Diaz, O. and Aguilera, J.M. (2013). Chia seed (*Salvia hispanica*): an ancient grain and a new functional food. *Food Rev Int*, 29: 394-408.
- Murray, J.A., Van Dyke, C., Plevak, M.F., Dierkhising, R.A., Zinsmeister, A.R. and Melton, L.J. 2003. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 1: 19-27.
- Norlaily, M.A., Yeap, S.K., Ho, W.Y., Beh, B.K., Tan, S.W. and Tan, S.G. (2012). The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *J Biomed Biotechnol*, 2012: 1-9.
- Nowak, V., Du, J. and Charrondière, U.R. 2016. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chem*, 193: 47-54.
- Oatway, L., Vasanthan, T. and Helm, J.H. (2001). Phytic acid. *Food Rev Int*, 17(4): 419-431.
- Pagano, A.E. (2006). Whole grains and the gluten-free diet. *Pract Gastroenterol*, 30: 66.
- Pizarro, P.L., Almeida, E.L., Sammán, N.C. and Chang, Y.K. (2013). Evaluation of whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake. *LWT- Food Sci Technol*, 54: 73–79.
- Ranhotra, G.S., Gelroth, J.A., Glaser, B.K., Lorenz, K.J. and Johnson, D.L. (1993). Composition and protein nutritional quality of quinoa. *Cereal Chem*, 70: 303-305.
- Repo-Carrasco-Valencia, R.A.M. and Serna, L.A. (2011). Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. *Food Sci Technol*, 31: 225-230.
- Rickard, S.E. and Thompson, L.U. (1997). Interactions and biological effects of phytic acid. In: *Antinutrients and phytochemicals in food*, Shahidi, F. (ed.), Volume 662, American Chemical Society, pp. 294-312.
- Ruales, J. and Nair, B.M. (1993). Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. *Food Chem*, 48: 131-136.
- Saturni, L., Ferretti, G. and Bacchetti, T. (2010). The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients* 2: 16-34.
- Simopoulos, A.P. (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*, 21: 495-505.
- Steffolani, E., Hera, E., Pérez, G. and Gómez, M. (2014). Effect of chia (*Salvia hispanica* L.) addition on the quality of gluten-free bread. *J Food Qual*, 37: 309-317.
- Taga, M.S., Miller, E.E. and Pratt, D.E. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J Am Oil Chem Soc*, 61: 928-931.
- Thompson, L.U. (1993). Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Res Int*, 26(2): 131-149.
- Turkut, G.M., Cakmak, H., Kumcuoglu, S. and Tavman, S. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. *J Cereal Sci*, 69: 174-181.

Vázquez-Ovando, A., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L. and Betancur-Ancona, D. (2009). Physicochemical properties of fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT-Food Sci Technol*, 42:168-173.

Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L. and Martínez, E.A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: a review. *J Sci Food Agric*, 90: 2541-2547.

Wronkowska, M., Zielińska, D., Szawara-Nowak, D., Troszyńska, A. and Soral-Śmietana, M. (2010). Antioxidative and reducing capacity, macroelements content and sensorial properties of buckwheat-enhanced gluten-free bread. *Int J Food Sci Technol*, 45: 1993-2000.

Zhou, J.R. and Erdman Jr, J.W. (1995). Phytic acid in health and disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 35(6): 495-508.

**MARİNASYON İŞLEMİ SIRASINDA HAMSİDE (*Engraulis encrasicolus* L. 1758)
MEYDANA GELEN RENK DEĞİŞİMİNİN VE BAZI KİMYASAL
PARAMETRELERİN BELİRLENMESİ**

**İrfan Keskin*, Demet Kocatepe, Hülya Turan, Can Okan Altan,
Bayram Köstekli, Asuman Ceylan, Canan Candan**

Sinop Üniversitesi, Su ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Sinop, Türkiye

Geliş / Received: 18.04.2018; Kabul / Accepted: 18.06.2018; Online baskı / Published online: 16.07.2018

Keskin, İ., Kocatepe, D., Turan, H., Altan, C. O., Köstekli, B., Ceylan, A., Candan, C. (2018). Marinasyon işlemi sırasında hamside (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) meydana gelen renk değişiminin ve bazı kimyasal parametrelerin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (4): 655-662 doi: 10.15237/gida.GD18051

*Keskin, İ., Kocatepe, D., Turan, H., Altan, C. O., Köstekli, B., Ceylan, A., Candan, C. (2018). The determination of some chemical parameters and color changes of anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) during the marination process. *GIDA* (2018) 43 (4): 655-662 doi: 10.15237/gida.GD18051*

ÖZ

Çalışmada, marinasyon sürecinde hamsinin renk değişimi ile bazı fiziko-kimyasal parametrelerin tespiti amaçlanmıştır. Donmuş hamsiler, çözündürülmüş, temizlenmiş ve marinasyona hazır hale getirilmiştir. Hamsiler salamurada (%10 tuz, %4 alkol sirkesi ve %0.2 sitrik asit) balık:salamura oranı 1:2 olacak şekilde 24 saat süreyle $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de marine edilmiştir. Marinasyon esnasında 6 saat ara ile üründe; renk, su aktivitesi (aw), pH, tuz, sirke, çalışmanın başında ve sonunda ise besin kompozisyonu (ham protein, ham yağ, ham kül, nem) analizleri yapılmıştır. Renk analizinde taze balığın başlangıç L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 37.49, 2.46, 2.91 olarak tespit edilmiştir. Marinasyon sonrasında balık eti parlaklığının (L^*) ve sarı ($+b^*$) renk değerinin arttığı (72.35 ve 5.13), kırmızı ($+a^*$) renk değerinin azaldığı (0.70) belirlenmiştir ($P<0.05$). Taze balık etinde su aktivitesi (aw), pH, tuz ve sirke değerleri sırasıyla; 0.961, 6.42, 0.27, 0.00 iken, marinasyon sonunda 0.915, 3.98, 6.29 ve 1.93 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Hamsinin, marinasyon işlemi sonrasında marinat için istenilen özellikleri taşıdığı ve besin değerini koruduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Hamsi, marinasyon, renk, fizikokimyasal değişimler.

**THE DETERMINATION OF SOME CHEMICAL PARAMETERS AND
COLOR CHANGES OF ANCHOVY (*Engraulis encrasicolus* L. 1758)
DURING THE MARINATION PROCESS**

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine physico-chemical parameters and color changes of anchovy during the marination. After thawing process, anchovy was cleaned and prepared for marination. It was marinated with 10% salt, 4% alcohol vinegar and 0.2% citric acid (fish: brine; 1:2) at $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, for 24h. During margination; color, aw, pH, salt and vinegar analyses were conducted in every 6 hours, nutrient composition analyses were made at the beginning and end of the study. Initial L^* , a^* , b^* values of fish were 37.49, 2.46 and 2.91, respectively. After marination, L^* , $+b^*$ values (72.35, 5.13) of fish meat increased, but, $+a^*$ value decreased (0.70) ($P<0.05$). While, aw, pH, salt and vinegar values were found as 0.961, 6.42, 0.27, and 0.00 in fresh anchovy; they changed after marination as 0.915, 3.98, 6.29 and 1.93, respectively ($P<0.05$). After marination, it was found that anchovy maintained the nutritional values, had desired characteristics for marinade.

Keywords: Anchovy, marination, color, physico-chemical changes.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ irfankskn@gmail.com,

☎ (+90) 368 287 6254/3141,

☎ (+90) 368 287 6269

GİRİŞ

Sağlıklı gıdalar arasında yerini alan balık, yapısı itibarıyla birçok araştırmanın konusu olmuştur. Balık; vitamin ve minerallerce zengin, protein oranı yüksek ve kolayca sindirilebilir özellikte olmasının yanı sıra, insan vücudu için elzem olan ve mutlak suretle dışarıdan temin edilmesi gerekli esansiyel yağ asitleri ile amino asitleri de içeren biyolojik değeri yüksek bir gıdadır. Özellikle EPA ve DHA'nın kalp-damar sağlığında, beyin ve zeka gelişiminde, bağışıklık sisteminin güçlenmesinde, depresyon ve unutkanlıkta, hatta kanser tedavisinde bile olumlu etki yaptığı bildirilmektedir (Kaya vd., 2004; Turan vd., 2013). Balık etinin faydalı olduğu bilinmesine ve son yıllarda artan kamu spotları ile tüketimi özendirilmeye çalışılsa da ülkemizde kişi başına düşen yıllık balık tüketim miktarı 2016 yılında 5.4 kg' a kadar düşmüştür (TÜİK, 2017). Bu değer hem AB ülkeleri hem de Uzakdoğu ülkelerinin oldukça gerisindedir. Balık tüketimini arttırmaya yönelik birçok faaliyet yapılmakta ve özellikle yeni veya alternatif ürün geliştirilerek tüketicinin beğenisine sunulmaktadır.

Su ürünlerine uygulanan marinasyon işlemi, eski çağlardan beri uygulanan bir konservasyon yöntemidir. Bu işlemde balık eti ısıl işlem olmaksızın belirli bir oran ve sürede, marinat çözeltisine konulmakta ve çözeltide bulunan asit ve tuzun etkisiyle olgunlaştırılmaktadır. Olgunlaşma işlemi asit ve tuzun birbirine ters yönde etki etmesi sonucu olmaktadır. Salamurada kullanılan tuz, balık etine sertlik kazandırırken, asit ise tam tersi olarak balık etine yumuşaklık vermektedir. Olgunlaşma işlemi ise bu iki etkileşimin belirli bir süre sonrasında eşitlenmesi yani balık etindeki su giriş ve çıkışının dengelenmesi sonucunda gerçekleşmektedir. Yapılan bu işlem birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir. Balığın türü ve büyüklüğü, salamurada kullanılan asit ve tuzun yoğunluğu, balık-salamura oranı ve süresi, ortamın sıcaklığı bu faktörler arasındadır (Varlık vd., 1993; Erkan vd., 2000; Özden ve Baygar 2003; Kılınç ve Çaklı 2004a; Varlık vd., 2004).

Halk arasında "balık turşusu" olarak da bilinen marinatlar özellikle hamsiden bol miktarda üretilmekte, yurt içi veya yurtdışında satışı

yapılmaktadır. Hamsi yüksek besleyici değere sahip olmasının yanında, Türkiye denizlerinde de 102.595 bin ton ile en çok avlanan tür olarak kayıtlara geçmiştir (TÜİK, 2017). Ayrıca hamsi 30334 sayılı ve 16 Şubat 2018 tarihli resmi gazetede yer alan su ürünleri tescil komitesi kararına göre morfolojik, biyolojik ve genetik özellikleri bakımından tescillenmiş bir balıktır (Anonim, 2018).

Ülkemizde son yıllarda üretimi artan ve ihraç edilen hamsi marinatu ile ilgili olarak yapılan çalışma sayısının azlığı nedeniyle bu alanda bazı çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bundan dolayı hamsi marinatu ile ilgilenen üreticiler ve araştırmacılar için faydalı olabileceği düşünülen bu çalışmada hamsi marinatının marinasyon işlemi süresince renk ve bazı fiziko-kimyasal özelliklerindeki değişimler incelenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada, Sinop ilindeki Başoğlu Balıkçılık Su Ürünleri işleme tesisinden temin edilen donmuş hamsi (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) balığı kullanılmıştır. Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi işleme laboratuvarına soğuk koşullarda getirilen hamsiler, soğuk su altında çözdürülmüş, kelebek filetosu çıkarılmış ve temizlenmiştir.

Balıklar, %10 tuz+%4 alkol sirkesi+%0.2 sitrik asitten oluşan salamurada balık:salamura oranı 1:2 olacak şekilde $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ de 24 saat marine edilmiştir. Marinasyon süresince 6 saatlik periyotlarda balık etinde; renk, su aktivitesi (aw), pH, tuz, sirke analizleri ile çalışmanın başında ve sonunda ise besin kompozisyonu (ham protein, ham yağ, ham kül, su, karbonhidrat-enerji) analizleri yapılmıştır.

Su aktivitesi değeri, Novasina LabSwift marka cihaz ile renk analizi ise CIE $L^* a^* b^*$ skalasına göre Minolta "CR-400 Chromometer" marka renk ölçüm cihazı ile ölçülmüş ve değerler $L^* a^* b^*$ olarak verilmiştir. Kalibrasyon için cihazın beyaz tablası kullanılmıştır (Calder, 2003). Balık etinde ve salamurada, tuz ve sirke tayini Varlık vd. (2007)'a, pH analizi Manthey vd. (1988)'e göre yapılmıştır. Balık etinin besin kompozisyonu analizleri AOAC (1995)'a göre enerji değeri ise

Marinasyon işleminin hamsinin renk ve fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisi

karbonhidrat değeri belirlendikten sonra, Atwater metoduna göre hesaplanmıştır (Falch vd., 2010).

$$\text{Karbonhidrat değeri} = 100 - (\text{Su} + \text{Yağ} + \text{Protein} + \text{Kül})$$

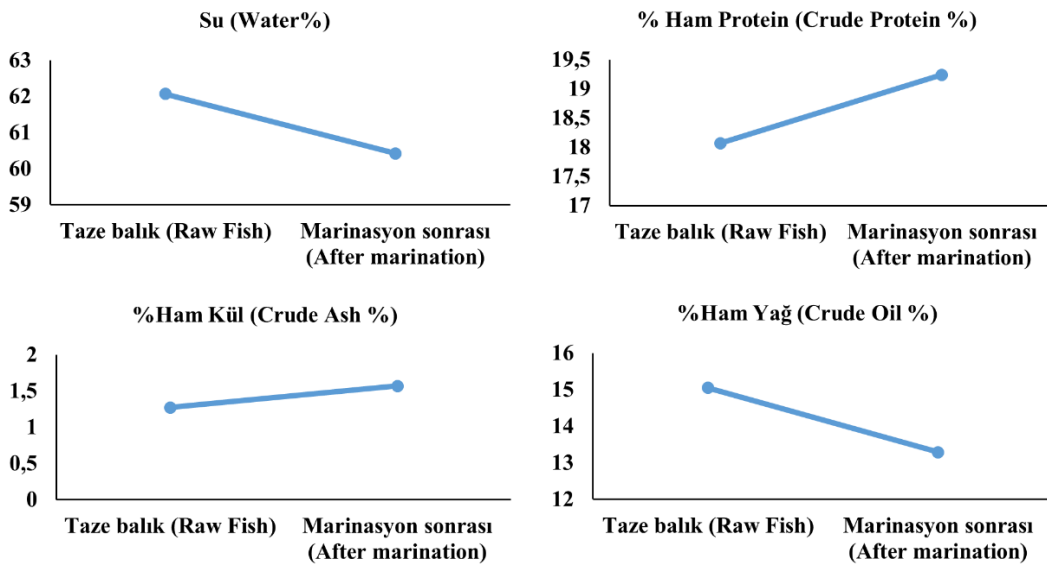
$$\text{Enerji (Kcal)} = (\text{Yağ} \times 9) + (\text{Protein} \times 4) + (\text{Karbonhidrat} \times 4)$$

Araştırmada elde edilen sonuçların ortalama ve standart hataları Microsoft Office Excel 2010 yardımıyla, istatistik değerlendirme ise Minitab 17 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılarak yapılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Marinat için kullanılan hamsinin ham protein, ham yağ, ham kül ve su miktarları sırasıyla 18.07 ± 0.13 , 15.05 ± 0.03 , 1.27 ± 0.07 ve

62.07 ± 0.08 olarak belirlenmiştir. Marinasyon işlemi ve olgunlaşma sonrasında su ve yağ miktarında azalma ($P < 0.05$), kül ve protein miktarında ise önemli derecede ($P < 0.05$) artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Marinasyon öncesi ve sonrasındaki balık etinin karbonhidrat değeri sırasıyla 3.55 ± 0.23 ve 5.47 ± 0.16 ($P < 0.05$), enerji değeri ise sırasıyla 221.85 ± 0.33 ve 218.48 ± 0.52 Kcal/100g ($P > 0.05$) olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. Balık etinin besin kompozisyonu.

Figure 1. Nutritional composition of fish

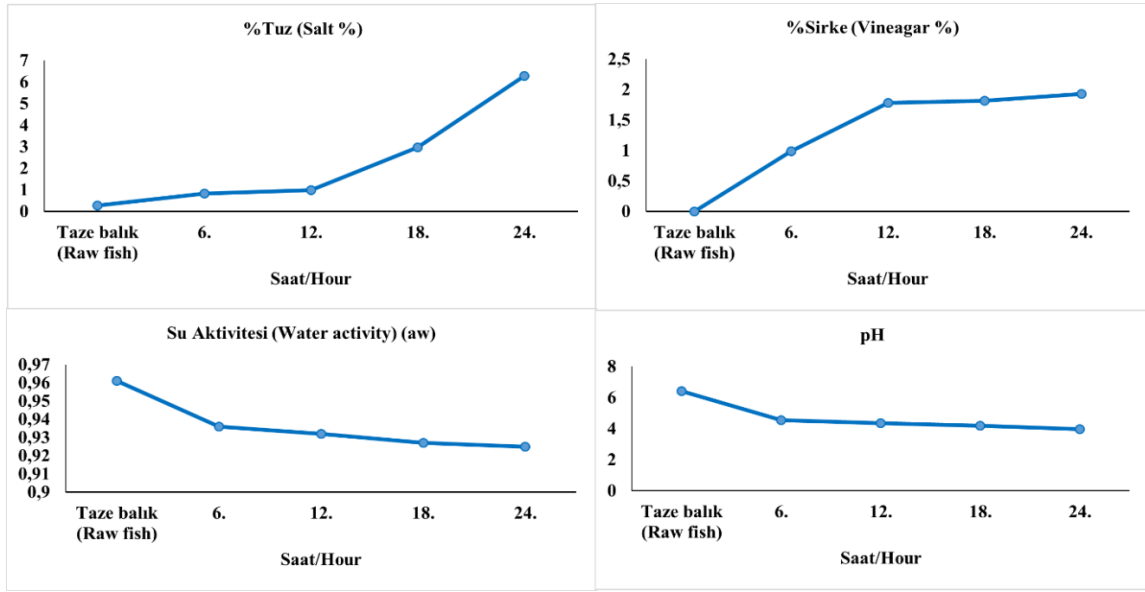
Olgunlaşma esnasında tuz ve sirkenin balık proteinlerini ve yağlarını yıkıma uğrattığı, dolayısıyla ortaya hoş koku ve tatların çıkmasını sağladığı bilinmektedir (Varlık vd., 2004). Tuzun balık etine geçişi balıktaki su miktarını azaltmış, artan kuru madde miktarı nedeniyle protein ve kül içeriği de oransal olarak artmıştır. Özden (2005), taze hamsinin protein miktarını 18.02 ± 0.92 , marinasyon sonrasındaki değerinin ise 19.10 ± 1.04 olduğunu bildirmiştir. Kurt Kaya ve

Baştürk (2014), taze levreğin protein ve kül miktarının marine edildikten sonra arttığını belirtmektedir. Benzer olarak Kılınç ve Çaklı (2004b) ile Cadun vd. (2005), çalışmalarında marinasyon sonrası protein miktarında artış olduğu tespit etmiştir. Yapılan araştırmalar, mevcut çalışma ile uyum içerisindedir. Ancak ham materyalin türü, büyüklüğü, av sezonu, salamurada bekletme süresi gibi faktörlerin besin

kompozisyonu sonuçlarında farklılık gösterebileceği göz ardı edilmemelidir.

Balık etinin olgunlaşma esnasındaki fiziko-kimyasal parametreleri (Şekil 2) incelendiğinde ham materyalin başlangıçtaki pH, su aktivitesi (aw) ve tuz değerleri sırasıyla; 6.42 ± 0.03 , 0.961 ± 0.01 ve $\%0.27 \pm 0.03$ olarak tespit edilmiştir. 24 saat süreyle olgunlaşma

salamurasında bekletilen balık eti, tuz ve asidin etkisiyle bir takım değişimlere uğramıştır. Olgunlaşma sonrasında pH ve su aktivitesi değeri düşerek sırasıyla 3.98 ± 0.08 ve 0.915 ± 0.01 olarak belirlenmiştir ($P < 0.05$). Tuz ve sirke, balık etine zaman içerisinde nüfuz etmiş ve olgunlaşma sonrasında sırasıyla $\%6.29 \pm 0.08$ ve $\%1.93 \pm 0.09$ olarak tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

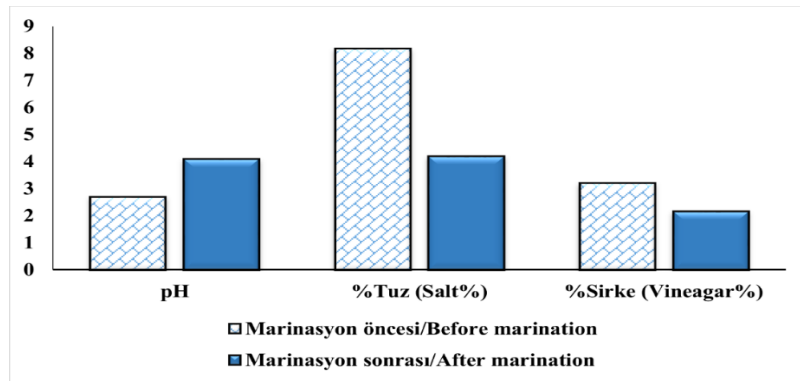


Şekil 2. Marinasyon süresince balık etinin fiziko-kimyasal özellikleri.

Figure 2. Physico-chemical properties of fish meat during marination.

Bu çalışmada kullanılan salamuranın başlangıçtaki ve 24 saat sonraki, fiziksel ve kimyasal özellikleri Şekil 3'de verilmiştir. Hamsiler, salamuranın başlangıç pH'sı 2.69, tuz değeri $\% 8.17 \pm 0.23$, sirke değeri $\%3.21 \pm 0.11$ olarak tespit edilmiştir.

Hamsiler 24 saat salamurada bekletilmiş ve ardından pH artarak 4.09, tuz ve sirke değeri ise azalarak sırasıyla $\%4.19 \pm 0.35$ ve $\%2.16 \pm 0.06$ olarak ölçülmüştür ($P < 0.05$).



Şekil 3. Marinat salamurasının fizikokimyasal yapısı.

Figure 3. Physico-chemical structure of brine.

Balıkların işlenmesinde ham materyalin başlangıç kalitesi çok önemlidir. Yüksek kalitede balık ve doğru işlem uygulanması son ürünün kalitesini olumlu etkiler. Taze balığın pH aralığının 6-6.5 arasında olması, marine edilmiş ürünlerde ise bu aralığın 3.8-4.3 arasında olması istenir. Çünkü marinasyon işleminde kullanılan asidin etkisiyle etteki pH miktarında önemli derecede azalma olur, bu durumunun hem bakteri oluşumunun engellediği, hem de lezzet verici bazı maddelerin ortaya çıkması açısından önem arz ettiği farklı araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Varlık vd., 1993; Aksu vd., 1997; Erkan vd., 2000; Özden ve Baygar, 2003; Özden ve Varlık, 2004; Özogül vd., 2010; Cosansu vd., 2010).

Cabrer vd. (2002), hamsi marinatu üzerine yapılan bir çalışmada, ham materyalin başlangıç pH miktarı 6.4 olgunlaşma sonrasında ise 4.2 olarak bulunmuş, Özden ve Baygar (2003) tarafından ise 6.04 olan ham materyalin başlangıç pH değeri marinasyon sonrasında 3.86 olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer araştırmalarda ise balıkların pH'sının marinasyon sonrasında düştüğü ve istenilen değerlere geldiği bildirilmektedir (Sen ve Temelli, 2003; Kadak ve Çelik, 2015; Kurt Kaya ve Baştürk, 2018).

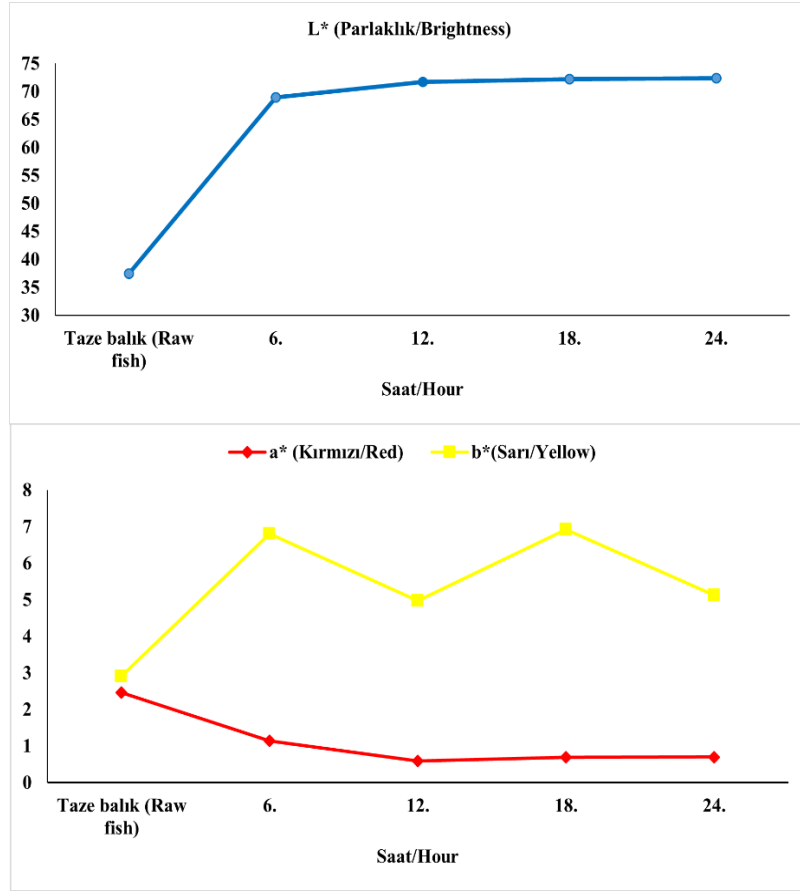
Balık etinde tuz, iz miktarda bulunabilir. Bu çalışmada ham materyalin tuz değeri 0.27 ± 0.03 , 24 saatlik marinasyon işlemi sonunda ise $0.6.29 \pm 0.08$ olarak tespit edilmiştir. Salamuradan balık etine geçen tuz nedeniyle etteki tuz miktarı artarken salamuradaki tuz miktarı ise azalmıştır. Alçıçek vd. (2010), hamsinin başlangıç tuz miktarını 0.24 ± 0.11 olarak tespit etmiştir. Gökoğlu (2003), yapmış olduğu marinat çalışmasında olgunlaştırma salamurasının tuz miktarının 25. saatin sonuna kadar azaldığını, etteki tuz miktarının ise %6'ya yaklaştığını belirtmiştir. Cabrer vd. (2002), hamsinin başlangıç tuz değerini 0.34 ± 0.23 olarak tespit etmiş ve miktarın özellikle ilk 24 saat içinde belirgin bir şekilde arttığını bildirmiştir.

Olgunlaşma salamurasında kullanılan asit konsantrasyonunun %2-7, tam bir olgunlaşmanın gerçekleşebilmesi için en az %4, son üründe ise %1-2 arasında olması gerektiği vurgulanmaktadır

(Kılınç ve Çaklı 2004; Özden ve Varlık 2004). Bu çalışmaya benzer olarak salamuranın başlangıçtaki asit konsantrasyonu 3.21 ± 0.11 , son üründe ise 1.93 ± 0.09 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca salamuradaki sirkenin balık etine nüfuzu, tuza oranla daha hızlı olmaktadır (Gökoğlu, 2003). Çalışmamızda da sirkenin tuza oranla, balıketine daha hızlı bir geçiş yaptığı ve ilk 12 saatte sirke miktarının belirgin bir şekilde artarak 1.78 ± 0.01 'e ulaştığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Ayrıca olgunlaşma sonrasında, salamuradaki sirke miktarının yaklaşık %50'sinin balık etine geçtiği ve balık-salamura arasında bir denge oluştuğu gözlemlenmiştir. Baygar vd. (2010)'da yapmış olduğu levrek marinatında; salamuradaki balık filetolarının asit miktarının ilk 30 saat sonunda belirgin bir şekilde arttığını ve marinasyon sonrasındaki balıketi ile salamuranın sirke değeri arasında ortalama bir denge oluştuğunu bulmuşlardır.

Su aktivitesi (aw) gıdalarda mikrobiyal gelişim için etkili olan su miktarının ölçüsü olarak tanımlanmakta ve gıdadan suyun uzaklaştırılması ile su aktivitesi değerinin düştüğü bildirilmektedir (Çaklı, 2011). Tuzlanmış veya kurutulmuş ürünlerin su aktivitesi değeri düşük dolayısıyla daha dayanıklıdır (Çaklı ve Kışla 2003). Çalışmada salamuradaki tuzun balık etine geçişi ile birlikte ürün su kaybetmiş, başlangıçta su aktivitesi değeri, 0.961 ± 0.01 iken 24 saatin sonunda bu değer 0.915 ± 0.01 olarak ölçülmüştür ($P < 0.05$). Cabrer vd. (2002), taze hamsinin aw değerini 0.99, marinasyon sonrasında ise 0.96 olarak tespit etmiştir. Benzer olarak Feng ve Huang (2001), yayın balıkları ile yapmış oldukları marinat çalışmasında marinasyon işleminin üründeki su aktivitesi değerini düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Ham materyalin L^* (parlaklık) değeri, 37.49 ± 2.05 olarak ölçülmüştür (Şekil 4). Bu değer, marinasyonun ilk 6 saatinde belirgin bir şekilde artarak 68.91 ± 1.95 'e, olgunlaşma sonrasında ise 72.35 ± 3.03 'e ulaşmıştır ($P < 0.05$). Ham materyalde ölçülen a^* (2.46 ± 0.41) ve b^* (2.91 ± 0.66) değeri marinasyon sonrasında sırasıyla 0.70 ± 0.18 ve 5.13 ± 1.00 olarak belirlenmiştir ($P < 0.05$).



Şekil 4. Marinasyon süresince balık etindeki L*, a*, b* değerlerine ait sonuçlar.
Figure 4. Results of L*, a*, b* values of the fish during the marination.

L*(parlaklık) değeri 0-100 arasında ölçülmekte ve değer 100'e yaklaştıkça bir ürünün renginin koyudan açığa doğru olduğu ifade edilmektedir. Renk cihazında ölçülen a* değerinin negatif çıkması yeşilimsi rengi, pozitif çıkması ise kırmızımsı rengi ifade ederken, b* değerinin negatif çıkması mavimsi rengi, pozitif çıkması ise sarımsı rengi belirtmektedir. Bu çalışmada ham materyalin L*(parlaklık) değeri, 37.49 ± 2.05 olarak ölçülmüştür ($P < 0.05$). Marinasyon esnasında asidin etkisi ile balık filetoalarının rengi açılmış ve olgunlaşma sonrasında bu değer 72.35 ± 3.03 olarak tespit edilmiştir. Benzer olarak, Yeannes ve Casales (2008), yapmış oldukları hamsi marinatu çalışmalarında, salamuradaki asidin beyazlatıcı etkisinin olduğu belirtmiştir. Kadak (2012), hamsi marinatinin başlangıç ve marinasyon sonrasında L* değerini $40,01 \pm 2,04$, 63.65 ± 2.51 , a* değerini 0.29 ± 1.09 , 1.71 ± 0.60 , b* değerini ise 9.14 ± 1.02 ,

12.22 ± 0.36 olarak belirlemiştir. Bilir (2011)'de sardalye balığından yapmış olduğu marinatu çalışmasında, başlangıçtaki L*, a* ve b* değerlerinin olgunlaşma sonrasında arttığını tespit etmiştir. Balık etindeki değişimler bu çalışmadaki veriler ile benzerlik göstermektedir.

SONUÇ

Hamsinin marinasyon esnasındaki bazı fiziko-kimyasal parametrelerinin incelendiği bu çalışmada, 24 saatlik marinasyon süresince - özellikle ilk 6 saat içinde- balık etinin hem fiziksel hem de kimyasal özelliklerinde önemli, ancak marinatu için istenen değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak yüksek besleyici bir değere sahip olan hamsinin, marine edildikten sonra da besin değerini koruduğu ve salamura içeriğinin hamsi marinatu için gerekli olan özellikler açısından uygun olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Aksu, H., Erkan, N., Çolak, H., Varlık, C., Gökoğlu, N., Uğur, M. (1997). Some changes in anchovy marinades during production in different acid-salt concentrations and determination of shelf life. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(2), 86-89.
- Alçıçek, Z., Zencir, Ö., Çelik Çakıroğulları, G., Atar, H. H. (2010). The effect of liquid smoking of anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758) fillets on sensory, meat yield, polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content, and chemical changes. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 19(3-4), 264-273.
- Anonim (2018). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2018/02/20180216-17.htm>. (Erişim tarihi; 14.03.2018.)
- AOAC (1995). Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- Baygar, T., Alparslan, Y., Güler, M., Okumuş, M. (2010). Effect of pickling solution on maturing and storage time of marinated sea bass fillets. *Asian J. Anim. Vet. Adv*, 5, 575-583.
- Bilir, M. (2011). "Sardalya (*Sardina pilchardus*) Balığından Marinat Üretiminde Farklı Sirke Kullanımının Kalite Üzerine Etkileri" Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 107s.
- Cabrer, A. I., Casales, M. R., Yeannes, M. I. (2002). Physical and chemical changes in anchovy (*Engraulis anchoita*) flesh during marination. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11(1), 19-30.
- Cadun, A., Çaklı, S., Kışla, D. (2005). A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. *Food Chemistry*, 90(1-2), 53-59.
- Calder, B. L. (2003). The use of polyphosphates to maintain yield and quality of whole cooked, cryogenically frozen lobster (*Homarus americanus*) and the use of sorbitol and tocopherol to maintain quality of whole cooked, cryogenically frozen crab (*Cancer irroratus*).
- Cosansu, S., Mol, S., Alakavuk, D. U. (2010). Effect of a *Pediococcus* Culture on the Sensory Properties and Ripening of Anchovy Marinade at 4°C and 16°C. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(3).
- Çaklı, Ş. (2011). *Su ürünleri işleme teknolojisi*. Ege Üniversitesi Yayınları. Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 76. İkinci Baskı.
- Çaklı, Ş., Kışla, D. (2003). *Su ürünlerinde mikrobiyal kökenli bozulmalar ve önleme yöntemleri*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 20(1-2), 239-245.
- Erkan, N., Metin, S., Varlık, C., Baygar, T., Özden, Ö., Gün, H., Kalafatoğlu, H. (2000). Modifiye Atmosferle Paketlemenin (MAP) Paneli Alabalık Marinatlarının Raf Ömrü Üzerine Etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*, 24, 585-591.
- Falch, E., Overrien, I., Solberg, C., Slizyte, R. (2010). *Composition and calories*. In: Nollet, L.M.L., Toldrá, F. (Editors), *Seafood and Seafood Product Analysis*. Part III (Chapter 16), CRC Press. Taylor& Francies Group. Boca Raton. New York. pp 257-288.
- Feng, Y., Huang, Y. W. (2001). Effects of commercial marinades on the microbiological quality of catfish fillet. *Journal of Food Science* (unpublished).
- Gökoğlu, N. (2003). Changes in biogenic amines during maturation of sardine (*Sardina pilchardus*) marinade. *Fisheries Science*, 69(4), 823-829.
- Kadak, A. E. (2012). "Kitosan Eklenmiş Hamsi marinatlarının Soğuk Depolanmasında Oluşan Kimyasal Fiziksel Mikrobiyolojik ve Duyusal Değişimlerin İncelenmesi" Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 71s.
- Kadak, A. E., Çelik, M. (2015). Kitosan Eklenmiş Hamsi Marinatlarının Soğuk Depolanmasında Meydana Gelen Fiziksel ve Duyusal Değişimler. *Alınları Zirai Bilimler Dergisi*, 28(1), 33-44.
- Kaya, Y., Duyar, H.A., Erdem, M. E. (2004). Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*. Cilt 21, Sayı (3-4); 365-370.
- Kılınç, B., Çaklı, Ş. (2004a). *Marinat teknolojisi*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 21(1-2), 153-156.
- Kılınç, B., Çaklı, Ş. (2004b). Chemical, microbiological and sensory changes in thawed

- frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. *Food Chemistry*, 88(2), 275-280.
- Kurt Kaya, G., Baştürk, Ö. (2014). Organoleptic and Chemical Changes during Storage of Sea Bass Marinades (*Dicentrarchus labrax* L., 1758). *Journal of food processing and preservation*, 38(3), 1072-1079.
- Kurt Kaya, G., Baştürk, Ö. (2018). Sensory and Chemical Qualities of Marinated African Catfish (*Clarias gariepinus*, B., 1822) Preserved in Oil and Tomato Sauce. *Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research*, 1(1), 15-22.
- Manthey, M., Karnop, G., Rehbein, H. (1988). Quality changes of European catfish (*Silurus glanis*) from warm-water aquaculture during storage on ice. *International Journal of Food Science & Technology*, 23(1), 1-9.
- Özden, Ö. (2005). Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2015-2020.
- Özden, Ö., Baygar, T. (2003). Farklı Paketleme Yöntemlerinin Marine Edilmiş Balıkların Bazı Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(4).
- Özden, Ö., Varlık, C. (2004). *Marinat Teknolojisi*. In: C. Varlık (Ed.), *Su ürünleri İşleme Teknolojisi*. İstanbul Üniversitesi, Yayın No. 4465, Su ürünleri Fak. No: 7, İstanbul: 203-232. (In Turkish).
- Özoğul, Y., Özoğul, F., Kuley, E. (2010). Effects of combining of smoking and marinating on the shelf life of anchovy stored at 4°C. *Food Science and Biotechnology*, 19(1), 69-75.
- Sen, M. K. C., Temelli, S. (2003). Microbiological and chemical qualities of marinated anchovy prepared with different vegetable additives and sauce. *Revue de médecine vétérinaire*, 154(11), 703-708.
- Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V. (2000). *Biyoistatistik*, Hatiboğlu Yayınları:53, 9. Baskı, Ankara, 269s.
- Turan, H., Erkoyuncu, İ., Kocatepe, D. (2013). Omega-6, omega-3 yağ asitleri ve balık. *Yunus Araştırma Bülteni*, 2013(2).
- TÜİK, (2017). Türkiye İstatistik Kurumu. 2016 Yılı Su Ürünleri İstatistikleri.
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S., Baygar, T. (2004). *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*, s. 491. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4465.
- Varlık, C., Gökoğlu, N., Gün, H. (1993). Marinat Üretiminde sıcaklığın sirke/tuz geçişi üzerine etkisi. *Gıda Dergisi*, 18(4).
- Varlık, C., Özden, Ö., Erkan, N., Alakavuk, D. Ü. (2007). *Su Ürünlerinde Temel Kalite Kontrol*. İstanbul Üniversitesi Yayın, (4662), 1-202.
- Yeannes, M. I., Casales, M. R. (2008). Modifications in the chemical compounds and sensorial attributes of *Engraulis anchoita* fillet during marinating process. *Food Science and Technology*, 28(4), 798-803.

SOĞUK MASERASYONUN KARALAHNA VE CABERNET SAUVIGNON ŞIRALARININ ANTOSİYANİN VE UÇUCU BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Nesrin Merve Çelebi Uzkuç¹, Burcu Şişli¹, Yonca Karagül Yüceer¹,
Aslı Bayhan², Ayşegül Kırca Toklucu^{1*}

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

²Vinero Bağcılık, Çanakkale

Geliş / Received: 19.03.2018; Kabul / Accepted: 14.06.2018; Online baskı / Published online: 19.07.2018

Çelebi Uzkuç, N.M., Şişli, B., Karagül Yüceer, Y., Bayhan, A., Kırca Toklucu, A. (2018). Soğuk maserasyonun Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarının antosiyanın ve uçucu bileşenleri üzerine etkisi. GIDA (2018) 43 (4): 663-676 doi: 10.15237/gida.GD18038

Çelebi Uzkuç, N.M., Şişli, B., Karagül Yüceer, Y., Bayhan, A., Kırca Toklucu, A. (2018). Effect of cold maceration on anthocyanin and volatile compounds of Karalahna and Cabernet Sauvignon grape musts. GIDA (2018) 43 (4): 663-676 doi: 10.15237/gida.GD18038

ÖZ

Bu çalışmada, Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzümlerinden elde edilen mayşeye uygulanan soğuk maserasyonun (7-8°C/4 gün) şıranın genel bileşimi, antosiyanın ve uçucu bileşenleri üzerine etkileri incelenmiştir. Şıraların antosiyanın kompozisyonları Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi, uçucu bileşenleri ise Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi ile belirlenmiştir. Toplam monomerik antosiyanın (TMA) ve toplam fenolik madde miktarları (TFM) ile renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri ise spektrofotometrik yöntemlerle saptanmıştır. Karalahna şırasının TMA içeriği başlangıçta 89.4 mg/L iken, soğuk maserasyonla 145.1 mg/L düzeyine ulaşmıştır. Cabernet Sauvignon şırasının TMA içeriği ise 169 mg/L'den 358 mg/L'ye yükselmiştir. Şıralarda malvidin-3-glukozit hakim antosiyanın olup, soğuk maserasyon işlemi sonunda Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarında miktarı sırasıyla 1.3 ve 1.7 katına çıkmıştır. Örneklerde 17 alkol, 8 ester ve 7 adet diğer bileşikler olmak üzere toplam 32 adet uçucu bileşik tespit edilmiş olup, yüksek alkollerin ve esterlerin konsantrasyonunun soğuk maserasyon sonunda artış gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Soğuk maserasyon, antosiyanın, fenolik, uçucu bileşen, Karalahna, Cabernet Sauvignon

EFFECT OF COLD MACERATION ON ANTHOCYANIN AND VOLATILE COMPOUNDS OF KARALAHNA AND CABERNET SAUVIGNON GRAPE MUSTS

ABSTRACT

In this study, effects of cold maceration (7-8°C/4 days) on general properties, anthocyanins and volatile compounds of musts obtained from mashes of Karalahna and Cabernet Sauvignon grapes were investigated. Anthocyanin compositions and volatile compounds were determined by High Performance Liquid Chromatography and Gas Chromatography, respectively. Total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic compounds (TFM), color intensity and color hue values were determined by spectrophotometric methods. TMA content of musts increased from 89.4 mg/L to 145.1 mg/L and from 169 mg/L to 358 mg/L after cold maceration for Karalahna and Cabernet Sauvignon, respectively. Malvidin-3-glucoside was the main anthocyanin in must samples and its concentration after cold maceration was found as 1.3 and 1.7 times higher in Karalahna and Cabernet Sauvignon musts, respectively. In the musts a total of 32 volatile compounds (17 alcohols, 8 esters, 7 others) were detected and concentrations of higher alcohols and esters were increased by cold maceration.

Keywords: Cold maceration, anthocyanin, phenolic, volatile, Karalahna, Cabernet Sauvignon

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ aysegulkirca@comu.edu.tr

☎ (+90) 286 218 0018

☎ (+90) 286 218 0541

GİRİŞ

Soğuk maserasyon, kırmızı şarap üretiminde alkol fermentasyonu öncesinde uygulanan ve üzümün yapısında yer alan renk maddelerinin, fenolik bileşiklerin ve aroma maddelerinin şıraya geçişinin sağlandığı bir ön işlemdir. Özellikle kırmızı şarabın renginden sorumlu olan antosiyaninlerin üzüm kabuğundan şıraya geçişinde büyük bir öneme sahiptir (Gómez-Míguez vd., 2007). Maserasyon işleminde, çatlatılan üzümler belirli sıcaklıkta belirli sürelerle kabuk ve çekirdekleri ile beklemeye bırakılmaktadırlar. Sıcaklığın artışı kabuk ve çekirdeklerden fenolik maddelerin şıraya geçişini arttırırken, oksidatif enzimatik reaksiyonların gerçekleşmesine ve şıranın esmerleşmesine yol açmaktadır. Bu nedenle maserasyon işleminin düşük sıcaklıkta ve optimum sürede gerçekleştirilmesi kaliteli kırmızı şarap üretiminde oldukça önemlidir (Canbaş ve Cabaroğlu, 2000).

Antosiyaninler ve kabukta bulunan diğer bileşiklerin ekstraksiyonu; kimyasal (su, alkol, SO₂), biyolojik (maya, enzim faaliyeti) ve fiziksel (ısı ve kütle transferleri) bazı faktörlerden etkilenmektedir. Şeker, organik asit, antosiyaninler gibi suda çözünür bileşiklerin ekstraksiyonunda su solvent görevi üstlenirken; etanol alkol fermentasyonu sonucunda açığa çıkarak, özellikle fenolik bileşiklerin çözünerek şıraya geçişine yardımcı olmaktadır (Reynolds, 2010).

Soğuk maserasyon uygulamasında mayşe düşük sıcaklıklarda (2-15°C), 2 ile 14 gün arasında değişen sürelerde bekletilmektedir (Aleixandre-Tudo ve du Toit, 2018). Maserasyonun düşük sıcaklıkta gerçekleştirilmesindeki amaç, bozulma etmeni olan mikroorganizmalar (laktik asit ve asetik asit bakterileri) ile renk ve aroma kaybına yol açan enzimlerin faaliyetlerini sınırlamaktır (Sincar, 2010). Bu koşullar altında sıcaklık maya faaliyeti için elverişli olmadığından, suda çözünür renk maddeleri, fenolikler ve aroma bileşiklerinin ekstraksiyonu etanolsüz ortamda gerçekleşebilmektedir (Ribéreau-Gayon vd., 2006a; Şener ve Kalkan Yıldırım, 2012). Soğuk maserasyon işlemi daha çok suda çözünür bileşiklerin (antosiyaninler ve düşük molekül

ağırlıklı tanenler) üzüm kabuğundan ekstrakte edilerek şıraya geçmesini sağlamaktadır. Büyük molekül ağırlıklı tanenler ise, alkolde daha iyi çözüldükleri için alkol fermentasyonunun başlamasıyla şıraya daha kolay geçmektedirler (González-Neves vd., 2013). Güven (2008), soğuk maserasyonun olumlu etkilerini; mayşenin akışkanlık kazanması, pektolitik enzimlerin etkisiyle başlayan renk verimi, kuru madde artışı ve meyvensi-üzümsü aromanın yoğunlaşması olarak ifade etmiştir.

Literatürde mayşeye farklı sıcaklık ve sürelerde uygulanan soğuk maserasyon sonrasında elde edilen kırmızı şaraplarda antosiyanin, fenolik bileşik ve uçucu bileşen konsantrasyonlarındaki değişimlerin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Casassa vd., 2015; Panprivech vd., 2015; Ortega-Heras vd., 2012; Gordillo vd., 2010; Kelebek vd., 2010; De Santis ve Frangipane, 2010; Heredia vd., 2010; González-Neves vd., 2010; Gómez-Míguez vd., 2007). Örneğin, Gómez-Míguez vd. (2007), Şiraz kırmızı üzüm çeşidinde 15°C de 7 günlük soğuk maserasyon uygulamasının antosiyanin ve diğer fenolik maddelerin ekstraksiyonunu arttırdığını; daha koyu kırmızı renge sahip ve daha az esmerleşmeye uğrayan şarapların elde edildiğini ortaya koymuşlardır. De Santis ve Frangipane (2010) ise, 8°C'de 4 gün süren soğuk maserasyon uygulamasıyla kırmızı şarap üretiminde geleneksel maserasyon tekniğine kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda antosiyanin ve uçucu bileşen içeren şarapların üretildiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Kalecik Karası üzümlerinden soğuk maserasyon tekniği (7°C/5 gün) ile elde edilen şarapların uçucu bileşen ve antosiyanin içeriklerinin daha yüksek düzeyde olduğu ve duyuusal değerlendirmelerde panelistler tarafından daha çok tercih edildiği belirlenmiştir (Sincar, 2010). Kelebek vd. (2010) ise, Öküzgözü üzümlerinden soğuk maserasyon yöntemi (7°C/5 gün) ile üretilen şarapların renk yoğunluğu, toplam fenol bileşikleri ve tanen içeriklerinin daha yüksek düzeyde olduğunu ortaya koymuşlardır. Diğer taraftan, Lukic vd. (2017) Hırvatistan'a özgü kırmızı bir üzüm çeşidi olan Teran ile yaptıkları çalışmalarında soğuk maserasyon (5°C'de 5 gün) ile elde edilen şarapların toplam

antosiyenin içeriklerinin klasik maserasyona kıyasla daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir.

Soğuk maserasyon tekniğinin uygulanmasında tercih edilen yöntemler de dikkat çeken araştırma konularındandır. Üzümlerin düşük sıcaklıkta bir depoda bekletilmesiyle, soğutucu sistemlerle veya kuru buz (CO₂) kullanılarak mayşenin soğutulması mümkün olmaktadır. Malbec üzümlerinden kırmızı şarap üretiminde kuru buz ile gerçekleştirilen soğuk maserasyon uygulamasının antosiyanin ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda olumlu sonuçlar verdiği ifade edilmiştir (Casassa ve Sari, 2015). Diğer yandan, González-Neves vd. (2015) fermentasyon öncesinde kuru buz ilavesi ile soğuk maserasyon (10°C/5 gün) uygulaması sonrasında Tannat çeşidi üzümlerden elde ettikleri kırmızı şarapların antosiyanin içeriklerinin maserasyon uygulanmayan kontrol örneklerinden daha düşük düzeyde olduğunu belirlemişlerdir.

Soğuk maserasyon uygulamasının doğrudan şıranın antosiyanin ve uçucu bileşen kompozisyonu üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar oldukça azdır. Mevcut araştırmaların da genellikle beyaz üzüm çeşitlerinde veya şarap örneklerinde gerçekleştirildiği görülmektedir (Canbaş ve Cabaroğlu, 2000; Selli vd., 2003). Bu çalışmada, soğuk maserasyon işleminin Bozcaada'ya özgü bir üzüm çeşidi olan Karalahna ile Fransız menşeli Cabernet Sauvignon kırmızı üzüm şıralarının önemli karakteristik özellikleri üzerine etkileri ortaya konmuştur. Cabernet Sauvignon, başta Avrupa olmak üzere dünyanın pek çok bölgesinde yaygın olarak yetiştirilmekte olup, bordo şarap sınıfında en bilinen üzüm çeşididir. Çekirdekli, asidik, ufak taneli olmakla birlikte oldukça koyu renkte sert kabuğa sahiptir. Genetik yapısı itibarıyla 'Cabernet Franc' ve 'Sauvignon Blanc' türlerinden köken aldığı bilinmektedir (Jackson, 2008). Bozcaada'ya özgü olan Karalahna üzüm çeşidinin ise taneleri yuvarlak ve iri, koyu mor renkli, kalın kabuklu olup, tane içi etli ve renksizdir. Karalahna üzümlerinden üretilen şarapların rengi oldukça koyu yakut kırmızı olduğundan, bu şaraplardan ülkemizde uzun yıllar açık renkli şarapların renk islahında yararlanılmıştır (Anlı, 2006). Literatürde

Karalahna şırasının antosiyanin dağılımı ve uçucu bileşen kompozisyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönden çalışmanın özgün değeri ile literatüre katkı sağlamasının yanında, şarap üreticilerine de faydalı olacağı düşünülmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada Çanakkale Bozcaada'ya özgü yerli bir üzüm çeşidi olan Karalahna ve yabancı menşeli Cabernet Sauvignon üzümleri kullanılmıştır. Karalahna çeşidi üzümler Bozcaada'da bulunan Talay Şarapçılık'a ait bağlardan, Cabernet Sauvignon çeşidi üzümler ise Eceabat/Çanakkale'de bulunan Vinero Bağcılık San. ve Tic. A.Ş.'nin sahip olduğu bağlardan uygun hasat döneminde elle hasat edilerek işletmeye (Vinero Şarap; Eceabat) getirilmiştir.

Yöntem

İşletmeye alınan üzümler saptarından ayrılarak mayşeye işlendikten sonra, 25 litrelik cam damacanalara alınarak 15 mg/L SO₂ ilavesi yapıp, soğuk maserasyon uygulaması için 7-8°C'de 4 gün süreyle bekletilmiştir. Soğuk maserasyon işleminden önce ve sonra olmak üzere, mayşe örneklerinden iki aşamada örnekleme yapılmış ve alınan örnekler analizler gerçekleştirilene kadar -18°C'de dondurularak muhafaza edilmiştir. Çalışma iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Fiziksel ve kimyasal analizler

Şıra örneklerinde pH (pH-metre, Sartorius PB-11 - Almanya), toplam asitlik, kurumadde ve kül tayini (Ough ve Amerine, 1988), indirgen şeker miktarı (OIV, 2018) analizleri gerçekleştirilmiştir.

Toplam monomerik antosiyanin (TMA) miktarı:

Şıraların TMA içeriği, Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen ve Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH-diferansiyel yöntemine göre belirlenmiştir. Örneklerin TMA miktarı malvidin-3-glikozit cinsinden "mg/L" olarak hesaplanmıştır.

Toplam fenolik madde (TFM) miktarı

Şıra örneklerinde TFM miktarı Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgemesi ve oluşan mavi rengin spektrofotometrede ölçümü prensibine dayanmaktadır. TFM miktarını belirleyebilmek için gallik asit kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisinden ($R^2=0.991$) yararlanılmış ve sonuçlar gallik asit cinsinden "mg/L" olarak verilmiştir.

Renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri

Örneklerin 420 nm, 520 nm ve 620 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin saf suya karşı ölçümüne dayalı olarak renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri hesaplanmıştır (Ribéreau-Gayon vd., 2006b).

Antosiyenin kompozisyonu

Şıra örneklerinin antosiyenin dağılımları Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile belirlenmiştir. Analizde ters faz (reverse phase) C18 kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm; Phenomenex Inc. Los Angeles, CA, ABD) ve diyot dizilim dedektör (DAD) kullanılmıştır. Mobil faz olarak A: Asetonitril (%100) ve B: *o*-fosforik asit:asetik asit:asetonitril:su (1:10:5:84; v/v/v/v) karışımı kullanılmış olup, gradient akış söz konusudur. Akış hızının 1 mL/dk olduğu sistemde, Dıblan (2013) tarafından modifiye edilen gradient akış profili (Çizelge 1) kullanılmış olup, elüsyon süresi 36 dk ve enjeksiyon hacmi 30 µL'dir. Örnekler saflaştırma işlemi uygulanmadan, yalnızca 0.20 µm'lik membran filtreden geçirilerek doğrudan cihaza enjekte edilmiş ve elde edilen kromatogramlar 520 nm dalga boyunda değerlendirilmiştir.

Elde edilen antosiyenin pikleri, standart maddelerin geliş süresi ve dedektörde elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılması ile tanımlanmıştır. Bu amaçla 4 adet antosiyenin standardı (Fluka, MO, ABD) kullanılmıştır. Bunlar; malvidin-3-glikozit (Mv-3-Glu), peonidin-3-glikozit (Peo-3-Glu), delfinidin-3-glikozit (Dp-3-Glu), siyanidin-3-glikozittir (Cy-3-Glu). Antosiyenin standartları asitli suda (% 0.01 HCl) çözündürülerek hazırlanmış ve her bir antosiyenin

standardı için en az 5 veriye dayalı kalibrasyon eğrileri (Mv-3-Glu, $R^2=0.966$; Peo-3-Glu, $R^2=0.999$; Dp-3-Glu, $R^2=0.999$; Cy-3-Glu, $R^2=0.999$) oluşturulmuştur.

Çizelge 1. Mobil faz gradient akış profili
Table 1. Mobile phase gradient flow profile

Süre (dk) Time (min)	%A	%B
0	1	99
10	12	88
16	22	78
25	50	50
30	1	99
35	1	99

Uçucu bileşen kompozisyonu

Şıra örneklerinde bulunan uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890N, MS 5975C, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmış olup, uçucu bileşenlerin izolasyonu amacıyla katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) uygulanmıştır (Molina vd., 2007; Varela vd., 2009). Analiz koşulları aşağıdaki gibidir:

Kolon: Polar olmayan HP5 kolonu (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA)

Taşıyıcı gaz: Helyum, 1.2 mL/dk,

Fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40°C'de 2 dk, Ramp1: 2°C/dk, 120°C de 3 dk, Ramp2: 8°C/dk, 250°C de 2 dk,

MS şartları: Kapiler arayüz (capillary interface) sıcaklığı 280°C, iyonizasyon enerjisi (ionization energy): 70 eV; kütle aralığı (mass range) 35 ile 350 amu, tarama hızı (scan rate) 4.45 scans/s

Uçucu bileşenlerin izolasyonu amacıyla; amber renkli 40 mL'lik SPME vialindeki (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) 5 mL şıra örneğinin üzerine 10 µL iç standart karışımı ve 1 g NaCl ilave edilmiş ve vorteks (Grant Bio, Hillsborough, İngiltere) ile karıştırıldıktan sonra 40°C'deki su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. 20 dakikanın sonunda SPME fiberi (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Bellefonte, PA, ABD) vialin tepeboşluğuna batırılarak 40°C'de 20 dakika süre ile uçucu bileşenlerin fiber

üzerinde toplanması sağlanmış ve GC-MS'e enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Madde miktarlarının belirlenmesi için alkol ve ester olmak üzere iki farklı iç standart kullanılmıştır: 4-metil 2-pentanol (4M2P; Aldrich, MO, ABD) ve metil nonanoat (MN; Sigma-Aldrich, MO, ABD). Uçucu bileşenlerden alkollerin konsantrasyonu 4M2P piki; esterler ve diğer bileşikler ise MN pikine dayalı olarak hesaplanmıştır. Hekzanoik asit konsantrasyonu 60 iyonuna dayalı olarak iyon ekstraksiyonu ile tespit edilmiştir. Uçucu maddelerin miktarlarının belirlenmesi için aşağıda verilen Eşitlik 1 kullanılmıştır. İç standart karışımında çözügen olarak etil alkol kullanılmış olup, karışım 1 mL'sinde 0.1 µL metil nonanoat ve 1 µL 4-metil 2-pentanol içermektedir.

$$\text{Madde miktarı} = (\text{Cis} \times \text{Ax}) / \text{Ais} \quad (1)$$

Cis: İç standart maddenin konsantrasyonu

Ax: Aranan maddenin pik alanı

Ais: İç standart maddenin pik alanı

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics (version 22) yazılımından yararlanılmıştır. Maserasyon öncesi ve sonrasında şıralar arasındaki farklılıklar eşlenik t testi (Paired-Samples T Test) ile belirlenmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Soğuk maserasyonun şıraların genel bileşimine etkisi

Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzüm mayşelerinden, soğuk maserasyon öncesi ve sonrasında elde edilen şıraların genel bileşimi Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzümü mayşelerinden soğuk maserasyon öncesi ve sonrasında elde edilen şıraların genel özellikleri

Table 2. General properties of musts obtained before and after the cold maceration of Karalahna and Cabernet Sauvignon mash

Özellik Properties	Karalahna		Cabernet Sauvignon	
	Maserasyon öncesi <i>Before</i> <i>maceration</i>	Maserasyon sonrası <i>After</i> <i>maceration</i>	Maserasyon öncesi <i>Before</i> <i>maceration</i>	Maserasyon sonrası <i>After</i> <i>maceration</i>
pH	3.15±0.01 ^a	3.11±0.01 ^a	3.95±0.01 ^a	4.10±0.00 ^b
Toplam asit* (g/L) <i>Total acidity</i>	6.64±0.34 ^a	7.46±0.49 ^b	4.35±0.23 ^a	4.91±0.26 ^b
Kurumadde (g/L) <i>Drymatter</i>	244.52±32.96 ^a	275.63±29.25 ^a	134.69±54.46 ^a	173.50±9.35 ^a
Kül (g/L) <i>Ash</i>	2.56±0.49 ^a	2.57±0.13 ^a	3.18±0.31 ^a	3.21±0.54 ^a
TMA (mg/L)	89.45±1.15 ^a	145.14±0.62 ^b	169.27±3.70 ^a	358.45±1.23 ^b
TFM (mg/L)	1387.27±4.54 ^a	1791.82±18.18 ^b	993.60±15.90 ^a	1634.55±34.05 ^b
Renk yoğunluğu <i>Color density</i>	4.45±0.09 ^a	5.48±0.04 ^b	5.01±0.01 ^a	9.24±0.02 ^b
Renk tonu <i>Color hue</i>	0.85±0.01 ^a	0.87±0.01 ^b	1.11±0.01 ^a	0.91±0.02 ^b

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. * Tartarik asit cinsinden

Her üzüm çeşidi için aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir (P≤0.05).

Data given as mean±standard error. * Given as tartaric acid

Different letters in the same horizontal line for each grape variety display the significant differences (P≤0.05).

Çizelge 2'de görüldüğü gibi soğuk maserasyon işlemi sonunda Karalahna üzüm şirasının pH değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmezken, Cabernet Sauvignon şirasının pH değerinde bir miktar yükseliş olduğu belirlenmiştir. Toplam asitlik değerlerinin ise, soğuk maserasyon uygulaması sonunda her iki üzüm çeşidine ait şıralarda arttığı saptanmıştır. Şıraların kurumadde ve kül içerikleri, beklenildiği gibi soğuk maserasyon işlemi sonunda kabuk ve çekirdekten şıraya geçen maddeler sonucu artış göstermiş ancak bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır.

Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarının toplam monomerik antosiyanin (TMA) içerikleri sırasıyla 89.45 ve 169.27 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Soğuk maserasyon işlemi sonrasında, Karalahna şirasının TMA içeriğinin 145.14 mg/L'ye, Cabernet Sauvignon şirasında ise 358.45 mg/L'ye yükseldiği saptanmıştır. Görüldüğü gibi, soğuk maserasyon işlemi şıraların toplam monomerik antosiyanin içeriklerinde 1.6 ve 2.1 kat düzeyinde artış sağlamıştır. Benzer şekilde, Syrah (Şiraz) üzümünde yapılan bir çalışmada soğuk maserasyon işlemiyle (15°C'de 7 gün) şıranın TMA içeriğinin 136.74'ten 309.31 mg/L'ye yükselerek, 2.2 kat artış gösterdiği belirtilmiştir (Gómez-Míguez vd., 2007). Teran üzümünden klasik maserasyonla elde edilen şaraplarda TMA içeriği 452.8 mg/L iken soğuk maserasyon (5°C/5 gün) şarabında ise 360.5 mg/L olarak bulunmuştur (Lukic vd., 2017). Literatürde monomerik antosiyaninlerin konsantrasyonunun, maserasyonun ilk 3-4 günü maksimum seviyeye ulaştığı ve daha sonra ekstraksiyon süresince azalma gösterdiği bildirilmiştir (Gómez-Míguez vd., 2007; Singleton ve Trousdale, 1992). Bu durum, maserasyon sürecinde antosiyanin bileşiklerinin oksidasyon, hidroliz, kondenzasyon ve polimerizasyon reaksiyonlarına katılmasının yanı sıra ortamda bulunan mayaların yüzeyine tutunabilmesi (adsorpsiyon) veya üzümlerin katı parçacıklarına bağlanabilmesiyle açıklanabilmektedir (Aleixandre-Tudo ve du Toit, 2018).

Soğuk maserasyon uygulamasıyla şıraların TFM içeriklerinin de arttığı saptanmıştır. Karalahna üzümüne ait şırada TFM içeriğinde %29.2'lik bir

artış meydana gelirken, Cabernet Sauvignon şirasında ise 4 günlük soğuk maserasyon uygulaması sonunda %64.5'lik bir artış olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, Emir üzümüne kabuk maserasyonu uygulaması sonucunda şıranın toplam fenol bileşikleri indisinin %14.3 düzeyinde artış gösterdiği belirlenmiştir (Canbaş ve Cabaroğlu, 2000). Gómez-Míguez vd. (2007) de, Şiraz üzümlerine soğuk maserasyon uygulamasında (15°C/7gün) maserasyonun ilk 4 günü toplam polifenolik maddelerin ekstraksiyon hızının daha yüksek olduğunu, ancak bu aşamadan sonra yavaşlayarak sabit bir seyir gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Başka bir çalışmada ise, Cabernet Sauvignon üzümlerinde alkol fermentasyonundan önce farklı sürelerle uygulanan soğuk maserasyon işleminin (10°C/0-10 gün) fenolik maddelerin ekstraksiyonu üzerine etkisi incelenmiş ve daha uzun maserasyon süresi ile birlikte gallik asit, (+)kateşin, (-)epikateşin gibi önemli fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun da artış gösterdiği belirlenmiştir (Panprivech vd., 2015).

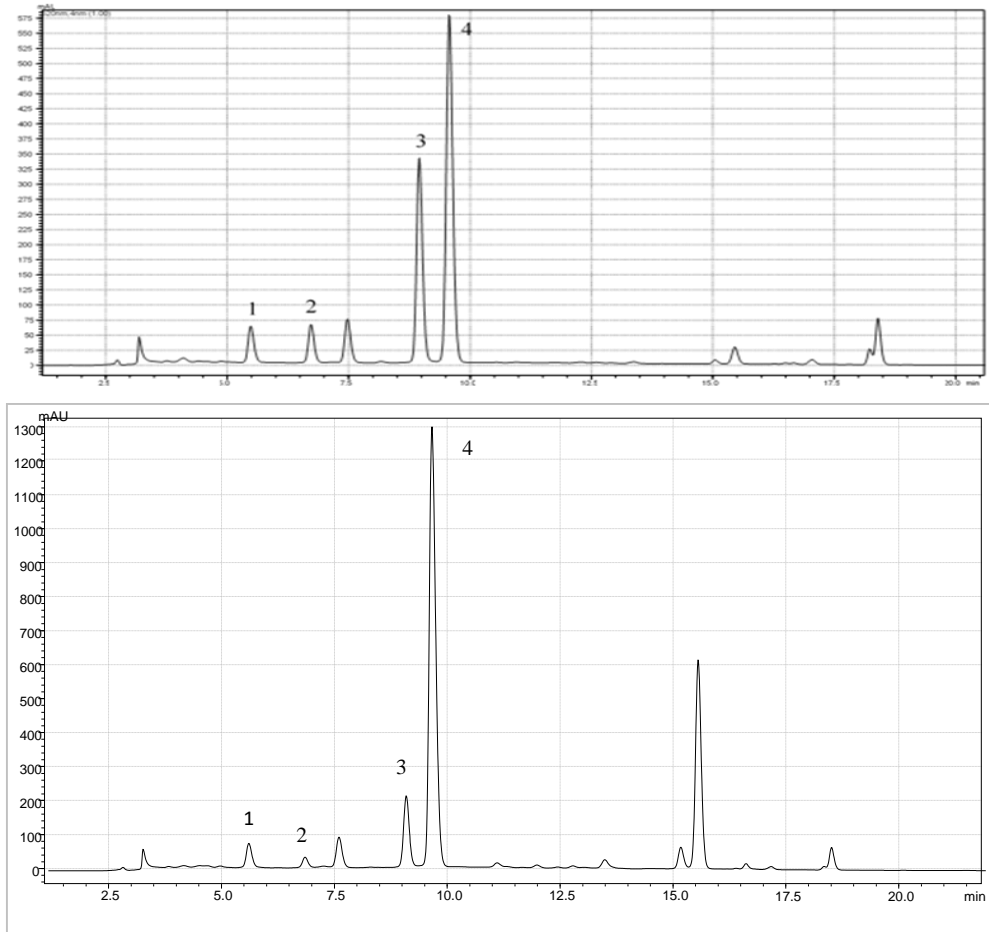
Şıraların renk özelliklerini belirlemek amacıyla, soğuk maserasyon öncesi ve sonrasında rengin yoğunluğunu (miktarını) gösteren renk yoğunluğu değerleri ile oksidasyonun bir göstergesi olarak kabul edilen renk tonu değerleri belirlenmiştir. Şıraların TMA içeriklerindeki artış düzeylerine paralel olarak renk yoğunluğu değerleri de, soğuk maserasyon sonunda artış göstermiştir. Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarının TMA içeriklerindeki 1.6 ve 2.1 kat düzeyinde artışa karşılık, renk yoğunluğu değerlerinde de sırasıyla 1.23 ve 1.84 kat düzeyinde artış meydana gelmiştir. Renk tonu değerlerinin ise iki üzüm şirasında da maserasyon işleminden sonra farklı oranlarda azaldığı saptanmıştır. Literatürde de şıraya uygulanan soğuk maserasyon sonrasında renk değerlerinde benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Örneğin, Cabernet Sauvignon üzümlerinde alkol fermentasyonundan önce uygulanan soğuk maserasyon işleminin farklı günlerinde (0-1-4-7-10 gün/10°C) takip edilen renk yoğunluğu değerlerinin maserasyon süreci boyunca artış gösterdiği belirlenmiştir (Panprivech vd., 2015). Aynı çalışmada, renk tonu değerinin ise maserasyonun 1. gününde 0.86 iken, 4. günün sonunda 0.42'ye düştüğü saptanmıştır.

Soğuk maserasyonun şıraların antosiyanin kompozisyonuna etkisi

Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzüm mayşelerinden soğuk maserasyon öncesi ve sonrasında elde edilen şıra örneklerinin antosiyanin dağılımları HPLC ile belirlenmiş ve miktarları hesaplanmıştır. Şıralarda, definidin-3-glukozit (Dp-3-Glu), siyanidin-3-glukozit (Cy-3-Glu), peonidin-3-glukozit (Peo-3-Glu) ve malvidin-3-glukozit (Mv-3-Glu) olmak üzere 4 adet antosiyanin bileşiği tanımlanarak konsantrasyonları belirlenmiştir.

Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzümüne ait soğuk maserasyon sonrasında antosiyaninlerin dağılımını gösteren HPLC kromatogramları (520 nm) Şekil 1'de verilmiştir. Söz konusu

kromatogramlar incelendiğinde, Mv-3-Glu'nun Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarında baskın antosiyanin çeşidi olduğu anlaşılmaktadır. Karalahna şırasında Mv-3-Glu konsantrasyonu soğuk maserasyon öncesinde şırada bulunan antosiyaninlerin %42'sini, maserasyon sonrasında ise %44'ünü oluşturmaktadır (Çizelge 3). Cabernet Sauvignon şırasında ise soğuk maserasyon öncesinde şırada bulunan antosiyaninlerin %53'ünü, sonrasında %50'sini Mv-3-Glu'nun oluşturduğu saptanmıştır. Mv-3-Glu, kırmızı üzümlerde hakim antosiyanin olmakla birlikte, konsantrasyonunun üzüm çeşidine bağlı olarak %50-90 aralığında değişebildiği belirtilmektedir (Ribéreau-Gayon vd., 2006b).



Şekil 1. Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarına ait 520 nm'de HPLC kromatogramları (1: Dp-3-Glu, 2: Cy-3-Glu, 3: Peo-3-Glu, 4: Mv-3-Glu)

Figure 1. HPLC chromatograms of Karalahna and Cabernet Sauvignon musts at 520 nm (1: Dp-3-Glu, 2: Cy-3-Glu, 3: Peo-3-Glu, 4: Mv-3-Glu)

Mv-3-Glu konsantrasyonu soğuk maserasyon işlemi ile Karalahna sırasında 53.21 mg/L'den 66.47 mg/L'ye, Cabernet Sauvignon sırasında ise 79.26 mg/L'den 132.45 mg/L'ye yükselmiştir. Benzer şekilde, Gil-Muñoz vd. (2009), soğuk maserasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarının Mv-3-Glu miktarının kontrole göre daha yüksek düzeyde olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak, literatürde aksi sonuçların elde edildiği çalışmalar da mevcuttur. Örneğin bir araştırmada, soğuk maserasyonla elde edilen kırmızı şarapların Mv-3-Glu konsantrasyonu 172.1 mg/L iken, klasik maserasyon ile üretilenlerde 269.8 mg/L olarak ifade edilmiş ve aradaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Lukic vd., 2017). Başka bir araştırmada ise klasik ve soğuk maserasyon teknikleriyle üretilen Cabernet Sauvignon şaraplarında Mv-3-Glu konsantrasyonunda önemli bir değişim saptanmamıştır (Bayram vd., 2017).

Karalahna'ya ait üzüm sırasında antosiyanin konsantrasyonları sırasıyla Mv-3-Glu>Peo-3-Glu>Dp-3-Glu>Cy-3-Glu şeklinde saptanmıştır. Soğuk maserasyon sonunda maddelerin konsantrasyonlarının farklı oranlarda artış gösterdiği ancak bu sıralamanın korunduğu görülmektedir. Karalahna çeşidinde soğuk maserasyon ile Cy-3-Glu, Peo-3-Glu ve Mv-3-Glu yaklaşık 1.3 katına çıkarken, Dp-3-Glu konsantrasyonu ise 1.2 katına ulaşmıştır. Cabernet

Sauvignon şirasına ait antosiyanin konsantrasyonlarının da Karalahna'da olduğu gibi soğuk maserasyon sonunda farklı oranlarda arttığı görülmektedir. Soğuk maserasyon ile Dp-3-Glu konsantrasyonu 5.5 katına, Cy-3-Glu 1.8 katına, Peo-3-Glu 1.6 katına ve Mv-3-Glu 1.7 katına ulaşmıştır. Karalahna'dan farklı olarak, antosiyanin konsantrasyonları maserasyon öncesinde Mv-3-Glu>Peo-3-Glu>Cy-3-Glu>Dp-3-Glu şeklinde iken, soğuk maserasyon işleminden sonra Dp-3-Glu 5.5 katına yükselerek, Cy-3-Glu'n önüne geçtiği belirlenmiştir. Şiraz üzümünde fermentasyon öncesi uygulanan soğuk maserasyonun (15°C/7 gün) şiranın antosiyanin dağılımına etkisinin incelendiği bir araştırmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Gómez-Míguez vd., 2007). Maserasyon süresince antosiyanin kompozisyonunun incelendiği çalışmada, maserasyonun 4. günü; Mv-3-Glu'n 2.5, Peo-3-Glu'n 1.8, Cy-3-Glu'n 1.5 ve Dp-3-Glu'n ise 2.2 katına yükseldiği ortaya konmuştur. González-Neves vd. (2016), Tannat, Şiraz ve Merlot üzümleri ile klasik (kontrol), enzimatik ve soğuk maserasyon olmak üzere farklı üretim tekniklerinin şarapların antosiyanin kompozisyonları üzerine etkilerini araştırmışlar ve soğuk maserasyon tekniği ile üretilen Tannat ve Merlot şaraplarının antosiyanin fraksiyonlarında kontrol örneklerine göre artış olduğunu belirlemişlerdir.

Çizelge 3. Soğuk maserasyonun şıraların antosiyanin kompozisyonu üzerine etkisi
Table 3. Effect of cold maceration on anthocyanin composition of musts

	Karahna		Cabernet Sauvignon	
	Maserasyon öncesi	Maserasyon sonrası	Maserasyon öncesi	Maserasyon sonrası
Anthocyanins	<i>Before maceration</i>	<i>After maceration</i>	<i>Before maceration</i>	<i>After maceration</i>
Dp-3-Glu	5.36±0.21 ^a	6.59±0.06 ^b	1.51±0.11 ^a	8.33±0.10 ^b
Cy-3-Glu	4.30±0.08 ^a	5.55±0.04 ^b	1.75±0.06 ^a	3.17±0.08 ^b
Peo-3-Glu	23.53±0.31 ^a	31.03±0.17 ^b	11.99±0.15 ^a	19.67±0.18 ^b
Mv-3-Glu	53.21±0.66 ^a	66.47±0.53 ^b	79.26±0.79 ^a	132.45±1.11 ^b

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Antosiyanin konsantrasyonları mg/L cinsinden hesaplanmıştır.

Aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir (P≤0.05).

Data given as mean±standard error. Anthocyanin concentrations were calculated as mg/L.

Different letters in the same horizontal line display the significant differences (P≤0.05).

Soğuk maserasyonun şıranın uçucu bileşen kompozisyonuna etkisi

Şıralarda saptanan uçucu bileşenler ve konsantrasyonları Çizelge 4'te verilmiştir. Şıralarda belirlenen uçucu bileşenleri yüksek alkoller, esterler ve diğer bazı uçucu bileşenler oluşturmaktadır. Karalahna üzümünde 11 adet alkol, 6 adet ester ve 6 adet diğer uçucu bileşenler olmak üzere toplam 23 adet uçucu bileşen saptanmıştır. Cabernet Sauvignon üzümünde ise 12 adet alkol, 4 adet ester ve 3 adet diğer uçucu bileşenler olmak üzere toplam 19 adet uçucu bileşen belirlenmiştir.

Genel olarak, iki üzüm çeşidinin uçucu bileşen değerleri incelendiğinde, yüksek alkollerin soğuk maserasyon sonunda artış gösterdiği görülmektedir. Örneğin, şarap aromasına olumlu katkı sağlayan ve çiçeksi aromaya sahip feniletik alkol bileşiği, Karalahna şırasında 177.42'den 205.28 µg/L'ye yükselirken, Cabernet Sauvignon şırasında 29.76'dan 36.86 µg/L'ye çıkmıştır.

1-Hekzanol, 2-hekzen-1-ol ve (Z) 3-hekzen-1-ol üzümün yapısından şıraya katılan ve otsu aroma ile karakterize edilen altı karbonlu bileşikler olup, elde edilen şaraba karakteristik ham meyve aroması kazandırmaktadırlar (Ribéreau-Gayon vd., 2006b). Karalahna üzümünde bulunan 2-hekzen-1-ol'un, Cabernet Sauvignon'da ise (Z) 3-hekzen-1-ol'un soğuk maserasyon sonunda azaldığı belirlenmiştir.

Diğer yandan, Karalahna ve Cabernet Sauvignon şıralarında uçucu bileşenlerin büyük bölümünü 1-hekzanol bileşiğinin oluşturduğu görülmektedir. Karalahna şırasında soğuk maserasyon öncesinde 1048.46 µg/L olan 1-hekzanol konsantrasyonu, maserasyon sonunda 1883.12 µg/L'ye ulaşmıştır. Cabernet Sauvignon şırasında ise bu miktar 2721.79 µg/L'den 3381.43 µg/L'ye yükselmiştir. Benzer şekilde, maserasyon uygulanan Emir üzümü şıralarında altı karbonlu bu bileşiklerin daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu Canbaş ve Cabaroğlu (2000) tarafından da ortaya konmuştur. Soğuk maserasyonla Teran

üzümlerinden elde edilen kırmızı şaraplarda da benzer sonuçlar bulunmuştur (Lukic vd., 2017).

Meyvemsi aromadan sorumlu ester bileşiklerinin de soğuk maserasyon işlemi sonrasında arttığı görülmektedir. Şıralarda belirlenen ester bileşiklerinin toplam konsantrasyonu Karalahna çeşidinde 77.9 µg/L'den 120.4 µg/L'ye, Cabernet Sauvignon çeşidinde ise 22.2 µg/L'den 119.9 µg/L'ye çıkmıştır. Görüldüğü gibi, maserasyon uygulamasıyla ester bileşikleri Karalahna çeşidinde 1.5 kat artarken, Cabernet Sauvignon şırasında 5.4 katlık bir artış göstermiştir.

Üzüm şıralarında tespit edilen ester bileşiklerinden en yüksek konsantrasyona sahip olan etil asetat olmuştur. Soğuk maserasyon uygulaması sonunda etil asetat konsantrasyonu Karalahna şırasında 1.2 katına çıkarken, Cabernet Sauvignon şırasında ise 6.9 katına ulaşmıştır. Bu artış, soğuk maserasyon işlemi süresince mayşe sıcaklığı her ne kadar fermentasyon için uygun olmasa da, mayaların faaliyetinden kaynaklanmış olabilir. Nitekim *Kloeckera apiculata* veya *Hanseniaspora uvarum* gibi maya türlerinin faaliyeti sonucu önemli miktarda etil asetatın açığa çıkabildiği bilinmektedir (Reynolds, 2010).

İki çeşide ait şıraların hekzanal ve (E) 2-hekzanal miktarlarının Karalahna şırasında artarken, Cabernet Sauvignon şırasında ise azaldığı saptanmıştır. 3-Hidroksi-2-bütanon, 3-metil bütanoik asit ve nonanal bileşikleri Karalahna şırasında belirlenirken, Cabernet Sauvignon şırasında tespit edilememiştir. Benzer şekilde; üzümün kabuğunda bulunan ve gül benzeri ya da sitrus aromalarıyla tanımlanan bir terpen bileşiği olan geraniol de Karalahna şırasında belirlenmiştir. Üzümün olgunlaşmasıyla birlikte geraniol konsantrasyonunun da arttığı, fermentasyon işlemiyle şaraba geçişinin kolaylaştığı bilinmektedir (Baron vd., 2017). Diğer yandan, hekzanoik asit ise Cabernet Sauvignon çeşidinde azalırken, Karalahna şıralarında belirleme sınırının altında bulunmuştur.

Çizelge 4. Soğuk maserasyonun şıraların uçucu bileşen kompozisyonu üzerine etkisi
 Table 4. Effect of cold maceration on volatile composition of musts

Uçucu bileşenler <i>Volatile compounds</i>	Aroma Tanımlayıcıları <i>Aroma descriptors</i>	Karalahna		Cabernet Sauvignon	
		Maserasyon öncesi <i>Before maceration</i>	Maserasyon sonrası <i>After maceration</i>	Maserasyon öncesi <i>Before maceration</i>	Maserasyon sonrası <i>After maceration</i>
Alkoller <i>Alcohols</i>					
3-Metil-1 butanol <i>3-Methyl-1 butanol</i>	-	41.60±5.28 ^a	91.59±24.89 ^a	TE	TE
2-Metilbütan-1-ol <i>2-Methylbutan-1-ol</i>	-	104.06±3.84 ^a	238.25±15.00 ^b	TE	TE
1-Pentanol <i>1-Pentanol</i>	Balsamik ¹ <i>Balsamic</i>	TE	TE	19.31±3.41 ^a	29.74±0.70 ^a
(Z) 2-Penten-1-ol <i>(Z) 2-Penten-1-ol</i>	-	TE	TE	17.52±2.31 ^a	21.74±0.67 ^a
(Z) 3-Hekzen-1-ol <i>(Z) 3-Hexen-1-ol</i>	-	109.74±0.21 ^a	118.49±2.71 ^a	136.28±1.72 ^a	88.12±1.72 ^b
2-Hekzen-1-ol <i>2-Hexen-1-ol</i>	Yeşil, çimen ² <i>Green, grass</i>	390.94±10.64 ^a	170.57±1.61 ^b	TE	TE
1-Hekzanol <i>1-Hexanol</i>	Yeşil, çimen ¹ <i>Green, grass</i>	1048.46±21.97 ^a	1883.12±0.92 ^b	2721.79±54.08 ^a	3381.43±38.14 ^a
2-Heptanol <i>2-Heptanol</i>	Portakal ¹ , meyvemsi ² <i>Orange, fruity</i>	23.71±0.43 ^a	32.50±0.35 ^b	TE	TE
1-Heptanol <i>1-Heptanol</i>	Tatlı ³ , limon ¹ , yağsı ⁴ <i>Sweet, lemon, oily</i>	29.09±0.68 ^a	161.49±2.64 ^b	4.77±0.16 ^a	25.28±1.38 ^b
1-Okten-3-ol <i>1-Octen-3-ol</i>	Mantar ¹ <i>Mushroom</i>	35.23±1.45 ^a	66.32±0.43 ^b	13.58±2.97 ^a	21.94±1.78 ^a
6-Metil-5-hepten-2-ol <i>6-Methyl-5-hepten-2-ol</i>	-	7.90±0.65 ^a	11.80±0.07 ^a	TE	TE
(s)-3-Etil-4- metilpentanol <i>(s)-3-Ethyl-4- methylpentanol</i>	-	TE	TE	63.89±18.84 ^a	114.96±6.16 ^a
Benzilalkol <i>Benzylalcohol</i>	Sitrus, tatlı ² <i>Citrus, sweet</i>	11.36±1.85 ^a	14.64±1.69 ^a	36.46±7.72 ^a	56.30±0.22 ^a
1-Oktanol <i>1-Octanol</i>	Sitrus, gül ³ <i>Citrus, rose</i>	TE	TE	10,95±2,42 ^a	40,38±1,02 ^b
Feniletilalkol <i>Phenylethylalcohol</i>	Gül, bal ¹ <i>Rose, honey</i>	177.42±26.01 ^a	205.28±15.28 ^a	29.76±13.33 ^a	36.86±2.38 ^a
(6Z)-Nonen-1-ol <i>(6Z)-Nonen-1-ol</i>	-	TE	TE	TE	80.14±14.40
1-Nonanol <i>1-Nonanol</i>	-	TE	TE	29.66±2.38 ^a	142.82±18.90 ^b
Esterler <i>Esters</i>					

Soğuk maserasyonun şıraların antosiyanin ve uçucu bileşenlerine etkisi

Çizelge 4. devam
Table 4. continued

Etilasetat <i>Ethylacetate</i>	Meyve ¹ , tatlı ³ <i>Fruit, sweet</i>	47.18±3.59 ^a	69.57±16.83 ^a	14.88±10.74 ^a	102.71±30.21 ^b
İzobütül asetat <i>Isobutyl acetate</i>	-	5.79±1.66 ^a	5.49±1.22 ^a	TE	TE
İzoamil asetat <i>Isoamyl acetate</i>	Muz ⁵ <i>Banana</i>	11.25±0.57 ^a	22.96±5.07 ^a	TE	TE
Etil hekzanoat <i>Ethyl hexanoate</i>	Elma kabuğu, meyvemsi ⁵ <i>Apple peel, fruity</i>	2.12±0.65 ^a	5.88±1.21 ^b	TE	TE
Hekzilasetat <i>Hexylacetate</i>	Armut ¹ , elma ⁴ <i>Pear, apple</i>	9.79±0.69 ^a	15.31±0.36 ^b	TE	5.52±0.42
2-Metiloktanoik asit metil ester <i>2-Methyloctanoic acid methyl ester</i>	-	TE	TE	2.69±0.99 ^a	3.19±0.22 ^a
Fenil etil asetat <i>Phenyl ethyl acetate</i>	-	1.79±0.20 ^a	1.23±0.25 ^a	TE	TE
Bütülbütanoat <i>Butylbutanoate</i>	-	TE	TE	4.65±1.97 ^a	8.57±1.35 ^a
Diğerleri <i>Others</i>					
3-Hidroksi-2-bütanon <i>3-Hydroxy-2-butanone</i>	-	12.72±1.88 ^a	9.00±2.71 ^a	TE	TE
Hekzanal <i>Hexanal</i>	-	45.13±7.76 ^a	80.23±16.74 ^a	18.86±7.24 ^a	13.91±2.30 ^a
(E) 2-Hekzenal <i>(E) 2-Hexenal</i>	-	43.47±5.10 ^a	53.28±10.24 ^a	14.62±1.19 ^a	10.92±1.74 ^a
Bütanoik asit, 3-metil <i>Butanoic acid, 3-methyl</i>	-	2.95±0.30 ^a	2.16±0.60 ^a	TE	TE
Hekzanoik asit <i>Hexanoic acid</i>	Peynir, ransit, yağsı ³ <i>Cheese, rancid, oily</i>	TE	TE	3.22±2.25 ^a	1.02±0.06 ^a
Nonanal <i>Nonanal</i>	Yağ, sitrus, yeşil ⁵ <i>Oil, citrus, green</i>	3.66±0.48 ^a	3.62±0.71 ^a	TE	TE
Geraniol <i>Geraniol</i>	Sitrus ⁴ <i>Citrus</i>	14.70±0.97 ^a	11.60±0.73 ^a	TE	TE

Sonuçlar ortalama ±standart hata biçiminde verilmiştir. Uçucu bileşen konsantrasyonları µg/L cinsinden verilmiştir. TE: Tespit edilemedi.

Her üzüm çeşidi için aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir (P≤0.05).

Data are given as mean±standard error. Volatile compound concentrations are given as mg/L. TE: Not detected.

¹Soares vd. (2015), ²Tao ve Li (2009), ³Jiang vd. (2013), ⁴Cai vd. (2014), ⁵Wang vd. (2016).

Different letters in the same horizontal line for each grape variety display the significant differences (P≤0.05).

Kabuk maserasyonunun üzüm şırasının aroma bileşikleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışmanın genellikle beyaz üzüm çeşitlerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Örneğin, 15°C'de 12 saat süreyle uygulanan kabuk maserasyonunun Bornova Misket ve Narince beyaz üzüm şıralarının serbest aroma bileşenleri

üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada yüksek alkollerin miktarı maserasyonla artarken, esterlerin miktarında önemli bir değişim gözlenmemiştir (Selli vd., 2003). Diğer bir çalışmada ise Emir üzümünden 15°C'de 7 saat süre ile maserasyon uygulaması sonrası elde edilen şırasının aroma maddeleri incelenmiş ve kontrol

örneğiyle kıyaslandığında maserasyonla elde edilen şıranın serbest ve bağlı aroma maddelerinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Maserasyon uygulaması sonucunda şıradaki serbest aroma maddelerinde %91.6, bağlı aroma maddelerinin toplam miktarında ise %20.3 düzeyinde artış gözlenmiştir. Araştırmacılar, maserasyon uygulamasıyla şırada bulunan yüksek alkollerin %46.6 oranında arttığını saptamışlardır (Canbaş ve Cabaroğlu, 2000).

SONUÇ

Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzüm mayşelerine fermentasyon öncesi uygulanan soğuk maserasyon işlemi (7-8°C/4 gün) sonucunda, toplam antosiyanin ve fenolik madde yönünden daha zengin ve renk yoğunluğu yüksek şıralar elde edilmiştir. Şıralarda belirlenen Mv-3-Glu, Peo-3-Glu, Cy-3-Glu, Dp-3-Glu monomerik antosiyanin konsantrasyonları da maserasyon işlemi sonucu artış göstermiştir. Ayrıca, uygulanan soğuk maserasyon işlemi ile şıraların uçucu bileşen kompozisyonunda önemli değişimler meydana gelmiş ve alkoller ile özellikle asetat esterlerinde artışlar gözlenmiştir. Soğuk maserasyonla elde edilen şıraların meyvemsi, çiçeğimsi aromalarla karakterize edilen uçucu bileşenler yönünden daha zengin olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, soğuk maserasyon uygulaması ile üretilecek şarapların da yüksek antosiyanin içeriği ile renk stabilizasyonu açısından güçlü olması ve daha zengin aroma profili sergilemesi öngörülmektedir. Bu konuda elde ettiğimiz sonuçlar literatürle benzerlik göstermekle birlikte, üzüm çeşidine ve üretimi amaçlanan şaraba uygun olan sıcaklık ve sürenin optimizasyonu üzerine daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenen proje (114 O 431) sonuçlarının bir kısmından oluşmaktadır. Çalışma kapsamında kullanılan Cabernet Sauvignon üzümlerini ve tesis imkânı sağlayan Vinero Bağcılık (Eceabat, Çanakkale) ile Karalahna üzümlerini temin ettiğimiz Talay Şarapçılık (Bozcaada, Çanakkale)'a destekleri için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aleixandre-Tudo, J.L., du Toit, W. (2018). Cold maceration application in red wine production and its effects on phenolic compounds: A review. *LWT -Food Sci. Technol.* 95, 200–208.
- Anlı, R.E. (2006). *Bağlar Güzeli Üzüm ve Üzüm Kültürü*. Yapı Kredi Kültür Sanat Yayıncılık Ticaret ve Sanayi A.Ş., İstanbul, Türkiye, 240 s.
- Baron, M., Prusova, B., Tomaskova, L., Kumsta, M., Sochor, J. (2017). Terpene content of wine from the aromatic grape variety 'İrsai Oliver' (*Vitis vinifera* L.) depends on maceration time. *Open Life Sci.* 12, 42–50.
- Bayram, M., Öztürk, B., Anlı, R.E. (2017). The effect of cold maceration on the phenolic composition of red wines. 40th World Congress of Vine and Wine. *BIO Web of Conferences* 9, 04006.
- Cai J., Zhu B.Q., Wang Y.H., Lan Y.B., Reeves M., Duan C.Q. (2014). Influence of pre-fermentation cold maceration treatment on aroma compounds of Cabernet Sauvignon wines fermented in different industrial scale fermenters. *Food Chem.* 154, 217–229.
- Canbaş, A., Cabaroğlu, T. (2000). Kabuk maserasyonunun beyaz emir üzümünden elde edilen şıranın aroma maddeleri bileşimine etkisi. *Turkish J. Agric. For.* 24, 191–198.
- Casassa, L. F., Bolcato, E. A., Sari, S. E. (2015). Chemical, chromatic, and sensory attributes of 6 red wines produced with prefermentative cold soak. *Food Chem.* 174, 110–118.
- Casassa, L. F., Sari, S. E. (2015). Sensory and chemical effects of two alternatives of prefermentative cold soak in Malbec wines during winemaking and bottle ageing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50(4), 1044–1055.
- De Santis, D., Frangipane, M.T. (2010). Effect of prefermentative cold maceration on the aroma and phenolic profiles of a Merlot red wine. *Ital. J. Food Sci.* 22, 47–53.
- Dıblan, S. (2013). Kalecik Karası üzümlerinden (*Vitis Vinifera* L.) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri

- Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 101 s.
- Fuleki, T., Francis, F.J. (1968). Quantative methods for analysis. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index in cranberries. *J. Food Sci.* 33, 78–83.
- Gil-Muñoz, R., Moreno-Pérez, A., Vila-López, R., Fernández-Fernández, J. I., Martínez-Cutillas, A., Gómez-Plaza, E. (2009). Influence of low temperature prefermentative techniques on chromatic and phenolic characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon wines. *Eur. Food Res. Technol.* 228(5), 777–788.
- Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2001). Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-visible Spectroscopy, In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, New York, the USA, pp. 1–13.
- Gómez-Míguez, M., Gonzáles-Miret, M.L., Heredia, F.J. (2007). Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *J. Food Eng.* 79, 271–278.
- González-Neves, G., Favre, G., Gil, G., Ferrer, M., Charamelo, D. (2015). Effect of cold prefermentative maceration on the color and composition of young red wines cv. Tannat. *J Food Sci. Technol.* 52(6), 3449–3457.
- González-Neves, G., Favre, G., Piccardo, D., Gil, G. (2016). Anthocyanin profile of young red wines of Tannat, Syrah and Merlot made using maceration enzymes and cold soak. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51(1), 260–267.
- González-Neves, G., Gil, G., Barreiro, L., Favre, G. (2010). Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques. *J. Food Compos. Anal.* 23(5), 447–454.
- González-Neves, G., Gil, G., Favre, G., Baldi, C., Hernández, N., Traverso, S. (2013). Influence of winemaking procedure and grape variety on the colour and composition of young red wines. *South African J. Enol. Vitic.* 34, 138–146.
- Gordillo, B., López-Infante, M.I., Ramírez-Pérez, P., González-Miret, M.L. and Heredia, F.J. (2010). Influence of prefermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic Tempranillo wines elaborated in a warm climate. *J. Agric. Food Chem.* 58, 6797–6803.
- Güven, S. (2008). *Şarap Üretimi ve Kalite Kontrolü*. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayın No: 74, Çanakkale, Türkiye, 316 s.
- Heredia, F. J., Escudero-Gilete, M. L., Hernanz, D., Gordillo, B., Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., González-Miret, M.L. (2010). Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of Syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chem.* 118(2), 377–383.
- Jackson, R.S. (2008). *Wine Science: Principles and Applications*, Third Edition. Elsevier, Canada, 789 p.
- Jiang B., Xi Z, Luo M., Zhang Z. (2013). Comparison on aroma compounds in Cabernet Sauvignon and Merlot wines from four wine grape-growing regions in China. *Food Res. Int.* 51, 482–489.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbaş, A. (2010). Öküzgözü üzümlerinden kırmızı şarap üretiminde soğuk maserasyon uygulamasının antosiyaninler üzerine etkisi. *Tar. Bil. Der.* 16, 287–294.
- Lukic, I., Budic-Leto, I., Bubola, M., Damijanic, K., Staver, M. (2017). Pre-fermentative cold maceration, saignée, and various thermal treatments as options for modulating volatile aroma and phenol profiles of red wines. *Food Chem.* 224, 251–261.
- Molina, A.M., Swiegers, J.H., Varela, C., Pretorius, I.S., Agosin, E. (2007). Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77, 675–687.
- NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. (2008). National Institute of Standards and Technology Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD. 20899.
- OIV (2018). Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis Volume 1, International Organisation of Vine and Wine, Paris, 520 p.

- Ortega-Heras, M., Pérez-Magariño, S., González-Sanjosé, M. L. (2012). Comparative study of the use of maceration enzymes and cold prefermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencia red wine. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-Food Sci. and Technol.* 48(1), 1–8.
- Ough, C.S. Amerine, M.A. (1988). *Methods for Analysis of Musts and Wines*. 2nd Edition, Wiley, New York, the USA, 400 p.
- Panprivech, S., Lerno, L.A., Brenneman, C.A., Block, D.E., Oberholster, A. (2015). Investigating the effect of cold soak duration on phenolic extraction during Cabernet Sauvignon fermentation. *Molecules* 20, 7974–7989.
- Reynolds, A.G. (2010). *Managing Wine Quality. Volume 2: Oenology and wine quality*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK, 651 p.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006a). *Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications*, 2nd Edition, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England, 497 p.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006b). *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, 2nd Edition, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England, 441 p.
- Selli, S., Cabaroğlu, T., Canbaş, A., Erten, H., Nurgel, C. (2003). Effect of skin contact on the aroma composition of the musts of *Vitis vinifera* L., cv Muscat of Bornova and Narince grown in Turkey. *Food Chem.* 81, 341–347.
- Sincar, Ö. (2010). Kalecik Karası üzümünden kırmızı şarap üretiminde soğuk maserasyon uygulamasının aroma ve antosiyanin bileşikleri üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 63 s.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–153.
- Singleton, V.L., Trousdale, E.K. (1992). Anthocyanin-tannin interaction explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 63–70.
- Soares R.D., Welke J.E., Nicolli K.P., Zanús M., Caramão E.B., Manfroi V., Zini C.A. (2015). Monitoring the evolution of volatile compounds using gas chromatography during the stages of production of Moscatel sparkling wine. *Food Chem.* 183, 291–304.
- Şener, H., Kalkan Yıldırım, H. (2012). Influence of different maceration time and temperatures on total phenols, colour and sensory properties of Cabernet Sauvignon wines. *Food Sci. Technol. Int.* 19, 523–533.
- Tao Y.S., Li H. (2009). Active volatiles of Cabernet Sauvignon wine from Changli County. *Health* 3, 176–182.
- Varela, C., Siebert, T., Cozzolino, D., Rose, L., McLean, H., Henschke, P.A. (2009). Discovering a chemical basis for differentiating wines made by fermentation with “wild” indigenous and inoculated yeasts: Role of yeast volatile compounds. *Aust. J. Grape Wine Res.* 15, 238–248.
- Wang J., Capone D. L., Wilkinson K. L., Jeffery D.W. (2016). Chemical and sensory profiles of rosé wines from Australia. *Food Chem.* 196, 682–693.
- Wiley Registry of Mass Spectral Data (2005). 7th Edition (Fred. W. McLafferty). ISBN: 978-0471473251.

**CHARACTERIZATION OF HAZELNUT MILK FERMENTED
BY *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS*
AND *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS***

**Ertan Ermiş^{1*}, Rabia Güneş¹, İnci Zent¹, Muhammed Yusuf Çağlar¹,
Mustafa Tahsin Yılmaz²**

¹Istanbul Sabahattin Zaim University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Food Engineering
Department, İstanbul, Turkey

²Yıldız Technical University, Chemical and Metallurgical Engineering Faculty, Food Engineering Department,
İstanbul, Turkey

Received / Geliş: 18.01.2018; Accepted / Kabul: 17.07.2018; Published online / Online baskı: 07.08.2018

Ermiş, E., Güneş, R., Zent, İ., Çağlar, M.Y., Yılmaz, M.T. (2018). Characterization of hazelnut milk fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. GIDA (2018) 43 (4): 677-686 doi: 10.15237/gida.GD18022

ABSTRACT

Raw hazelnut milk were used to develop new plant-based fermented product using commercial starter mix containing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains in order to address the current demand for health promoting and functional plant-based dairy-like products. The pH, titratable acidity (TA), serum separation (SS), protein content, fat content and ash content of fermented product were found to be 4.95, 1.25 g lactic acid/ 100 mL, 28.00%, 2.60%, 7.03% and 0.66%, respectively. Fermented hazelnut milk demonstrated non-Newtonian pseudoplastic flow behavior and it's structure was more predominantly elastic than viscous. Sensory analysis showed that some attributes of fermented hazelnut milk such as color, aroma, consistency, typical yoghurt odor and overall acceptability were less appreciated than Ayran (commercial cow milk yogurt drink) whereas some other attributes were found as satisfying.

Keywords: Hazelnut, fermentation, functional foods, foods of plant origin, Ayran

***LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS*
VE *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* İLE FERMENTE
EDİLMİŞ FINDIK SÜTÜNÜN KARAKTERİZASYONU**

ÖZ

Ham fındıktan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* ticari suşları kullanılarak sağlığı teşvik edici, fonksiyonel özellikte fermente bir ürün elde edilmiştir. İlk aşamada, ultrasonikasyon uygulaması ile fındık sütünün homojenizasyonu sağlanmıştır. Elde edilen fermente ürününün pH, titre edilebilir asitlik, serum ayrılma kapasitesi, protein içeriği, yağ içeriği ve kül içeriği sırasıyla 4.95, 1.25 g laktik asit/100mL, %28.00, %2.60, %7.03 ve %0.66 olarak bulunmuştur. Reolojik analizlerden elde edilen veriler fermente fındık sütünün Newtonian olmayan psödoplastik akış davranışı sergilediğini ve yapısının viskozdan daha elastik olduğunu göstermiştir. Duyusal analiz, renk, aroma, tipik yoğurt kokusu ve genel kabul edilebilirlik gibi fermente fındık sütünün bazı niteliklerinin Ayran'dan daha az takdir edildiğini, ancak diğer bazı özelliklerin tatmin edici olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Fındık, fermentasyon, fonksiyonel gıdalar, bitki esaslı gıdalar, Ayran

* Corresponding Author / Yazışmalardan Sorumlu Yazar

✉ ertan.ermis@gmail.com

☎ (+90) 212 692 9722

☎ (+90) 212 693 8229

INTRODUCTION

The consumer demand for alternatives to cow's milk increased due to the rise of health problems such as lactose intolerance and cow's milk allergy. In addition, avoiding dairy products has been a lifestyle including vegetarian and vegan diets and based on health concerns including antibiotic residues and cholesterol and based on diet preferences or based on ethical considerations (Jeske et al. 2017). The total sales of plant-based milk substitute in EU market has been reached \$1.9 billion in 2015 (Jeske et al. 2017). Hazelnut milk (HM) which is prepared by grounding the hazelnut in water, homogenizing and filtering could supply almost the same potential health benefits as whole hazelnuts (Bernat et al. 2014, 2015; Jeske et al. 2017). HM may be used in the production of fermented products as substitute to bovine milk products to contribute to the health benefits of the products and possibly to be alternative to animal milk products in lacto-intolerant and vegetarian consumers (Bernat et al. 2014).

Hazelnuts are extensively used by food industry to produce products including ice-cream and dairy, baking, confectionery, candy and chocolate products. They are mostly used in various products to give taste and aroma (Simsek and Aykut 2007). Hazelnuts play a crucial role in human health and nutrition due to their composition of protein, carbohydrates, lipids, vitamins, dietary fibres, phenolic compounds, tocopherols, minerals, phytosterols and squalene, and it is a potential energy source (600-650 kcal in 100 grams) (Alasalvar et al. 2003; Köksal et al. 2006). HM contains monounsaturated fatty acids (i.e. oleic acid) and phytosterols (i.e. β -sitosterol) and antioxidant compounds (Lainas et al. 2016). Given the combination of its health-promoting properties and nutritional composition, hazelnut could be the raw material to manufacture a new generation of plant based fermented milk products.

In this paper, it was aimed to produce a dairy-like fermented product for the ones sensitive to bovine products. For this purpose, HM was produced and fermented by commercial yogurt

starter culture *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. In addition to analysis of microstructure and chemical composition, rheological behavior and sensory attributes were investigated. Comparison of the data obtained to those of Ayran was also given.

MATERIALS AND METHODS

All chemicals and solvents (analytical grade) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). FAME (fatty acid methyl esters) mix was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Preparation of hazelnut milk

Hazelnut raw kernels were obtained from a local market in İstanbul, Turkey. The methods found in the literature (Al-nabulsi et al. 2014; Bernat et al. 2014) were modified and used for production of HM. For this purpose, unroasted hazelnut kernels were grounded and soaked in distilled water and homogenized for 2 minutes by a laboratory homogenizer (WiseTis HG-15A, witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Germany) after filtered through two folded cloth filter. Then, the mix was further homogenized by an ultrasound homogenizer (Hielscher UP400S, Teltow, Germany) at 100 W and 20 kHz for 10 minutes to achieve homogeneous dispersion of oil droplets (Ertugay et al. 2004).

Colloidal stability of HM

Colloidal stability of ultrasound-homogenized and non-homogenized (control) HM samples was determined through the phase separation analysis during 7 days of storage time at 4 °C. For this purpose, about 15 g of HM was poured into 16 mm diameter of glass tubes and the degree of the separated phases was visually evaluated after ultrasonication. Additionally, the colloidal structure of the HM before and after ultrasound homogenization was evaluated using a light camera (Wu et al. 2000)

Fermentation process

The activated starter culture mix (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) in liquid form was obtained from a milk processing company (Atesoglu Milk Products

Co., Istanbul, Turkey). The activated commercial culture mix containing *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* cells were enumerated on M17 agar medium (pH 6.9) and on acidified MRS agar medium (pH 5.4), respectively (Ghoddusi and Robinson 1996; Ashraf and Shah 2011). For this purpose, 25 ml starter mix was poured into 225 ml sterile peptone diluents (0.1g/L). Appropriate dilutions were made by adding 1 mL of aliquot to 9 mL of sterile peptone diluent. Pour plate technique was carried out for enumeration of the cells. *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* were incubated 37°C for 48 h. Plates containing 20 to 300 colonies were enumerated, and the counts were expressed as CFU/mL. Additionally, total number of cells was determined using a Thoma cell chamber (Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG, Germany) for rapid enumeration prior to inoculation (Pleissner et al. 2016). Counting the colonies on respective mediums showed that the commercial inoculum contained around 8 log CFU/mL *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and around 9 log CFU/mL *S. thermophilus*.

As suggested previously, HM samples were enriched with 1.5% (w/w) glucose solution prior to the fermentation process in order to achieve the growth of the mixed culture used, which also resulted in acidification (Bernat et al. 2014). The liquid starter mix was inoculated into HM at a rate of 1% (v/v). The inoculated HM samples were incubated at 45 °C and the fermentation was stopped at pH 4.6. The fermented hazelnut milk (FHM) samples were immediately cooled and stored at 4 °C for 12 hours prior to analyses.

Chemical properties and proximate analyses

Analyses of moisture, total nitrogen (protein) and fat content in HM and FHM samples were conducted based on the methods as outlined, AOAC 16.006, AOAC 958.48, and AOAC 945.16, respectively (Horwitz, 2000). The ash content was determined by incineration in an electric muffle furnace at 550 °C.

The pH values were measured at 25 °C using a calibrated pH meter (Hanna HI2211, Germany). The AOAC standard method AOAC 947.05

(AOAC 2000) was used to determine the titratable acidity in samples (Yasmin et al. 2015). 25 mL sample was titrated against 0.1 mol/L NaOH solution until pH 8.3 remain stable for 10 s using phenolphthalein as indicator and the results were expressed as grams of lactic acid equivalent per 100 ml of the sample.

Fatty acid composition of FHM samples was determined by using GC (Agilent 6890 GC) equipped with HP-88 column (100 m x 0.25 mm ID x 0.2 µm) and FID. The methyl esters of the fatty acids (FAME) were prepared according to AOCS Official Method Ce 1h-05 (AOCS 2009). 0.1 gr of sample was mixed with 10 ml of n-Hexane and vortexed for 30 seconds with a vortex mixer. 100 microliters of 2 N potassium hydroxide (prepared in methyl alcohol) was added and mixed for 30 seconds using a vortex mixer. After centrifugation of whole mix, 1-2 ml of the liquid phase was poured into a vial and injected into GC-FID equipped with auto sampler (injection volume: 1 µL). Temperature and oven program of the device were as follows: Inlet temperature: 250 °C; Injection volume: 1 µl; Split Ratio: 1/50; Carrier gas: Helium; Pressure flow: 2 mL/min; Oven Temperature: 120 °C, 1 min, 10°C/min to 175 °C, 5 °C/min to 210 °C, 5 min 5°C/min 230 °C, 5 min; Detector temperature: 280 °C; Detector gases. Hydrogen: 40 mL/min, Air: 450 mL/min, Helium: 30 mL/min.

Serum separation

For the analysis of serum separation (SS) of FHM, the method as outlined by Lucey et al. (1999) was modified and used. Samples were placed in 50 mL graduated cylinders and stored at 4 °C. The volume of the separated serum at the top was read after storage for 10 days. The results were expressed as mL serum separated per 50 mL of the sample.

Rheological properties

Steady-state shear properties

The rheological behavior was characterized using a rheometer (Anton Paar, MCR 302, Austria) with a probe using a cone-plate configuration (cone diameter 50 mm, angle 4°, gap size 0.140 mm). The shear stress (σ) was measured as a function of

shear rate ($\dot{\gamma}$) from 1 to 100 s⁻¹ at 25°C. 1.0 ml sample was placed between cone and plate and the measurement was started immediately. Each measurement was replicated three times on three different samples (each 1 ml) from the same sample with two repetitions. The Herschel–Bulkey model (Eq. 1) was fitted to the experimental points to determine the flow behavior index (n), consistency index (K) and yield stress (σ_0) using a non-linear procedure. Apparent viscosities were calculated at 50 s⁻¹, since the shear rates generated in mouth when food is being chewed and swallowed are between 10 and 100 s⁻¹ (McDorman 2009).

$$\sigma = \sigma_0 + K(\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

Viscoelastic properties

The amplitude sweep test was performed at 1 Hz in the strain range of 0.1–100% to determine the linear viscoelastic region (LVR). Frequency sweep test was performed at 1% strain (determined by amplitude sweep test) over a frequency range of 0.1–10 Hz at 25 °C. Each measurement was repeated three times with three replications. The viscoelastic parameters of G' (elastic or storage modulus) (Pa) and G'' (viscous or loss modulus) (Pa) were calculated using the following equations (Steffe 1996).

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

$$G'' = K''(\omega)^{n''} \quad (3)$$

where K , ω , n are the consistency index (Pa·s ^{n}), oscillatory frequency and the flow behavior index (dimensionless) respectively,

Sensory properties

Sensory analysis (hedonic test) was conducted as described by (He and Hekmat 2015) with some modifications. Sensory evaluation was performed in open sitting in a room where the temperature was 25 °C. Twenty panelists (fourth year food engineering students) were randomly selected. The panelists were trained by giving them the explanation of the score sheet and method of scoring as well as the information about the definition of quality attributes selected for sensory evaluation (Routray and Mishra 2012). The sensory test included color, taste, mouthfeel,

consistency, aroma, acidity, typical yogurt odor and overall acceptability. FHM was firstly served followed by the commercial full fat Ayran. They evaluated the samples using a 5-points hedonic scale. The scores were assigned from 1 (extremely dislike) to 5 (extremely like).

Statistical analysis

One way analysis of variance (ANOVA) was applied to determine whether any of the differences between the means are statistically significant. Tukey method was used to declare significant differences at 95% confidence ($P < 0.05$). Statistical analyses were performed using Minitab version 17.3.1 (Minitab, Inc., State College PA, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Proximate composition and chemical properties

Proximate composition (moisture, protein, fat and ash), chemical properties (pH and total acidity) of hazelnut milk (HM), Ayran and fermented hazelnut milk (FHM) are presented in Table 1. HM had remarkable higher content of fat and slightly lower content of protein in comparison with those of a standardized cow milk (3.2 and 3.3 g/100 mL of fat and protein, respectively) (Wijesinha and Burlingame 2013). The findings of this study were comparable with those reported in the literature (Bernat et al. 2015; Ilyasoğlu et al. 2015). There were no huge differences between the properties of HM and FHM except for large significant differences in their pH and total acidity values ($P = 0.000$). The reason to this change is attributed to decreasing the pH value and increasing titratable acidity during fermentation where lactic acid bacteria used glucose to form lactic acid and CO₂ gas. Small significant differences were also obtained in moisture and fat contents ($P = 0.039$ and $P = 0.012$, respectively). However significant differences ($P < 0.05$) were obtained between the properties of Ayran and FHM. The results of this work indicated that SS of FHM was lower than that of Ayran (Table 1). This might be attributed to the differences in pH, titratable acidity and properties of protein matrix which are important factors affecting SS (Gursoy et al. 2016).

Table 1. Characteristics of HM and FHM (n =3), (Mean±sd)

Characteristics	HM	Ayran ^d	FHM	Level of significance (Ayran-FHM)	Difference (%) for Ayran ^a
<i>Proximate composition</i>					
Dry matter ^b	11.63±0.25	7.75±0.83	12.56±0.47	* (P=0.001)	5.21
Protein ^b	2.34±0.09	1.14±0.34	2.60±0.20	* (P=0.003)	-128.07
Fat ^b	7.48±0.10	2.09±0.34	7.03±0.15	* (P=0.000)	-236.52
Ash ^b	0.54±0.07	0.48±0.04	0.66±0.04	* (P=0.006)	-36.80
<i>Chemical properties</i>					
pH	6.93±0.03	4.48±0.02	4.95±0.02	* (P=0.000)	-10.41
Titratable acidity ^c	0.33±0.03	0.82±0.10	1.25±0.05	* (P=0.003)	-52.44
SS (mL/50 mL)	-	28.50±0.10	14.00±0.42	* (P=0.000)	50.87

^a Difference (%) Ayran = [(Ayran value - FHM value)/Ayran value] x 100,

^b g/100g product,

^c g lactic acid/100 mL,

^d(Özünlü and Koçak 2010; Gursoy et al. 2016)

* significantly different (P< 0.05)

HM: hazelnut milk, FHM: fermented hazelnut milk, SS: serum separation

The results of this study revealed that FHM contained monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in its lipid fraction (Table 2). As it can be seen in Table 2, FHM contained around 89 g mono and poly-unsaturated fatty acids and 11 g saturated fatty acids per 100 g of lipid fraction. The oleic acid concentration (approximately 81%) in FHM was similar to the one reported

previously (Ilyasoğlu et al. 2015). They found around 85% oleic acid in yogurt -like product from hazelnut slurry. They also reported the linoleic acid and palmitic acid concentrations as approximately 7% and 5%, which agrees with the data obtained in this study (around 7.1% and 6.8%).

Table 2. Fatty acid composition of FHM (%) (n=3) (Mean±sd)

Fatty Acid Composition	%
Lauric Acid (C12:0)	0.25±0.12
Miristic Acid (C14:0)	0.21±0.05
Miristoleic Acid (C14:1 Cis-9)	0.12±0.00
Pentadecenoic Acid (C15:1 Cis-10)	0.30±0.06
Palmitic Acid (C16:0)	6.76±0.56
Palmitoleic Acid (C16:1 Cis-9)	0.17±0.01
Margaric Acid (C17:0)	0.06±0.00
Heptadecenoic Acid (C17:1 Cis-10)	0.60±0.75
Stearic Acid (C18:0)	3.11±0.11
Oleic Acid (C18:1 Cis-9)	80.97±0.15
Linoleic Acid (C18:2 Cis-9.12)	7.07±0.52
Linolenic Acid (C18:3 Cis-6.9.12)	0.20±0.12
Eicosenoic Acid (C20:1 Cis-11)	0.39±0.54
γ- Linoleic Acid (C18:3 Cis-9.12.15)	0.12±0.01

FHM: fermented hazelnut milk

Colloidal stabilization of HM

The ultrasound homogenization had significant effect on the size distribution of polydispersed fat droplets as the size of bigger fat droplets was reduced almost 10 folds. These findings are in agreement with those reported previously (O'Sullivan et al. 2015).

Rheological properties of FHM

Steady-state shear properties

In this study, rheological properties of FHM (Fig. 1) was determined after fermentation of HM, therefore, FHM was characterized in terms of steady and dynamic shear properties. The change of shear stress versus the shear rate shows that the FHM was a non-Newtonian pseudoplastic flow behavior with a beginning resistance against the flow, as revealed by the calculated yield stress. This behavior of FHM is in agreement with the findings of previous studies (Koksoy and Kilic 2003; Janhøj et al. 2008; Kök 2010). Herschel-Bulkley model parameters of FHM, R^2 , the yield stress, consistency coefficient and flow behavior index values were found to be 0.99, 0.21, 0.06 and 0.57 respectively, the R^2 value was very close to 1, which means that the Herschel-Bulkley function well fitted to the flow behavior of FHM.

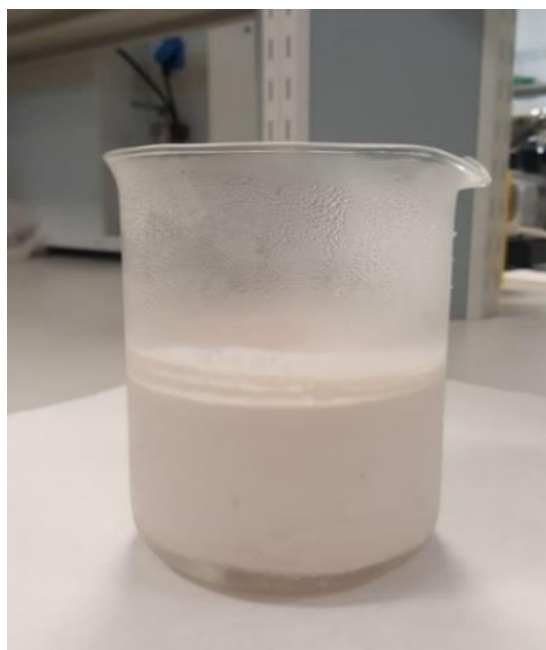


Figure 1. A view of fermented hazelnut milk

Viscoelastic properties

The viscoelastic properties of the FHM were measured under 0.5% strain using the frequency screening test. The magnitude of the energy stored in the material or recoverable per cycle of deformation is called as storage (or elastic) modulus G' , while the energy that is lost at viscous dissipation per cycle of deformation is mentioned as the loss (or viscous) modulus G'' . Therefore, all the energy is stored in a perfectly elastic solid, which results in zero loss modulus and the stress and strain will be in phase whereas all the energy is dissipated as heat in a liquid with no elastic properties; G' is zero and the stress and strain will be out of phase by -90° (Sharoba et al. 2005).

The changes in storage modulus (G'), loss modulus (G'') and complex viscosity (η^*) as a function of frequency for FHM is presented in Table 3. The magnitudes of G' and G'' increased with increase in frequency, revealing viscoelastic nature of FHM. Plots of frequency versus G' and G'' dynamic rheological data were subjected to non-linear regression and the magnitudes of intercepts, slopes and R^2 values were studied (Table 3). The storage and loss moduli and the complex viscosity plotted versus frequency indicated that the viscoelastic behavior of the FHM could be well described by Eqs. (2) and (3) with high determination coefficients (0.995–0.988).

Table 3. Values for the power law model for storage (G') and loss (G'') modules of fermented hazelnut milk (n=3) (mean± sd)

$G' = K'(\omega)^{n'}$		$G'' = K''(\omega)^{n''}$	
K'	2.099 ± 0.110	K''	0.390 ± 0.025
n'	0.245 ± 0.014	n''	0.463 ± 0.013
R^2	0.995 ± 0.006	R^2	0.988 ± 0.001

As far as the structure point of view of FHM was concerned, for true gels (G' , G'') versus ω plots have zero slope; however, positive slopes show that the storage (elastic) modulus (G') is greater than the loss (viscous) modulus (G'') over a whole frequency ranges of ω studied for weak gels and highly concentrated dispersions (Ross-Murphy 1984). The dynamic oscillatory test data in this

study revealed that the slopes were positive ($n' = 0.245$; $n'' = 0.463$) and almost parallel to each other and G' ($K' = 2.099$) was higher than that of G'' ($K'' = 0.390$) ($G' > G''$) without exhibiting any cross point of G' and G'' along the whole frequency range studied (Fig. 2). These results suggest that the FHM was more predominantly elastic than viscous. Similar behavior has been reported for some food samples such as pulps, purees, juices and concentrates (Augusto et al. 2012). Ramchandran and Shah (2009) investigated textural and rheological properties of low-fat yogurt and they report that G'' was lower than G' for the samples indicating that they exhibited characteristics typical of a weak

viscoelastic gel structure. Shirkhani et al. (2015) studied the rheological behavior of fermented milk drink and they reported that G' values were greater than G'' ($G' > G''$), indicating the presence of gel-like structure. Similarly, Zhou (2018) found that G' values were greater than G'' ($G' > G''$) for drinking yogurt. However, according to K ok (2010)'s findings, yogurt drink samples showed non-Newtonian behaviour and viscous component predominated over elastic modulus ($G'' > G'$). The reason might be attributed to the variation in composition and structure of the samples studied as well as degree of homogenization.

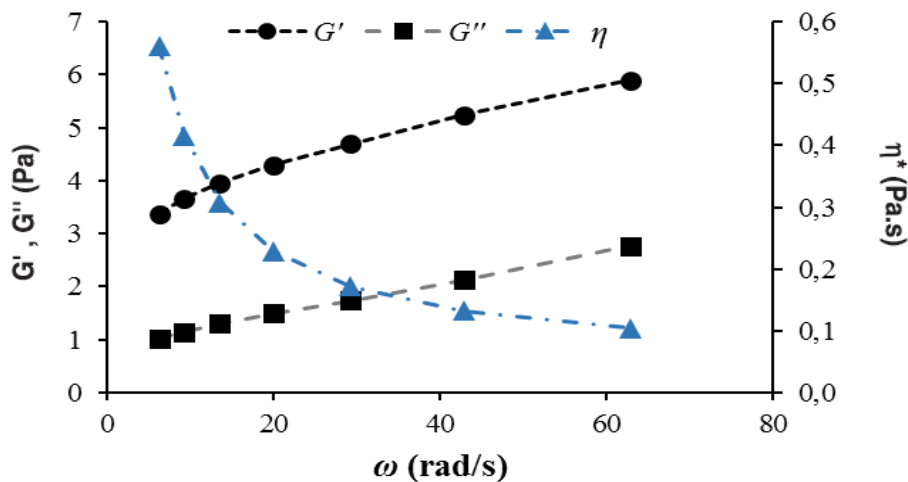


Figure 2. Mechanical spectra of fermented hazelnut milk

In the description of viscoelastic behavior, loss tangent (G''/G') is also used to indicate if the material of concern would have elastic or viscous properties. In the case of FHM, the larger the $\tan \delta$ value, the more easily the FHM flows. The loss tangent values showed a predominantly elastic behavior ($\tan \delta < 1$ or $G' > G''$) for FHM over the increased frequency, which can be attributed to the existence of a phase lag between the input sinusoidal signal and the response one (Mu noz et al. 2007).

Sensory properties

The sensory attributes of FHM were compared with those of commercial full fat Ayran based on

the hedonic scale. According to results given in Table 4, the taste attribute of FHM was scored very close to that of Ayran ($P=0.906$) whereas the consistency of FHM was evaluated as less consistent ($P=0.027$). Acidity and mouthfeel attributes got similar scores with slight differences from the panelists ($P=0.960$ and $P=0.313$, respectively). According to panelists' evaluation, the score of overall acceptability attribute of FHM showed significant difference compared to that of Ayran ($P=0.002$) even though the gap between the scores are not relatively large (Table 4).

Table 4. Comparison of sensory attributes of FHM with those of commercial yoghurt drink. (20 panelists) (mean± sd)

Attributes	Ayran	FHM	Level of significance
Color	4.50±0.41	3.56±0.40	* (P=0.047)
Taste	4.10±0.95	4.02±0.65	(P=0.906)
Aroma	0.62±0.21	4.41±0.79	* (P=0.001)
Consistency	3.70±0.44	2.53±0.40	* (P=0.027)
Typical yoghurt odor	4.40±0.52	3.27±0.32	* (P=0.033)
Acidity	3.65±0.41	3.63±0.13	(P=0.960)
Mouthfeel	3.95±0.05	3.73±0.32	(P=0.313)
Overall acceptability	4.20±0.10	3.60±1.10	* (P=0.002)

FHM: fermented hazelnut milk, * significantly different (P< 0.05)

CONCLUSION

Fermented hazelnut milk by using yogurt starter culture including *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains has been successfully produced and its chemical, physico-chemical, rheological and sensorial attributes were analysed. The results of this study showed that FHM might be considered a novel fermented product with potential health-promoting properties, suitable for a wide range of consumer groups, such as vegetarians and the ones prone to lactose containing products or people allergic to animal proteins. In addition, the fatty acid distribution of the beverage implies better health-promoting nutritional properties than the animal based milk products. The overall appearance of the fermented hazelnut milk was good and palatable. Although the sensory characteristic might require further research, this work underlines the technical feasibility and makes one step further to produce an alternative fermented drink, rich of nutritive components.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) under 2209B Program (grant number 1139B411503016). Valuable contribution from Hale Nur Kara is gratefully acknowledged.

REFERENCES

Alasalvar C, Shahidi F, Liyanapathirana CM, Ohshima T. (2003). Turkish Tombul Hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. Compositional Characteristics. *J Agric Food Chem* 51:3790–3796. doi: 10.1021/jf0212385

Al-nabulsi A, Shaker R, Osaili T, Al-taani M, Olaimat A, Awaisheh S, Abushelaibi A, Holley R. (2014). Sensory Evaluation of Flavored Soy Milk-Based Yogurt: A Comparison between Jordanian and Malaysian Consumers. *J Food Sci Eng* 4:27–35.

AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. Assoc Off Anal Chem Int Method ce 2-66. doi: 10.3109/15563657608988149

AOCS (2009). Determination of cis-, trans-, Saturated, Monounsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids in Vegetable or Non-Ruminant Animal Oils and Fats by Capillary GLC (Ce 1h-05). In: Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. p Ce 1h-05

Ashraf R, Shah NP. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium spp.* in yoghurt - A review. *Int. J. Food Microbiol.* 149:94–208.

Augusto PED, Cristianini M, Ibarz A. (2012). Effect of temperature on dynamic and steady-state shear rheological properties of siriguela (*Spondias purpurea* L.) pulp. *J Food Eng* 108:283–289. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.08.015

Bernat N, Chafer M, Chiralt A, González-Martínez C. (2014). Hazelnut milk fermentation using probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG and inulin. *Int J Food Sci Technol* 49:2553–2562. doi: 10.1111/ijfs.12585

Bernat N, Cháfer M, Rodríguez-García J, Chiralt A, González-Martínez C. (2015). Effect of high

- pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. *LWT - Food Sci Technol* 62:488–496. doi: 10.1016/j.lwt.2014.10.045
- Ertugay MF, Şengül M, Şengül M. (2004). Effect of ultrasound treatment on milk homogenisation and particle size distribution of fat. *Turkish J Vet Anim Sci* 28:303–308.
- Ghoddusi HB, Robinson RK. (1996). Enumeration of starter cultures in fermented milks. *J Dairy Res* 63:151–158. doi: 10.1017/S0022029900031629
- Gursoy O, Yilmaz Y, Gokce O, Ertan K. (2016). Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk. *Emirates J Food Agric* 28:235–241. doi: 10.9755/ejfa.2015-09-719
- He S, Hekmat S. (2015). Sensory Evaluation of Non-Dairy Probiotic Beverages. *J Food Res* 4:186–192. doi: http://dx.doi.org/10.5539/jfr.v4n1p186
- Hongyu W, Hulbert GJ, Mount JR. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innov Food Sci Emerg Technol* 1:211–218. doi: 10.1016/S1466-8564(00)00020-5
- Ilyasoğlu H, Yilmaz F, Burnaz NA, Baltacı C. (2015). Preliminary assessment of a yoghurt-like product manufactured from hazelnut slurry: Study using response surface methodology. *LWT - Food Sci Technol* 62:497–505. doi: 10.1016/j.lwt.2014.06.023
- Janhøj T, Bom Frøst M, Ipsen R. (2008). Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks. *Food Hydrocoll* 22:798–806. doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.03.006
- Jeske S, Zannini E, Arendt EK. (2017). Evaluation of Physicochemical and Glycaemic Properties of Commercial Plant-Based Milk Substitutes. *Plant Foods Hum Nutr* 72:26–33. doi: 10.1007/s11130-016-0583-0
- Koksoy A, Kilic M. (2003). Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink. *Int Dairy J* 13:835–839. doi: 10.1016/S0958-6946(03)00103-1
- Kök MS. (2010). Characterization of Galactomannan Stabilised Yogurt Drink Using Dynamic Rheology. *Int J Food Prop* 13:209–220. doi: 10.1080/10942910903115095
- Köksal AI, Artık N, Şimşek A, Güneş N. (2006). Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chem* 99:509–515. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.08.013
- Lainas K, Alasalvar C, Bolling BW. (2016). Effects of roasting on proanthocyanidin contents of Turkish Tombul hazelnut and its skin. *J Funct Foods* 23:647–653. doi: 10.1016/j.jff.2016.03.029
- Lucey JA, Tamehana M, Singh H, Munro PA. (1999). Stability of model acid milk beverage: effect of pectin concentration, storage temperature and milk heat treatment. *J Texture Stud* 30:305–318. doi: 10.1111/j.1745-4603.1999.tb00219.x
- McDorman TL (2009) Context and Background. In: Salt Water Neighbors. Oxford University Press, pp 9–45
- Muñoz J, Rincón F, Carmen Alfaro M, Zapata I, Fuente J, Beltrán O, León de Pinto G. (2007). Rheological properties and surface tension of Acacia tortuosa gum exudate aqueous dispersions. *Carbohydr Polym* 70:198–205. doi: 10.1016/j.carbpol.2007.03.018
- O’Sullivan J, Beevers J, Park M, Greenwood R, Norton I. (2015). Comparative assessment of the effect of ultrasound treatment on protein functionality pre- and post-emulsification. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 484:89–98. doi: 10.1016/j.colsurfa.2015.07.065
- Özünlü BT, Koçak C. (2010). The effect of different heat treatments of milk on quality of Ayran. *GIDA - J Food* 35:355–362.
- Pleissner D, Demichelis F, Mariano S, Fiore S, Navarro Gutiérrez IM, Schneider R, Venus J. (2016). Direct production of lactic acid based on simultaneous saccharification and fermentation of mixed restaurant food waste. *J Clean Prod* 143:615–623. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.12.065

- Ramchandran L, Shah NP. (2009). Effect of exopolysaccharides and inulin on the proteolytic, angiotensin-I-converting enzyme- and α -glucosidase-inhibitory activities as well as on textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. *Dairy Sci Technol* 89:583–600. doi: 10.1051/dst/2009039
- Ross-Murphy SB. (1984). Rheological methods. In: Chan HW-S (ed) *Biophysical methods in food research*. Blackwell, Palo Alto, CA, USA, pp 195–290
- Routray W, Mishra HN. (2012). Sensory evaluation of different drinks formulated from dahi (Indian Yogurt) powder using fuzzy logic. *J Food Process Preserv* 36:1–10. doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00545.x
- Sharoba AM, Senge B, El-Mansy HA, Bahlol H, Blochwitz R. (2005). Chemical, sensory and rheological properties of some commercial German and Egyptian tomato ketchups. *Eur Food Res Technol* 220:142–151. doi: 10.1007/s00217-004-0981-7
- Shirkhani M, Madadlou A, Khosrowshahi A. (2015). Enzymatic Modification to Stabilize the Fermented Milk Drink, Doogh. *J Texture Stud* 46:22–33. doi: 10.1111/jtxs.12107
- Simsek A, Aykut O. (2007). Evaluation of the microelement profile of Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties for human nutrition and health. *Int J Food Sci Nutr* 58:677–688. doi: 10.1080/09637480701403202
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, second edition (second printing). Freeman Press, East Lansing, MI, USA.
- Wijesinha R, Burlingame B. (2013). Milk and dairy product composition. In: Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D (eds) *Milk and Dairy Products in Human nutrition*. FAO, pp 41–102
- Yasmin A, Butt MS, Yasin M, Qaisrani TB. (2015). Compositional analysis of developed whey based fructooligosaccharides supplemented low-calorie drink. *J Food Sci Technol* 52:1849–1856. doi: 10.1007/s13197-014-1535-z
- Zhou, Z. (2018). Effects of dried apple peel powder on the rheological and sensory properties of drinking yogurt (MSc dissertation). The University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

ISIL İŞLEM VE OLGUNLAŞTIRMA SÜRELERİNİN EZİNE PEYNİRİNDE BİYOJEN AMİN OLUŞUMUNA ETKİLERİ

Mehmet Diler¹, Erhan Akbağ¹, Volkan Işık¹, Emine Avşar Günay¹,
Hakan Erkayacan¹, Onur Güneşer², Yonca Karagül Yüceer^{3*}

1 Tarım ve Orman Bakanlığı-Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Türkiye

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

3 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Geliş / Received: 30.03.2018; Kabul / Accepted: 15.07.2018; Online baskı / Published online: 07.08.2018

Diler, M., Akbağ, E., Işık, V., Avşar Günay, E., Erkayacan, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. (2018). Isıl işlem ve olgunlaştırma sürelerinin ezine peynirinde biyojen amin oluşumuna etkileri. *GIDA* (2018) 43 (4): 687-701 doi: 10.15237/gida.GD18043

Diler, M., Akbağ, E., Işık, V., Avşar Günay, E., Erkayacan, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. (2018). Effects of the duration of heat treatment and ripening on the formation of biogenic amines in Ezine cheese. *GIDA* (2018) 43 (4): 687-701 doi: 10.15237/gida.GD18043

ÖZ

Bu çalışmanın amacı farklı ısıl işlem sürelerinin Ezine peynirinde biyojen amin oluşumu ve mikroorganizma profilindeki değişimlerin olgunlaştırma süresince araştırılmasıdır. Çiğ süte 65°C'de 10 ve 30 dakika ısıl işlem uygulanarak Ezine peyniri üretilmiştir. Histamin, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin ve feniletilamin biyojen aminleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak saptanmıştır. Peynir örneklerinde toplam psikrofilik ve mezofilik aerobik bakteriler, laktik asit bakterileri, fekal koliform, toplam maya-küf, *Enterobacteriaceae* spp. *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens* sayıları da tespit edilmiştir. Taze peynirlerde biyojen amin oluşmamış olup peynir örneklerinde olgunlaşma süresince biyojen amin miktarı artmıştır. Ezine peynirinde saptanan biyojenik amin miktarlarının sağlık riski oluşturacak düzeylerde olmadığı görülmüştür. Ezine peynirinde farklı ısıl işlem sürelerinin toplam mezofilik aerobik bakteri ve laktik asit bakterisi üzerine etkisi depolama süresine bağlı olarak değişim göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Peynir, biyojen amin, ısıl işlem, olgunlaşma

EFFECTS OF THE DURATION OF HEAT TREATMENT AND RIPENING ON THE FORMATION OF BIOGENIC AMINES IN EZINE CHEESE

ABSTRACT

The purpose of this study is to investigate the effects of the different durations of thermal processing on the formation of biogenic amine and changes in microbial profile in Ezine cheese during ripening. Ezine cheese samples were produced by thermal processing at 65°C for 10 min and 30 min. The biogenic amines histamine, putrescine, cadaverine, tyramine, tryptamine, and phenylethylamine were identified by high performance liquid chromatography. Moreover, the enumeration of the psychrophilic aerobic and mesophilic aerobic bacteria, lactic acid bacteria, fecal coliform, total yeast and mold *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* was conducted for the purpose of the study. No biogenic amine was observed in the fresh cheese samples, while the amounts of biogenic amines in cheese samples were observed to have increase during the ripening. The amounts of the biogenic amines in the Ezine cheese samples were determined to pose no health-related risks. The effect of heat treatment duration on counts of mesophilic aerobic bacteria and lactic acid bacteria in the Ezine cheese samples were observed to have varied depending on storage duration.

Keywords: Cheese, biogenic amine, heat treatment, ripening

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yoncayuceer@comu.edu.tr,

☎ (+90) 286 218 0018

☎ (+90) 286 218 0541

GİRİŞ

Biyojen aminler, canlı organizmalarda biyolojik fonksiyonlara sahip düşük molekül ağırlıklı, uçucu olmayan (β -feniletülamın hariç) aminler olarak bilinirler. Alifatik, aromatik, heterosiklik yapıda olabilen biyojen aminler, canlı organizmalarda normal metabolik faaliyetler sonucu oluştuğundan bitkilerde ve hayvansal dokularda düşük seviyelerde bulunurlar (Anonymous, 1995). Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumu ise serbest amino asitlerin bakteriyel dekarboksilasyonu ile olmaktadır (Anonymous, 1995). Gıdalarda bulunan önemli biyojen aminler; histamin, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin, β -feniletülamın, spermin, spermidin ve agmatindir (Özoğul vd. 2002). Histamin histidinden putresin ornitinden, kadaverin lizinden, tiramin tirozinden, triptamin triptofandan, β -feniletülamın fenil alanininden karbondioksitin uzaklaştırılması (dekarboksilasyon) ile oluşmaktadır. Spermidin ve spermin ise agmatin ve ornitin üzerinden oluşan putresinden meydana gelmektedir. Biyojen aminlerin gıdalarda oluşumu; serbest amino asitlerin varlığı, dekarboksilaz-pozitif mikroorganizmaların gelişmeleri ve dekarboksilaz aktivitetlerine bağlıdır (Santos, 1996; Shalaby, 1996).

Peynir, mikroorganizmalar tarafından biyojen amin sentezlenmesinde ideal bir ortam olarak görülebilir (Joosten, 1988a; Sumner vd.1990a; Stratton vd. 1991). Peynirlerde biyojen amin oluşumuna neden olan en önemli faktörlerin peynirin içerdiği bakteri türü ve sayısı, mikroorganizmalar arasındaki etkileşim, peynirin proteoliz düzeyi, peynir pH'sı, salamuradaki ve/veya peynirdeki tuz konsantrasyonu olduğu birçok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (Joosten, 1988a,b; Joosten ve Van-Boekel, 1988; Hull vd. 1992a; Durlu-Özkaya vd. 1999, 2000; Durlu-Özkaya ve Tunail 2000; Durlu-Özkaya, 2001; Karahan vd. 2001).

Gıdalarda birçok gram negatif ve gram pozitif bakterinin biyojen amin üretme yeteneğinin olduğu bilinmektedir. Gıdalarda yüksek miktarda histamin üreten ve bozulma yapan gram negatif bakteriler; *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella psychrotolerans*,

Photobacterium phosphoreum, *Photobacterium psychrotolerans*' dir. Özellikle fermente gıdalarda *Oenococcus oeni*, *Pediococcus parvalus*, *Pediococcus damnosus*, *Tetragenococcus* türleri, *Leuconostoc* türleri, *Lactobacillus saerimneri* 30a, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchnerii*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus parabuchneri* ve *Lactobacillus rossiae* histamin üreten bakteriler olarak bildirilmektedir. Peynir ve fermente sosislerde tiramin üreten *Enterococcus* ve *Lactobacillus* cinslerinden özellikle *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus* ve *Lactobacillus brevis*'in yüksek miktarda tiramin ürettiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Carnobacterium* ve *Staphylococcus* cinslerinin tiramin üretme potansiyellerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* ve *Shewanellaceae* familyasına ait türlerin ise putresin ve kadaverin üretiminin olduğu *Enterobacteria* içerisinde *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerin gıdalarda dikkate değer miktarda putresin ve kadaverin ürettiği bildirilmiştir (EFSA, 2011; Akyol, 2015).

Peynirin olgunlaşmasında gerçekleşen proteoliz sonucunda aminoasitler açığa çıkmaktadır. Bu aminoasitlerin yeterli miktarda olması toksik düzeyde biyojen amin oluşumuna yol açabilmektedir (Chang vd. 1985; Joosten ve Van-Boekel, 1988). Buradan hareketle olgunlaşmanın yani proteolizin ilerlediği peynirlerde biyojen amin miktarının toksik düzeylere çıkabildiği ifade edilmiştir (Joosten ve Weerkamp, 1994). Halasz vd. (1994) tarafından gıdalarda bulunabilecek maksimum biyojen amin miktarı histamin için 100 mg/kg, tiramin için 100-800 mg/kg ve feniletülamın için 30 mg/kg olarak belirtilmektedir.

Biyojenik amin üzerine yapılan çalışmalarda, özellikle artisanal olarak üretilen ve uzun süre olgunlaştırılan çeşitli peynirlerin biyojen amin miktarı incelenmiştir. Bu çerçevede; Combarros-Fuertes vd. (2016) farklı koyun ırklarından elde ettikleri sütlerin karışımından ürettikleri Zamorano (İspanya) peynirinde 300 günlük olgunlaştırma süresince oluşan baskın biyojen aminlerin feniletülamın, putresin, tiramin ve spermin olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar,

peynirde oluşan toplam biyojen amin içeriğinin yaklaşık 400 mg/kg düzeyinde olduğunu ifade etmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada (Guarcello vd. 2015) İtalya'nın Apulian ve Sicilian bölgelerinde üretilen peynirlerin biyojen amin içeriği incelenmiştir. Araştırmacılar, 30 gün veya daha az olgunlaştırılan peynirlerde biyojen amin içeriğinin düşük olduğu, olgunlaşma süresi yüksek olan peynirlerde özellikle histamin miktarının yüksek olduğu (219-250 mg/kg) ve bu sonuçlara göre Caciocavallo Palermitano, Caciocavallo Silano PDO, Fiore Sicano, Pecorino Siciliano PDO ve Tuma Pers peynirlerinin yüksek histamin miktarı ile karakterize olduklarını belirtmişlerdir. Shalaby vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, 5, 10, 15 kGy dozlarda γ - radyasyonuna tutulan Ras peynirinde 6 aylık depolama süresince kadaverin, histamin, putresin ve tiraminden oluşan biyojen amin içeriğinin önemli miktarda azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca 10 kGy doz uygulamasında histamin içeriğinin tamamen elemine edildiği tespit edilmiştir.

Ülkemizde uzun süre olgunlaştırılan yöresel peynirlerin biyojen amin içeriğinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Durlu-Özkaya (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, Ankara ilindeki süpermarketlerden alınan eski ve taze Kaşar, Mihaliç, Van Otlu, Örgü, Urfa ve Civil peyniri örneklerinin biyojen amin içerikleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, tüm peynir örneklerinde spermin ve triptamin bulunmadığı ancak kadaverin, histamin (Urfa peyniri hariç) ve tiramin miktarlarının sırasıyla 0.80-48.96 mg/kg, 1.74-94.76 mg/kg ve 0.98-138.16 mg/kg değerleri arasında olduğu tespit edilmiştir.

Peynirlerde biyojen amin oluşumu peynirin iç kimyasal ve mikrobiyolojik yapısıyla ilişkili olduğu gibi üretimdeki hijyenik koşullar, çiğ süt ya da pastörize süt kullanımı, hatalı pastörizasyon veya pastörizasyon sonrası bulaşmalar, olgunlaşma süresinin uzunluğu ve depolama sıcaklığı, fermentasyonun kontrol altına alınamaması gibi faktörlerde peynirlerde biyojen aminlerin miktarının toksik dozun üzerine çıkmasına neden olmaktadır (Degheidi vd. 1992; Hull vd, 1992b; Darwish, 1993, Lanza vd. 1994, Nout, 1994; Bardöcz, 1995; Shalaby,1996). Bu çerçevede

yapılan bu çalışmada, yöresel bir peynirimiz olan Ezine peynirinde biyojen amin oluşumu üzerine süte uygulanan ısı işlem ve olgunlaştırma sürelerinin etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Ezine peyniri yapımında kullanılan süt Çanakkale ilinin Ezine ve Bayramiç ilçelerinde yetiştirilen keçi, koyun ve ineklerden sağlanmıştır. Peynir üretimi Ezine/Çanakkale'de faaliyet gösteren yerel bir firmada (Özsoylar Süt Ürünleri A.Ş) Nisan-Mayıs aylarında 500 kg süt ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik/kromatografik saflıkta olup Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Biyojen aminlerin HPLC ile analizlerinde kullanılan standartlar Sigma Chemical Co. (St. Louis, ABD) firmasında temin edilmiştir.

Peynir Yapımı

Ezine Peyniri üretimi amacıyla işletmeye gelen sütler, % 40 koyun sütü, % 40 keçi sütü, % 20 inek sütü olacak şekilde karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Homojen hale getirilen karışım süt pastörizasyon kazanında 65°C'de 10 dk. ve 30 dk. olacak şekilde ayrı ayrı ısı işleme tabi tutulmuştur. Isıl işleme tabi tutulan sütler daha sonra pıhtı oluşumunu sağlamak amacıyla buzağuların midelerinden elde edilen rennet enzimi ile 32-34°C de muamele edilmiştir. Oluşan pıhtı kitlesi peynir suyunun ayrılması için kesilmiş ve içinde cendere bezi bulunan özel peynir kalıplarına konulmuş ve süzme işlemini hızlandırmak amacıyla baskı uygulanmıştır. Oluşan teleme kalıplar halinde kesildikten sonra istenen tat ve aromayı kazandırmak amacıyla üretim yönteminin gerektirdiği miktarda deniz tuzu kullanılarak hazırlanan salamurada bekletilmiştir. Salamuradan çıkarılan peynir kalıpları 2'şer kg'lık tenekelere tek sıra halinde dizilerek üzerlerine kuru tuz serpilmiş ve 10-12 saat süreyle dinlenmeye bırakılmıştır. Bu işlem sonucunda da ayrılan su ortamdan uzaklaştırılarak tenekeler doluncaya kadar peynir dizilmiş ve üzerine salamura ilave edilerek tenekeler kapatılmış ve hava almayacak şekilde kutulanmıştır. Tenekelerden bir kısmı taze peynir

analizleri için laboratuvara getirilmiş, diğer tenekeler ise 2-4°C sıcaklıktaki soğuk hava depolarında 12 ay süreyle olgunlaşmaya bırakılmıştır (Tuncel vd. 2010). Peynir üretimi 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Peynirlerde olgunlaştırmanın ilk dört ayında her ay, dördüncü aydan sonra ise iki ayda bir olacak şekilde analizler gerçekleştirilmiştir.

Genel Bileşim

Peynirlerde % asitlik ve pH ölçümleri TS 591 (2006a), kurumadde (%) TS EN ISO 5534 (2006b), protein tayini TS EN ISO 8968-1 (2002), yağ tayini Gerber ve Van Gulik metodu ile TS 3046 (1978), tuz tayini Mohr metoduyla Anonim (1988)'e göre yapılmıştır. Peynirlere ait % suda çözünen azot oranı Kuchroo ve Fox (1982)'de belirtilen yöntemle göre, % 12 trikloroasetik asitte (TCA) çözünen azot oranı Polychroniadou vd. (1999)'a göre ve % 5'lik fosfotungustik asit (PTA)'te çözünen azot oranı Jarrett vd. (1982)'e göre yapılmıştır.

Biyojen Amin Analizleri

Peynir örneklerinde biyojen amin analizleri Eerola vd. (1993)'e göre, dansil klorür türevlendirmesi yapılarak UV-DAD detektörlü Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (Agilent 1100 Model HPLC, ABD) cihazı ile yapılmıştır. Metoda ait kromatografik koşullar; kolon: 150 x 4.6 mm Zorbax Eclipse XDB-C18; A mobil faz:Amonyum asetat (0.1 Molar), B mobil faz:Asetonitril; akış programı: gradient akış, 0-19 dk. A:B (50:50), 19-24 dk. A:B (90:10), 24-25 dk. A:B (50:50); Akış hızı, 0.9 ml/dk.; enjeksiyon hacmi 20 µl; kolon sıcaklığı 40°C; DAD-Detektör 254 nm.

Mikrobiyolojik Analizler

Peynir örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) (FDA-BAM-3, 2001), Psikrofil aerob bakteri (PAB) ISO 17410 (2001), toplam maya-küf (FDA-BAM-18, 2001), Laktik asit bakterileri (LAB) Frank ve Yousef (1992), Fekal Koliform (FK) ve *Escherichia coli* (FDA-BAM-4, 2001)'e göre, *Enterobacteriaceae* spp. ICMSF (1978) ve *Clostridium perfringens* (FDA-BAM-16, 2001) analizleri yapılmıştır.

Mikrobiyolojik analizler için dilüsyon hazırlanması: Aseptik koşullar altında 25 g peynir örneği, 225 ml'lik peptonlu su içerisine tartılmış ve homojenize edilerek seri dilüsyonlar hazırlanmıştır.

TMAB Sayımı: Yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmıştır. Üzerine daha önceden hazırlanıp steril edilen Plate Count Agar (PCA) (Merck, Darmstadt), besiyeri 10-20 mL dökülmüş ve katılması beklenerek 35°C'de 2 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı olarak sayılmıştır.

PAB Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmış ve üzerine Plate Count Agar (PCA) (Merck) besiyerinden 10-20 mL dökülmüş ve katılması beklenerek 6.5°C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler psikrofil aerob bakteri olarak kaudedilmiştir.

Toplam maya-küf Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmıştır. Üzerine daha önceden hazırlanıp steril edilen Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) (Merck) besiyerine ekim yapılmıştır. Besiyeri 25°C'de 5-7 gün inkübe edilmiştir. Oluşan kolonilerin maya ve küf olarak ayrı ayrı sayımı yapılmıştır.

LAB'lerin Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmış ve üzerine Man Rogasa Sharpe (MRS) (Merck) besiyerinden 10-20 mL dökülerek 30°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler laktik asit bakteri sayısı olarak sayılmıştır.

Fekal koliform ve E. coli Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan en muhtemel sayı (3'lü tüp) yöntemine göre ekim yapılmıştır. EC broth ve Eosin Methylene Blue (EMB) (Merck), agar kullanılarak fekal koliform ve *E. coli* analizlerine devam edilmiştir. Üreyen kolonilerin IMVIC testi ve API 20E kiti (Biomerieux, Fransa) ile identifikasyonu yapılmıştır.

Enterobacteriaceae Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye

aktarılmıştır. Üzerine daha önceden hazırlanıp sterilize edilen Violet Red Bile Glucose (VRBG) (Merck) besiyerinden iki kat dökülerek katılması beklenmiş ve 35°C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler sayılarak *Enterobacteriaceae* sayımı yapılmıştır. İdentifikasyonu tuzlu glikoz agarda yapılmıştır.

***Clostridium perfringens* Sayımı:** Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmış ve üzerine daha önceden hazırlanıp sterilize edilen Tryptose Sulfite Cycloserine (TSC) (Merck) besiyerine ekim yapılmıştır. Üzerine bir kat TSC besiyeri dökülerek katılması beklenmiştir. Katılan besiyeri anaerobik ortam oluşturularak 37°C'de 1 gün inkübe edilmiş ve üreyen kolonilerin API 20A (Biomerieux, Fransa) ile identifikasyon testi yapılmıştır.

İstatistiksel Analizler

Peynir örneklerinin olgunlaştırma süresince kimyasal ve mikrobiyolojik yönden karşılaştırılması amacıyla tek yönlü Varyans Analizinden (*Oneway ANOVA*) yararlanılmıştır. Varyans analizinde önemli olan farklılıkların belirlenmesinde ise "Tukey Çoklu Karşılaştırma" testi kullanılmıştır (Sheskin, 2004). Peynirlerin

biyojen amin ve mikroorganizma çeşidi ile azot fraksiyonları arasındaki korelasyonlar belirlenmiştir. Söz konusu istatistiksel analizlerin yapılmasında SPSS for Windows (version 15.0; SPSS 2006) paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Genel Bileşim

Olgunlaştırma süresince peynirlerin pH, % Yağ, % Tuz, % protein ve % TCA değerlerindeki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Ezine peynirinde incelenen bazı kimyasal özelliklere ait değerlere uygulanan varyans analizi sonucunda; peynirlerin pH, tuz, ve TCA değerlerinin olgunlaştırma süresince önemli düzeyde değiştiği belirlenirken ($P < 0.05$), süte uygulanan ısı işlem süresinin tek başına söz konusu kimyasal özellikler üzerine etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$) (Çizelge 1). Çizelge 1 incelendiğinde, olgunlaştırma süresince peynirlerin pH değerlerinin düştüğü, tuz miktarları ve TCA değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Peynirde yağ ve protein miktarlarında da olgunlaştırma süresince istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 1.Ezine peynirlerinde depolama süresince belirlenen bazı kimyasal özellikler ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Table 1. Some chemical properties determined in Ezine cheeses during storage ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	pH	%Yağ (kurumaddede) % Fat in drymatter	% Tuz (kurumaddede) % Salt in drymatter	% Protein % Protein	% TCA % TCA
0*	5.49± 0.02 ^a	50.41 ± 0.14 ^b	9.57 ± 0.11 ^c	19.31 ± 0.03 ^a	4.48 ± 0.03 ^c
1	5.50 ± 0.01 ^a	53.96 ± 0.34 ^{ab}	10.48 ± 0.09 ^{bc}	17.34 ± 0.21 ^b	6.53 ± 0.27 ^d
2	5.22 ± 0.05 ^b	57.98 ± 1.36 ^a	10.19 ± 0.11 ^{bc}	17.18 ± 0.07 ^b	6.51 ± 0.21 ^d
3	5.09 ± 0.05 ^{bc}	53.59 ± 1.95 ^{ab}	10.31 ± 0.39 ^{bc}	17.62 ± 0.11 ^b	7.41 ± 0.11 ^{cd}
4	4.95 ± 0.06 ^{cd}	51.92 ± 0.11 ^b	10.30 ± 0.12 ^{bc}	17.60 ± 0.21 ^b	7.44 ± 0.21 ^{cd}
6	4.88 ± 0.06 ^{cd}	49.35 ± 0.08 ^b	9.78 ± 0.07 ^{bc}	17.38 ± 0.02 ^b	7.57 ± 0.02 ^{cd}
8	4.65 ± 0.01 ^e	50.88 ± 0.76 ^b	9.82 ± 0.08 ^{bc}	17.00 ± 0.09 ^b	8.14 ± 0.09 ^c
10	4.76 ± 0.03 ^{de}	51.49 ± 0.58 ^b	10.83 ± 0.19 ^b	17.00 ± 0.08 ^b	11.85 ± 0.34 ^a
12	4.54 ± 0.01 ^e	50.94 ± 2.00 ^b	12.25 ± 0.07 ^a	16.92 ± 0.41 ^b	10.47 ± 0.30 ^b

^{a-c}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

\bar{x} =Ortalama, $S \bar{x}$ =Standart hata, *3. Gün, TCA: Triklorasetik asitte çözünen azot oranı.

^{a-c}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$),

\bar{x} = Mean, $S \bar{x}$: Standard error, *3. Day, TCA: Trichloroacetic acid soluble nitrogen ratio

Peynirlerin kurumadde, asitlik, SÇA ve PTA değerlerinin uygulanan işlem süresine bağlı olarak olgunlaştırma süresince değişim gösterdiği belirlenmiştir. Söz konusu değişimler Çizelge 2’de gösterilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde, 65°C de 10 dk. ısı işlem uygulanan süttten üretilen peynirlerde kurumadde içeriği olgunlaştırma süresince diğer peynirden daha yüksek bulunmuştur. Titrasyon asitliğinin ise özellikle ilk iki aylık olgunlaştırma süresi sonunda 65°C de 30 dk. ısı işlem gören süttten üretilen peynirlerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Olgunlaştırma boyunca her iki tür peynirde de asitlikte artış olduğu saptanmıştır. Proteoliz düzeyini saptamak amacıyla belirlenen SÇA ve PTA değerlerinde her iki sıcaklık uygulanarak yapılan peynirlerde sırasıyla ortalama 2 ve 1.5 kat artışın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Çalışmada Ezine peyniri için elde edilen bulguların genel olarak beyaz peynir standardında belirtilen değerler ve daha önce yapılmış çalışmalardaki bulgularla benzer olduğu belirlenmiştir (TS591/1995, Karagül-Yüceer vd. 2009; Tuncel vd. 2010). Tuncel vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada 12 ay boyunca olgunlaştırılan Ezine peynirinde laktik asit

miktarının %0.32 den %1.17’ye artış gösterdiği, kurumadde ve yağ miktarlarında ise önemli bir değişim olmadığı sırasıyla ortalama %48.95 ve % 25.10 olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada (Öner vd. 2006), 5-6 C’de 105 gün salamurada olgunlaştırılan beyaz peynirde, olgunlaştırma süresince pH, asitlik ve toplam kurumadde değerlerinin sırasıyla 4.72-5.06, 1.05-2.40 % laktik asit ve % 39.42-51.42 arasında değiştiği bulunmuştur. Ezine peynirine benzer özellikte olan Feta peyniri üzerine yapılan bir çalışmada ise (Moatsou vd. 2004) kuzu ve oğlak şirdeni karışımından elde edilen rennet ve ticari rennet ile yapılan Feta peynirinin pH, toplam kurumadde, tuz, protein ve azot fraksiyonlarının olgunlaştırma süresince önemli değişim gösterdiği belirlenmiştir. Buna göre, 120 gün olgunlaşma süresince kuzu ve oğlak şirdeni elde edilen karışım rennet ile üretilen Feta peynirinde pH değerinin 4.74 den 4.26’ye düştüğü, tuz içeriğinin % 1.16 dan % 3.26’ya yükseldiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, Feta peynirinin SÇA miktarının olgunlaşmanın ilk 16 gününde hızla arttığı, daha sonra ise bir düşüşün meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Çizelge 2. Farklı ısı işlem süreleri uygulanarak üretilen Ezine peynirlerinin depolama boyunca belirlenen bazı özellikleri ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Table 2. Some properties of Ezine cheeses produced by applying different heat treatment times during storage ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	Kurumadde (%) Drymatter (%)		Titrasyon Asitliği (%) Titratable acidity (%)		% SÇA %WSN		% PTA %PTN	
	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk
0*	50.74±0.01 ^{Ba}	51.37±0.01 ^{Aa}	0.32±0.01 ^{Be}	0.60±0.01 ^{Ac}	8.61±0.01 ^{Ac}	8.86±0.11 ^{Ad}	3.31±0.01 ^{Ac}	3.13±0.16 ^{Bd}
1	50.31±0.52 ^{Ab}	48.47±0.01 ^{Bb}	0.44±0.01 ^{Be}	0.58±0.19 ^{Ac}	10.54±0.08 ^{Bd}	12.43±0.30 ^{Ac}	3.55±0.01 ^{Bde}	4.22±0.15 ^{Ab}
2	47.97±0.81 ^{Ac}	47.24±0.14 ^{Bb}	0.46±0.05 ^{Be}	0.68±0.01 ^{Ac}	13.64±0.05 ^{Ac}	13.80±0.01 ^{Ac}	4.11±0.40 ^{Abcd}	4.08±0.01 ^{Abc}
3	48.56±1.41 ^{Abc}	48.76±0.37 ^{Ab}	0.80±0.07 ^{Ab}	0.76±0.07 ^{Bde}	13.98±0.51 ^{Ac}	13.03±0.40 ^{Ac}	4.35±0.01 ^{Abc}	4.05±0.04 ^{Bbc}
4	48.91±0.16 ^{Aabc}	48.48±0.11 ^{Bb}	0.88±0.01 ^{Bb}	0.92±0.03 ^{Ac}	15.20±0.21 ^{Ac}	15.47±0.31 ^{Ab}	3.76±0.14 ^{Bde}	3.95±0.01 ^{Abc}
6	48.66±0.04 ^{Aabc}	47.75±0.14 ^{Bb}	0.94±0.02 ^{Bb}	1.10±0.02 ^{Aabc}	17.85±0.08 ^{Ab}	16.57±0.03 ^{Ab}	4.04±0.02 ^{Ac}	4.01±0.01 ^{Abc}
8	50.05±0.02 ^{Aabc}	48.93±0.03 ^{Bb}	1.00±0.01 ^{Ab}	1.00±0.01 ^{Abc}	18.22±0.01 ^{Ab}	19.36±0.80 ^{Aa}	3.50±0.15 ^{Ade}	3.39±0.01 ^{Bcd}
10	49.60±0.01 ^{Aabc}	48.42±0.01 ^{Bb}	1.39±0.01 ^{Aa}	1.31±0.04 ^{Ba}	20.18±0.03 ^{Aa}	18.24±0.19 ^{Ba}	4.80±0.03 ^{Ab}	4.14±0.00 ^{Bb}
12	49.54±0.10 ^{Aabc}	48.55±0.17 ^{Bb}	1.36±0.01 ^{Aa}	1.22±0.10 ^{Bab}	20.45±0.08 ^{Aa}	19.72±0.68 ^{Aa}	5.35±0.03 ^{Aa}	5.24±0.03 ^{Aa}

^{A-B} Farklı büyük harflerle gösterilen ısı işlem ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

^{a-c} Farklı küçük harflerle gösterilen depolama ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S \bar{x}$ = Standart hata, *3.gün, SÇA: Suda çözünen azot oranı, PTA: 5% fosforitongustik asitte çözünen azot oranı

^{A-B} Means of heat treatments followed by different capital letters represent significant differences.

^{a-c} Means of storage followed by different lower case letters represent significant differences ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Mean, $S \bar{x}$: Standard error, *3. Day, WSN: Water soluble nitrogen ratio, PTA: 5% Phosphotungustic acid soluble nitrogen ratio

Olgunlaşma Süresince Ezine Peynirinde Biyojen Amin İçeriği

Peynir örneklerinde belirlenen biyojen amin miktarlarına uygulanan varyans analizi sonucunda histamin, putresin, tiramin, triptamin ve feniletilamin miktarları üzerine sadece olgunlaştırma süresinin etkisinin önemli olduğu ($P < 0.05$), ısıtma işlem süresinin etkisinin ise önemsiz olduğu bulunmuştur ($P > 0.05$). İncelenen tüm biyojen aminlerin Ezine peynirinin olgunlaştırma süresince önemli düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 3). Olgunlaştırmanın ilk üç ayında Ezine peynirinde histaminin bulunmadığı, ancak üçüncü aydan sonra histamin miktarının yaklaşık üç kat arttığı 12 ay olgunlaştırma sonunda ise histamin miktarının 49.67 mg/kg düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Histamin değişimine benzer olarak olgunlaştırmanın birinci ayı (0.37 mg/kg) hariç ilk üç ayda Ezine peynirinde putresinin bulunmadığı ancak 4. ay ile 12. ay arasında putresin miktarının önemli derecede artış gösterdiği (ortalama 11 kat) tespit edilmiştir. Ezine peynirinde depolamanın 1. ayında 0.37

mg/kg olarak bulunan putresinin daha sonraki aşamalarda peynir mikroflorasındaki mikroorganizmalar tarafından parçalandığı düşünülebilir. Yapılan bazı çalışmalarda amino oksidaz ve benzeri enzim sistemlerine sahip çeşitli mikroorganizmaların biyojen aminleri metabolize etme özelliklerinin olduğu belirlenmiştir (Martuscelli vd. 2000; Alverez ve Arribas, 2014). Özellikle *E.coli*'nin putresini metabolize yolları iyi bir şekilde aydınlatılmıştır (Large, 1992).

Putresin ve histamin haricinde olgunlaştırma süresinden etkilenen tiramin, triptamin ve feniletilamin biyojen aminlerinin miktarlarının olgunlaştırmanın 2. ayından itibaren arttığı, söz konusu artışların tiramin ve triptamin için 8. aydan itibaren, feniletilamin için ise 10. aydan itibaren önemli olduğu belirlenmiştir. Her üç biyojen amin miktarının Ezine peynirinde olgunlaştırma sonunda sırasıyla 50.21 mg/kg, 33.78 mg/kg ve 65.37 mg/kg düzeyinde olduğu bulunmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Depolama süresince Ezine peynirlerinin biyojen amin miktarları (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)
Table 3. Amounts of biogenic amines in Ezine cheeses during storage (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	Histamin Histamine	Putresin Putrescine	Tiramin Tyramine	Triptamin Tryptamine	Feniletilamin Phenylethylamine
0*	0.00 ^d	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^d
1	0.00 ^d	0.37 ± 0.24 ^c	5.53 ± 2.66 ^{bc}	2.17 ± 1.25 ^d	9.68 ± 0.01 ^{cd}
2	0.00 ^d	0.00 ^c	8.61 ± 3.00 ^{bc}	2.64 ± 1.26 ^d	28.24 ± 7.31 ^{bcd}
3	3.23 ± 1.90 ^d	0.00 ^c	13.32 ± 2.28 ^{bc}	7.33 ± 0.94 ^{cd}	23.05 ± 4.61 ^{cd}
4	10.90 ± 0.49 ^{cd}	12.49 ± 3.33 ^{bc}	17.95 ± 1.25 ^{bc}	9.50 ± 1.85 ^{cd}	35.30 ± 3.93 ^{bc}
6	20.76 ± 1.18 ^{bc}	20.26 ± 5.56 ^{bc}	22.32 ± 1.37 ^b	9.56 ± 0.35 ^{cd}	32.61 ± 1.62 ^{bc}
8	26.95 ± 1.74 ^b	52.52 ± 5.04 ^b	20.38 ± 1.36 ^{bc}	15.00 ± 0.62 ^{bc}	55.67 ± 0.68 ^{ab}
10	43.28 ± 4.16 ^a	55.94 ± 4.67 ^b	52.86 ± 5.03 ^a	25.02 ± 1.05 ^{ab}	53.93 ± 2.11 ^{ab}
12	49.67 ± 4.16 ^a	136.95 ± 11.56 ^a	50.21 ± 4.77 ^a	33.78 ± 4.43 ^a	65.37 ± 5.96 ^a

^{a-d}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata*3. gün

^{a-d}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, *3. Day

Çalışmada, incelenen diğer biyojen aminlerden farklı olarak Ezine peynirindeki kadaverin miktarına uygulanan ısıtma işlem süresi ve olgunlaştırma süresinin birlikte etki ettiği yani Ezine peynirindeki kadaverin miktarının

uygulanan ısıtma işlem süresine bağlı olarak olgunlaştırma süresince değişim gösterdiği belirlenmiştir. Ezine peynirinde kadaverin miktarına ait değişim Çizelge 4'de gösterilmiştir. Çizelge 4 incelendiğinde, olgunlaşmanın ilk 3

ayında ısı işlem süresi etkisinin Ezine peynirinin kadaverin miktarında herhangi bir fark oluşturmadığı depolamanın 4., 6., 10. ve 12. aylarında ise kadaverin miktarının 65°C de 30 dk. ısı işlem uygulanan süttten yapılan peynirlerde

daha yüksek olduğu bulunmuştur. Buna göre, 12 ay olgunlaştırma sonunda 65°C de 10 dk. ve 30 dk. ısı işlem gören sütlerden yapılan Ezine peynirlerindeki kadaverin miktarları sırasıyla 42.94 mg/kg ve 74.04 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4. Farklı ısı işlem süreleri uygulanarak üretilen Ezine peynirlerinin depolama süresince kadaverin miktarları (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Table 4. Cadaverine amounts of Ezine cheeses produced by applying different heat treatment times during storage (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	Kadaverin Cadaverine	
	65°C 10 dk 65°C 10 min	65°C 30 dk 65°C 30 min
0*	0.00 ^{Ac}	0.00 ^{Ac}
1	0.00 ^{Bc}	2.62±0.04 ^{Ac}
2	0.00 ^{Ac}	0.00 ^{Ac}
3	0.00 ^{Ac}	0.00 ^{Ac}
4	6.52 ± 1.68 ^{Bc}	9.98±2.87 ^{Ade}
6	10.51±3.86 ^{Bc}	19.05± 0.47 ^{Ad}
8	29.44±0.10 ^{Ab}	30.45±1.12 ^{Ac}
10	36.99±2.75 ^{Bab}	44.36± 3.44 ^{Ab}
12	42.94±5.93 ^{Ba}	74.04± 2.07 ^{Aa}

^{A-B} Farklı büyük harflerle gösterilen ısı işlem ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

^{a-c} Farklı küçük harflerle gösterilen depolama ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata*3. Gün

^{A-B} Means of heat treatments followed by different capital letters represent significant differences.

^{a-c} Means of storage followed by different lower case letters represent significant differences ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, *3. Day,

Peynirler, biyojen amin bakımından önem taşıyan gıdalar arasında bulunmaktadır. Peynirlerde oluşan en önemli biyojen aminler; tiramin, histamin, putresin, kadaverin, triptamin ve β -feniletilamin olup bu aminlerin miktarının olgunlaşma süresince arttığı Ordonez vd. (1997) tarafından da bulunmuştur. Koehler ve Eitenmiller (1978) inceledikleri çeşitli peynir örneklerinde tiramini en yaygın bulunan biyojen amin olarak tespit etmişlerdir. Örneklerde en yüksek tiramin konsantrasyonu 1320 mg/kg olarak bulunmuş olup ortalama tiramin miktarı 216 mg/kg olarak belirtilmiştir. Peynirlerde β -feniletilamin seviyesi ise 102 mg/kg olarak bulunmuştur. İncelenen örneklerdeki triptamin seviyesinin de daha düşük oranlarda bulunduğu belirtilerek, ortalama 20 mg/kg düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Valsamaki vd. (2000) 4 aylık olgunlaşma süresince, Feta peynirinde oluşan

biyojen amin içeriğini incelemişler ve 60. günün sonunda toplam biyojen amin miktarının 330 mg/kg'a, 120 günlük olgunlaşma sürecinde ise bu miktarın 617 mg/kg'a ulaştığını saptamışlardır. Ayrıca tiramin ve putresinin Feta peynirinde saptanan baskın biyojen aminler olduğunu (sırasıyla % 69.7 ve % 71.2) triptamin ve feniletilaminin de az miktarda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, Feta peynirinde de depolama boyunca triptamin miktarının en düşük düzeyde olduğunu saptamışlardır. Schirone vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada İtalya'da Abruzzo bölgesindeki 10 adet farklı işletmede koyun sütünden üretilmiş ve 90 gün olgunlaştırılmış Pecorino di Faridola peynir örneklerinin toplam biyojen amin içeriklerini incelemişlerdir. Söz konusu peynir örneklerinde en fazla bulunan biyojen aminlerin tiramin, etilamin, putresin ve kadaverin olduğunu, peynirlerdeki toplam biyojen

amin içeriklerinin 203 mg/kg ile 2393 mg/kg arasında değiştiğini belirlemiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Martuscelli vd. 2005) ise çığ ve starter kültür ilaveli pastörize koyun sütünden yapılan ve 60 gün olgunlaştırılan Pecorino Abruzzese (İtalya) peynirlerinin toplam biyojen amin içeriğinin sırasıyla 697 ve 1086 mg/kg düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Buna göre, baskın biyojen aminlerin çığ sütü yapılan Pecorino Abruzzese peynirlerinde histamin, tiramin ve putresin, starter kültür ilaveli pastörize süttten yapılan peynirde ise feniletıl amin, tiramin, etilamin ve putresin olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada Ezine peynirinde belirlenen biyojen amin çeşidi ve konsantrasyonları diğer çalışmalardaki bulgularla karşılaştırıldığında, Ezine peynirinde belirlenen biyojen amin çeşitlerinin farklı ülkelerde koyun ve keçi sütlerinden yapılan peynirlerindeki biyojen amin çeşitleriyle benzer olduğu ancak konsantrasyon bakımından düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, daha öncede ifade edildiği gibi peynirdeki mikrobiyel popülasyonun çeşitliliği ve sayısı, uygulanan ısıl işlemin çeşidi ve süresi, fermentasyon koşulları gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda SÇA, PTA veya TCA gibi proteolitik aktivite göstergeleri ile biyojen amin oluşumunun doğru orantılı olduğu ifade edilmektedir (Sumner, vd.1990a,b; Novella-Rodriguez vd. 2004).Yapılan bu çalışmada, Ezine peynirindeki bazı azot fraksiyonları ile biyojen amin oluşumu arasında yüksek korelasyon olduğu belirlenmiştir. Örneğin, 65°C'de 10 dk. ısıl işlem uygulanan süttten üretilen Ezine peynirinde feniletılamin ($r=0.906$, $P=0.001$), histamin ($r=0.888$, $P=0.001$) ve tiramin ($r=0.878$, $P=0.001$) ile suda çözünür azot fraksiyonu arasındaki korelasyon yüksek bulunmuştur. Aynı peynirde TCA ile tiramin ($r=0.915$, $P=0.001$), kadaverin ($r=0.859$, $P=0.001$), histamin ($r=0.846$, $P=0.001$) ve feniletılamin ($r=0.825$, $P=0.001$) arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür. PTA ile biyojen aminler arasındaki korelasyon diğerlerinden daha düşük bulunmuştur. En yüksek korelasyon değerleri triptamin ($r=0.779$, $P=0.001$) ve tiramin ($r=0.772$, $P=0.001$) ile PTA arasındadır.

Olgunlaşma Süresince Ezine Peynirinde Mikrobiyel Profil

Olgunlaştırma süresince Ezine peynirinde PAB, FK ve maya sayılarındaki görülen değişimler Çizelge 5'de sunulmuştur. Yapılan varyans analizi sonucunda, olgunlaştırma süresinin Ezine peynirindeki söz konusu mikroorganizmalar üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Ezine peynirinde, PAB ve maya sayısında olgunlaşmanın 4. ayından itibaren önemli FK ve Enterobakteri sayılarında ise olgunlaşmanın 3. aydan itibaren önemli bir düşüşün meydana geldiği gözlenmiştir. Olgunlaşmanın 8. ayından sonra ise incelenen mikroorganizmaların sayıları $< 1 \log \text{ kob/g}$ düzeyinde olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda peynir örneklerinin hiçbirinde depolama süresince *C. perfiringens* ve küf tespit edilememiştir ve peynirlerde *E. coli* sayısı fekal koliform sayısı ile aynı bulunmuştur.

Ezine peynirinin TMAB ve LAB sayıları üzerine süte uygulanan ısıl işlem ve olgunlaştırma süresinin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Buna göre, süte uygulanan farklı ısıl işlem süreleri ile üretilen Ezine peynirindeki TMAB ve LAB sayıları olgunlaşma süresine bağlı olarak değişim göstermektedir (Çizelge 6). Üretilen Ezine peynirlerinde TMAB'ye ait bulgular incelendiğinde, uygulanan farklı ısıl işlem sürelerinde üretilen peynirlerindeki TMAB yükü $7.1 \log \text{ kob/g}$ düzeyinde olduğu TMAB yükünün olgunlaştırma süresince azaldığı belirlenmiştir. Olgunlaştırmanın 0. 1. ve 6. aylarında çığ süte uygulanan farklı ısıl işlem normları peynirlerin TMAB üzerine önemli bir etki yaratmamıştır ($P > 0.05$). Olgunlaştırmanın 3. 4. ve 8. aylarında ise çığ süte 65°C de 10 dk. ısıl işlem uygulanarak üretilen peynirlerin toplam TMAB sayısı, çığ süte 65°C de 30 dk. ısıl işlem uygulanarak üretilen peynirlerden daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Farklı sıcaklık süresi uygulanan Ezine peynirlerinde LAB sayısı olgunlaştırmanın 2. ayına kadar artış göstermiştir. Depolamanın ilk iki ayında iki peynir örneğinde ortalama $6.40 \log \text{ kob/g}$ (65°C de 10 dk.) ve $7.16 \log \text{ kob/g}$ (65°C de 30 dk.) düzeyinde LAB sayısı tespit edilmiştir. Her iki peynir örneğinde LAB sayısındaki azalış 4. aydan sonra önemli derecede olup,

olgunlaştırmanın sonunda LAB sayısı her iki peynir örneğinde ortalama 2 kat azalış göstermiştir (Çizelge 6).

Çizelge 5. Depolama boyunca Ezine peynirlerinin mikroorganizma sayısı ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Table 5. Microbial counts of Ezine cheeses during storage

Depolama (Ay) Storage (Month)	PAB (log kob/g)	FK (log EMS/g) FC (log EMS/g)	Enterobacteriaceae (log kob/g) Enterobacteriaceae (log cfu/g)	Maya (log kob/g) Yeast (log cfu/g)
	PAB (log cfu/g)			
0*	4.79 ± 0.15 ^{ab}	2.12 ± 0.19 ^a	5.70 ± 0.02 ^a	7.13 ± 0.12 ^a
1	6.51 ± 0.14 ^a	1.68 ± 0.40 ^b	3.04 ± 0.21 ^b	3.20 ± 0.15 ^b
2	3.83 ± 0.49 ^{bc}	<1 ^d	2.08 ± 0.37 ^b	2.49 ± 0.07 ^b
3	5.06 ± 0.59 ^{ab}	1.93 ± 0.11 ^b	2.27 ± 0.09 ^b	2.64 ± 0.34 ^b
4	5.49 ± 0.14 ^{ab}	1.04 ± 0.22 ^{cd}	<1 ^c	1.94 ± 0.32 ^{bc}
6	2.29 ± 0.22 ^{cd}	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c
8	2.47 ± 0.26 ^{cd}	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c
10	<1 ^d	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c
12	<1 ^d	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c

^{a-d}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata, PAB: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı, FK: Fekal koliform sayısı, *3. Gün, EMS: En muhtemel sayı, kob: koloni oluşturan birim

^{a-d}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$),

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, PAB: psychrophilic aerobic bacteria count, FC: Fecal coliform count, *3. Day, EMS: Most probable number, cfu: colony forming unit

Çizelge 6. Farklı ısı işlem süreleri uygulanarak üretilen Ezine peynirlerinde depolama süresince belirlenen mezofilik aerobik ve laktik asit bakteri sayıları (log kob/g) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Table 6. Counts of mesophilic and lactic acid bacteria determined in Ezine cheeses produced by applying different heat treatment times during storage (log cfu/g) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	TMAB		LAB	
	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk
	65°C 10 min	65°C 30 min	65°C 10 min	65°C 30 min
0*	7.06 ± 0.02 ^{Aa}	7.15 ± 0.01 ^{Aab}	5.64 ± 0.09 ^{Bef}	6.68 ± 0.02 ^{Abc}
1	6.89 ± 0.11 ^{Aab}	6.95 ± 0.02 ^{Aab}	6.72 ± 0.01 ^{Bbcd}	7.12 ± 0.43 ^{Aab}
2	7.02 ± 0.26 ^{Ba}	7.49 ± 0.11 ^{Aa}	6.86 ± 0.58 ^{Bbc}	7.69 ± 0.04 ^{Aa}
3	7.46 ± 0.12 ^{Aa}	5.73 ± 0.09 ^{Bcde}	8.08 ± 0.03 ^{Aa}	6.59 ± 0.08 ^{Bbc}
4	7.37 ± 0.02 ^{Aa}	6.43 ± 0.09 ^{Bbc}	7.45 ± 0.06 ^{Aab}	6.71 ± 0.01 ^{Bbc}
6	5.53 ± 0.27 ^{Acde}	5.62 ± 0.01 ^{Ade}	5.56 ± 0.02 ^{Aef}	5.65 ± 0.16 ^{Ad}
8	6.23 ± 0.01 ^{Abc}	5.07 ± 0.44 ^{Be}	6.23 ± 0.06 ^{Acde}	6.10 ± 0.06 ^{Acde}
10	5.00 ± 0.04 ^{Bd}	5.71 ± 0.01 ^{Acde}	5.90 ± 0.05 ^{Ade}	5.94 ± 0.01 ^{Acde}
12	5.30 ± 0.22 ^{Bd}	5.88 ± 0.07 ^{Acde}	4.79 ± 0.01 ^{Af}	3.84 ± 0.18 ^{Be}

^{A,B}Farklı büyük harflerle gösterilen ısı işlem ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

^{a-f}Farklı küçük harflerle gösterilen depolama ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata, TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, LAB: laktik asit bakteri, *3. Gün, kob: koloni oluşturan birim

^{A-B}Means of heat treatments followed by different capital letters represent significant differences.

^{a-f}Means of storage followed by different lower case letters represent significant differences ($P \leq 0.05$),

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, TMAB: Total mesophilic aerobic bacteria, LAB: lactic acid bacteria, *3. Day, cfu: colony forming unit

Çalışmada mikrobiyolojik analizler sonucunda Ezine peynirinden elde edilen bulgular, starter kültür kullanılmadan üretilen ve salamurada olgunlaştırılan İzmir Tulum (Türkiye), Urfa (Türkiye), Feta (Yunanistan), Gibna Bayda (Sudan), Domiati (Mısır) ve Casin (İspanya) gibi peynirlerde bulunan sonuçlarla benzerdir (Özer vd. 2002; Manolopoulou vd. 2003; Aly vd. 2007; El Owni ve Hamid, 2008; Algeria vd. 2009; Karabey vd. 2018). Ezine peyniri üzerine yapılan bir çalışmada (Tuncel vd. 2010) 12 ay boyunca olgunlaştırma süresince Ezine peynirlerinde LAB sayısı belirlenmiş olup bu sayının 6.55-9.46 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır. Karabey vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada, 12 ay boyunca olgunlaştırılmış İzmir Tulum peynirlerinde *Lactococcus* spp. cinsi LAB'lerin baskın florayı oluşturduğu ve peynir örneklerinde 7.95-8.44 log kob/g düzeyinde olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, peynir örneklerinde 3.60-5.07 log kob/g düzeyinde *Staphylococcus* spp. bulunduğu da tespit edilmiştir. Yunanistan'ın Peloponess bölgesinde şubat-mart aylarında elde edilmiş sütlerden üretilen Feta peynirlerinde ise 120 gün olgunlaştırma süresince baskın floranın mezofilik laktokok, termofilik laktobasil ve koklardan oluştuğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, Ezine peynirine benzer olarak Feta peynirinde de maya-küf sayısının olgunlaştırma süresince azaldığı, 120 günlük olgunlaştırma süresi sonunda ise Koliform grubu bakteriler ile *E. coli*'nin peynirde bulunmadığı tespit edilmiştir (Manolopoulou vd. 2003). Ancak, İspanya'da starter kültür kullanılmadan inek sütlerinden üretilen Casin peynirinde 30 günlük olgunlaştırma süresince koliform grubu bakteriler ile maya-küf sayısının arttığı belirlenmiştir. Buna göre koliform grubu bakteri sayısının 5.54 log kob/g düzeyinden 6.47 log kob/g düzeyine çıktığı, maya-küf sayısının 3.38 log kob/g düzeyinden 6.79 log kob/g düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak literatür bulguları değerlendirildiğinde, özellikle starter kültür kullanılmadan ve salamurada olgunlaştırılan peynirlerdeki mikrobiyel floranın; üretimde kullanılan çiğ sütün mikrobiyolojik florası, peynir üretim basamaklarındaki işlem farklılıkları, olgunlaştırma süresi gibi faktörlerden etkilendiği açıkça görülmektedir.

Azot fraksiyonlarına benzer olarak, Ezine peynirinde belirlenen mikroorganizmalar ve bazı biyojen aminlerle arasında önemli korelasyonların olduğu saptanmıştır. Olgunlaştırma süresince mikroorganizma yükündeki azalmadan ve biyojen amin miktarındaki artıştan dolayı korelasyonlar negatif yöndedir. Örneğin, 65°C de 30 dk. ısı işlem uygulanan süttten yapılan peynirlerde depolama süresince belirlenen psikrofilik bakteri sayısı ile histamin ($r = -0.812$, $P=0.001$), putresin ($r = -0.656$, $P=0.003$), tiramin ($r = -0.761$, $P=0.001$), triptamin ($r = -0.720$, $P=0.001$) ve kadaverin ($r = -0.779$, $P=0.001$) arasında önemli korelasyon olduğu bulunmuştur. LAB'leri ile de tüm biyojen aminler arasında önemli korelasyonlar olduğu görülmüştür; histamin ($r = -0.793$, $P=0.001$), putresin ($r = -0.881$, $P=0.001$), tiramin ($r = -0.672$, $P=0.002$), triptamin ($r = -0.826$, $P=0.001$) ve kadaverin ($r = -0.668$, $P=0.002$). Peynirlerde bulunan mezofilik bakteriler ve maya sayısı ile putresin hariç diğer tüm biyojen aminler arasında önemli korelasyon olduğu saptanmıştır. *Enterobacteriaceae* ile de özellikle histamin ($r = -0.587$, $P=0.017$) ve feniletilamin ($r = -0.655$, $P=0.006$) arasında önemli korelasyon olduğu bulunmuştur. Ancak, fekal koliform ve *E. coli* sayısı ile kadaverin hariç (sırasıyla $r = -0.573$, $P=0.013$ ve $r = -0.502$, $P=0.034$) diğer aminler arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Pintado vd. (2008) Terrincho isimli Portekiz peynirinin mikrobiyal özelliklerini ve biyojen amin profilini belirlemişlerdir. Çalışmada peynirde bulunan toplam mezofilik bakteri, enterokok, laktokok, laktobasil, stafilokok, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, maya ve küf sayısı belirlenmiş olup biyojen amin konsantrasyonu ile canlı mikroorganizma sayısı arasında önemli korelasyon olduğu bulunmuştur. Özellikle enterokok ve feniletilamin ($r=0.868$, $P <0.0001$) ve laktokok ile kadaverin ($r=0.646$, $P=0.002$) ve tiramin ($r=0.868$, $P <0.0001$) ve *Enterobacteriaceae* ve triptamin ($r =0.855$, $P <0.0001$) arasında önemli bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Marino ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada da peynirde bulunan *Enterobacteriaceae* sayısı ile kadaverin miktarı arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. *Enterobacteriaceae* sayısının peynir yapımı veya depolama sırasında olan bir

kontaminasyonun göstergesi olabileceği düşünülebilir.

SONUÇ

Çalışma sonucunda olgunlaşma süresince Ezine peynirindeki mikroorganizma yükünün azaldığı ve biyojen amin seviyesinin arttığı görülmüştür. Ezine peynirlerinin depolama süresince bazı mikroorganizma sayılarındaki değişim incelendiğinde, pastörizasyonla yok edilemeyen veya kontaminasyonla peynire bulaşan mikroorganizmaların (Örn; fekal koliform) özellikle depolamanın 3. ayından sonra tamamen yok olduğu görülmüştür. Olgunlaştırma süresince biyojen amin seviyelerindeki artışın çoğunlukla süte uygulanan ısı işlem sonrasında sütte canlı kalabilen veya peynir üretim basamaklarında ürüne bulaşabilen psikrofil aerobik bakteri ve LAB'lerinden kaynaklandığı görülmüştür. Nitekim peynirlerde belirlenen histamin, putresin tiramin miktarı ile psikrofil aerobik bakteriler ve LAB'lerinin sayıları arasında önemli bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan fekal koliform ve *E. coli* sayısı ile peynirde oluşan kadaverin miktarının da ilişkili olduğu gözlenmiştir. Ezine peynirinde kadaverin hariç oluşan diğer tüm biyojen aminler üzerine ısı işlem süresinin tek başına etkisinin olmadığı, kadaverin oluşumunda ise ısı işlem süresi ve olgunlaştırma süresinin ortak etkisinin varlığı tespit edilmiştir. Ezine peynirinde oluşan biyojen aminlerin miktarlarının kabul edilen toksikolojik sınır değerlerin altında olduğu ortaya konulmuştur. Çalışmada Ezine peynirinde oluşan biyojen aminlerin miktarının ısı işleminden etkilenmediği görülse de Ezine peyniri üretiminde kalite kayıplarına neden olan ve insan sağlığı için tehlikeli olabilen istenmeyen mikrobiyal floranın kontrol altına alınması için süte pastörizasyon işlemi uygulanması büyük önem taşımaktadır. Diğer taftan pastörizasyon sonrası işlemlerde ve peynirin depolanması sırasında sıkı hijyen tedbirlerinin uygulanarak mikrobiyolojik kontaminasyon riskinin en aza indirilmesi de gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Gıda ve Yem

Araştırmaları Daire Başkanlığı tarafından TAGEM/GY/09/03/01/156'nolu proje ile desteklenmiş ve sonuç raporu 220 yayın numarası ile yayınlanmıştır.

KAYNAKLAR

Alegria, A., Alvarez-Martin, P., Sacristan, N., Fernandez, E., Delgado, S., Mayo, B (2009). Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casín, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cow's milk. *Int J Food Microbiol*, 136:44-51.

Alvarez, M.A., Moreno-Arribas, M.V. (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends Food Sci Technol* 39, (2):146-155.

Aly, S.A., Morgan, S.D., Moawad, A.A., Metwally, B.N. (2007). Effect of moisture, salt content and pH on the microbiological quality of traditional Egyptian domiati cheese. *Assut Vet Med J*, 53(115): 68-81

Anonymous(1988).Gıda maddeleri muayene ve analiz metodları. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Bursa.

Anonymous (1995). Biogenically active amines in food. European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research. COST 269/96. <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ed5a2fd4-32fd-48f7-8175-18a3d28e3b5e/language-en> (Erişim tarihi:05/05/2010).

Chang, S.F., Ayres, J.W., Sandine, W.E (1985). Analysis of Cheese for histamine, tyramine, tryptamine, histidine, tyrosine and tryptophane. *J Dairy Sci*, 68: 2840-2846.

Combarros-Fuertes, P., Fernandez, D., Arenas, R., Diezhandino, I., Tornadijo, M.E., Fresno, J.M. (2016). Biogenic amines in Zamorano cheese: factors involved in their accumulation *J Sci Food Agric*, 96:295-305.

Darwish, S.M (1993). Development of biogenic amines in Hungarian hard cheese during ripening. *Egypt J Dairy Sci*, 21(2): 313-319.

- Degheidi, M.A., Effat, B.A., Shalaby, A.R (1992). Development of some biogenic amines during Ras cheese ripening with special reference to different starters. Proceeding 5th Egyptian Conference for Dairy Science and Technology, 19-21 Ekim 1992, Ismailia, Mısır 205 s.
- Durlu-Özkaya, F., Alichanidis, E., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tunail, N (1999). Determination of biogenic amine content of Beyaz cheese and biogenic amine production ability of some lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 54(12): 680-682.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K., Özkan, G (2000). Biogenic amine determination in tulum cheese by high performance liquid chromatography (HPLC). *Milchwissenschaft*, 55(1): 27-28.
- Durlu-Özkaya, F., Tunail N (2000). Salamura Beyaz peynirlerde biyogen amin riski. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 22-23 Mayıs 2000, Tekirdağ, 146s.
- Durlu-Özkaya, F (2001). Çeşitli peynirlerimizin biyogen amin kompozisyonu. Türkiye 7. Gıda Kongresi, 22-24 Mayıs 2002, Ankara, 899s.
- Eerola, S., Hinkkanen, R., Lindfors, E., Hirvi, T (1993). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *JAOAC Int*, 76 (3): 575-577.
- El-Owni, O.A.O., Hamid, Ö.I.A (2008). Effect of storage period on weight loss, chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Sudan White cheese (GibnaBayda). *Pak J Nutr*, 7(1):75-80.
- FDA-BAM-3 (2001). Aerobic plate count Agar. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- FDA-BAM-4 (2001). *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. Web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- FDA-BAM-16 (2001). *Clostridium perfringens*. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- FDA-BAM-18 (2001). Yeasts, molds, and mycotoxins. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- Frank, J.F., Yousef, A.E. (1992). Tests for groups of microorganisms. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Marshall RT (chief ed), American Public Health Association, Washington, DC. pp.271-286.
- Guarcello, R., Diviccaro, A., Barbera, M., Giancippoli, E., Settani, L., Minervini, F. Moschetti, G., Gobetti M. (2015). A survey of the main technology, biochemical and microbiological features influencing the concentration of biogenic amines of twenty Apulian and Sicilian (Southern Italy) cheeses. *Int Dairy J*, 43: 61-69.
- Halasz, A., Barath A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci Tech*, 5:42-49.
- Hull, R., Toyne, S., Haynes, I., Lehmann, F.L (1992a). Thermotolerant bacteria: A re-emerging problem in cheese making. *Aust J Dairy Technol*, 47(2): 91-94.
- Hull, R., Toyne, S., Haynes, I., Lehmann, F.L (1992b). Thermotolerant bacteria: a re-hygienic quality in typical Sicilian cheeses. *Latte*, 19(4): 390-393.
- ICMSF (1978). Microorganisms in foods 1: Their significance and methods of enumeration.

- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) of the International Association of Microbiological Societies, University of Toronto Press. Toronto, Kanada.434p.
- Jarrett, W. D., Aston, J. W., Dulley, J. R (1982). A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust J Dairy Technol*, 37:55-58.
- Joosten, H.M.L.J (1988a). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 3. factors influencing the amounts formed. *Neth Milk Dairy J*, 41: 329-345.
- Joosten, H.M.L.J (1988b). Biogenic amine contents of Dutch cheese and their toxicological significance. *Neth Milk Dairy J*, 42: 25-42.
- Joosten, H.M.L.J., van-Boekel, M.A.J.S (1988). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 4. A study of the kinetics of histamine formation in an infected Gouda cheese. *Neth Milk Dairy J*, 42: 3-24.
- Joosten, H.M.L.J., Weerkamp, A.H (1994). Vorming Van Biogene Aminen in Kaas. *Voedings Middelten Technologie*, 27 (3): 9-11.
- Karabey, B., Eroglu, D., Vural, C., Ozdemir G., Yerlikaya, O., Kinik, Ö (2018). Determination of the microbial flora in traditional Izmir Tulum cheeses by denaturing gradient gel electrophoresis. *J Food Sci Technol*, 55 (3):956-963.
- Karagül-Yüceer, Y., Tuncel, B., Güneşer, O., Engin, B., Isleten, M., Yasar, K., Mendes, M (2009). Characterization of aroma-active compounds, sensory properties, and proteolysis in Ezine Cheese. *J Dairy Sci*, 92: 4146–4157.
- Karahan, A.G., Öner, Z., Filiz, H.N (2001). Farklı depolama sürelerinde beyaz peynirlerde meydana gelen değişimler. Kromatografik Yöntemler, II. Ulusal Kromatografi Kongresi. 6-8 Haziran 2001, Kırıkkale, 316s.
- Kuchroo, C. N., Fox, P. F (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37: 331-335.
- Lanza, C.M., Russo, C., Tomaselli, F (1994). Biogenic amines as indicators of hygienic quality in typical Sicilian cheeses. *Latte*, 19 (4): 390-393.
- Large, P. (1992). Enzymes and pathways of polyamine breakdown in microorganisms. *FEMS Microbiol Rev*, 88: 249-262.
- Manolopoulou, E., Sarantinopoulos, P., Zoidou, E., Aktypis, A., Moschopoulou, E., Kandarakis, I.G., Anifantakis, E.M (2003). Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. *Int Dairy J*, 82: 153-161.
- Martuscelli, M., Crudele, M.A., Gardini, F., Suzzi, G. (2000). Biogenic amine formation and oxidation by *Staphylococcus xylosus* strains from artisanal fermented sausages. *Lett Appl Microbiol*,31(3): 228-32.
- Martuscelli, M., Gardini, F., Torriani, S., Mastrocola, D., Serio, A., Chaves-Lopez, C., Schirone, M., Suzzi, G (2005). Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese. *Int Dairy J*, 15: 571-578.
- Moatsou, G., Moschopoulou, E., Georgala A., Zoidou, I, E., Kandarakis, I., Kaminarides, S., Anifantakis, E (2004). Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chem*, 88(4): 517-525.
- Novella-Rodriguez, S., Veciana-Nogues, M.T., Roig-Sagues, A.X., Trujillo-Mesa, A.J (2004). Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *J Dairy Res*, 71(2): 24-252.
- Nout, M.J.R (1994). Fermented foods and food safety. *Food Res Int*, 27(3): 291-298.
- Ordonez, A.I., Ibanez, F.C., Torre, P., Barcina, Y (1997). Formation of biogenic amines in Idiazabal ewe's-milk cheese: effect of ripening, pasteurization and starter. *J Food Prot*, 60 (11): 1371-1375.
- Ozer, B. H., Atasoy, A. F., Akin, M. S (2002). Some properties of Urfa cheese (a traditional white-brined Turkish cheese) made from bovine's and ovine's milk. *Int J Dairy Technol*, 55(2): 94-99.

- Öner, Z., Karahan, G.A., Aloğlu, H (2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *LWT-Food Sci Technol*, 39 (5): 449-454.
- Özoğul, F., Taylor, K. D. A., Quantick, P., Özoğul, Y (2002). Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int J Food Tech*, 37: 515-522.
- Pintado, A.I.E., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Pintado, M.M.E., Gomes, A.M.P., Malcata, F.X (2008). Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. *Int Dairy Journal* 18: 631-640.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., Paschaloudis, N (1999). Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *Int Dairy J*, 9: 559-568.
- Santos, M. H. S (1996). Biogenic amines: their Importance in foods. *Int J Food Microbiol*, 29: 213-231.
- Schirone, M., Tofalo, R., Mazzone, G., Corsetti, A., Suzzi, G (2011). Biogenic amine content and microbiological profile of Pecorino di Farindola cheese. *Food Microbiol*, 28: 128-136.
- Shalaby, A. R (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res Int*, 29(7): 675-690.
- Shalaby, A.R., Anwar, M.M., Sallam, E.M., Emam, W.H. (2016). Quality and safety of irradiated food regarding biogenic amines: Ras cheese. *Int J Food Sci Tech*, 51: 1048-1054.
- Sheskin, D.J (2004). Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures (3rd ed). Chapman and Hall/CRC press, New York, USA, 1193 p.
- SPSS (2006). SPSS Professional Statistics 15.0. Chicago, IL: SPSS Inc.
- Stratton, J.E., Hutkins, R.W., Taylor, S.L (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods. *J Food Prot*, 54(6): 460-470.
- Sumner, S.S., Roche, F., Taylor, S.L (1990a). Factors controlling histamine production in Swiss cheese inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *J Dairy Sci*, 73: 3050-3058.
- Sumner, S.S. Roche, F., Taylor, S.L (1990b). Histamine formation by Enterococci in goat cheese. *Int J Food Microbiol*, 11: 225-230.
- TS Türk Standartları Enstitüsü (1978). TS 3046 Peynirde yağ miktarı tayini (Van Gulik Metodu), Ankara
- TS. Türk Standartları Enstitüsü (2002). TS EN ISO 8968-1 süt-azot içeriği tayini-Bölüm 1: Kjeldahl yöntemi standardı, Ankara
- TS. Türk Standartları Enstitüsü (2006a). TS 591 Beyaz peynir standardı, Ankara
- TS. Türk Standartları Enstitüsü (2006b). TS EN ISO 5534 Peynir ve işlenmiş peynir- toplam kurumadde içeriği tayini (referans yöntem), Ankara
- Tuncel, N.B., Güneşer, O., Engin, B., Yaşar, K., Zorba, N.N., Karagül-Yüceer, Y (2010). Ezine Peyniri II. Olgunlaşma Süresince Proteoliz Düzeyi. *Gıda*, 35(1): 21-26.
- Valsamaki, K., Michaelidou, A., Polychroniadou, A. (2000). Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chem*, 71: 259-266.



FONKSİYONEL KAKAO VE KAKAO ÜRÜNLERİ

Gamze Gül Yiğit, İnci Cerit, Omca Demirkol*

Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya, Türkiye

Geliş / *Received*: 02.04.2017; Kabul / *Accepted*: 06.07.2018; Online baskı / *Published online*: 21.08.2018

Yiğit, G.G., Cerit, İ., Demirkol, O. (2018). Fonksiyonel kakao ve kakao ürünleri. *GIDA* (2018) 43 (4): 702-715 doi: 10.15237/gida.GD18045

Yiğit, G.G., Cerit, İ., Demirkol, O. (2018). *Functional cocoa and cocoa products*. *GIDA* (2018) 43 (4): 702-715 doi: 10.15237/gida.GD18045

ÖZ

Kakao ve kakaolu gıdalar, lezzetlerine ek olarak yüksek polifenol, protein, mineral ve karbonhidrat içeriğine sahip oldukları için çok değerli endüstri ürünleridir. Özellikle fenollerden kaynaklanan antioksidan içerikleri, kakao ve ürünlerini fonksiyonel gıdalar kategorisine taşımıştır. Bu nedenle kakao ürünlerinin, özellikle çikolatanın, raf ömrünün uzatılması, zararlı bileşenlerin uzaklaştırılması veya azaltılması, besin değerlerinin ve antioksidan aktivitesinin daha da artırılması tüketici sağlığına kattığı olumlu etkilerin yanında ticari ve ekonomik olarak da önem taşımaktadır. Bu derlemede, biyolojik aktif bileşenler kullanılarak fonksiyonel özellikleri artırılmış kakao ürünleri hakkında yapılan araştırma ve sonuçları bir araya getirilmiştir. Yapılan çalışmalar, kakao ürünlerinin biyoyararlılıklarının artırılmasının sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı gelişmeye açık bir alan olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Fonksiyonel gıdalar, kakao, çikolata

FUNCTIONAL COCOA AND COCOA PRODUCTS

ABSTRACT

Cocoa and cocoa products are very valuable industrial food because they have high amount of polyphenols, protein, mineral and carbohydrate in addition to their taste. Antioxidant contents especially provided by phenols have moved cocoa and its products to category of functional foods. Therefore, prolonging the shelf life, removing or reducing harmful components, increasing the nutritional value and antioxidant activity of cocoa products, especially chocolate, have commercial and economical importance beside positive effects on consumer health. Researchers and their results about functionally enriched cocoa products using biologically active ingredients were combined in this review. Studies were shown that enhancement of the bioavailability of cocoa products are an open area for improvement because of the positive effects on human health.

Keywords: Functional foods, cocoa, chocolate

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ omcad@sakarya.edu.tr,

☎ (+90) 264 295 5921

☎ (+90) 264 295 5601

GİRİŞ

Gıdaların besleyici, duyuşal ve fizyolojik olmak üzere başlıca üç fonksiyonu mevcuttur. Bu özelliklerden besleyici ve duyuşal olanlar birçok gıdada mevcut iken, bazı ürünler sadece fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Ancak son zamanlarda gerçekleştirilen çeşitli teknolojik uygulamalar sayesinde gıdalara fizyolojik fonksiyon özellik kazandırılmaktadır (Ekşi, 2005). Fonksiyonel gıdalar, Türk Gıda Kodeksinde de tanımlandığı üzere, besleyici etkilerinin yanı sıra bir ya da daha fazla etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyucu, düzeltici ve/veya hastalık riskini azaltıcı etkiye sahip olup, bu etkileri bilimsel ve klinik olarak ispatlanmış gıdalardır (Anonim, 2004). Diğer bir deyişle fonksiyonel gıdalar, üretim aşamasında besin bileşenleri değiştirilerek, üretiminin gerçekleştirilmesinin ardından yapısında bulunan zararlı etkili bileşenler uzaklaştırılarak veya düzeyi sınırlandırılarak elde edilebilmektedir (Nebesny vd., 2004; Şanes, 2006; Melo vd., 2010). Ayrıca, ürün içerisinde sağlık üzerine olumlu etkilere sahip bileşenler doğal olarak mevcutsa miktarı artırılarak veya bulunmuyorsa ilave edilerek üretilebilmektedir (Cervellati vd., 2008; Botelho vd., 2013; Jiménez -Colmenero vd., 2001).

Kakao ürünlerinin hammaddesi olan kakao çekirdekleri *Theobroma cacao* ağacının meyvelerinden elde edilir. Theobroma Yunanca Tanrıların meyvesi anlamına gelir. Kullanımı 1500 yıl öncesine dayanan kakao çekirdeklerinin üretiminin %70' den fazlası Batı Afrika'da gerçekleşmektedir. Astekler ve İnkalar öğüttükleri kakao çekirdeklerini sıcak suyla karıştırdıktan sonra vanilya, baharat ve bal ile tatlandırarak tüketiyordu. 1520'li yıllarda bu içecek İspanyollarla tanışmasına rağmen ancak 17. yüzyılda Avrupa'da yaygın olarak tüketilmeye başlandı. Sanayileşmenin artışıyla kakao likörüne (kavrulmuş, kabuğu ayrılmış ve öğütülmüş kakao çekirdeği) uygulanan presleme işlemi kakao tozu ve kakao yağının ayrılmasını sağlarken çikolata tekstürü ve tadının gelişimine büyük katkı sağlamıştır. 1800'lerde üretim prosesine konçlamanın (yoğurma) dahil edilmesi ile çikolatanın tadında çok olumlu gelişmeler ortaya çıkmıştır. Çikolata üretim teknolojisindeki bu gelişmeler günümüzde birçok Avrupa ülkesinde

ortalama yıllık çikolata tüketiminin kişi başına 8 kg'a ulaşmasını sağlamıştır (Afoakwa, 2008).

Kakao ve ürünleri tüketiminin insan beslenmesindeki yeri, içerdiği antioksidanlar sayesinde ön plana çıkarken, kabuğu ayrılmış kakao çekirdeği granülü olarak tanımlanan kakao nibinin protein (%11.5), karbonhidrat (%7), selüloz (%9) ve yağ (%54) bakımından da zengin içeriği dikkati çekmektedir (Hii vd., 2009; Belitz vd., 2009). Bunun yanında kakao nibinin mineral madde içeriği kakao ve ürünlerini besleyici gıdalar grubuna taşıyan bir başka özelliğidir (Çizelge 1) (Belitz vd., 2009; Afoakwa vd., 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalar kakao ve kakao ürünlerinin tüketimiyle kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diğer yaşa bağlı sağlık sorunları gibi kronik rahatsızlıkların azaldığı yönünde sonuçları içermektedir (Afoakwa, 2008; Adamson vd., 1999; Hammerstone vd., 2000; Cooper vd., 2008). Bu nedenle kakao ve kakao ürünlerinin besleyici değerinin yükseltilmesi ve antioksidan aktivitesinin artırılması, kristalizasyonunun ve reolojik özelliklerinin iyileştirmesi, raf ömrünün uzatılması, zararlı bileşenlerinin uzaklaştırılması veya azaltılması, ticari ve ekonomik olarak da önem taşımaktadır. Bu derlemede fonksiyonel özellikleri artırılmış kakao ve çikolata ürünleri hakkında yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Çizelge 1. Kakao nibinin mineral madde içeriği (Belitz vd., 2009; Afoakwa vd., 2011)

Mineral	mg/100g
Fe	2.2
Cu	8.8
Mg	364.2
Zn	10.6
Na	2.5
Ca	170.8
P	195.8
K	2557.9

FONKSİYONEL GIDALAR

Günümüze kadar birçok araştırmacı tarafından fonksiyonel gıdaların tanımı yapılmıştır. Bazı araştırmacılar, fonksiyonel gıdalar terimi yerine sağlıklı gıdalar, nutrasötikler, tıbbi gıdalar, düzenleyici gıdalar, özel besleme amaçlı gıdalar ve farmakolojik gıdalar gibi ifadeleri de kullanmaktadır (Aghajpour vd., 2017; Arvanitoyannis ve Houweligen-Koukaliaroglou, 2005). Marriott (2000), fonksiyonel gıdaları, geleneksel besin bileşenlerini barındırmanın yanında sağlığı olumlu yönde etkileyebilen gıda ve gıda bileşenleri olarak ifade etmektedir. Uluslararası Gıda Bilgi Konseyi (IFIC-The International Food Information Council) fonksiyonel gıdaları, temel beslenmenin ötesinde sağlığa ilişkin yararlar sağlayabilen gıdalar olarak tanımlamaktadır. Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü'ne (ILSI- International Life Science Institute) göre ise fonksiyonel gıdalar, temel beslenmenin yanı sıra biyolojik aktif gıda bileşenleriyle sağlık için olumlu etkiler sağlayan gıdalardır (Hasler vd., 2004).

Biyolojik aktif bileşenler, gıdalara fonksiyonel özellikler kazandırmaktadır ve bu bileşenler bitkilerden elde ediliyor ise fitokimyasallar, hayvanlardan elde ediliyor ise zookimyasallar adını alır (Jiménez -Kalmenero vd., 2001; Efraim vd., 2011).

“Fonksiyonel gıdalar” teriminin ilk 1984’te kullanılmaya başlanmasına rağmen, sağlıklı gıda katkıları kavramı ilk olarak 1970’lerde Japonya’dan tüm dünyaya yayılmıştır. Nitekim gıdanın bu değişen yüzü, gıda biliminin yeni bir alanının gelişmesine neden olmuştur (Kaur ve Singh, 2017; Hasler, 2000). Japonya da 1991 yılından beri uygulanan ve etiketinde özel sağlık kullanımına yönelik gıda anlamına gelen FOSHU (Foods for Specified Health Use) lisansı bulunan 1000 den fazla ürün bulunmaktadır. Pazarda sahip oldukları pay ise 63 milyar Amerikan dolarının üzerindedir (Farr, 1997; Ono ve Ono, 2015). Bugün fonksiyonel gıdalar yüksek bir ilgiyle karşılanmakta, dünya gıda endüstrisinde hızla büyüyen iş alanlarından biri olarak gösterilmekte ve fonksiyonel gıda ve içecek küresel pazar potansiyelinin 2020 yılı itibarı ile 192 milyar dolar

değerine ulaşacağı tahmin edilmektedir (Kaur ve Singh, 2017; Siro vd., 2008; Reilly, 1998).

KAKAO VE ÜRÜNLERİNİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Kakao ve çikolata ürünleri tedavi amacıyla ilk olarak Yeni Dünya’da kullanılmıştır ve 1500’lü yılların ortalarında hızla Avrupa’ya yayılmıştır. On altıncı yüzyıldan 20. yüzyılın başlarına kadar kakao ve çikolatanın; yorgun hisseden insanların sinir sistemlerinin uyarılması, mental yorgunluk, böbrek taşları, iştahsızlık ve anemi tedavisi gibi birçok amaçla kullanıldığı bilinmektedir (Dillinger vd., 2000). Kakao, başta flavanol’ler olmak üzere polifenollerce çok zengindir. Fenolik bileşikler kakao nibinin %12-18 ini oluşturur ve toplam polifenol miktarının yaklaşık %35’i epikateşindir. Yeşil ve siyah çay, kırmızı şarap gibi flavonoid açısından zengin diğer kaynaklarla karşılaştırıldığında kakao ürünlerindeki flavonoidlerin kalp damar hastalıkları risk faktörlerini azaltmada daha etkin rol aldıkları görülmüştür (Hooper vd., 2008). Tokuşoğlu ve Ünal (2002) tarafından yapılan çalışmada ülkemizde farklı firmalar tarafından üretilen sütlü ve bitter çikolataların toplam kateşin miktarlarının 2.00-14.89 arasında değiştiği rapor edilmiştir.

Waterhouse (1996) tarafından kakaonun LDL oksidasyonunu önleyebileceği rapor edildiğinden beri, kakao fenollerini ile insan sağlığı arasındaki ilişkiyi irdeleyen birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Diyetisyenler ve beslenme bilimciler siyah (bitter) kakao ve ürünlerini folifenollerce zengin gıdalar sınıfına sokarak, tüketimini şiddetle önermektedirler. Kronik çalışmalar kakao ve kakao ürünlerinin damarda artan kan hızı akışı sonucunda yükselen kan basıncını, damar genişlemesine etki ederek (flow-mediated dilatation-FMD) düşürdüğünü ortaya koymuştur (Hooper vd., 2008; Khan vd., 2012).

Wang vd. (2000) tarafından yapılan bir araştırmada, yüksek prosiyanidin ve epikateşin içeren kakao tozu veya çikolata tüketiminin insan plazmasının antioksidan kapasitesini arttırdığını rapor edilmiştir. Djoussé vd. (2011), çikolata ürünlerinin tüketiminin kalp damar hastalıkları sıklığı ile ters yönde ilişkili olduğunu, Ding vd.

(2006) ise, kakao ve çikolatanın kan basıncını düşürerek antienflamatuar ve antitrombosit özellik gösterdiğini, LDL kolesterol oksidasyonunun azalmasına yardımcı olurken HDL kolesterol düzeyini arttırarak kalp damar hastalıkları için olumlu etkiler barındırdığını tespit etmişlerdir. Üç hafta boyunca 50 gram bitter çikolata tüketiminin bireyler üzerindeki etkisinin incelendiği başka bir araştırmada, sağlıklı bireylerde kilo artışı meydana gelmeden HDL kolesterol düzeyinde anlamlı artışlar olduğu, trigliserid konsantrasyonlarında ise önemli düzeyde azalma sağlayarak lipoprotein profillerini iyileştirebileceğini ve bu etkinin kalp damar sistemi için koruyucu olabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca bitter çikolatanın bu koruyucu etkisinin kadınlarda, erkeklere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Nanetti vd., 2012).

Baba vd. (2000) yaptıkları bir araştırmada, farelerin kakao tozu tüketimleriyle birlikte kan plazmalarının antioksidan kapasitelerinin ve oksidan ajanların sebep olduğu eritrosit hemoliz dirençlerinin arttığını bildirmişlerdir. Tomaru vd. (2007) diyabetik obez farelerde kakao likörü prosiyanidinlerinin doza bağlı olarak hiperglisemi oluşumunu engellediğini ve kakao çekirdeği gibi polifenol bakımından zengin yiyeceklerin diyetle alınmasının tip 2 şeker hastalığının başlamasını önlemede yardımcı olabileceğini rapor etmişlerdir. Benzer biçimde yapılan bir diğer çalışmada, obez farelere 10 hafta boyunca %8 kakao tozu içeren yem verilmesinin sonucunda insülin direncinde ve karaciğer yağlanmasında azalmanın görüldüğü bildirilmiştir (Gu vd., 2014).

Sies vd. (2005) farklı miktarlarda flavanol içeren kakao içeceklerinin tüketilmesinin bireyler üzerindeki etkilerini incelemiştir. Elde edilen verilere göre endotelial fonksiyonu azalmış bireylerin flavanol içeriği zengin kakao tüketmelerinden 2 saat sonra plazma nitrik asit konsantrasyonlarında sağlıklı kontrol grubunun ortalama plazma nitrik asit konsantrasyonuna yakın bir değere erişebilecek kadar artış olduğu belirlenmiştir. Benzer biçimde West vd. (2014), bireylerin 4 hafta boyunca 37 gram bitter çikolata ve şekeriz kakao içeceği tüketmeleri ile nitrik asit sentezinde artış olduğunu saptamışlardır. Yapılan

bir diğer çalışmada ise 2 hafta boyunca bitter çikolata tüketen sağlıklı erkek bireyler, 2 hafta boyunca beyaz çikolata tüketen kontrol bireyleri ile karşılaştırılmış ve bitter çikolata tüketen grubun kontrol grubuna göre koroner dolaşımında önemli gelişmeler meydana geldiği bildirilmiştir (Shiina vd., 2009).

FONKSİYONEL KAKAO VE ÜRÜNLERİ ÜZERİNE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Probiyotik ve prebiyotik özellik kazandırılmış kakao ürünleri

Fonksiyonel gıdaların gelişimi ile birlikte bağırsak florası üzerinde olumlu etkilere sahip olan ve çoğunlukla da probiyotikleri kapsayan mikroorganizmaların/biyoaktif bileşenlerin gıdaya ilave edilmesi birçok çalışmaya konu olmuştur. Probiyotikler, enterik mikroflorayı değiştirerek sağlığa yararlı hale getiren, insan bağırsak sisteminde doğal olarak yaşayan, vücuda alındığında konakçının gastrointestinal mikroflorasını dengeleyen ve sağlık üzerine olumlu etkileri olan canlı mikroorganizma olarak tanımlanabilir (Tunail, 2009). Bu organizmaların başlıca kaynakları fermente edilmiş süt ürünleri olmasına rağmen (German vd., 1999), çikolatanın fonksiyonel özelliklerini artırmak amacıyla da probiyotikler kullanılabilir (Nightingale vd., 2011; Tournier vd., 2007). Maillard ve Landuyt (2008), çikolatayı probiyotikler için ideal bir taşıyıcı olarak tanımlamışlardır ve ayrıca yoğurttan daha fazla probiyotik absorbe ettiğini tespit etmişlerdir.

Probiyotik grup içerisinde yer alan laktobasiller, bifidobakteriler ve enterokoklar gibi mikroorganizma türleri insan sindirim sisteminde doğal olarak yaşamaktadır (Gibson, 2002; Guslandi, 2003). Fonksiyonel gıda bileşeni olarak değerlendirilen probiyotik bakteriler insan beslenmesi ve sağlığı açısından oldukça önemli diyetetik özelliklere sahiptir (Gürsoy ve Kınık, 2004). Ancak probiyotik mikroorganizma içeren/eklenen bir gıdanın probiyotik fonksiyonları yerine getirebilmesi için gramında en az 10^6 – 10^7 adet canlı hücre bulundurması gerekir (Nebesny vd., 2007). Peki bu fonksiyonlar nelerdir? Sindirim sisteminde yeterli düzeyde bulunmaları yararlı ve zararlı mikroorganizmalar

arasındaki dengenin korunmasını sağlar. Bağırsakta B vitaminlerini, β Galaktozidazı, antimikrobiyal bileşikler salgılar, kolesterol düzeyini düşürür, bağırsak enfeksiyonlarını ve diyareyi önler, bağırsaktaki emilimi artırır, bağırsaklık sistemini güçlendirir, karsinojen maddeleri parçalayarak tümör oluşumunu önler. Probiyotik mikroorganizmalarla yapılan çalışmaların birçoğunda prebiyotiklerin kullanımı da söz konusudur. Prebiyotik kısaca bağırsaklara ulaşmaya kadar hidrolize olmayan, bağırsakta probiyotik bakterilerin substratı olan izomalt, inülin, soya fasüyesi oligosakkaritleri gibi bileşenlerdir (Tunail, 2009; Nebesny vd., 2007). Bu bileşenler bağırsağa ulaştığında hala canlılığını sürdüren probiyotik mikroorganizmaların enerji ve besin kaynağını oluşturur.

Chetana vd. (2013), yapmış oldukları bir çalışmada, sütlü çikolatayı probiyotik hale getirmek amacıyla yağsız süt tozu yerine, laktobasil içeren yoğurt tozu kullanarak ürettikleri çikolatalarda probiyotik bakteri sayısını 3.58 log.kob/g tespit etmişlerdir. Probiyotik çikolatalarla yoğurt tozu eklenmeden üretilen çikolatalar arasındaki duyuşal farklılıkların ise önemsiz olduğu rapor edilmiştir. Benzer bir başka çalışmada, şekersiz yoğurt tozu ile üretilmiş çikolatalarda 6 aylık 4 ve 18 °C lik depolama sonucunda *Streptococcus thermophilus* in 10^7 kob/g bakteri sayısını koruduğu, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının ise 10^2 – 10^3 kob/g a düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca yoğurt içeren çikolatalar duyuşal özellikleri açısından paneistler tarafında tatmin edici olarak değerlendirilmiştir (Nebesny vd., 2004).

Probiyotik çikolata üretimi ve raf ömrü üzerine yapılmış bir başka önemli araştırma Nebesny vd. (2007) tarafından rapor edilmiştir. Çalışmada isomalt ve aspartam ile tatlandırılmış ve geleneksel olarak üretilmiş bitter çikolata örneklerine besi yerinde üretildikten sonra liyoflize edilmiş, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus paracasei* hücreleri eklenmiştir. On iki aylık depolama süresince yapılan analiz sonucunda canlı bakteri sayısının 10^6 – 10^7 kob/g olduğu ve *L. casei* ve *L. paracasei* liyofilizatları ile takviye edilmiş çikolataların toplam asit miktarında ve duyuşal özelliklerinde

değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Erdem vd. (2011), probiyotik bitter çikolata üretimi için *Bacillus indicus* HU36 bakterisinin kullanılabilir olduğunu göstermişlerdir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda, *B. indicus* HU36 suşunun bitter çikolata içerisinde yüksek oranda yaşadığını kanıtlamışlar ve bütün aşılınmış örneklerin istenilen probiyotik bakteri yüküne sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Tüm bu çalışmaların içinde Laličić-Petronijević vd. (2014) yaptığı çalışma dikkate değerdir. Sözü edilen çalışmada *Lactobacillus acidophilus* NCFM® ve *Bifidobacterium lactis* HN019 probiyotik suşları eklenen sütlü ve bitter çikolatalar 4 ve 20 °C de 180 gün boyunca depolanmıştır. Her 30 günde bir örnek alınarak canlı bakteri sayımı, duyuşal ve reolojik parametre testleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre örneklerin *L. acidophilus* canlı hücre sayısının, her iki depolama sıcaklığında da probiyotik özelliğe sahip olacak miktarda olduğu tespit edilmiştir. *B. lactis* eklenmiş çikolatalar ise 90 günden sonra canlı hücre sayısındaki düşüş ile probiyotik olma özelliğini kaybetmiştir. Çikolatalardaki probiyotik bakteri suşlarının, çikolataların duyuşal özelliklerinde önemli bir değişime sebep olmadığı ve kalitesindeki mükemmelliğin devam ettiği rapor edilmiştir. Çikolataya probiyotik kültür eklenmesi çikolataların reolojik özelliklerini etkilemiştir. Ancak Laličić-Petronijević vd. (2014) bu sorunun bakteri hücrelerinin dağılımını daha etkin kılacak gelişmiş tekniklerin kullanımıyla çözülebileceğine dikkat çekmiştir.

Silva vd. (2017) ürettikleri yarı tatlı bitter çikolataya, liyoflize ettikleri *Lactobacillus acidophilus* LA3 ve *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1 suşlarını 10^{10} kob/100g çikolatala içerecek şekilde ilave ettikten sonra 20°C de 120 gün depolamış ve her 30 günde bir canlılıklarını test etmişlerdir. Bunun dışında *in vitro* stimule edilmiş sindirim sistemi koşullarındaki canlılıkları da araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre 120 günün sonunda bile canlı probiyotik sayısında azalma her iki suş için önemsiz tespit edilmiştir. Sindirim sistemi ile ilgili veriler ise oldukça ilgi çekicidir. Dizayn edilen sindirim sistemi koşullarında çikolata örneklerinin içine eklenmiş her iki bakterinin sayısındaki

azalma 300 dakikanın sonunda dahi başlangıca göre önemsiz tespit edilirken, tek başına sindirim koşullarına tabii tutulan bakterilerin canlı sayılarında belli bir zaman sonra önemli derecede azalma olduğu rapor edilmiştir.

Yüksek (%80) kakao içeren bitter çikolatadaki fenollerin probiyotiklerin canlılıkları üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışma yüksek fenol konsantrasyonunun probiyotik çikolatada canlı bakteri üzerine etkisinin olmadığını ortaya koyarken stimüle sindirim sisteminde dört cins laktik asit bakterisi eklenmiş çikolatanın canlı bakteri sayısının probiyotik özellik gösterecek değerde sistemi tamamladığı rapor edilmiştir. Çalışmada çikolatanın, probiyotikleri sindirim sistemi pH'sına ve enzimlerine karşı çok iyi koruduğuna dikkat çekilmiştir (Succi vd., 2017). Çikolataya prebiyotik, özellik kazandırmak amacıyla yapılan çalışmalar da mevcuttur. Beards vd. (2010), çikolataya polidekstroz ve maltitol karışımı, maltitol ve dirençli nişasta karışımı ve maltitol ilave edilmesinin etkilerini test etmişlerdir. Kırk gönüllü, altı haftalık periyot boyunca yeniden formüle edilmiş çikolata örneklerini tüketmişlerdir. Polidekstroz ve maltitol karışımını içeren çikolataları tüketen gönüllülerin, 6 hafta sonunda dışkı örneklerindeki *Lactobacilli* ve *Bifidobacteria* seviyelerinde artış olduğu rapor edilmiştir. Kısa zincirli yağ asitleri yani propiyonat ve bütirat düzeylerinde artış gözlemişlerdir. Enerji değerlerindeki azalmanın yanı sıra çikolatanın geliştirilen formülünün tüketicilerde probiyotik etki sağladığı sonucuna varılmıştır.

Bitkiler ile zenginleştirilmiş kakao ürünleri

Bitkilerden elde edilmiş maddeler yapılarında doğal olarak bulunan başta antioksidanlar olmak üzere mineral, vitamin gibi biyoyararlılığı yüksek bileşenleri içermektedir. Örneğin, meyve ve sebzelerdeki tokoferoller, C vitamini, karotenoidler ve fenoller onları çeşitli fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılması açısından ön plana çıkarmaktadır. Kakao ürünlerinin fonksiyonelliğini arttırmak adına yapılan çalışmalarda çeşitli meyve, sebze ve baharatların ekstraktlarının, posalarının, çekirdeklerinin kullanıldığını görmekteyiz. Sözü edilen

çalışmaların hemen hemen tamamında amaç; meyve, sebze ve baharat bazı ürünlerin eklendiği çikolataların antioksidan içeriğinin ve aktivitesinin artırılması yönündedir (Demirci, 2018; Muhammad vd., 2018; Wang vd., 1996; Gür ve Altuğ, 2009; Cerit vd., 2016). Organizmada çeşitli olumsuz nedenlerden dolayı artan serbest radikaller ve onların sebep olduğu oksidasyonlar, ancak antioksidanlarla önlenmektedir. Antioksidanların da en önemli ve sağlıklı kaynağını, tükettiğimiz besinler özellikle bitkisel besinler oluşturmaktadır. Yeterli miktarda antioksidan içeren gıdaların tüketimiyle serbest radikallerin neden olabileceği çeşitli kanser, kalp damar hastalıkları, yaşlanma gibi sağlık sorunlarının geciktirilmesi veya önlenmesi mümkündür. Ayrıca bu antioksidanları içeren gıdalar, içermeyenlere oranla daha uzun raf ömrüne sahiptir. Kısaca antioksidan bileşimi güçlü bir doğal kaynağın gıda üretiminde kullanılması hem tüketicinin hem de o gıdanın sağlığına katacağı değer tartışılmazdır.

Kakao ürünlerinin raf ömrünü ve fonksiyonel özelliklerini arttırmak amacıyla antioksidanlar açısından zengin bitkilere başvurulmasının en büyük nedenlerinden biri, kakao ve ürünlerinin sıcaklık ve neme karşı oldukça hassas oluşudur. Örneğin çikolataların tercihen 18°C, %50 nemde serin ve karanlık ortamlarda saklanması tavsiye edilir. Eğer uygun ortamlarda saklanmazsa yapısında bozulmalar meydana gelebilir (Özgen, 2010). Antioksidan ilavesi, fiziksel ve teknolojik metotlar ile oksidasyonun önlenemediği durumlarda gıdaların raf ömrünün uzatılması için uygulanan en iyi yöntemlerden biridir. Oksidasyon başlangıcını geciktirmek amacıyla gıdaya sentetik veya doğal antioksidan maddeler katılmaktadır (Botelho vd., 2013; Gür ve Altuğ, 2009). Doğal antioksidanlar, genellikle bitkilerde doğal olarak bulunan antioksidanlardır (Özgen, 2010). Çikolata birleşimine bitkilerden elde edilmiş maddeler ilave edilmesi sonucunda antioksidan kapasitesinde ve toplam fenolik madde içeriğinde artış meydana gelmektedir (Botelho vd., 2013). Böylelikle çikolataların, reolojik özellikleri iyileştirilmekte ve raf ömrü uzatılmakta, ayrıca insan sağlığı için de olumlu etkiler oluşturmaktadır (Macheix vd., 1990;

Wang vd., 1996; Mohammad vd., 2018; Komes vd., 2013).

Antioksidanlar açısından çikolatanın biyoyararlılığını arttırmak adına yapılan çalışmalardan biri Cervellati vd. (2008), tarafından rapor edilmiştir. Çalışmada, kırmızıbiber ve biberiye eklenmiş el yapımı çikolatalar üretilmiş, sonrasında çikolataların antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde içerikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre biberiye katkılı çikolatanın diğer çikolatalara kıyasla daha yüksek antioksidan kapasiteye ve toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, çikolatanın antioksidan miktarını arttırmak için biberiye ve üzüm çekirdeği tozu kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda, antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarı arasında elde edilen korelasyon doğrusallık göstermiştir ve çikolataların antioksidan aktivitesinin toplam fenolik madde miktarıyla artış eğiliminde olduğu rapor edilmiştir. Buna ek olarak, katılan biberiye ve üzüm çekirdeği tozunun çikolatanın kristalizasyon ve reolojik özellikleri üzerine her hangi bir etkide bulunmadığı belirtilmiştir (Özgen, 2010).

Yoo vd. (2005), doğuya özgü bir baharat bitkisinin (Sochungryong-Tang) ekstraktlarını çikolatalara eklemişler ve çikolatanın nem miktarı, renk, radikal süpürücü aktivite ve duyuşal özelliklerine etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Bitki ekstraktları, ağırlıkça % 0,4 ve % 8 oranlarında eklenmiş ve çikolata içerisindeki ekstrakt oranı arttıkça nem miktarı, renk, radikal süpürücü aktivitede artış meydana geldiğini tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonucunda çikolataların aromasında ve tekstür özelliklerinde önemli bir farklılık gözlenmediğini bildirmişlerdir.

Botelho vd. (2013), çalışmalarında bitki sterollerini ile zenginleştirilmiş fonksiyonel bitter çikolata geliştirmişlerdir ve 5 ay depolama süresince oksidatif stabilitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmada üretilen çikolataların renk, tekstür ve duyuşal analizlerinde kontrol çikolataları ile aralarında istatistik olarak önemli bir farklılık gözlemlenmediğini belirtmişlerdir. Çikolatanın üzerine üç tip bitki sterolu uygulandığı ve etkisinin

değerlendirildiği diğer bir çalışmada kullanılan bitki sterollerini; enkapsüle edilmiş çam tozu, yağ bazlı soya tozu ve soya tozudur. Bitki sterolü ilave edilmiş çikolatalar ile kontrol çikolata örneklerinin reolojik ve duyuşal özellikleri karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonunda çam tozu ve yağ bazlı soya tozu içeren örneklerin tat bakımından kontrolden daha az tercih edildiği belirtilmiştir. Ayrıca, yağ bazlı soya ve soya tozu içeren örneklerdeki yağlılık hissinin diğer örneklerle göre duyuşal analizde daha kabul edilebilir olduğunu gözlemlemişlerdir. Buna ek olarak, yağ bazlı soya içeren çikolataların Casson plastik vizkozite değerleri kontrol örnekleri, çam ve soya tozu eklenmiş çikolatalarla karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Fakat yağ bazlı soya tozu içeren çikolataların reolojik davranışlarının kontrol çikolata örnekleri ile benzerlik gösterdiğini rapor etmişlerdir (Efraim vd., 2011).

Komes vd. (2013), fonksiyonel çikolata üretmek amacıyla yaptıkları çalışmada, sütlü ve bitter çikolata içerisine erik, papaya, kayısı, üzüm, yaban mersini meyvelerinin kurutulmuş formlarını eklemişler ve meyvelerinin, çikolataların antioksidan kapasitesi ve polifenolik içeriğine etkisini araştırmışlardır. Araştırmanın sonuçlarına göre kuru üzüm ve yaban mersini eklenmiş bitter çikolataların antioksidan aktiviteleri diğer kuru meyve eklenmiş çikolatalara göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Duyusal kabul edilebilirlik açısından ise kuru yaban mersini ve kuru kayısı çikolatalar daha yüksek puana sahip olmuştur. Yapılan çalışmada, bitkilerden elde edilen polifenolik antioksidanlar ile zenginleştirilmiş çikolataların üretiminde kuru meyvelerinin farklı türlerinin uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Cerit vd. (2016) beyaz çikolataların fonksiyonel özelliğini arttırmak adına yaptıkları bir çalışmada beyaz çikolata formülasyonuna %2 oranında kızılçık, ıspanak ve polen tozu eklemişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre polen, kızılçık ve ıspanak tozları beyaz çikolatanın antioksidan aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Sütlü ve bitter çikolataların antioksidan değerlerinin tespit edildiği diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında Cerit vd. (2016) tespit ettiği antioksidan aktivite (FRAP-ferric reducing antioxidant power) değerinin

dikkati çekecek oranda yüksek olduğu söylenebilir. Örneğin yukarıda sözü edilen çalışmada FRAP değerleri kontrolde 3.20 mmol Fe(II)/L iken, polen, kızılcık ve ıspanak tozu eklenmiş beyaz çikolatalarda sırasıyla 18.55, 8.14 ve 7.15 mmol Fe(II)/L ye yükselmiştir.

Omega-3 ve Omega-6 ile zenginleştirilmiş kakao ürünleri

Doymamış yağ asitlerinden olan linoleik ve linolenik asit esansiyel yağ asitleri olarak bilinmektedir. Hayvansal organizmalar tarafından bu yağ asitleri sentezlenemediğinden dolayı gıdalar ile dışarıdan alınması zorunludur (Watkins, 1991). Son yıllarda yapılan çalışmalar, omega-3 ve omega-6 doymamış yağ asitlerinin insanlarda kalp-damar hastalıklarında, kanserde, erken dönemde beyin ve retina gelişiminde ve hastalıklara karşı vücut direncinin artmasında olumlu etkilere sahip olduğunu bildirmektedir (Alexander, 1998; Erkkilä vd., 2003; Terry vd., 2003; Haggarty, 2004).

Çikolata ürünlerinin insan sağlığı üzerindeki etkinliğini artırmak amacıyla biyolojik aktif bileşenler olan omega-3 ve omega-6 gibi yağ asitleri çikolatala fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla kullanılmıştır. Fonksiyonel çikolata ürünlerinin formülasyonuna omega-3 gibi linolenik asitlerin eklenmesi, bu yağ asitlerinin bilinen fonksiyonel özelliklerinden dolayı geniş bir tüketici talebi ile karşılaşmıştır. Omega-3 açısından zengin gıdalar potansiyel fonksiyonel ürünler olarak kabul edilmektedir (Lewis vd., 2000; Calder, 2006; Al-Nouri vd., 2012; Morato vd., 2015)

Morato vd. (2015) yapmış oldukları bir çalışmada, yoğun ve aşırı yorucu egzersize maruz bırakılmış fareler ile sakın fareleri, omega-3 ile zenginleştirilmiş çikolatalı sütle 15 gün boyunca beslemişler ve bazı biyomedikal parametreler ve kas hasarı düzeylerini araştırmışlardır. Çalışmada, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri arasında uygun bir dengeye sahip olmasından dolayı chia yağını kullanmışlardır. Omega-3 ile zenginleştirilmiş çikolatalı sütü tüketen farelerde egzersiz sonrası kas zararında azalan etkiler gözlenmiştir. Kas zararı azalmasının sebebinin, omega-3 ile

zenginleştirilmiş çikolatalı süt tüketen grupta antioksidan sistemindeki gelişmeden ve hücre membranı üzerindeki yağ asitlerinin birleşmesinden kaynaklı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim aktivitelerinin, omega-3 ile zenginleştirilmiş süt tüketen grupta arttığı belirtilmiştir. Ayrıca çalışmalarında rapor ettikleri FRAP ve serbest radikalleri absorbe etme yeteneği (ORAC-oxygen radical absorption capacity) verileri, omega-3 ile zenginleştirilmiş sütün önemli bir antioksidan kapasitesi olduğunu göstermiştir.

Marsanasco vd. (2015), çalışmalarında soya fosfatidilkolin (SPC) bazlı farklı lipozomal formülasyonlardan elde edilen katkı maddelerini tasarlamayı, tanımlamayı ve gıdaya uygulamayı hedeflemişlerdir. SPC, omega-3 ve omega-6 gibi yağ asitlerini içermektedir. Çalışmaları sırasında, E ve C vitaminini lipozom bazlı SPC ile enkapsüle etmişler ve çikolatalı süte fonksiyonel özelliğini arttırmak amacıyla ilave etmişlerdir. Ayrıca stearik asiti (SA) veya kalsiyum stearatı (CaS) çift katlı lipit katmanı dengeleyicisi olarak formülasyona dahil etmişlerdir. Bununla birlikte, her vitamin için yüzde enkapsülasyon etkisini (%EE), pastörizasyon sonrası belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda, SPC:SA'da E ve C vitamininin %EE değerlerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Buna ek olarak, C vitamininin aktivitesini pastörizasyon sonrasında bile sürdürdüğünü gözlemlemişlerdir. Ayrıca lipozomlu çikolatalı sütün duyuşal özelliklerini de analiz etmişlerdir. SPC:CaS içeren ticari çikolatalı sütler düşük kabul edilebilirlik göstermiştir. Buna karşın, SPC:SA içeren çikolatalı sütün, ticari süte göre kabul edilebilirliğinde değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir. E ve C vitamini ile güçlendirilmiş süt için SPC:SA'nın en uygun katkı maddesi olduğu sonucuna varmışlardır.

Yapılmış bir diğer çalışmada ise fonksiyonel bileşen olarak kabul edilen ve tüketici sağlığına yararlı omega-3 ve probiyotikler, çikolatalı dondurmaya katkı maddesi olarak ilave edilmiştir. Omega-3 takviyesi yapılmış çikolatalı dondurmalarda duyuşal özellikler ve probiyotik canlılığı değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirme sonunda, omega-3 bulunan örnekler kabul edilebilirlik bakımından düşük

puan almıştır fakat panelistlerin omega-3 kaynaklı ürün türlerini satın almaya hala istekli olduğu gözlenmiştir. Ayrıca dondurmaların depolama süresince omega-3 takviyesi yapılmış örneklerin probiyotik canlılığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Song vd., 2011).

Diyet kakao ürünleri

Tatlandırıcılar, aynı miktardaki şekerden daha az enerji içeren ve daha tatlı olan kimyasal maddelerdir. İlk başlarda ucuz maliyetinden dolayı gıda endüstrisinde tercih edilen ve sukroza oranla daha az kalori içermesi nedeniyle diyabetli hastalar tarafından ilgi gören tatlandırıcılar, günümüzde kalori alımını kısıtlamak ve kilo vermek amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır. En çok kullanılan tatlandırıcılar sorbitol, mannitol, ksilitol, eritritol, maltitol, laktitol gibi şeker alkollerini ile isomalt ve hidrojene nişasta hidrolizatlarıdır. Sakarin, aspartam, sukraloz, asesulfam K ve neotam gibi yapay tatlandırıcıların hem kalori değerleri çok düşüktür veya sıfırdır hem de kan glukozunu yükseltici etkisi yoktur. Bu nedenle düşük kalorili beslenmek isteyen kişiler ve diyabetli hastalar tarafından tercih edilmektedir (Özdemir vd., 2014).

Çikolata, farklı yaş gruplarındaki ve farklı ülkelerdeki insanların zevkle tükettiği bir besin olmasına karşın yağları (özellikle kakao yağı) ve karbonhidratları (çoğunlukla şeker) yüksek seviyelerde içermektedir (Cardello vd., 1999). Ancak günümüzde tüketicinin, beslenme ve sağlık arasındaki ilişki konusunda bilinçlenmesi ile birlikte düşük kalorili yiyecek ve içeceklere artan bir ilgi vardır (Hasler vd., 2004; Parpinello vd., 2001). Bu nedenle şeker alternatif olarak çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Şeker yerine güçlü tatlandırıcıların kullanılması ürünlerin duyusal karakteristiğinde önemli değişikliklere sebep olmamaktadır. Bu sayede çikolata birleşiminde bulunan şeker içeriği azaltılabilmektedir (Melo vd., 2010; Cardello vd., 1999).

Melo vd. (2010), şeker ve kalori değerlerini azaltarak ürettikleri sütlü çikolatalarda, diyabet ve diyabetik olmayan tüketici grupları arasındaki tutumları ve kabul edilebilirlik düzeylerini karşılaştırmışlardır. Tüketici testleri geleneksel sütlü çikolata, diyabetik sütlü çikolata ve düşük

kalorili sütlü çikolata için yapılmıştır. Laboratuvar ortamında hazırlanan çikolatalarda diyetetik olan örneklerde stevia veya sukraloz kullanmışlardır. Diyabetik/düşük kalorili sütlü çikolatalar ise, aynı şekilde tatlandırıcılar ile hazırlanmıştır fakat %25 kalori içeriğini azaltmak amacıyla kakao yağının yerine, peynir altı suyu protein konsantresi (PST) ilave edilmiştir. Tüketici testleri sonunda gruplar arasında farklı kabullerinin olduğu rapor edildiği bu çalışmada her iki grup da çikolataları tattıklarında doğal tatlandırıcıları hoş bulduklarını ama beklentilerinin karşılanmadığını bildirmişlerdir. Diyabet olmayan tüketiciler arasında geleneksel çikolatalar, sukraloz ile üretilmiş diyabetik çikolatalar ve sukraloz-PST ile üretilmiş diyabetik/düşük kalorili çikolatalara kıyasla daha çok kabul görmüştür. Diyabetik tüketiciler, diyabetik ve diyabetik/düşük kalorili sütlü çikolataları diyabetik olmayan tüketicilerden daha çok kabul etmişlerdir. Başka bir çalışmada Palazzo vd. (2011), ürettikleri sütlü çikolatalarda sakkaroz yerine üç farklı tatlandırıcı (neotam, rebaudioz ve sukraloz) kullanmıştır. Eğitilmiş 12 kişi, çikolataların tatlılık düzeylerini ve zaman içerisindeki değişimlerini değerlendirmişlerdir. Sakkarozun yerini en iyi ikame eden tatlandırıcının, bütün parametrelerde sakkaroz ile benzer özellik gösteren sukraloz olduğunu bildirmişlerdir. Sukraloz tatlandırıcısının, diyet amaçlı çikolatalarda sakkaroz yerine kullanılacak en iyi tatlandırıcı olduğunu ve sakkaroz ile oldukça benzer zaman-yoğunluk grafiğine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Yapılmış bir diğer çalışmada ise, farklı bileşenler içeren diyet çikolataların duyusal özellikleri değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirme, üretimden hemen sonra ve 18 – 20°C sıcaklıktaki depolama şartlarında 90., 180., 270. ve 360. günlerde tecrübeli panelist bir grup tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, fruktoz, kakao yağı, tam yağlı süt, kakao likörü, yağsız süt tozu, fındık ezmesi, lesitin ve aroma birleşenleriyle üretilen çikolataların bir yıl depolanma süresince mükemmel duyusal özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir. Diğer taraftan fruktoz, kakao kütlesi, tam yağlı süt tozu, kakao yağı, fındık kütlesi, vanilin aroması, inulin ve emülsifiyer içeren bir diğer örnekte, bir yıl depolama sürecinin son

periyodunda görünüm, tekstür ve aromasında istenmeyen değişimler gözlenmiştir. Diyet çikolataların alt ve üst yüzeylerinin renginin enstrümantal ölçümleri ile çikolata örneklerinin parlaklık ve renk duyuşal değerlerinin uyum içinde olduđu bildirilmiştir (Popov-Raljić ve Lalić-Petronijević, 2009).

Diğer fonksiyonel kakao ürünleri

Yiğit (2017) tarafından yapılan bir çalışmada laboratuvar ortamında üretilmiş kakaolu fındık kremasının fonksiyonel özelliklerini artırmak amacıyla inaktive edilmiş endüstriyel ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) kullanılmıştır. Bu kapsamda maya hücrelerinin 140 °C'de 30 dk tutularak inaktivasyonu gerçekleştirilmiş ve çok güçlü bir antioksidan olan glutatyonun (GSH) maya hücre duvarı yardımıyla kapsüllenmesi sağlanmıştır. Yüzelli günlük depolama süresi sonunda mayalı ve mayasız örnekler karşılaştırıldığında, mayalı grubun antioksidan aktivite değerlerinin, mayasız örneklere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Isıl işlem ile kapsül haline getirilen endüstriyel ekmek mayasının kakaolo fındık kremasının oksidatif stabilitesini sağlama yönünde, duyuşal parametrelerde önemli değışiklikler yapmadan yardımcı olabileceği ve çok kıymetli bir antioksidan olan GSH açısından da zenginleştirilebileceği rapor edilmiştir.

SONUÇ

Kakao ve ürünleri, içerisinde yüksek miktarda şeker ve yağ barındırmalarına karşın yüksek besin değeri içermesi ve sağlık için olumlu etkilere sahip olmasından dolayı çok değerli bir endüstri ürünüdür. Bu değerli ürünün reolojik özelliklerinin iyileştirilmesi, raf ömrünün uzatılması, besin değerlerinin artırılması, zararlı bileşen içeriğinin azaltılması veya tamamen uzaklaştırılması, antioksidan içeriğinin artırılması günümüzde bilim ve teknoloji alanındaki gelişmeler neticesinde yapılabilmekte ve bir veya daha fazla besin maddesi bakımından zenginleştirilmiş fonksiyonel kakao ve ürünleri elde edilebilmektedir. Bu derlemede fonksiyonel kakao ve çikolata ürünleri hakkında yapılmış araştırma ve çalışmalara yer verilmiştir. Kakao ve çikolata ürünleri, fonksiyonel özelliği yüksek olan

bitkilerden, hayvanlardan ve mikroorganizmalardan elde edilen maddelerle kombine edilerek üretimini mümkün olduğu, ayrıca ticari ve ekonomik olarak da kazanç sağlayabilme potansiyeline sahip olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- Adamson, G.E., Lazarus S.A., Mitchell, A.E. (1999). HPLC method for the quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*, 47:4184–4188.
- Afoakwa, E.O. (2008). Cocoa and chocolate consumption-are there aphrodisiac and other benefits for human health? *South Afr J Clin Nutr*, 21(3): 107-113.
- Afoakwa, E.O., Quao, J., Budu, A.S., Takrama J., Saalia F.K. (2011). Effect of pulp preconditioning on acidification, proteolysis, sugars and free fatty acids concentration during fermentation of cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Int J Food Sci Nutr*, 62(7): 755-764.
- Aghajanpour, M., Nazer, M.R., Obeidavi, Z., Akbari, M., Ezati, P., Kor, N.M. (2017). Functional foods and their role in cancer prevention and health promotion: a comprehensive review. *Am J Cancer Res*, 7(4): 740-769.
- Alexander, J.W. (1998). Immunonutrition: The role of ω -3 fatty acids. *Nutr*, 14:627-633.
- Al-Nouri, D.M, Al-Khalifa, A.S., Shahidi, F. (2012). Long-term supplementation of dietary omega-6/omega-3 ratios alters bone marrow fatty acid and biomarkers of bone metabolism in growing rabbits. *J Funct Foods*, 4:584–593.
- Anonim. (2004). Türk Gıda Kodeksi. Gıdaların Üretimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun, Kanun no:5179, 28 Şubat 1995 tarih ve 22327 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Arvanitoyannis, I.S., Houwelingen-Koukialiaroglou, M.V. (2005). Funtional foods: A survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 45:385-404.

- Baba, S., Osakabe, N., Natsume, M., Yasuda, A., Takizawa, T., Nakamura, T., Terao, J. (2000). Cocoa powder enhances the level of antioxidative activity in rat plasma. *Bri J Nutr*, 84(05):673-680.
- Beards, E., Tuohy, K., Gibson, G. (2010). A human volunteer study to assess the impact of confectionery sweeteners on the gut microbiota composition. *Bri J Nutr*, 104: 701-708.
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food Chem*, 4th Revised and Extended Edition, Ger Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1070 p.
- Botelho, P.B., Galasso, M.G., Dias, V., Mandrioli, M., Lobato, L.P., Rodriguez-Estrada, M.T., Castro, I.A. (2013). Oxidative stability of functional phytosterol-enriched dark chocolate. *LWT - Food Sci Technol*, 55: 444-451.
- Calder, P.C. (2006). n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J Clin Nutr*, 83(6):1505S-1519S.
- Cardello, H., Da Silva, M., Damasio, M.H. (1999). Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. *Plant Foods Hum Nutr*, 54(2):119-30.
- Cerit, İ., Şenkaya, S., Tulukoğlu, B., Kurtuluş, M., Seçilmişoğlu, Ü.R., Demirkol, O. (2016). Enrichment of functional properties of white chocolates with cornelian cherry, spinach and pollen powders. *Gıda/ J Food*, 41(5):311-316.
- Cervellati, R., Greco, E., Costa, S., Guerra, M.C., Speroni, E. (2008). A comparison of antioxidant properties between artisan-made and factory-produced chocolate, *Int J Food Sci Technol*, 43:1866-1870.
- Chetana, R., Reddy, S., Reddy, Y., Negi, P.S. (2013). Preparation and properties of probiotic chocolates using yoghurt powder. *Food Nutr Sci*, 4:276-281.
- Cooper, A.K., Donovan, J.L., Waterhouse, A.L., Williamson, G. (2008). Cocoa and health: a decade of research. *Br J Nutr*, 99:1-11.
- Demirci, M. (2018). *Beslenme, Modanlı Matbaacılık*, İstanbul, Türkiye, 382 s. ISBN:975-97146-4-2.
- Dillinger, T.L., Barriga, P., Escárcega, S., Jimenez, M., Lowe, D.S., Grivetti, L.E. (2000). Food of the gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *J Nutr*, 130(8):2057- 2072.
- Ding, E.L., Hutfless, S.M., Ding, X., Girotra, S. (2006). Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab*, 3(2).
- Djoussé, L., Hopkins, P.N., North, K.E., Pankow, J.S, Arnett, D.K., Ellison, R.C. (2011). Chocolate consumption is inversely associated with prevalent coronary heart disease: the National Heart, Lung and Blood Institute Family Heart Study. *Clin Nutr*, 30(2):182-7.
- Efraim, P., Marson, G.C., Jardim, D.C.P., Garcia, A.O., Yotsuynagi, K. (2011). Influence of phytosterols addition in the rheology and sensory attributes of dark chocolate. *Procedia Food Sci*, 1:1633 – 1637.
- Ekşi, A. (2005). Bilimsel ve yasal açıdan gıdaların fonksiyonelliği. Gıda Kongresi, 19-21 Nisan, Bornova, İzmir, 6-12s.
- Erdem, Ö., Gültekin-Özgülven, M., Berktaş, J., Erşan, S., Tuna, H.E., Karadağ, A., Özçelik, B., Güneş, G., Cutting, S.M. (2011). Development of a novel synbiotic dark chocolate enriched with *Bacillus indicus* HU36, maltodextrin and lemon fiber: Optimization by response surface methodology. *LWT - Food Sci Technol*, 56:187-193.
- Erkkilä, A.T., Lehto, S., Pyörälä, K., Ulusitupa, I.J. (2003). n-3 fatty acids and 5-y risks of death and cardiovascular disease events in patients with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr*, 78:65-71.
- Farr, D.R. (1997). Functional foods. *Cancer Lett*, 114(1-2): 59-63.
- German, B., Schiffrin, E.J., Reniero, R., Mollet, B., Pfeifer, A., Neeser, J.R. (1999). The development of functional foods: lessons from the gut. *Trends Biotechnol*, 17:492-499.

- Gibson, G. (2002). Probiotics: a growth industry. *Dairy Ind Int*, 67(1):18-20.
- Gu, Y., Yu, S., Lambert, J.D. (2014). Dietary cocoa ameliorates obesity-related inflammation in high fat-fed mice. *Eu J Nutr*, 53(1):149-158.
- Guslandi, M. (2003). Probiotics for chronic intestinal disorders *Am J Gastroentol*, 98: 520-521.
- Gür, E., Altuğ, T. (2009). *Antioksidanlar*. Gıda Katkı Maddeleri, Altuğ, T. (ed.), Sidas Medya, İzmir, Türkiye, s.17-38.
- Gürsoy, O., Kınık, Ö. (2004). Fonksiyonel gıda ingrediyeenti olarak probiyotikler ve yasal düzenlemeler için Japonya modeli, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 34:200-209.
- Haggarty, P. (2004). Effect of placental funtion on fatty acid requirements during pregnancy. *Eur J Clin Nutr*, 58:1559-1570.
- Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., Schmitz, H.H. (2000). Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J Nutr*, 130 (8):2086S–2092S.
- Hasler, C.M.1., Bloch, A.S., Thomson, C.A., Enrione, E., Manning, C. (2004). Position of the amarican dietetic association: Funtional foods. *J Amer Diet Assoc*, 104(5):814-26.
- Hasler, CM. 2000. The changing face of functional foods. *J Am Coll Nutr*, 19(5): 499S–506S.
- Hii, C.L., Law, C.L., Suzannah, S., Miswani, S., Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *As J Food Ag-Ind*, 2(4):702-722.
- Hooper, L., Kroon, P.A., Rimm, E.B., Cohn, J.S., Harvey, I.L., Cornu, K.A., Cassidy, A. (2008). Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 88(1):38-50.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci*, 59: 5-13.
- Jinap, S., Ali, A.A., Man, Y.B, Suria, A.M. (2000). Use of palm mid-fraction in dark chocolate as base filling centre at different storage temperatures. *Int J Food Sci Nutr*, 51:489–99.
- Kaur, N., Singh, D.P. (2017). Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite*, 112:167-187.
- Khan, N., Monagas, M., Andres-Lacueva, C., Casas, R., Urpi-Sarda, M., Lamuela-Raventos, R.M., Estruch, R. (2012). Regular consumption of cocoa powder with milk increases HDL cholesterol and reduces oxidized LDL levels in subjects at high-risk of cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 22(12):1046-1053.
- Komes, D., Belšćak-Cvitanović, A., Škrabal, S., Vojvodić, A., Bušić, A. (2013). The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT - Food Sci and Technol*, 53:360-369.
- Laličić-Petronijević, J., Popov-Raljić, J., Obradović, D., Radulović, Z., Paunović, D., Petrušić, M., Pezo, L. (2014). Viability of probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* HN019 and their impact on sensory and rheological properties of milk and dark chocolates during storage for 180 days. *J Funct Foods*, 15:541–550.
- Lewis, N.M., Seburg, S., Flanagan, N.L. (2000). Enriched eggs as a sourced of n-3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poult Sci*, 79:971-974.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*, CRC Press, Inc. Florida, USA, 361 p. ISBN:0-8493-4968-0.
- Maillard, M., Landuyt, A. (2008). Chocolate: an ideal carrier for probiotics. *Agro Food Ind Hi Tech*, 19 (3):13–15.
- Marriott, B.M. (2000). Funtional foods: An ecologic perspective. *Am J Clin Nutr*, 71(1): 1728-1734.
- Marsanasco, M., Calabro, V., Piotrkowski, B., Chiamoni, N.S., Alonso, S.V. (2015). Fortification of chocolate milk with omega-3, omega-6, and vitamins E and C by using liposomes. *Eur J Lipid Sci Technol*, 118(9):1271-1281.

- Melo, L., Childs, J.L., Drake, M., Bolini, H.M.A., Efraim, P. (2010). Expectations and acceptability of diabetic and reduced-calorie milk chocolates among nondiabetics and acceptability of diabetic and reduced-calorie milk chocolates among nondiabetics and diabetics in the USA. *J Sens Stud*, 25(1):133-152.
- Morato, P.N., Rodrigues, J.B., Moura, C.S., Drummond e Silva, F.G., Esmerino, E.A., Cruz, A.G., Bolini, H.M.A., Amaya-Farfan, J., Lollo, P.C.B. (2015). Omega-3 enriched chocolate milk: A functional drink to improve health during exhaustive exercise. *J Funct foods*, 14:76–683.
- Muhammad, D.R.A., Saputro, A.D., Rottiers, H., Van de Walle, D., Dewettinck, K. (2018). Physicochemical properties and antioxidant activities of chocolates enriched with engineered cinnamon nanoparticles. *Eur Food Res Technol*, <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3035-2>
- Nanetti, L., Raffaelli, F., Tranquilli, A.L., Fiorini, R., Mazzanti, L., Vignini, A. (2012). Effect of consumption of dark chocolate on oxidative stress in lipoproteins and platelets in women and in men. *Appetite*, 58(1):400-405.
- Nebesny, E., Żyźelewicz, D., Moty, I., Libudzisz, Z. (2007). Dark chocolates supplemented with *Lactobacillus* strains. *Eur Food Res Technol*, 225:33–42.
- Nebesny, E., Żyźelewicz, D., Motyl, I., Libudzisz, Z. (2004). Properties of sucrose-free chocolates enriched with viable lactic acid bacteria. *Eur Food Res Technol*, 220 (3-4): 358-362.
- Nightingale, L. M., Lee, S.Y., Engeseth, N. J. (2011). Impact of storage on dark chocolate: Texture and polymorphic changes. *J Food Sci*, 76(1):142–153.
- Ono, M., Ono A. (2015). Impacts of the FoSHU (Food for Specified Health Uses) system on food evaluations in Japan. *J Consum Mark*, 2015, 32.7: 542-550.
- Özdemir, D., Başer, H., Çakır, B. (2014). Tatlandırıcılar. *Türkiye Klinikleri J Endocrin*, 9(2):60-70.
- Özgen, Ö. (2010). Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve üzüm çekirdeği (*Vitis vinifera*)' nin çikolatanın kristalizasyonuna, reolojik özelliklerine, raf ömrüne ve antioksidan aktivitesine etkileri, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 155 s.
- Palazzo, A.B., Carvalho, M.A.R., Efraim, P., Bolini, H.M.A. (2011). The determination of isosweetness concentrations of sucralose, rebaudioside and neotame as sucrose substitutes in new diet chocolate formulations using the time-intensity analysis. *J Sens Stud*, 26(4):291-297.
- Parpinello, G.P., Versari, A., Castellari, M. (2001). Stevioside as a replacement of sucrose in peach race: sensory evaluation. *J Sens Stud*, 16(5):471–84.
- Popov-Raljić, J.V., Laličić-Petronijević, J.G. (2009). Sensory properties and color measurements of dietary chocolates with different compositions during storage for up to 360 days, *Sensors*, 9(3): 1996-2016.
- Reilly, C. (1998). Se: A New entrant into the functional food arena. *Trends Food Sci. Technol*, 9:114–118.
- Shiina, Y., Funabashi, N., Lee, K., Murayama, T., Nakamura, K., Wakatsuki, Y. (2009). Acute effect of oral flavanoid- rich dark chocolate intake on coronary circulation, as compared with non-flavonoid White chocolate, by transthoracic Doppler echocardiography in healthy adults. *Int J Cardiol*, 131(3):424-429.
- Sies, H., Schewe, T., Heiss, C., Kelm, M. (2005). Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *Am J Clin Nutr*, 81(1):304-12.
- Silva, M.P., Tulini, F.L., Marinho, J.F., Mazzocato, M.C., De Martinis, E.C., Luccas, V., Favaro-Trindade, C.S. (2017). Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Sci Technol*, 75:640-647.
- Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptanceda review. *Appetite*, 51(3):456-467.

- Song, D., Khouryieh, H., Abughazaleh, A.A., Salem, M.M.E., Hassan, O., Ibrahim, S.A. (2011). Sensory properties and viability of probiotic microorganisms in chocolate ice cream supplemented with omega-3 fatty acids. *Milchwissenschaft*, 66(2):172-175.
- Succi, M., Tremonte, P., Pannella, G., Tipaldi, L., Cozzolino, A., Coppola, R., Sorrentino, E. (2017). Survival of commercial probiotic strains in dark chocolate with high cocoa and phenols content during the storage and in a static in vitro digestion model. *J Funct Foods*, 35: 60-67.
- Şanes, A. (2006). Kalorisi ve yağ miktarı azaltılmış fonksiyonel (diyet) sucuk üretimi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Ens. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 110 s.
- Terry, P.D., Rohan, T.E., Walk, A. (2003). Intakes of fish and Marine fatty acids and the risk of cancer of breast and prostate and of other hormone-related cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr*, 77: 532-543.
- Tokusoglu, Ö., Ünal, K.M. (2002). Optimized method for simultaneous determination of catechin, gallic acid, and methylxanthine compounds in chocolate using RP-HPLC. *Eu Food Res Technol*, 215(4):340-346.
- Tomaru, M., Takano, H., Osakabe, N., Yasuda, A., Inoue, K.I., Yanagisawa, R., Uematsu, H. (2007). Dietary supplementation with cacao liquor proanthocyanidins prevents elevation of blood glucose levels in diabetic obese mice. *Nutr*, 23(4): 351-355.
- Tournier, C., Sulmont-Rosse, C., Guichard, E. (2007). Flavour perception: Aroma, taste and texture interactions. *Food*, 1(2), 246–257.
- Tunail, N. (2009). *Mikrobiyoloji*. Pelin Ofset Tipo Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 434 s. ISBN: 978605-603-62-0-0.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits, *J Agric Food Chem*, 44:701-705.
- Wang, J.F., Schramm, D.D., Holt, R.R., Ensunsa, J.L., Fraga, C.G., Schmitz, H.H., Keen, C.L. (2000). A doseresponse effect from chocolate consumption on plasma epicatechin and oxidative damage. *J Nutr*, 130:2115–2119.
- Waterhouse, A.L., Shirley, J.R., Donovan, J.L. (1996). Antioxidants in chocolate. *The Lancet*, 348(9030):834.
- Watkins, B.A. (1991). Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry. *J. Nutr*, 121:1475-1485.
- West, S.G., McIntyre, M.D., Piotrowski, M.J, Poupin, N., Miller, D.L., Preston, A.G., Skulas-Ray, A.C. (2014). Effects of dark chocolate and cocoa consumption on endothelial function and arterial stiffness in overweight adults. *Br J Nutr*, 111(4):653-661.
- Yiğit, G.G. (2017). Kakaolu fındık kremasının fonksiyonel özelliklerini arttırmak amacıyla endüstriyel ekmek mayasının (*Saccharomyces cerevisiae*) kullanımı. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 91 s.
- Yoo, K.M., Lee, K.W., Moon, B.K., Hwang, I.K. (2005). Antioxidant characteristics and preparation of chocolate added with sochungryong-tang (oriental medicinal plants extract). *Korean J Food Sci Anim Resour*, 21(5):585-590.

TARÇIN, KEÇİBOYNUZU VE ZENCEFİL İLE ZENGİNLEŞTİRİLEREK ÜRETİLMİŞ KEÇİ SÜTÜ TOZLARININ ÖZELLİKLERİ

Hale Baykal¹, Kübra Karais¹, Gülşah Çalışkan Koç², Safiye Nur Dirim^{1*}

¹ Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, İzmir, Türkiye

² Alanya Hamdullah Emin Paşa Üniversitesi, Sanat Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 07.04.2018; Kabul / Accepted: 08.08.2018; Online baskı / Published online: 31.08.2018

Baykal, H., Karais, K., Çalışkan Koç, G., Dirim, S.N. (2018). Tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil ile zenginleştirilerek üretilmiş keçi sütü tozlarının özellikleri. GIDA (2018) 43 (4): 716-732 doi: 10.15237/gida. GD18046

Baykal, H., Karais, K., Çalışkan Koç, G., Dirim, S.N. (2018). The properties of cinnamon, carob and ginger enriched goat milk powder enriched goat milk powder. GIDA (2018) 43 (4): 716-732 doi: 10.15237/gida. GD18046

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, sade ve farklı konsantrasyonlarda (%1-8 ağırlıkça) tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil tozu ile zenginleştirilmiş ve püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş keçi sütü tozu üretimi ve aroma maddesi tipi ve konsantrasyonunun son ürünün kalite özellikleri üzerine etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla, kurutma hava girişi ve çıkışı sıcaklığı sırasıyla 160°C ve 80°C olarak belirlenmiş ve besleme debisi istenen hava çıkışı sıcaklığını elde edecek şekilde ayarlanmıştır. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının fiziksel, toz ve duyu özellikleri, toz ürün verimliliği ve püskürtmeli kurutucunun enerji verimliliği belirlenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının nem içeriği %2.55-4.97, su aktivitesi değeri ise 0.201-0.31 arasında değişim göstermiştir. En yüksek parlaklık değerine sade keçi sütü tozları sahipken, bunu sırasıyla zencefil, keçiyoynuzu ve tarçın içeren keçi sütü tozlarının takip ettiği gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık davranışları genelde orta-kötü ve yüksek olarak bulunmuştur. Yapılan duyu değerlendirme sonucunda tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozu örneklerinin diğer örneklerle kıyasla daha çok beğenildiği gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Keçi sütü, Tarçın, Keçiyoynuzu, Zencefil, Püskürtmeli kurutucu

THE PROPERTIES OF CINNAMON, CAROB AND GINGER ENRICHED GOAT MILK POWDER ENRICHED GOAT MILK POWDER

ABSTRACT

The aim of this study was to produce spray-dried goat milk powder enriched with cinnamon, carob, and ginger, at different concentrations (1-8% by weight), and to determine the effects of aroma compounds and their concentrations on the quality characteristics of the product. The inlet/outlet air temperatures were set at 160/80°C. The feed flow rate was adjusted considering the desired outlet temperature. The physical, powder, and sensorial properties of the enriched goat milk powders (EGMP), and the powder yield and energy efficiency of spray dryer were calculated. The moisture content and water activity values of EGMP ranged between 2.55 - 4.97% and 0.2 - 0.3, respectively. The highest L* values were found in the following order, first the pure goat milk powders, then the EGMP with ginger, carob, and cinnamon, respectively. As a result of the sensory evaluation, the EGMP with cinnamon had the higher scores compare to the other samples.

Keywords: Goat milk, Cinnamon, Carob, Ginger, Spray dryer

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉ nur.dirim@ege.edu.tr

☎ (+90) 232 311 3012

☎ (+90) 232 311 4831

GİRİŞ

İnsan yaşamında önemli yeri olan süt, yeterli ve dengeli beslenme için gerekli olan hayvansal kaynaklı protein, yağ, laktoz, vitamin ve mineral maddeleri (kalsiyum, fosfor vb.) yeterli oranda içermektedir. Ülkemizde süt denildiğinde akla ilk olarak inek sütü gelmesine karşın koyun, keçi ve manda sütü de ülkemizde tüketilmektedir. Türkiye’de üretilen sütün %92’si inek sütü, %6.1’i koyun sütü, %1.7’si keçi sütü, %0.26’sı ise manda sütüdür (Kırıkçı, 2012).

Keçi sütü ve keçi sütü ile yapılan peynir vb. gibi ürünlere gösterilen ilgi keçi sütünün insan sağlığına olan yeni yararlı yönlerinin (asitlik düzenleyici, astım, egzama, migren, ülser, sindirim problemleri, strese bağlı uykusuzluk, kabızlık vb.) keşfedilmesiyle birlikte günden güne artış göstermektedir (Silanikove vd., 2010; Babayan, 1981). Anne sütüne en yakın özellikte olan keçi sütü, bileşiminde yer alan yağ globüllerinin çapının küçük oluşu sayesinde yağın süt içerisinde iyi dağılarak daha büyük yüzey alanı oluşturmasına ve süte homojen bir yapı kazandırılarak pankreatik lipaz aktivitesinin artmasına neden olmakta ve sindirimi kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle, sindirim güçlüğü olan hastalar ve bebeklerin beslenmesinde keçi sütü tercih edilmektedir (Uruk, 2011). Ayrıca keçi sütündeki proteinler, inek sütünde bulunan proteinlere kıyasla daha az alerjik özelliklere sahiptir. Bundan dolayı özellikle inek sütüne alerjisi olan çocuklar, çölyak hastaları ve mide bağırsak sistemi rahatsızlığı olan kişiler keçi sütü ve ürünlerine yönelmektedirler (Yaman ve Çoşkun, 2015). Ayrıca, günümüzde Amerika ve İsviçre gibi ülkelerde pek çok sabun, krem, vücut losyonu, şampuan, saç kremi vb. kozmetik ürünü keçi sütünden üretilmektedir (Ribeiro ve Ribeiro, 2010). Keçi sütü tozu Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde üretilmekte iken Avustralya, Yeni Zelanda, Tayvan, Kore ve Çin gibi ülkelerde keçi sütü tozu bebek mamalarında kullanılmaktadır (Rutherford vd., 2008).

Gıda sektöründe doğal katkı maddelerinin kullanımının yaygınlaşması ile birlikte dünya üzerinde bitkilerde bulunan doğal antioksidanlara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Çoban ve Patır, 2010). Ülkemizde yaygın olarak tüketilen tarçın

üzerine yapılan araştırmalar, tarçının antimikrobiyel, antialerjik, antioksidant, antitümöral, antifungal ve kabızlığı önleyici özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca tarçın, genellikle güvenli olarak kabul edilen (Generally Recognized as Safe, GRAS) bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilmektedir (Akarca vd., 2015). Keçi boynuzu meyvesi Türkiye’de ve dünyada yetişen şeker içeriği yüksek bir meyvedir. Zengin şeker içeriğinden kaynaklanan enerji verici özelliğinin yanı sıra yüksek miktarda diyet lifi içermesi, mineral madde ve fenolik maddelerce zengin olması gibi özellikleriyle yetişkin ve çocuk beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Pazır ve Alper, 2016). Baharat ve tıbbi bitki olarak kullanılan zencefilin ise sindirime yardımcı, mide bulantısını giderici, diş ağrısına karşı, romatizmal etkili ve solunum düzenleyici olarak kullanım alanları bulunmaktadır (Kaplan, 2005).

Literatür araştırması sonucunda, konsantre keçi sütünün ağır kokusundan kaçınmak amacıyla karışık meyve aroması eklenip keçi sütü tozu elde edildiği bir çalışmaya rastlanılmış (Reddy vd., 2014), ancak keçi sütünün tarçın, keçi boynuzu ve zencefil ile zenginleştirilerek keçi sütü tozu elde edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışmada, genellikle süt ve sütlü tatlılarda tercih edilen tarçın, keçi boynuzu ve zencefil, keçi sütüne ilave edilerek keçi sütünün antioksidan, antimikrobiyel ve lezzet özelliklerini zenginleştirmek, keçi sütü tüketimini arttırmak ve instant bir ürün olan keçi sütü tozu üretimi ile stabil, kullanımı, taşınması, depolanması ve muhafazası kolay bir ürün eldesi hedeflenmiştir. Ayrıca üretilen zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının, hazır kek, salep ve muhallebi karışımlarında, bebek mamalarında, ve instant süt tozu olarak kullanım alanı bulacağı düşünülmektedir. Bu amaç doğrultusunda sade ve farklı konsantrasyonlarda tarçın, keçi boynuzu ve zencefil tozu ile zenginleştirilmiş ve püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş keçi sütü tozu üretimi ve aroma maddesi tipi ve konsantrasyonunun son ürünün kalite özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca, keçi boynuzu, tarçın ve zencefil ilavesinin toz ürün verimliliği (%) ve püskürtmeli kurutucunun enerji verimliliği üzerindeki etkisinin incelenmesi ve farklı katkılarla

zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının tüketici tarafından kabul edilebilirliğinin belirlenmesi de çalışma kapsamında gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Keçi sütleri (Baltalı Gıda Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti.) ve aroma maddesi olarak kullanılan tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil tozları (Hacıoğlu Baharat, İzmir, Türkiye) İzmir’de yerel bir marketten temin edilmiştir.

Yöntem

Tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil tozları ön denemelerle belirlenen oranlarda (%1, %2, %4 ve %8 ağırlık: ağırlık, (a:a)) keçi sütüne ilave edilerek 5 dakika süreyle manyetik karıştırıcı (Wise Stir, MSH- 20A, Kore) ile karıştırılmış ve kaba filtre kağıdından (Whatman No:1) süzülmüştür. Sade ve zenginleştirilmiş keçi sütleri püskürtmeli kurutucuda (Niro- Atomizör Mobile Minor, Kopenhag, Danimarka) ayarlanan hava giriş (160°C) ve çıkış (80°C) sıcaklıklarında, iki tekrar olacak şekilde kurutulmuştur. Besleme debisi istenen hava çıkış sıcaklığını elde edecek şekilde ayarlanmıştır. Kurutma işlemi boyunca keçi sütleri manyetik karıştırıcı (Wise Stir, MSH- 20A, Kore)

kullanılarak sabit hızda karıştırılmış ve karışımın homojenliğini kaybetmemesi sağlanmıştır.

Püskürtmeli kurutma işlemi sonunda elde edilen toz ürünlerde üç paralel olacak şekilde aşağıda belirtilen analizler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan aroma maddeleri olan tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil tozlarının fiziksel ve toz ürün analizleri de bu çalışma kapsamında yapılmıştır.

Kurutma denemelerinde enerji tüketim etkinliğini belirlemek amacıyla cihaza bağlı elektrik sayacı (Köhler, AEL. TF.04, Türkiye) kullanılarak kurutma çalışmaları süresince kurutucunun elektrik tüketimleri takip edilmiştir. Kurutucuların enerji verimliliği genellikle, özgül nem uzaklaştırma hızı (SMER: Specific Moisture Extraction Rate (kg/kWh)), kurutucudan birim zamanda uzaklaştırılan nem kütlesi (MER: Moisture Extraction Rate (kg/h)) ve örneklerden birim miktarda suyu uzaklaştırmak için gerekli enerji miktarı (SEC: Specific Energy Consumption (MJ/kg)) olarak belirlenmektedir (Jindarat vd., 2011, Chua vd., 2002), Keçi sütü tozlarının SMER, MER ve SEC değerleri aşağıda belirtilen formüllere göre hesaplanmıştır (Eşitlik 1-3).

$$SMER = \frac{\text{Üründen uzaklaştırılan nem kütlesi (kg su)}}{\text{Toplam enerji tüketimi (kWh)}} \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$MER = \frac{\text{Üründen uzaklaştırılan nem kütlesi (kg su)}}{\text{Kuruma süresi (h)}} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

$$SEC = \frac{\text{Sisteme giren toplam enerji (MJ)}}{\text{Üründen uzaklaştırılan nem kütlesi (kg su)}} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Toz ürün verimi; elde edilen toz ürün miktarının, zenginleştirilmiş keçi sütünün suda çözünür kuru

madde içeriğine oranlanmasıyla hesaplanmış ve sonuçlar yüzde olarak verilmiştir (Eşitlik 4).

$$\text{Verim} = \frac{\text{Keçi sütü tozu (kg)}}{\text{Keçi sütünün kuru madde miktarı (kg)}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Keçi sütlerinin suda çözünür kuru madde içeriği (°Briks) Worldbest (Fg 108, Türkiye) marka el tipi refraktometre ile ölçülmüştür. Nem içeriği AOAC (2005) yöntemine göre, su aktivitesi değeri

ise ± 0.001 hassasiyete sahip su aktivitesi ölçüm cihazı (Testo AG 400, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Renk değerleri Konica Minolta Chroma Meter CR- 400, Japonya renk cihazı

kullanılarak belirlenmiştir. Hesaplamalarda CIE Lab (L*, a* ve b*) renk skalası kullanılmıştır. Tüm ölçümler 6 paralel şekilde olup, ortalama değerleri alınmıştır. Toplam renk değişimi (ΔE),

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{Eşitlik 5})$$

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Eşitlik 6})$$

$$\text{Hue}(\text{°}) = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{Eşitlik 7})$$

Keçi sütü tozunun yığın ($\rho_{\text{yığın}}$) ve sıkıştırılmış yığın ($\rho_{\text{sıkıştırılmış}}$) yoğunluğu, akabilirlik (Carr İndeks (CI), Eşitlik 8), yapışkanlık (Hausner

$$CI = \frac{\rho_{\text{sıkıştırılmış}} - \rho_{\text{yığın}}}{\rho_{\text{yığın}}} * 100 \quad (\text{Eşitlik 8})$$

$$HR = \frac{\rho_{\text{sıkıştırılmış}}}{\rho_{\text{yığın}}} \quad (\text{Eşitlik 9})$$

Tüketici kullanımları göz önüne alınarak zenginleştirilmiş keçi sütü tozları (%4 konsantrasyonda tarçın, keçi boynuzu ve zencefil tozu içeren) başlangıç nem içeriğine sulandırılarak keçi sütleri elde edilmiş ve zenginleştirilmiş keçi sütlerinde duyu analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; yarı eğitilmiş 20 panelistle puanlama testi yapılarak (1 (en düşük), 5 (en yüksek)), zenginleştirilmiş keçi sütlerinin renk, koku, görünüş, kıvam ve genel beğeni özelliklerini beğeni derecelerine göre puanlamaları istenmiştir (Altuğ ve Elmacı, 2005). Panelistlere sütler ile detaylı bilgi (hangi tip süt ve katkı maddesi kullanıldığı, süt tozunun sulandırılarak hazırlandığı vb.) verilmemiş ve sütlerle ilgili genel yorumları sorgulanmıştır. Duyusal panelde kullanılan sütler, farklı aromalarla zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının sulandırılmasıyla hazırlandığı için, renk olarak kurutma işlemiyle gerek sütte gerekse ilave edilen aromalar nedeniyle koyu renk

doymunluk (Kroma, C) ve Hue Açısı (°) değerleri eşitlik 5-7 kullanılarak hesaplanmıştır (Pathare vd., 2013).

Oranı (HR), Eşitlik 9) ve dağılılırılık (%) değerleri Jinapong vd. (2008)'e göre higroskopite değeri (%) ise Cai ve Corke (2000) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir.

oluşumu, koku olarak; kurutma işlemiyle gerek sütte gerekse ilave edilen aromalar nedeniyle yanık/pişmiş ve acımsı tat oluşumu, görünüş olarak; tozların homojen bir şekilde karışabilirliği ve kurutma işlemiyle gerek sütte gerekse ilave edilen aromalar nedeniyle koyu renk oluşumu, kıvam olarak; tozlar başlangıç nem içeriğine sulandırılrsa da süttten beklenen kıvamın sağlanıp sağlanmadığı gibi sorulara cevap aranırken, sonuç olarak ise panelistlerin farklı aromalarla zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarından üretilen sütleri beğenip beğenmediği sorgulanmıştır.

Deney sonuçları ortalama \pm standart sapma olacak şekilde kaydedilerek SPSS 16.0 paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile %95 güven aralığında varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Zenginleştirilmiş keçi sütleri ısı uygulanmasından kaynaklanabilecek kayıplara (lezzet, aroma, bileşen vb.) neden olmamak amacıyla herhangi bir konsantrasyon işlemi ve kurutma ajanı kullanmaksızın püskürtmeli kurutucuya beslenmiş ve yanma/yapışma olmadan başarılı bir şekilde kurutulmuştur. Keçi sütü tozları çoğunlukla kollektöre ulaşmış, siklon seperatör ve kurutma kabininde kalan tozlar bir fırça yardımıyla toplanmıştır. Keçi sütü tozları oda sıcaklığına

soğutularak tartılmış ve alüminyum polietilen ambalaj malzemesiyle ambalajlanarak analizlere dek desikatörün içinde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Kurutma işlemi sırasında katkı maddesi olarak kullanılan tarçın, keçiboynuzu ve zencefil tozlarının fiziksel ve toz ürün özellikleri nihai ürün özelliklerini de etkileyeceği düşüncesi ile belirlenmiş ve analizlerin sonuçları Çizelge 1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Tarçın, keçiboynuzu ve zencefil tozlarının fiziksel ve toz ürün özellikleri
Table 1. The physical and powder properties of cinnamon, carob, and ginger powders

	Tarçın Tozu (Cinnamon Powder)	Keçiboynuzu Tozu (Carob Powder)	Zencefil Tozu (Ginger Powder)
Nem içeriği (%) Moisture Content (%)	8.80±0.830 ^b	7.74±0.211 ^a	8.46±0.161 ^b
Su Aktivitesi (a _w) Water Activity (a _w)	0.521±0.03 ^b	0.534±0.01 ^c	0.500±0.02 ^a
L*	54.54±0.840 ^a	60.59±0.169 ^b	81.45±0.173 ^c
L*			
a*	15.38±0.332 ^c	9.74±0.087 ^b	1.41±0.083 ^a
a*			
Renk Değerleri Color Values	b*	26.63±0.227 ^a	29.05±0.570 ^b
	b*		
Kroma (C) Chroma (C)	36.94±0.141 ^b	28.36±0.242 ^a	29.08±0.573 ^a
Hue Açısı (°) Hue Angle (°)	1.14±0.011 ^a	1.22±0.001 ^b	1.52±0.002 ^c
Yığın Yoğunluğu (kg/m ³) Bulk Density (kg/m ³)	564.29±97.61 ^c	443.51±27.91 ^b	301.21±4.51 ^a
Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu (kg/m ³) Tapped Density (kg/m ³)	623.68±107.00 ^c	548.41±1.58 ^b	499.47±5.03 ^a
Akabilirlik (Carr İndeks, CI) Flowability (Carr Index, CI)	9.52±0.00 (Çok İyi) ^a	19.14±4.86 (İyi) ^b	39.69±0.30 (Kötü) ^c
Yapışkanlık (Hausner Oranı, HR) Cohesiveness (Hausner Ratio, HR)	1.11±0.00 (Düşük) ^a	1.24±0.07 (Orta) ^b	1.66±0.01 (Yüksek) ^c
Dağılılabirlik (%) Dispersibility (%)	23.52±2.23 ^a	65.43±2.06 ^c	54.59±3.52 ^b

^{a-c} Örnekler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P < 0.05).

^{a-c} Show the significant differences between the samples (P < 0.05).

En yüksek nem içeriği, a*, b* ve kroma, yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluk değerleri tarçın tozunda, su aktivitesi ve dağılılabirlik değerleri keçiboynuzu tozunda ve L*, Hue Açısı, akabilirlik ve yapışkanlık değerleri ise zencefil tozunda gözlenmiştir. Literatürde tarçın, keçiboynuzu ve zencefil tozu üzerine yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Tarçın, keçiboynuzu ve zencefilin

türlerine ve kurutma yöntemine bağlı olarak fiziksel ve toz ürün özellikleri değişiklik göstermektedir. Barnwal vd. (2014) yaptıkları çalışmada tarçın çubuklarının nem içeriğini %10.6 (kuru bazda) olarak bulmuşlardır. Yousif ve Alghzawi (2000) tarafından yapılan bir çalışmada kavrulmamış keçiboynuzu tozunun nem içeriği ve su aktivitesi değerini sırasıyla %11.7 ve 0.45 olarak

bulunmuştur. Dilimlenmiş zencefillerin (10-15sn kaynayan suda haşladıktan sonra %0.2'lik potasyum metabisülfid solüsyonuna 5 dak süreyle daldırılmıştır) gölgede (oda sıcaklığında), güneşte, fırında ($50\pm 5^{\circ}\text{C}$ de 6-8 saat) ve mikrodalga fırında (800 Watt, 3-4 dak) kurutulduğu bir çalışmada elde edilen zencefil tozlarının nem içeriğinin sırasıyla %5.4, %4.9, %5.4 ve %5.6 olduğu saptanmıştır (Sangwan vd., 2014).

Enerji tüketiminin belirlenmesi, püskürtmeli kurutma işleminin geliştirilmesi ve enerji ve kütle denklıklarının hesaplanarak kurutma koşullarının anlaşılması için önemlidir. Püskürtmeli kurutma

işleminde enerji tüketimini, işlem koşulları (hava giriş/çıkış sıcaklığı, atomizör hızı ve/veya basıncı vb.) ve besleme özellikleri (konsantrasyon, akış hızı vb.) etkilemektedir. Tarçın tozu, keçiyoynuzu tozu ve zencefil tozu ile zenginleştirilmiş keçi sütlerinin (sırasıyla TKKS, KKKS ve ZKKS) kurutulması için püskürtmeli kurutucuda ürün besleme miktarı sabit tutulmuş (500g) ve tüketilen enerji elektrik sayacı ile elektrik tüketimi olarak kWh cinsinden ölçülerek SMER, MER ve SEC değerleri hesaplanmıştır. Çizelge 2'de farklı aromalarla zenginleştirilmiş keçi sütlerinin kurutulması için hesaplanan SMER, MER ve SEC değerleri verilmiştir.

Çizelge 2. Püskürtmeli kurutucunun SMER, MER ve SEC değerleri
Table 2. The SMER, MER, and SEC values of spray dryer

Örnek Sample	Konsantrasyon (%) Concentration (%)	SMER (kg su/kWh) SMER (kg water/kWh)	MER (kg su/h) MER (kg water/h)	SEC (MJ/kg su) SEC (MJ/kg water)
TKKS	1	0.24±0.00 ^{bx}	0.75±0.11 ^{ax}	15.21±0.09 ^{bx}
	2	0.23±0.00 ^{bx}	0.82±0.02 ^{ax}	15.42±0.01 ^{cy}
	4	0.26±0.00 ^{cz}	1.08±0.14 ^{ax}	13.67±0.10 ^{ax}
	8	0.22±0.00 ^{ay}	0.85±0.16 ^{ax}	16.37±0.05 ^{dx}
KKKS	1	0.26±0.00 ^{dy}	0.75±0.28 ^{ax}	14.11±0.00 ^{ax}
	2	0.24±0.00 ^{by}	1.00±0.20 ^{ax}	15.11±0.13 ^{bx}
	4	0.25±0.00 ^{cy}	0.80±0.09 ^{ax}	14.63±0.00 ^{cx}
	8	0.21±0.00 ^{ax}	1.13±0.41 ^{ax}	17.50±0.00 ^{dy}
ZKKS	1	0.26±0.00 ^{cz}	1.07±0.15 ^{ax}	13.84±0.04 ^{ax}
	2	0.24±0.00 ^{bey}	1.09±0.24 ^{ax}	14.78±0.01 ^{ax}
	4	0.22±0.00 ^{abz}	0.99±0.25 ^{ax}	16.56±0.01 ^{aby}
	8	0.20±0.03 ^{ax}	1.14±0.56 ^{ax}	18.38±2.43 ^{bz}

^{a-d} Aynı aroma maddesinin farklı konsantrasyonları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{x-z} Farklı aromaların aynı konsantrasyonları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{a-d} Show the differences between the concentrations of the same aroma compound ($P < 0.05$).

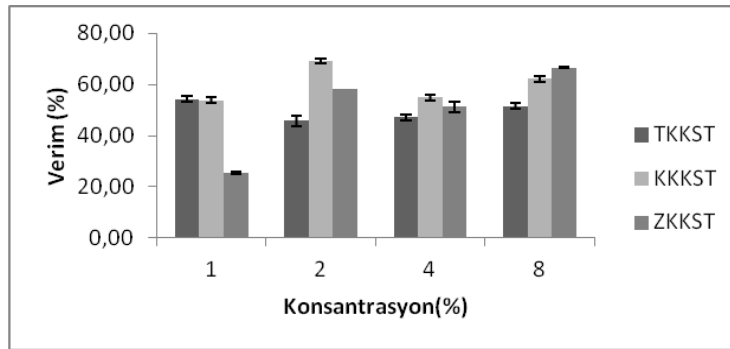
^{x-z} Show the differences between the aroma compounds at the same concentration ($P < 0.05$).

Tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil konsantrasyonunun artmasıyla birlikte genel olarak MER ve SEC değerleri artmış, SMER değerleri ise azalmıştır. Farklı aromaların ve konsantrasyonların SMER ve SEC değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken ($P < 0.05$), MER değerlerindeki artış istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). SMER değerlerindeki azalış ve SEC

değerindeki artışın beslemenin kuru madde içeriği arttıkça üründen uzaklaşan su miktarının azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Zenginleştirilen keçi sütü tozları için hesaplanan SEC değerleri, püskürtmeli kurutucular için belirlenen SEC değer aralığı olan 3 ile 20MJ/kg su aralığında yer almaktadır (Baker ve McKenzie, 2005).

Sade keçi sütünün suda çözünür kuru madde miktarı 9.8°Briks olarak ölçülmüş ve zenginleştirilmiş keçi sütlerinin suda çözünür kuru madde miktarlarının 10.0 ile 15.6°Briks arasında değiştiği belirlenmiştir. Tarçın tozu ile zenginleştirilmiş keçi sütlerinin suda çözünür kuru madde miktarları 10.2-15.6°Briks, keçiyoynuzu tozu ile zenginleştirilmiş keçi sütlerinin suda çözünür kuru madde miktarları 13.1-15.6°Briks, zencefil tozu ile zenginleştirilmiş keçi sütlerinin suda çözünür kuru madde miktarlarının ise 10.0-10.4°Briks arasında olduğu belirlenmiştir. Sütlerin

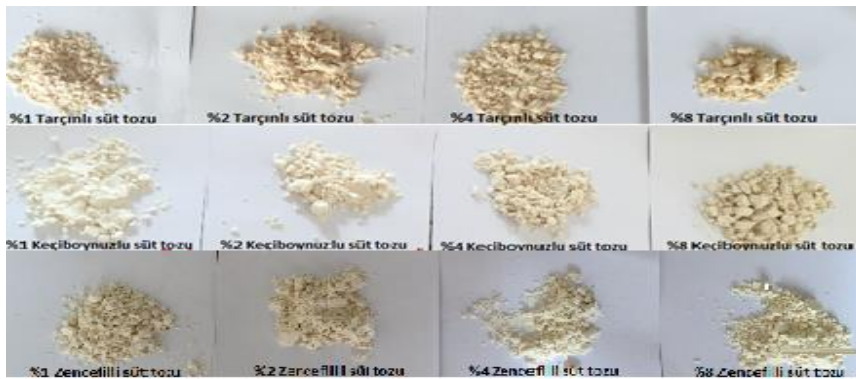
suda çözünür kuru madde içeriği artan konsantrasyona bağlı olarak artmıştır ($P < 0.05$). En yüksek suda çözünür kuru madde içeriğine keçiyoynuzu tozu içeren sütlerde rastlanmıştır. Bu durumun keçiyoynuzunun süt içerisindeki çözünürlüğünün yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Tarçın (TKKST), keçiyoynuzu (KKKST) ve zencefil (ZKKST) tozları ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının Eşitlik 4'e göre hesaplanan toz ürün verimi değerleri (%) değerleri Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının toz ürün verimi değerleri (%)
Figure 1. The powder yield (%) of enriched goat milk powders

Sade keçi sütü verimi zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarına göre daha yüksek (%86.80) bulunmuştur. Konsantrasyon artışı ile verimde düzenli bir artış gözlenmemiştir. Zenginleştirilmiş sütlerde en yüksek toz ürün verimine genel olarak keçiyoynuzu tozu içeren süt tozlarında rastlanılmıştır. Namhong (2009) yaptığı çalışmada, evapore (60°C, 30dk) edilmiş keçi sütünü püskürtmeli kurutucuda kurutmuş (180/85°C,

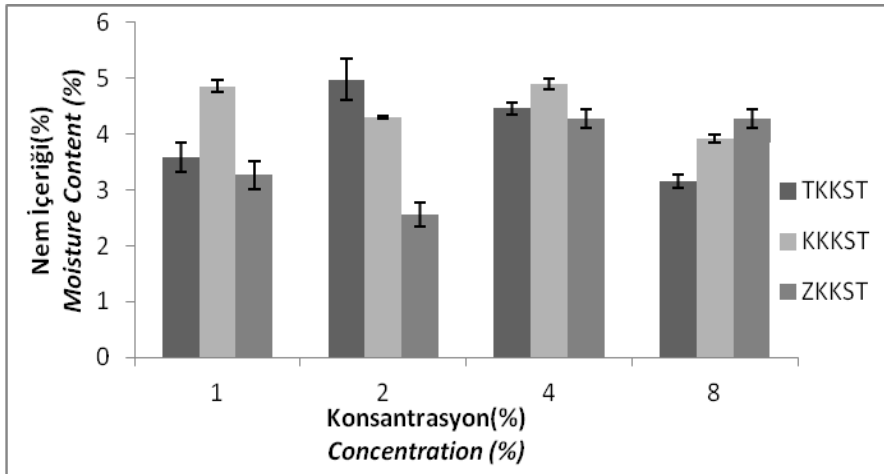
185/85°C, 200/85°C hava giriş/çıkış sıcaklığı, 55°C) besleme sıcaklığı ve elde edilen keçi sütü tozu veriminin %82.10 ile %88.48 arasında değiştiğini belirtmiştir. Yapılan bu çalışmada sade keçi sütü için elde edilen toz ürün verimi Namhong (2009) sonuçlarıyla uyum içerisinde. Gerçekleştirilen kurutma çalışmaları sonunda elde edilen zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının görüntüleri Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozu örnekleri
Figure 2. Samples of enriched goat milk powders

Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının nem içeriği (% , yaş bazlı, yb) Şekil 3’de verilmiştir. Sade keçi sütü tozunun nem içeriği ise 3.05 ± 0.01 olarak bulunmuştur. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının nem içeriği sade keçi sütü tozuna kıyasla %2 konsantrasyonlu ZKKST dışında genellikle daha yüksek bulunmuştur. Keçiboynuzu ve zencefil içeren keçi sütü tozlarının nem içeriği artan kuru madde içeriğine bağlı olarak genellikle önce azalmış (%1’den %2 konsantrasyona), daha sonra ise artmıştır ($P < 0.05$). Bu durumun yüksek besleme kuru madde içeriklerinde, yüksek besleme hızından kaynaklı olarak sıcak hava ile yetersiz temas sonucu olduğu düşünülmektedir. En yüksek nem içeriği değerlerine, nem içeriği en yüksek olan (Çizelge 1) tarçın tozu içeren süt tozlarında rastlanmıştır. Çalışma kapsamında

kullanılan katkı maddelerinin kimyasal yapısındaki farklılıklarının (şeker ve lif içeriği vb.) ve süt içerisinde gösterdiği farklı davranışların (jel oluşturma, dibe çökme, yüzeyde kalma vb.) elde edilen keçi sütü tozlarının nem içeriğindeki farklılığın nedeni olduğu düşünülmektedir. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Koyulaştırılmış Süt ve Süttozu Tebliği’ne göre süt tozu son ürün nem içeriği en fazla %5 olarak belirlenmiştir (Anonim, 2013). Ayrıca Reddy vd., (2014)’te yaptığı çalışma sonucunda püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş keçi sütü tozunun nem içeriğinin 4.08 ± 0.14 olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda sade ve zenginleştirilmiş keçi sütü tozları için elde edilen nem içeriklerini literatürde belirtilen değere uygun olduğu saptanmıştır (Reddy vd., 2014).



Şekil 3. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının nem içeriği değerleri (% , yaş bazlı)

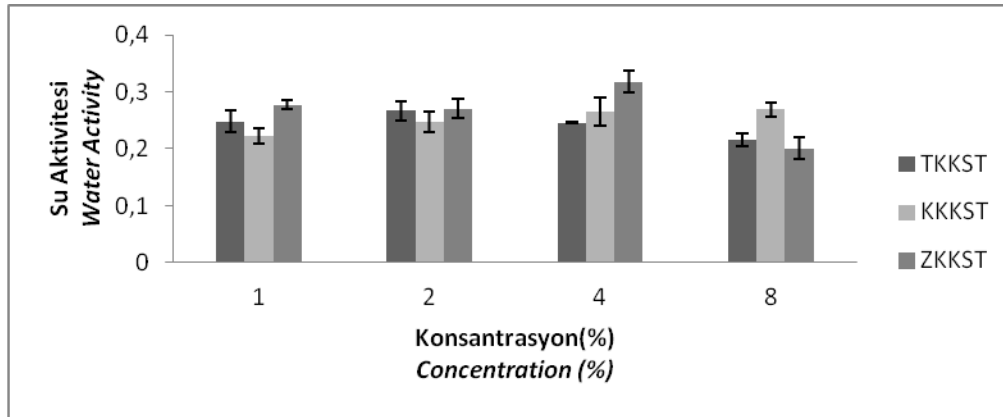
Figure 3. Moisture content (% , wet basis) of enriched goat milk powders

Su aktivitesi bir gıda maddesindeki serbest suyun varlığının bir ölçüsüdür. Genellikle su aktivitesi 0.6’nın altında ise gıda mikrobiyolojik olarak kararlı kabul edilmektedirler. Su aktivitesi püskürtmeli kurutucu ile elde edilen toz ürünlerin raf ömrünü önemli ölçüde etkileyen bir indekstir (Quek vd., 2007). Yapılan çalışmalarda elde edilen keçi sütü tozlarının su aktivitesi değerleri Şekil 4’de verilmiştir. Şekil 4 incelendiğinde su aktivitesi değerlerinin 0.201 ile 0.318 arasında değiştiği gözlenmektedir. Sade keçi sütü tozunun su aktivitesi değeri ise 0.309 ± 0.023 olarak bulunmuştur. Sade keçi sütünün su aktivitesi değeri, zenginleştirilmiş keçi sütlerinin su

aktivitesi değerleri ile kıyaslandığında; zenginleştirilmiş keçi sütlerinin su aktivitesi değerlerinin sade keçi sütü tozlarına oranla genel olarak daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Tarçın ve zencefil tozu içeren keçi sütü tozlarının su aktivitesi değerleri genel olarak artan konsantrasyona bağlı olarak azalma eğilimi gösterirken (%2 konsantrasyonda tarçın tozu ve %4 konsantrasyonda zencefil tozu içeren tozlar hariç), keçiboynuzu tozu içerenlerin ise artma eğilimi gösterdiği gözlenmiştir ($P < 0.05$). Bu durumun keçiboynuzunun yüksek su tutma kapasitesinden ya da yüksek şeker içeriğinden (%45 toplam şeker, %13.6 indirgen şeker ve

%31.4 indirgenmeyen şeker içeriği, (Yousif ve Alghzawi, 2000)) kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Yüksek şeker içeriğine bağlı olarak düşük camısı geçiş sıcaklığı nedeniyle keçiyoynuzu, sütlerin kurutulması sırasında daha nemli bir ürün oluşmasına neden olmuş olabilir. Keçiyoynuzunun yüksek lif içeriği (%10.99 lif içeriği, (Yousif ve Alghzawi, 2000) ve kullanılan diğer tozlara kıyasla daha küçük partikül boyutuna sahip olması, keçi sütü tozlarının su tutma kapasitesini etkilediği düşünülmektedir. Keçiyoynuzu yapısında yüksek miktarda bulunan lifler suyu hapsederek nem içeriği ve su aktivitesi yüksek toz ürün oluşumuna neden olmuş olabilir. Ayrıca, kullanılan aroma maddelerine kıyasla yüksek su aktivitesi değerine sahip keçiyoynuzu tozlarının ilavesiyle elde edilen süt tozlarının su aktivitesi değerlerinin artan konsantrasyona bağlı

olarak artması beklenen bir sonuçtur. Benzer bir biçimde, Namhong (2009) yaptığı çalışmada (185/85°C hava giriş/çıkış sıcaklığı 55°C), besleme sıcaklığı keçi sütü tozunun su aktivitesi değerinin 0.27 olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Reddy vd. (2014) yaptıkları çalışma sonucunda püskürtmeli kurutucuda kurutulan (160/85°C, 170/85°C ve 180/85°C hava giriş/çıkış sıcaklığı, 18rpm besleme akış hızı, 2100rpm hava akış hızı ve %35-45 konsantrasyon) karışık meyve aromalı keçi sütü tozu su aktivitesi değerinin 0.16 ile 0.23 arasında değiştiğini belirtmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının su aktivitesi değerlerinin güvenli depolama için belirtilen değere uygun olduğu sonucuna varılmıştır (<0.3, Quek vd., 2007)



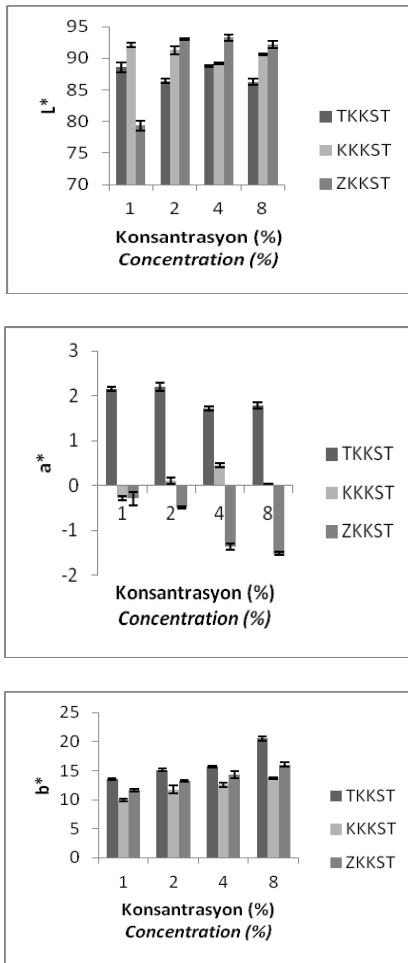
Şekil 4. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının su aktivitesi değerleri

Figure 4. Water activity values of enriched goat milk powders

Yapılan kurutma çalışmasında elde edilen sade keçi sütü tozunun; L* değeri 90.98 ± 0.65 , a* değeri -1.78 ± 0.13 ve b* değeri 8.67 ± 0.25 olarak bulunmuş, zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının renk değerleri ise Şekil 5'de gösterilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda elde edilen sade keçi sütü tozlarının L* değerleri, zenginleştirilmiş keçi sütlerinin L* değerleri ile kıyaslandığında; tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının L* değerinin sade keçi sütü tozuna göre daha düşük, zencefil ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının L* değerlerinin ise sade keçi sütü tozlarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Keçi sütü tozlarının parlaklık değerleri incelendiğinde, kullanılan aroma maddelerinin etkisiyle keçi sütü

tozlarının en düşük L* değerlerinin tarçın tozu katkılı örneklerde gözlemlendiği ve toz örneklerin L* değerlerine paralel olarak sırasıyla keçiyoynuzu ve zencefil katılı örneklerde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının a* ve b* değerlerinin sade süt tozunun a* ve b* değerlerine kıyasla genel olarak daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. En düşük kırmızılık-yeşillik (a*) değeri (-1.52) %8 konsantrasyonda zencefil içeren keçi sütü tozlarında gözlemlenmiştir. En yüksek sarılık- mavilik (b*) değeri %8 konsantrasyonlu tarçın içeren süt tozlarında (20.52) gözlemlenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının renk değerleri (L*,a*,b*) üzerine; tarçın, keçiyoynuzu,

zencefil tozları ve konsantrasyonlarının etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Genel olarak tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının b^* değerleri, konsantrasyona bağlı olarak artma eğilimi göstermiştir ($P < 0.05$). Bu durumun, kullanılan aroma maddelerinin keçi sütüne kıyasla daha yüksek b^* değerine sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Çizelge 1).



Şekil 5. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri

Figure 5. Color values (L^* , a^* , and b^*) of enriched goat milk powders

Yapılan kurutma çalışmasında elde edilen sade keçi sütü tozunun; renk doygunluğu (kroma) 8.85 ± 0.267 ve Hue Açısı değeri -1.37 ± 0.01 olarak hesaplanmış, zenginleştirilmiş keçi sütü tozu örneklerine ait toplam renk değişimi, renk

doygunluğu ve Hue Açısı değerleri de hesaplanarak, sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının toplam renk değişimi değerleri 2.28 (%1 konsantrasyonda keçiyoynuzu tozu içeren keçi sütü tozu) ve 13.22 (%8 konsantrasyonda tarçın tozu içeren keçi sütü tozu) arasında değişim göstermiştir. En yüksek toplam renk değişimi değerleri tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarında gözlenirken, bunu sırasıyla zencefil ve keçiyoynuzu tozu içeren keçi sütü tozları takip etmiştir. Toplam renk değişimi değerleri genel olarak artan konsantrasyona bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır ($P < 0.05$). Elde edilen toz ürünlerin Kroma değerleri incelendiğinde; en düşük Kroma değerleri %1 konsantrasyonda keçiyoynuzu ile %1 konsantrasyonda tarçın içeren süt tozu örneklerinde gözlenmiştir. En yüksek Kroma değeri ise %8 konsantrasyonda zencefil içeren süt tozu örneğinde 16.22 ± 0.36 olarak hesaplanmıştır. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının Kroma değerlerinin artan kuru madde içeriğine bağlı olarak istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir ($P < 0.05$). Elde edilen toz ürünlerin Hue Açısı incelendiğinde ise; en düşük Hue Açısı değeri %1 konsantrasyonda zencefil içeren süt tozu örneğinde -1.55 ± 0.01 olarak ölçülmüştür. En yüksek Hue Açısı değeri ise %8 konsantrasyonda keçiyoynuzu içeren süt tozu örneğinde 1.57 ± 0.00 olduğu görülmüştür. Çizelge 3'te görüldüğü üzere zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının Hue Açısı değerlerinde artan kuru madde içeriğine bağlı olarak genel olarak artış olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Farklı aroma maddeleri ve konsantrasyonlarındaki değişimlerin, toz ürünlerin toplam renk değişimi, renk doygunluğu ve Hue Açısı ($^\circ$) değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Yığın yoğunluğu; toz ürünün nem içeriği, şekli, büyüklüğü, partikül yoğunluğu ve toz ürünün bileşiminden (yağ içeriği vb.) etkilenmektedir. Yığın yoğunluğunun yüksek olması paketleme giderlerinin azaltılması ve taşıma kolaylığı açısından önemlidir. Püskürtmeli kurutma işlemi ile elde edilen sade keçi sütü tozunun yığın yoğunluğu değeri $307.03 \pm 19.13 \text{ kg/m}^3$ ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değeri

415.71±5.05kg/m³ olarak bulunmuştur. Zenginleştirilmiş süt tozlarının yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri Şekil 6'da verilmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozları incelendiğinde; en düşük yığın yoğunluğu değerine (191.5±12.02kg/m³) %1 konsantrasyonda tarçın içeren süt tozunun sahip olduğu gözlenmiştir. En yüksek yığın yoğunluğu değerine (385.9±43.8kg/m³) ise %8 konsantrasyonda keçiyoynuzu içeren süt

tozlarında rastlanmıştır. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri incelendiğinde; en düşük sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerine (364.4±27.72kg/m³) %2 konsantrasyonda keçiyoynuzu içeren süt tozunda, en yüksek sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerine (498.22±0.06kg/m³) ise %1 konsantrasyonda zencefil içeren süt tozunda gözlenmiştir.

Çizelge 3. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının toplam renk değişimi, Kroma ve Hue Açısı (°) değerleri
Table 3. The total color change, Chroma, and Hue Angle (°) values of enriched goat milk powders

Örnek Sample	Konsantrasyon (%) Concentration (%)	Toplam Renk Değişimi (ΔE) Total Color Change (ΔE)	Kroma Chroma	Hue Açısı (°) Hue Angle (°)
TKKST	1	6.73±0.45 ^{az}	9.94±0.2 ^{ax}	1.41±0.00 ^{ay}
	2	8.82±0.32 ^{cz}	11.75±0.66 ^{bx}	1.43±0.00 ^{by}
	4	8.16±0.18 ^{bz}	12.56±0.34 ^{cx}	1.46±0.00 ^{cy}
	8	13.22±0.61 ^{dz}	13.75±0.1 ^{dx}	1.48±0.02 ^{dy}
KKKST	1	2.28±0.15 ^{ax}	9.94±0.15 ^{ax}	-1.54±0.00 ^{ax}
	2	3.68±0.62 ^{bx}	11.75±0.28 ^{bx}	1.56±0.01 ^{cz}
	4	4.83±0.31 ^{cx}	12.56±0.34 ^{cx}	1.53±0.00 ^{bz}
	8	5.41±0.14 ^{cx}	13.75±0.15 ^{dx}	1.57±0.00 ^{cz}
ZKKST	1	3.77±0.42 ^{ay}	11.65±0.22 ^{ay}	-1.55±0.01 ^{ax}
	2	5.13±0.09 ^{by}	13.18±0.16 ^{by}	-1.53±0.00 ^{bx}
	4	6.09±0.43 ^{cy}	14.34±0.57 ^{cy}	-1.48±0.01 ^{cx}
	8	7.58±0.33 ^{dy}	16.22±0.36 ^{dy}	-1.48±0.00 ^{cx}

^{a-d} Aynı aroma maddesinin farklı konsantrasyonları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P <0.05).

^{x-z} Farklı aromaların aynı konsantrasyonları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P <0.05).

^{a-d} Show the differences between the concentrations of the same aroma compound (P <0.05).

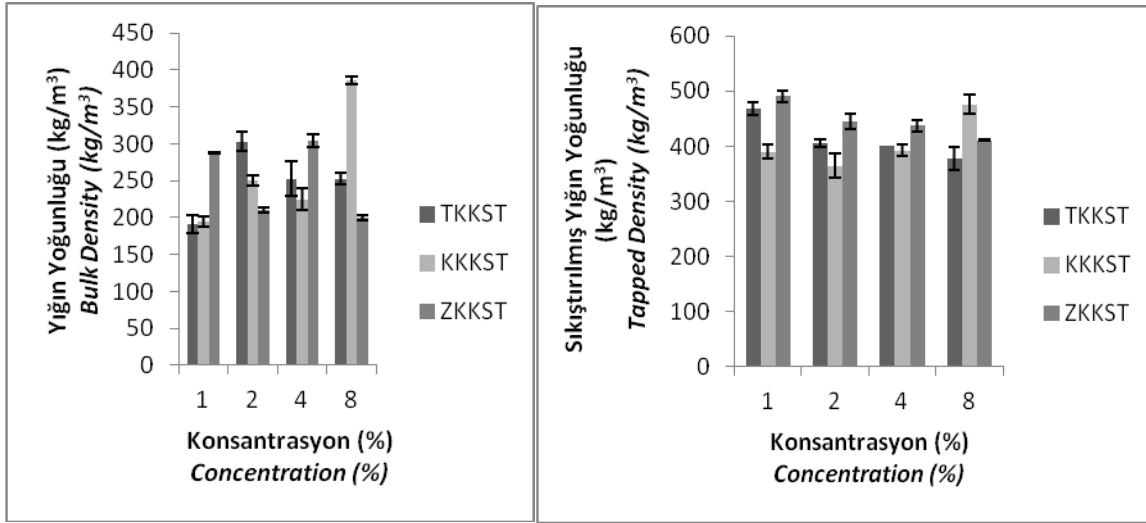
^{x-z} Show the differences between the aroma compounds at the same concentration (P <0.05).

Tarçın ve zencefil içeren keçi sütü tozlarının yığın yoğunluklarında meydana gelen değişim genel olarak nem içeriğinde meydana gelen değişime benzer bulunmuştur. Tarçın içeren keçi sütü tozlarının nem içeriği önce artmış sonra azalmış benzer bir şekilde yığın yoğunluğu değeri de önce artıp sonra azalmıştır. Zencefil içeren keçi sütü tozlarının nem içeriği ise önce azalmış sonra artmış benzer bir şekilde yığın yoğunluğu değeri de önce azalıp sonra artmıştır. Bu durumun nedeninin sıvının yoğunluğunun katıdan yüksek olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Keçiyoynuzu içeren keçi sütü tozlarının yığın yoğunluğu değerlerinde ise nem içeriğine bağlı bir değişim saptanamamıştır. Tarçın ve zencefil

konsantrasyonu arttıkça genel olarak keçi sütü tozlarının sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana geldiği, keçiyoynuzu konsantrasyonu arttıkça ise sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerinin önce azaldığı (%2) sonra ise arttığı (%4 ve %8) gözlenmiştir (P <0.05). Farklı aroma maddelerinin ve konsantrasyonlarının, zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuş (P <0.05) ancak konsantrasyon artışına bağlı olarak düzenli bir değişim gözlenememiştir. Birchall vd., (2005) yaptıkları çalışmada (160-190°C hava giriş sıcaklığı, 1.4-2.4kg/h besleme akış hızı, 42,000-

50,000rpm atomizör dönüş hızı) püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş süt tozlarının sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin 379-636kg/m³ arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Reddy vd. (2014)'te yaptığı çalışma sonucunda püskürtmeli kurutucuda kurutulan (160/85°C, 170/85°C, 180/85°C hava giriş/çıkış sıcaklığı, 18rpm besleme akış hızı, 2100rpm hava akış hızı ve %35-45 konsantrasyon) karışık meyve aromalı keçi sütü tozunun yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin sırasıyla 330-450 kg/m³ ve 410-580 kg/m³ arasında değiştiğini belirtmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozları için bulunan sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri Birchal vd.,

(2005) ve Reddy vd., (2004) bulduğu değerlerle uyum içindedir. Namhong (2009) yaptığı çalışmada (185/85°C hava giriş/çıkış sıcaklığı, 55°C besleme sıcaklığı) keçi sütü tozunun yığın yoğunluğu değerinin 420kg/m³ olduğunu saptamıştır. Toz ürünlerin yığın yoğunluğu, işlem koşulları (hava giriş ve çıkış sıcaklıkları, atomizör basıncı, besleme akış hızı vb.), partikül boyutu, üründe kalan nem içeriği, ürünün kimyasal kompozisyonu vb. faktörlerden etkilenmektedir. Elde edilen farklı yığın yoğunluğu değerlerinin farklı işlem koşullarından ve ürün kompozisyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 6. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (kg/m³) değerleri
Figure 6. The bulk and tapped density (kg/m³) values of enriched goat milk powders

Toz ürünlerin akabilme ve yapışma davranışlarının belirlenmesi depolama, paketleme, ölçme, doz ayarlama, karıştırma, taşıma vb. gibi amaçlar için önemlidir (Caliskan ve Dirim, 2016). Toz gıdaların akabilirlik ve yapışkanlık davranışları nem içeriği ve partikül büyüklüğü gibi faktörlerden etkilenmekte olup sırasıyla Carr İndeks değeri (CI) ve Hausner oranına (HR) göre belirlenmektedirler. Toz ürünlerin akabilirliklerinin iyi olması ve yapışkan olmamaları özellikle toz formundaki karışımlarda (hazır çorba, puding vb.) kullanımları açısından önemlidir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık değerleri Çizelge 4'te verilmiştir. Püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş sade keçi sütü tozunun CI değeri 36.00±0.10

(Kötü), HR değeri ise 1.36±0.10 (Orta) olarak belirlenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının artan aroma maddesi konsantrasyonuna bağlı olarak genellikle akabilirlik ve yapışkanlık özelliklerinin iyileştiği, CI ve HR değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı gözlenmiştir ($P < 0.05$). Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının CI ve HR değerleri genellikle orta-kötü ve yüksek olarak bulunmuştur. En iyi akabilirlik ve yapışkanlık davranışına sahip olan keçi sütü tozlarının %8 konsantrasyonda keçiyoynuzu tozu içeren sütlerin kurutulmasıyla elde edilen tozlar olduğu görülmüştür. Birchal vd. (2005) yaptıkları çalışmada (160-190°C hava giriş sıcaklığı, 1.4-2.4kg/h besleme akış hızı, 42,000-50,000rpm atomizör dönüş hızı) püskürtmeli kurutucuda

kurutulmuş süt tozlarının HR değerlerinin 1.6 ile 1.9 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Reddy vd. (2014) yaptıkları çalışma sonucunda püskürtülerek kurutulan (160/85°C, 170/85°C, 180/85°C hava giriş/çıkış sıcaklığı, 18rpm besleme akış hızı, 2100rpm hava akış hızı ve %35-45 konsantrasyon) karışık meyve aromalı keçi sütü tozunun HR ve CI değerlerinin sırasıyla 1.17-1.32 ve 14.19-24.09 arasında değiştiğini belirtmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozu için bulunan HR ve CI değerlerinin belirtilen referanslarda verilen değerlere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumun farklı işlem koşullarından (hava giriş/çıkış sıcaklıkları, atomizör hızı vb.), besleme özelliklerinden

(konsantrasyon, aroma maddesi ilavesi vb.) ve partikül özelliklerinden (yüzey alanı, boyutu vb.) kaynaklandığı düşünülmektedir. Keçi boynuzu ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık davranışında meydana gelen değişim genel olarak nem içeriğinde meydana gelen değişime benzer bulunmuştur. Keçi boynuzu içeren keçi sütü tozlarının nem içeriği önce azalmış sonra artmış sonra yine azalmıştır. Benzer eğilim keçi boynuzu tozu içeren keçi sütü tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık davranışında da gözlenmiştir. Bu durumun nedeninin nem içeriğinin partiküller arasındaki kohezyonu etkilemesi olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık değerleri
Table 4. The flowability and cohesiveness values of enriched goat milk powder

	Konsantrasyon (%) Concentration (%)	Akabilirlik (CI) Flowability (CI)	Yapışkanlık (HR) Cohesiveness (HR)
TKKST	1	59.10±1.58 ^{dz} (Çok kötü)	2.44±0.10 ^{dz} (Yüksek)
	2	24.48±3.67 ^{ax} (Orta)	1.34±0.17 ^{ax} (Orta)
	4	36.79±1.61 ^{cy} (Kötü)	1.61±0.30 ^{cy} (Yüksek)
	8	32.98±2.23 ^{by} (Orta)	1.50±0.16 ^{by} (Yüksek)
KKKST	1	50.00±0.03 ^{dy} (Çok kötü)	2.00±0.58 ^{dy} (Yüksek)
	2	31.94±4.23 ^{by} (Orta)	1.50±0.31 ^{by} (Yüksek)
	4	42.75±7.42 ^{cz} (Kötü)	1.76±0.22 ^{cz} (Yüksek)
	8	19.05±3.37 ^{ax} (İyi)	1.23±0.05 ^{ax} (Orta)
ZKKST	1	42.35±0.22 ^{bx} (Kötü)	1.73±0.01 ^{bx} (Yüksek)
	2	52.58±2.25 ^{dz} (Çok kötü)	2.11±0.10 ^{dz} (Yüksek)
	4	30.34±1.31 ^{ax} (Orta)	1.44±0.03 ^{ax} (Yüksek)
	8	51.47±0.69 ^{cz} (Çok kötü)	2.06±0.03 ^{cz} (Yüksek)

^{a-d} Aynı aroma maddesinin farklı konsantrasyonları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P <0.05).

^{x-z} Farklı aromaların aynı konsantrasyonları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P <0.05).

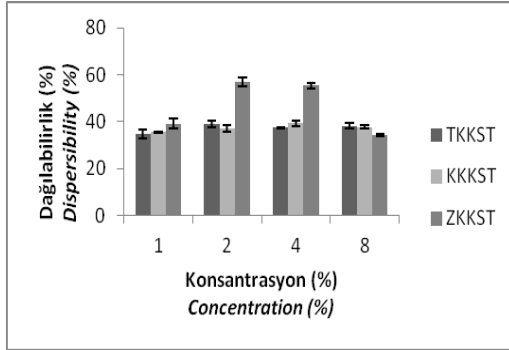
^{a-d} Show the differences between the concentrations of the same aroma compound (P <0.05).

^{x-z} Show the differences between the aroma compounds at the same concentration (P <0.05).

Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının dağılılırlik değerleri (%) Şekil 7'de verilmiştir. Toz ürünlerin dağılılırlik değerleri; tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarında %34-38, keçi boynuzu ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarında %31-33, zencefil ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarında %34-56 arasında değişim göstermiştir. Sade keçi sütü tozunun dağılılırlik değeri ise %27.66±8.86 olarak bulunmuştur. Düşük dağılılırlik değerlerinin nedeninin süt yağının hidrofobik yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Süt

yağının hidrofobik yapısı nedeniyle süt tozları daha az suyu absorbe etmekte, toz ürünler su içinde kolayca çözünmemekte ve sonuç olarak düşük dağılılırlik değerleri elde edilmektedir. Sade keçi sütü tozuna kıyasla tarçın, keçi boynuzu ve zencefil ilavesi keçi sütü tozlarının dağılılırliğini arttırmıştır (P <0.05). Tarçın ve keçi boynuzu içeren keçi sütü tozlarının dağılılırlik değerleri, konsantrasyon farkından istatistiksel olarak etkilenmezken (P >0.05), konsantrasyon değişiminin zencefil içeren keçi

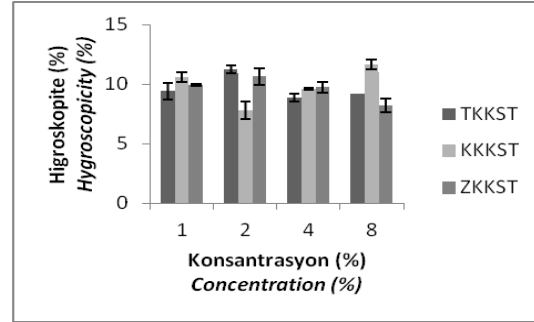
sütü tozlarının dağılılırılık değeri üzerinde etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).



Şekil 7. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının dağılılırılık değeri (%)

Figure 7. The dispersibility (%) values of enriched goat milk powders

Yapılan çalışmalarda yüksek higroskopiteye sahip tozların depolama ortamındaki relatif rutubetten daha çok etkileneceği ve ürünün fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin değişeceği belirtilmiştir (Koç ve Ertekin, 2016). Püskürtmeli kurutma işlemi ile elde edilen sade keçi sütü tozunun higroskopite değeri 7.50 ± 0.49 olarak bulunmuştur. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının higroskopite değeri $7.82-11.49$ aralığında değişmiş ve sonuçlar Şekil 8'de gösterilmiştir. Tarçın ve zencefil tozu içeren keçi sütü tozlarının higroskopite değeri artan kuru madde içeriğine bağlı olarak genellikle önce artıp daha sonra ise azaldığı, keçiyoynuzu tozu içerenlerin ise önce azaldığı daha sonra ise arttığı görülmüştür ($P < 0.05$). Toz ürünlerin higroskopite değerinin nem içeriğiyle ters orantılı olduğu literatürde belirtilmiştir. Bu durumun nedeni ise toz ürün ile ortam havası arasındaki nem farkından kaynaklı olduğu ve düşük nem içeriklerinde hava ile toz ürün arasında oluşan yüksek konsantrasyon gradiyenti daha fazla nemin absorbe edilmesine neden olduğu belirtilmiştir (Ferrari vd., 2011). Yapılan çalışmada da benzer bir şekilde, en düşük nem içeriklerine sahip %2 konsantrasyonda zencefil tozu (%2.55 nem içeriği) ve %8 konsantrasyonda keçiyoynuzu tozu içeren keçi sütü tozlarının (%2.94 nem içeriği) ortamdaki daha fazla nemi absorbe edebildiği gözlenmiştir.



Şekil 8. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının higroskopite değeri (%)

Figure 8. The hygroscopicity (%) values of enriched goat milk powders

Duyusal değerlendirme, gıdaların çeşitli karakteristiklerine görme, koklama, tatma, dokunma veya işitme duyularının tepkilerini ölçmekte, analiz etmekte ve açıklamaktadır. Bu çalışmada, %4 konsantrasyonda tarçın, zencefil ve keçiyoynuzu ile zenginleştirilmiş sütü tozu örnekleri başlangıç nem içeriğine sulandırılarak keçi sütü üretilmiş ve örneklerin duyu değerlendirilmesi için eğitilmiş 20 panelist tarafından gerçekleştirilmiş ve sonuçları Çizelge 5'de verilmiştir. Yapılan duyu değerlendirme sonucunda ve panelist yorumları ışığında genel olarak tüm keçi sütlerinin beğenildiği sonucuna varılmıştır. En düşük skor 2.6 ile zencefil içeren keçi sütü tozlarının kokusunun değerlendirilmesiyle elde edilen skordur ve zencefil içeren keçi sütü tozları diğer örneklerle kıyasla koku ve genel beğeni açısından daha düşük puan almıştır. Tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil ile zenginleştirilmiş keçi sütlerinin renk, görünüş, kıvam ve genel beğeni skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Koku açısından incelendiğinde ise; tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının, diğer aromalar ile zenginleştirilmiş keçi sütlerine kıyasla daha çok beğenildiği sonucuna varılmıştır ($P < 0.05$). Renk, görünüş ve kıvam skorları incelendiğinde panelistlerin keçiyoynuzu aromasının sütlere verdiği rengi ve kıvamını beğendiği sonucuna varılmaktadır. Ayrıca keçiyoynuzu tozu ile zenginleştirilen keçi sütü tozlarının genel beğeni skorları da genel olarak yüksek bulunmuştur. Duyusal değerlendirme sonuçları ışığında, keçiyoynuzu tozunun alternatif

olarak instant süt tozu, sütlü tatlılar, bebek mamaları, hazır kek karışımları vb. gibi ürünlerde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. En çok beğenilen keçi sütü tozlarının (genel beğeni) tarçın ile zenginleştirilen keçi sütü tozları olduğu görülmektedir. Bu durumun nedeninin, ülkemizde yaygın olarak sütün tarçın ile birlikte

tüketilmesi sonucu, bu aromanın süte kattığı lezzet ve kokunun panelistler tarafından kolayca kabul edilebilir olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Zencefil aroması genel olarak süt tozlarında diğer aroma maddelerin kıyasla daha az tercih edilir olarak bulunmuştur.

Çizelge 5. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozu örneklerinin duyu analizi sonuçları

Table 5. The sensory evaluation of enriched goat milk powders

	Renk <i>Color</i>	Koku <i>Odor</i>	Görünüş <i>Appearance</i>	Kıvam <i>Viscosity</i>	Genel Beğeni <i>Overall Acceptance</i>
TKKST	3.3±1.1 ^a	4.3±1.2 ^b	3.6±1.0 ^a	3.8±0.8 ^a	3.9±1.3 ^a
KKKST	3.9±1.1 ^a	3.4±1.1 ^a	4.1±1.2 ^a	4.1±1.0 ^a	3.7±1.4 ^a
ZKKST	3.7±1.5 ^a	2.6±0.7 ^a	3.8±1.3 ^a	3.8±1.3 ^a	3.1±1.2 ^a

^{a-c} Örnekler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P <0.05).

^{a-c} Show the differences between the samples (P <0.05).

SONUÇ

Bu çalışmada; farklı konsantrasyonda (%1-8) tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil ile zenginleştirilmiş keçi sütleri püskürtmeli kurutucuda kurularak elde edilen süt tozunda meydana gelen değişimler incelenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının nem içeriği %2.55-4.97 arasında, su aktivitesi değeri ise %0.201-0.318 arasında değişmiştir. Bulunan değerler güvenli depolama için verilen değerlere uygun bulunmuştur (nem içeriği <%5, su aktivitesi <0.3). En yüksek parlaklık değerine sade keçi sütü tozları sahipken, bunu sırasıyla zencefil, keçiyoynuzu ve tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının takip ettiği gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının toz ürün özellikleri incelendiğinde; yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin sırasıyla 191.51-385.92 kg/m³ ve 364.41-498.22 kg/m³ arasında değiştiği gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının CI ve HR değerleri genellikle orta-kötü ve yüksek olarak bulunmuştur. Yapılan duyu analizi sonucunda, zenginleştirilmiş keçi sütü tozu örnekleri arasında ve kurutmanın hemen sonrasında tarçın ile zenginleştirilmiş keçi sütü tozu örnekleri daha çok beğenilmiştir. Zenginleştirilmiş keçi sütü tozlarının depolanarak, depolanma boyunca fiziksel ve toz ürün özelliklerinde meydana gelen

değişimlerin incelenmesi ve keçi sütü tozuyla yeni ürünlerin üretilmesi konusunda yapılacak çalışmaların literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akarca, G., Kahraman, A., Tomar, O. (2015). Değişik Oranlarda Tarçın İlave Edilmiş Pastörize Sütlerde Raf Ömrünün Değişimi. *AKÜ FEMÜBİD*, 15 (2015) 025401.
- Altuğ, T., Elmaci, Y. (2005). Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Meta Basım, İzmir, 50-64.
- Anonim, (2013). Baharat Tebliği, Türk Gıda Kodeksi, Tebliğ No: 2013/12, Resmi Gazete Sayısı: 28614.
- AOAC, (2005). Official Methods of Analysis, 18th ed. Association of Analytical Communities, Washington, DC.
- Babayan, V.K. (1981). Medium chain length fatty acid esters and their medical and nutritional applications. *J Am Oil Chem Soc*, 59, 49-51.
- Baker, C.G.J, McKenzie, K.A. (2005). Energy consumption of industrial spray dryers. *Drying Technol*, 23, 365-386.
- Barnwal, P., Singh, K., Mohite, A. (2014). Determination of thermal properties of

- cryoground cinnamon powder. *Journal of Spices and Aromatic Crops (JOSAC)*, 23 (2) : 262–267.
- Birchal, V.S., Passos, M.L., Wildhagen, G.R.S., Mujumdar, A.S. (2005). Effect of Spray-Dryer Operating Variables on Whole Milk Powder Quality. *Drying Technol*, 23(3):611-636.
- Cai, Y.Z., Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-Dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *J Food Sci*, 65 (7) 1248–1252.
- Caliskan, G., Dirim, N.S. (2016). The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders. *Powder Technol*, 287,308–314.
- Chua, K.J., Chou, S.K., Ho, J.C., Hawlader, M.N.A. (2002). Heat pump drying: recent developments and future trends. *Drying Technol*, 20(8): 1580-1600.
- Çoban, Ö., Patır, B. (2010). Antioksidan Etkili Bazı Bitki ve Baharatların Gıdalarda Kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi (EÜFBED)*, 5 (2):7-19.
- Ferrari, C.C., Germer, S.P.M., De Aguirre, J.M. (2011). Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder. *Drying Technol*, 30, 154–163.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P. (2008). Production of Instant Soymilk Powders by Ultrafiltration, Spray Drying and Fluidized Bed Agglomeration. *J Food Eng*, 84, 194-205.
- Jindarat, W., Rattanadecho, P., Vongpradubchai, S. (2011). Analysis of energy consumption in microwave and convective drying process of multi-layered porous material inside a rectangular wave guide. *Exp Therm Fluid Sci*, 35:728-737.
- Kaplan, H., (2005). Zencefilin (*Zingiber Officinale Roscoe*) Bitkisel Özellikleri ve Yetiştiriciliği. *Derim*, 22 (2): 1-9.
- Kirikçi, K. (2012). Koyun ve Keçilerde Emzirmenin Süt Verimi, Süt Kompozisyonu ve Sütteki Somatik Hücre Sayısına Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Koç, M., Ertekin, F. (2016). Şeker İçeriği Yüksek Gıdaların Püskürtülerek Kurutulması: Ürün Kazanımı ve Toz Ürün Özelliklerinin Geliştirilmesi. *Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(5): 336-344.
- Namhong, T. (2009). Production of Instant Goat Milk Powder by Spray Drying. Department of Food Science and Technology, Rajamangala University of Technology, Lanna, Thailand,181–185.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Tech*, 6(1), 36-60.
- Pazır, F., Alper, Y. (2016). Keçiyoynuzu Meyvesi (*Ceratonia Siliqua* L.) ve Sağlık. *Akademik Gıda*, 14(3): 302-306.
- Quek, S.Y., Chok, N.K., Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powder. *Chem Eng Process*, 46: 386-392.
- Reddy, R.S., Ramachandraa, C.T., Hiregoudar, S., Nidoni, U., Ramb, J., Kammar, M. (2014). Influence of processing conditions on functional and reconstitution properties of milk powder made from Osmanabadi goat milk by spray drying. *Small Rumin Res*, 119, 130–137
- Ribeiro, A.C., Ribeiro, S.D.A. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Rumin Res*, 89, 225–233.
- Rutherford, S.M., Moughan, P.J., Lowry, D., Prosser, C.G. (2008). Amino acid composition determined using multiple hydrolysis times for three goat milk formulations. *Int J Food Sci Nutr*, 59, 679–690.
- Sangwan, A., Kawatra, A., Sehgal, S. (2014). Nutritional composition of ginger powder prepared using various drying methods. *J Food Sci Technol*, 51(9): 2260–2262.
- Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U., Prosser, C.G. (2010). Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. *Small Rumin Res*, 89, 110–124.

Uruk, H.A. (2011). Farklı Hayvan Sütlerinden Üretilen Tereyağlarının Lipit Kısımında Bazı Bileşen Farklılıklarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Malatya.

Yaman, H., Coşkun, H. (2015). Pastörize Keçi Sütünün Dondurulması ve Dondurarak

Depolaması Sırasında Meydana Gelen Değişmeler. *GIDA*, 40(4):217-224.

Yousif, A.K., Alghzawi, H.M. (2000). Processing and Characterization of Carob Powder. *Food Chem*, 69: 283-287.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Uzuner, S. *Effect of crude pectinase on apple juice quality characteristics by desirability approach / İstenebilirlik yaklaşımı ile elma suyu kalite özellikleri üzerine ham pektinaz enziminin etkisi*.....558-590
- Altay, İ., Lokumcu Altay, F. *Tribology of pekmez (grape molasses)-tahin (sesame paste) mixtures / Pekmez-tahin karışımlarının tribolojisi*.....582-590
- Erkaya Kotan, T. *Mineral composition and some quality characteristics of ice creams manufactured with the addition of blueberry / Yaban mersini ilavesiyle üretilen dondurmaların mineral içerikleri ve bazı kalite özellikleri*.....635-643
- Aktaş, K., Levent, H. *The effects of chia (Salvia hispanica L.) and quinoa flours on the quality of rice flour and starch based-cakes / Chia (Salvia hispanica L.) ve kinoa unlarının pirinç unu ve nişasta bazlı keklerin kalitesi üzerine etkileri*.....644-654
- Ermis, E., Güneş, R., Zent, İ., Çağlar, M.Y., Yılmaz, M. T. *Characterization of hazelnut milk fermented by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus / Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ve Streptococcus thermophilus ile fermente edilmiş fındık sütünün karakterizasyonu*.....677-686

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- İpek, T., Dizlek, H. *Farklı form ve oranlarda yerfistiği ürünleri kullanılmasının top kek kalitesine etkisi / The effects of various forms and ratios of peanut products on cupcake quality*591-604
- Şar, T., Yeşilçimen Akbaş, M. B. *C. cereus biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü / Control of B. cereus biofilms by citric acid treatments*.....605-616
- Kılıç, S. *Aromatik bitki ve yağlarının mineral element miktarlarının karşılaştırılması / Comparison of mineral element amounts of aromatic plant and their oils*617-623
- Söğüt, E., Seydim, A. C. *Uçucu yağ içeren kitosan bazlı filmlerin karakterizasyonu / Characterization of chitosan based films incorporated with essential oils* 624-634
- Keskin, İ., Kocatepe, D., Turan, H., Altan, C. O. *Köstekli, B., Ceylan, A., Candan, C. Marinasyon işlemi sırasında hamside (Engraulis encrasicolus L. 1758) meydana gelen renk değişiminin ve bazı kimyasal parametrelerin belirlenmesi / The determination of some chemical parameters and color changes of anchovy (Engraulis encrasicolus L. 1758) during the marination process*655-662
- Çelebi Utku, N. M., Şişli, B., Karagül Yüceer, Y., Bayhan, A., Kırca Toklucu, A. *Soğuk maserasyonun Karalahna ve Cabernet Sauvignon şaralarının antosiyanin ve uçucu bileşenleri üzerine etkisi / Effect of cold maceration on anthocyanin and volatile compounds of Karalahna and Cabernet Sauvignon grape musts*663-676
- Diler, M., Akbağ, E., Işık, A., Avşar Günay, E., Erkayacan, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. *Isıl işlem ve olgunlaştırma sürelerinin Ezine peynirinde biyojen amin oluşumuna etkileri / Effects of the duration of heat treatment and ripening on the formation of biogenic amines in Ezine cheese*687-701
- Baykal, H., Karais, K., Çalışkan Koç, G., Dirim S. N. *Tarçın, keçiyoğunu ve zencefil ile zenginleştirilerek üretilmiş keçi sütü tozlarının özellikleri / The properties of cinnamon, carob and ginger enriched goat milk powder enriched goat milk powder* 716-732

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Öztürk, Z., Tiryaki Gündüz, G. *Gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmaların kullanımı / Use of probiotic microorganisms for the inhibition of foodborne pathogens* 533-548
- Küçük, S. C. *Yıbar, A. D vitamini ile zenginleştirilmiş yoğurdun besin değeri ve metabolik etkileri / Nutrient value and metabolic effects of vitamin D fortified yogurt*549-557
- Diñer, C., Topuz, A. *Meyve suyu işlemede ultrases kullanımı / The use of ultrasound in fruit juice processing* 569-581
- Yiğit, G. G., Cerit, İ., Demirkol, O. *Fonksiyonel kakao ve kakao ürünleri / Functional cocoa and cocoa products*702-715