

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 43

SAYI / NUMBER : 5

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

<p>Editörler / Editors ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p> <p>Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p>Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org</p> <p>Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli</p> <p>Hazırlayan / Prepared Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 10 2018</p>	<p>Danışma Kurulu / Advisory Board</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> Gümüskesen, 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, Mükerrrem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atilla <i>Ankara University, Turkey</i></p>
--	--

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 (Sciwindex), 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 (Sciwindex), 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)

- Tamer, C. E. *A research on the production of green coffee beverage fortified with apricot pulp* / Kayısı pulpu ile zenginleştirilmiş yeşil kahve içeceği üretimi üzerine bir araştırma800-811
- Erinç, H. *Effects of fat type on the textural properties of corn puree* / Yağ çeşidinin mısır püresinin tekstürel özellikleri üzerine etkileri856-864
- Akyurt, B. Başyigit, B., Çam, M. *Phenolic compounds content, antioxidant and antidiabetic potentials of seven edible leaves* / Yedi yenilebilir yaprağın fenolik bileşik içeriği, antioksidan ve antidiyabetik potansiyeli876-885

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Karakaş, M., Coşkun, H. UHT ve pastörize sütlerde organik klorlu pestisitlerin tayini / *Determination of organochlorine pesticides in UHT and pasteurized milk*.....733-744
- Öztürk, F., Gündüz, H. *Tüketime hazır midye dolmalarının mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi* / *Determination of microbiological quality of ready-to-eat stuffed mussels* 745-750
- Eyiler, E. Vural, H. *Karragenanlar ve et proteinleri arasındaki etkileşimlerin differansiyel taramalı kalorimetre ile incelenmesi* / *Determination of interactions between meat proteins and carragenans with differential scanning calorimetry* ...776-786
- Demir, H. Kılınç, A. *Termosonikasyon uygulamasının bal kabağı suyunun biyoaktif bileşen ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi* / *Effect of thermosonication on the bioactive components and antioxidant capacity of pumpkin juice*787-799
- Kılıç Büyükkurt, Ö., Nur Durak, A., Mustafa Erbaş, M. *Fenilketonüri hastaları için fenilalanin içeriği azaltılmış bir un geliştirilmesi* / *Development of a new of flour with reduced phenylalanine content for phenylketonuria patients*812-825
- Erinç, H., Yorulmaz, A., Tekin, A. *Malaksiyon sıcaklık ve süresinin zeytinyağının bazı özellikleri üzerine etkisi* / *The effect of malaxation time and temperature on some properties of olive oil*826-834
- Demirtaş, M., Coşkun, H. *Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen Tulum peynirlerinin olgunlaştırılması esnasında meydana gelen değişimler* / *The changes during ripening of Tulum cheeses produced by different coagulation methods from goat milk* 835-845
- Alifakı, Y. Ö., Şakıyan, Ö., İşçi, A. *Gilaburu (Viburnum opulus L.) meyvesinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu* / *Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cranberry bush (Viburnum opulus L.) fruit*.....846-855
- Akal, C., Buran, İ., Albayrak Delialioğlu, R., Yetişemiyen, A. *Farklı şeker oranlarının süt reçelinin kalite özellikleri üzerine etkisi* / *The effect of different sugar ratio on the quality properties of milk jam*865-875

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Vahapoğlu, B., Altan, E. N., Gülseren, İ. *Karayemiş meyvesinin biyoaktif özellikleri ve fonksiyonel gıdalarda kullanım potansiyeli* / *A review on bioactive properties of cherry laurel and its potential utilization in functional foods* 751-764
- Özer, P, Görgüç, A., Yılmaz, F. M. *Mikrodalga teknolojisinin bitkisel dokulardan makro ve mikro bileşenlerin özütlenmesinde kullanımı* / *The use of microwave technology on the extraction of macro and micro components from plant tissues*..... 765-775
- Sevindirici, G., Özdikicierler, O. Yemişçioğlu, F. *Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve GE riski: yapısı, oluşum mekanizması, yasal düzenlemeleri ve azaltılma yöntemleri* / *3-MCPD and GE risk in refined vegetable oils: structure, formation mechanism, legal regulations and mitigation techniques*886-895

UHT VE PASTÖRİZE SÜTLERDE ORGANİK KLORLU PESTİSİTLERİN TAYİNİ

Melis Karakaş, Hayri Coşkun*

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

Geliş / Received: 21.05.2018; Kabul / Accepted: 25.07.2018; Online baskı / Published online: 14.09.2018

Karakaş, M., Coşkun, H. (2018). UHT ve pastörize sütlerde organik klorlu pestisitlerin tayini. GIDA (2018) 43 (5): 733-744 doi: 10.15237/gida. GD18058

Karakaş, M., Coşkun, H. (2018). Determination of organochlorine pesticides in UHT and pasteurized milk. GIDA (2018) 43 (5): 733-744 doi: 10.15237/gida. GD18058

ÖZ

Bu çalışmada; ısıtılmış sütlerde organik klorlu pestisit tayin yöntemi geliştirilmesi ve geliştirilen yöntem ile piyasadan satın alınan UHT ve pastörize süt örneklerinde pestisit analizi yapılması amaçlanmıştır. Çalışmada süt örneklerinde 18 organik klorlu pestisit bileşiğinin (aldrin, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, dieldrin, α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan - sulfat, endrin, endrin aldehit, endrin keton, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, θ -HCH, heptaklor, heptaklorepoksit, metoksiklor) tayini için süt ve süt yağına yönelik iki farklı ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Örnek hazırlama aşamasında bileşiklerin süt ve süt yağından ayrılması için sıvı/sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Örnekler GC-MS/MS cihazı ile analiz edilmiştir. Metodun güvenilirliğini göstermek için metod validasyonu yapılmıştır. Kantitatif analiz için iç standart olarak pentakloronitrobenzene bileşiği kullanılmıştır. Algılama sınırı her iki metod için 0.36 -1.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aralığında elde edilmiştir. Bu değerler Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen en yüksek kabul edilebilir değerlerin altındadır. Elde edilen metotla 60 UHT ve 27 pastörize süt örneği analiz edilmiş fakat pestisit kalıntısına rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: UHT ve Pastörize Süt, Kalıntı, Organik Klorlu Pestisit, GC-MS/MS

DETERMINATION OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES IN UHT AND PASTEURIZED MILK

ABSTRACT

This study was carried out for developing methods for detecting pesticides in heat treated milks and for analysis of organo chlorinated pesticides in UHT and pasteurized milks. Two methods of extraction were performed from milk and from milk fat. Eighteen organochlorinated pesticides (aldrin, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, dieldrin, α -endosulfane, β -endosulfane, endosulfan-sulphate, endrin, endrin aldehyde, endrin ketone, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, θ -HCH, heptachlor, heptachlorepoxyde, metoxychlor) were searched in the milk samples. Liquid/liquid extraction was used to separate the compounds from milk and milk fat. The samples were analyzed by GC-MS/MS. Method validation was performed in the study. Internal standard pentachloronitrobenzene was used to quantify the results. The limit of detection (LOD) of the methods was obtained between 0.36-1.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$. These values were below the maximum residue levels of Turkish Food Codex. Sixty UHT and twenty seven pasteurized milk samples were analyzed, but no residues of the pesticides were detected.

Keywords: UHT and pasteurized milk, residue, organochlorine pesticides, GC-MS/MS

*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉ coskunhayri@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000/ 4829

☎ (+90) 374 254 4558

GİRİŞ

Pestisitler zararlı böcek ve bitkilerin yok edilmesi, uzaklaştırılması veya etkilerinin azaltılması için kullanılan madde ve madde karışımı olarak tanımlanırlar (Anonymous, 1999). Tarımsal ilaçlar kullanılmadığı takdirde tarımsal ürünlerin % 40 düzeyinde azalacağı ve bundan dolayı da tarımsal ilaçların kullanılmama gibi bir seçeneğinin olmadığı, asıl problemin pestisitlerin bilinçsizce kullanılmaları olduğu belirtilmektedir (Pala, 2018). Zirai mücadele amaçlı olarak kullanılan tarım ilaçları, çevre ve gıdalar aracılığı ile insan vücuduna alınmakta, kan, süt ve yağ dokusunda birikmekte ve uzun yarılanma ömürleri nedeniyle yaşam süresince vücutta kalarak ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadırlar. Diğer yandan sütteki pestisit kalıntıları süt ürünlerine geçerek insan sağlığı açısından daha tehlikeli boyutlara ulaşabilmektedirler (Akyüz ve Bakırcı, 1991; Karakaya ve Boyraz, 1992). Pestisitler süte hayvanın ilaçlanması ya da hayvanın bulunduğu ahırın dezenfeksiyonu sırasında hayvanın solunum ve deri yoluyla ilacı alması, tarlaların ilaçlanması sırasında hayvanın ilaca maruz kalması; hayvanın yediği yemler ve su ile bulaşması, gerekli koruyucu önlemler alınmadan yapılan ilaçlamalar sonrasında süt kaplarının ve sağım ekipmanının pestisitlerle bulaşması şeklinde olabilmektedir (Kavas ve Kınık, 2002). Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi kapsamında çıkarılan çeşitli tebliğlerde pestisitlerin gıdalarda bulunmasına izin verilen MRL düzeyleri belirlenmiştir (Anonymous, 1997; Anonymous, 2004; Anonymous, 2007).

Pestisitler; kullanıldıkları zararlı grup, kimyasal yapı, toksisite, formülasyon şekli, kullanma tekniği, ilacın fiziki hali, etki şekli, zararlının biyolojik dönemi, kontrol ettiği zararlının bulunduğu yer gibi kriterlere göre sınıflandırılmaktadır (Öztürk, 1990). Organik klorlu pestisit grubunda bulunan bileşiklerin tamamı yapılarında karbon-klor bağları da dahil olmak üzere, karbon, klor, hidrojen ve oksijen bulundurmaları, siklik karbon halkasına sahip olmaları, suda çözünmemeleri fakat yağda iyi çözünmeleri gibi birçok ortak özellik taşırlar (Güvenç, 2008). Bu gruptaki pestisitler kimyasal açıdan diğer pestisit gruplarına göre çok daha dayanıklıdırlar ve çevredeki bu dayanıklılıkları

yıllarla ölçülüdür (Stefanelli vd., 2004). Ülkemizde organik klorlu pestisit kullanımı 1985 yılında tamamen yasaklanmıştır (Acara, 2006).

Pestisitlerin bitkisel ve hayvansal kökenli gıdalarda analizi için birden fazla metot geliştirilmiştir. Geçmişte aldrin, lindan, DDT ve izomerleri gibi bileşiklerin analizinde kolorimetrik ve kromatografik yöntemlerden faydalanılmıştır. Kromatografik yöntemler arasında kâğıt kromatografi, ince tabaka kromatografi ve gaz kromatografi (GC)-elektron yakalama detektörü (ECD) yer almaktadır. Bu bileşikler yapılarında klor içerdiklerinden dolayı GC-ECD ile oldukça duyarlı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak günümüzde GC-ECD'den çok daha fazla duyarlı, GC-MS/MS cihazları kullanılmaya başlamıştır. Süt gibi yağ içeren örneklerin analizinde ekstraksiyon için; asetonitril, heksan/aseton, aseton, petrol eteri, etil asetat, metilen klorid ve kloroform gibi organik çözücüler kullanılmaktadır. Süten süt yağının ekstraksiyonunda ise asetonitril ve petrol eterinden faydalanılmaktadır (Who, 1979; Güvenç, 2008).

Maitre vd. (1994), Arjantin'de 1988-1990 yılları arasında 120 pastörize süte pestisit varlığını tespit etmek amacıyla inceledikleri sütlerin %98'inde heptaklor ve türevlerine, 30 süt örneğinde α -endosülfan ve β -endosülfan kalıntısına rastlamışlardır. Bulunan kalıntıların tolerans limitinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. İspanya'daki bir marketten alınan 97 adet % 3.2 yağ içeren süt örneklerinde organik klorlu pestisit kalıntısı üzerine bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada iki basamak saflaştırma işlemi uygulanmıştır. İlk saflaştırmada 4,4'-DDE, aldrin ve heptaklor bileşikleri için elüsyon çözücüsü olarak *n*-heksan, ikinci temizleme basamağında dieldrin, heptaklorepoksit, DDT ve izomerleri, HCH grubu ve klordan için ise elüsyon çözücüsü olarak *n*-heksan:metilenklorid (1:1) kullanılmıştır. Bakılan 97 süt örneğinin %1 - 95.5'inde aranan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmış ve bazılarının MRL değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir (Martinez vd., 1997). Hindistan'da 1993-1996 yılları arasında farklı mevsimlerde toplanan 75 süt örneğinde aldrin, α , β , γ HCH, DDT ve izomerleri, heptaklor ve izomerlerinin kalıntısına ve

mevsimler arasındaki kalıntı miktar dağılımına bakılmıştır. Çalışmanın sonunda, sonbahar mevsimindeki sütlerde daha fazla kalıntı miktarına rastlanmıştır. Analizi yapılan örneklerde yaz ve kış aylarında kalıntısına rastlanılan aldrinin, yaz, sonbahar, kış aylarında rastlanılan HCH ve toplam heptaklorun, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlen MRL (sırasıyla 0.15, 0.1 ve 0.15 µg/kg) değerinin üzerinde olduğu bildirilmiştir (Jonh vd., 2001). Ciscato vd. (2002); Brezilya'da 94 pastörize süt ve 38 pastörize edilmemiş süt olmak üzere toplam 132 süt örneğinde organik klorlu pestisit, organik fosforlu pestisit, karbamat ve sentetik piretroid pestisit gruplarından 78 bileşik kalıntısına bakmışlardır. Analiz sonuçlarına göre, pastörize olmayan 38 süt örneğinin % 10.2'sinde endosülfan, 94 pastörize süt örneğinin % 8.5'inde endosülfan, % 1.1'inde α -HCH saptanmıştır. Kampire vd. (2011); Afrika'nın Kampala şehrindeki süpermarketlerden aldıkları 54 çiğ süt ve 47 pastörize süt örneklerinde aldrin, dieldrin, lindan, α , β -endosülfan, DDT ve izomerleri kalıntısına rastlamışlardır.

Ülkemizde Kahramanmaraş, Van ve Manisa illerinde anne sütü üzerinde yapılan çalışmalarda incelenen örneklerde pestisit kalıntısına rastlanılmıştır (Erdoğan vd., 2004; Çok vd., 1997). Keskin (2008), Ekim 2005-Aralık 2007 yılları arasında 41 farklı ilden gelen 124 çiğ süt örneğinde pestisit kalıntısına rastlamıştır. Samsun'un çeşitli ilçelerinden toplanan 100 çiğ süt örneğinde aranılan pestisit kalıntısına rastlanılmamıştır (Güvenç, 2008). Ülkemizde 30 adet inek sütünde organik klorlu pestisitlerden DDT, α -HCH, HCB ve aldrin, 29 adet inek sütünde organik fosforlu pestisitlerden ise triklorfon, malatyon, diazinonun kalıntı miktarı incelenmiş ve incelenen inek sütü örneklerinin hiçbirinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmamıştır (Anonymous, 2012).

Yukarıda özeti verilen çalışmalarda bakılan pestisit sayısı sınırlı düzeydedir. UHT sütlerde çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan bu çalışmada UHT ve pastörize sütler için doğrudan süttten ve ayrıca süt yağından olmak üzere farklı ortamlardan sıvı/sıvı ekstraksiyon yöntemiyle pestisit analiz metodu geliştirilmesi ve geliştirilen yöntemle de toplamda

87 UHT ve pastörize süt örneklerinde 18 farklı pestisit bileşeni yönünden analizi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar her gün içmekte olduğumuz sütlerin pestisit kalıntısı yönünden ne kadar risk taşıdığına ortaya konması bakımından önem taşımaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada Gaz kromatografi-kütle spektrometresi olarak Thermo Electron Trace 2000 GC - Thermo Electron Polaris Q İyon Trap (Germany), azot altında buharlaştırma sistemi olarak Peak Scientific Inc. (Scotland) ve pestisit standart çözeltisi olarak 2000 mg/kg konsantrasyona sahip karışım kullanılmıştır (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Germany). Karışımın içerdiği pestisit bileşikleri; α - HCH, β - HCH, γ - HCH (Lindan), θ - HCH, Heptaklor, Aldrin, Heptaklorepoksit, α - endosülfan, 4,4' DDE, Dieldrin, Endrin, β - Endosülfan, 4,4' DDD, Endrin aldehit, Endosülfan sülfat, 4,4' DDT, Endrin keton ve Metoksiklor olmak üzere toplam 18 kadardır. İç standart çözeltisi olarak ise 100 mg/kg konsantrasyon değerine sahip pentakloro nitrobenzen kullanılmıştır (Absolute Standarts Inc.,USA).

Çalışmada analizi yapılan pastörize ve UHT süt örnekleri Kocaeli ili Gebze ilçesindeki süpermarketlerden, Mart-Ağustos 2012 tarihleri arasında 5 farklı UHT süt ve 3 farklı pastörize süt markası olacak şekilde, her marka kendi içerisinde farklı partileri temsil edecek şekilde (Anonymous, 2012) satın alınmıştır. Her bir örneğin miktarı 1 L'dir. Pastörize süt örnekleri soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve analiz yapılana kadar -18 °C'de, UHT süt örnekleri ise +4 °C'de saklanmıştır. Alınan süt örneği markaları büyük harflerle kodlanmıştır. Örneklerin kodları (A'dan H'ye) ve sayıları (kodun sağındaki rakam) şöyledir: UHT süt olarak A-12, B-12, C-12, D-12, E-12; pastörize sütlerden F-9, G-9 ve H-9. Böylece toplam 87 örnek analiz edilmiştir.

Yöntem

Pestisitlerin ekstraksiyonunda iki farklı yöntem geliştirilmiştir. Birinci yöntemde pestisitler doğrudan süttten, ikinci yöntemde ise pestisitler süt yağından ekstrakte edilmiştir. Her iki

yöntemde de ekstraksiyon metodu olarak sıvı/sıvı ekstraksiyonu kullanılmıştır. Çalışma boyunca süt örneklerindeki pestisit analizlerinde aynı Gaz Kromatografi ve Kütle Spektrofotometri (GC-MS/MS) kullanılmıştır. Sonuçların kantitatif olarak değerlendirilmesi için iç standart yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen metotların güvenilirliğini ispatlamak için her iki metodun metot validasyonu ve belirsizlik bütçesi hesaplanmıştır. Metotların geliştirilmesi için literatürde yapılan birçok çalışmadan faydalanılmıştır (Maitre vd., 1994; Mallatou vd., 1997; Martinez vd., 1997; Jonh vd., 2001; Ciscato vd., 2002; Ghidini vd., 2005; Lehotay, 2006; Ridgway vd., 2007; Paya vd., 2007; Weber vd., 2008; Anonymous, 2009; Kampire vd., 2011).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Standartların hazırlanması ve GC-MS/MS'de okunması

Bunun için 2000 mg kg⁻¹ konsantrasyonuna sahip 18 klorlu pestisit standart çözeltisi ve 100 mg/kg konsantrasyonuna sahip pentakloro nitrobenzen iç standart çözeltisinden 1 mg/kg konsantrasyonunda bir karışım hazırlanmış ve GC-MS/MS'de okuması yapılmıştır. Analizlerde iyon kaynağı, enjeksiyon ve ara bağlantı sıcaklık değerleri sırasıyla 230 °C, 280 °C ve 280 °C olmuştur. Taşıyıcı gaz olarak yüksek saflıkta 1 mL/dk sabit akış hızında helyum kullanılmıştır. Splitless enjeksiyon koşulunda, kütle spektrometre kısmında iyonlaştırma türü olarak EI (elektron etki iyonlaştırma) tekniği kullanılmıştır. GC kolonu olarak 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm film kalınlığı HT-5 özelliklerine sahip kolon kullanılmıştır. GC kısmında kullanılan sıcaklık programı Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. GC sıcaklık programı

Table 1. Temperature program of GC

	Hız (°C/dk) Speed (°C/Min)	Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	Bekleme Zamanı (dk) Holding time (Min)
Başlangıç Beginning	-	75	0
Birinci adım First step	8	190	2
İkinci adım Second step	6	250	3

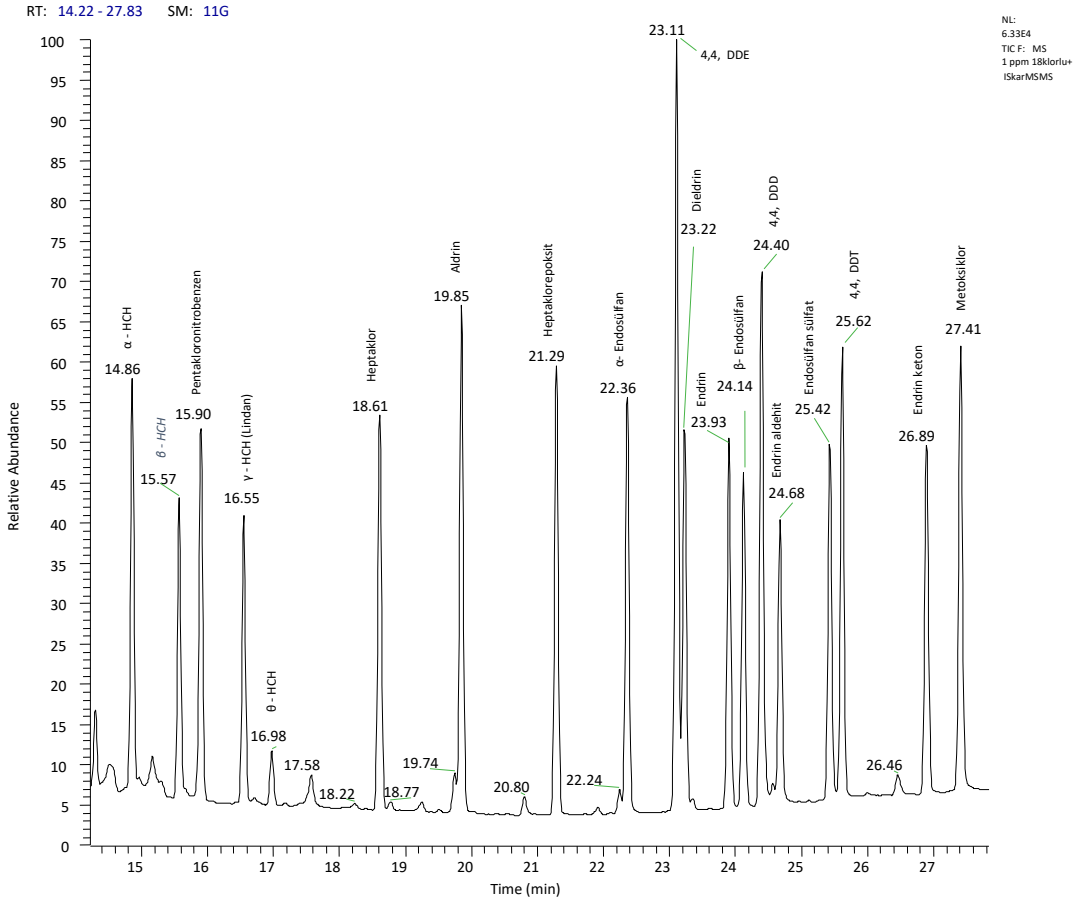
Bu yöntemle Şekil 1'deki kromatogramda görüldüğü gibi bileşiklere ait piklerin tam olarak

ayrılması sağlanabilmiştir. Bileşiklere ait alıkonma zamanları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan 18 organik klorlu pestisit ve iç standardın alıkonma zamanları

Table 2. Retention times of 18 chlorinated pesticides and inner standard used in the study

Bileşik Compound	Alıkonma Zamanı (dk) Retention time (Min)	Bileşik Compound	Alıkonma Zamanı (dk) Retention time (Min)
α - HCH	14.86	Dieldrin	23.22
β - HCH	15.57	Endrin	23.93
Pentakloronitrobenzen	15.90	β- Endosülfan	24.14
γ - HCH (Lindan)	16.55	4,4'-DDD	24.40
θ - HCH	16.98	Endrin aldehit	24.68
Heptaklor	18.61	Endosülfan sülfat	25.42
Aldrin	19.85	4,4' - DDT	25.62
Heptaklorepoksit	21.29	Endrin keton	26.89
α- Endosülfan	22.36	Metoksiklor	27.41
4,4'-DDE	23.11		



Şekil 1. Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisit standardının GS-MS/MS kromatogramı
Figure 1. GS-MS/MS Chromatogram of 18 chlorinated pesticides standards used in the study

Metot oluşturulurken, belirlenmesi gereken diğer iki parametre de, MS kısmında iyonlaşma üzerinde etkili olan voltaj (V) ve izole edilmiş iyon (m/z) değerleridir. Bu değerler göz önünde bulundurularak hedef analitlerin kantitatif ölçümü yapılmıştır. Elde edilen değerler Çizelge 3'te verilmiştir.

MS kısmında bileşiklerin doğru bir şekilde kantitatif tayinlerinin yapılması için bileşiklere ait olan izole edilmiş ürün iyonlarının tam olarak elde edilmesi gerekmektedir. Bunun için de molekül üzerine uygulanan voltaj önemli bir parametredir.

Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması

Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması amacıyla çalışmada kullanılan pestisitlerin izin verilen maksimum kalıntı limit konsantrasyon değerleri

göz önünde bulundurularak 18 klorlu pestisit standart karışımı ve iç standart ile kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan 18 klorlu pestisit karışımı için 100 mg/kg konsantrasyonunda birinci ara stok çözeltisi ve bu çözelti kullanılarak 2 mg/kg konsantrasyonunda ikinci ara stok çözeltisi gravimetrik olarak hazırlanmıştır. İç standart olarak kullanılan ve 100 mg/kg konsantrasyonundaki iç standarttan ise 2 mg/kg konsantrasyonunda ara stok çözeltisi gravimetrik olarak hazırlanmıştır. Daha sonra 2 mg/kg'lık ana bileşen ve iç standart stok çözeltileri kullanılarak 5 farklı konsantrasyon seviyesinde gravimetrik olarak kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerde, ana bileşenlerin konsantrasyon değerleri her bir çözeltide farklı, iç standart çözeltisinin konsantrasyon değeri ise her bir

çözeltilerde ayırdır. Çözücü olarak asetonitril kullanılmıştır. Çizelge 4'te kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyon değerleri ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ve Çizelge 5'te kalibrasyon eğrisinden elde edilen

determinasyon katsayıları (R^2) verilmiştir. Çizelge 5'de görüleceği üzere R^2 değerleri 0.99'un üzerindedir.

Çizelge 3. MS/MS Metot Parametreleri

Table 3. Parameters of MS/MS method

Bileşik <i>Compound</i>	İzole edilmiş iyon (m/z) <i>Isolated ion (m/z)</i>	MA (g/mol) <i>MW (g/mol)</i>	Voltaj <i>Voltage (V)</i>
Aldrin	262.9	364.91	0.8
4,4'-DDD	235.1	320.04	2
4,4'-DDE	246.1	318.02	2
4,4'-DDT	235.1	354.49	0.8
Dieldrin	263.0	380.91	1.4
α - Endosülfan	241.0	406.95	2
β - Endosülfan	243.0	406.93	2
Endosülfan sülfat	271.9	422.92	0.8
Endrin	243.0	380.91	2
Endrin aldehit	345.0	380.91	1.5
Endrin keton	316.9	346.46	2
α - HCH	181.0	290.83	2
β - HCH	181.0	290.83	2
θ - HCH	181.0	290.83	2
γ - HCH	181.0	290.83	2
Heptaklor	271.9	373.32	1
Heptaklorepoksit	253.0	389.32	2
Metoksiklor	227.2	345.65	1
Pentakloronitrobenzen	236.9	295.36	1

Çizelge 4. Kalibrasyon çözeltileri konsantrasyon değerleri ($\mu\text{g}/\text{kg}$)Table 4. Concentration values of calibration solutions ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Seviye <i>Level</i>	Ana bileşenler (18 klorlu pestisit) <i>Main compounds (18 chlorinated pesticides)</i>	İç standart <i>Inner standard</i>
A	50	250
B	100	250
C	250	250
D	500	250
E	750	250

Pestisitlerin süttten ekstraksiyon metodu

Oda sıcaklığına getirilen 20 g süt numunesi cam kavanoza koyulmuştur. Üzerine pestisit standart

çözeltisinden 105 μL ve iç standart ekleme yönteminin uygulanması amacıyla 105 μL iç standart çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra

kavanoza 60 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı ilave edilip, numune beş dakika vortekse tabi tutulmuştur. Vorteks işleminden sonra numune ve çözücü karışımı 20 dk boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Diğer tarafta, örnek içerisindeki suyu uzaklaştırmak için, 15 cm iç çapa sahip cam huniye önce bir miktar cam yünü ve üzerine 30 g susuz sodyum sülfat koyulmuştur. Sodyum sülfat, yapılacak işleme hazırlanması için 10 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı ile ıslatılmıştır. Huninin altına 250 mL'lik buharlaştırma balonu yerleştirilmiş ve ultrasonik banyodan alınan numunenin üst kısmındaki petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü fazı cam huniye hazırlanmış olan sodyum sülfattan geçirilmiştir. Kalan süt numunesinin üzerine tekrar 30 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü

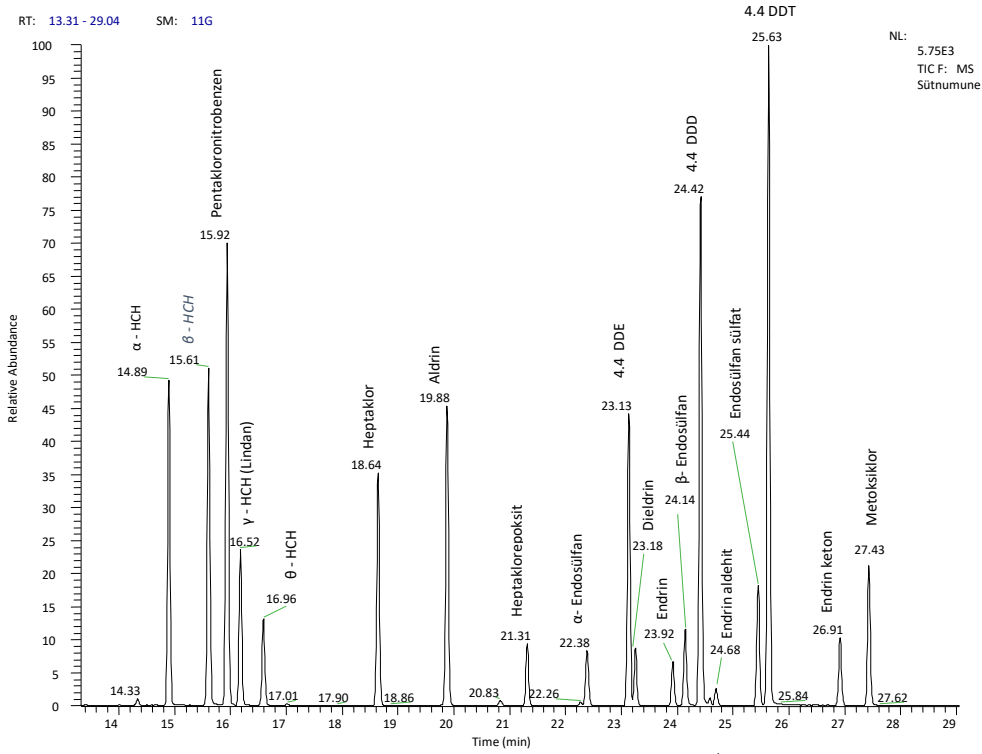
karışımı eklenerek ultrasonik banyoda 10 dakika daha bekletilmiş ve daha sonra yine üst faz alınarak sodyum sülfattan geçirilmiştir. Son olarak 10 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı daha eklenmiş, kavanozun kapağı kapatılmış ve 1 dakikalık vorteksin ardından çözücü fazı sodyum sülfattan geçirilmiştir. Kalan kısmın tamamı cam huniye aktarılmış ve numune şişesi üç defa 5 mL petroleteri:etilasetat (3:2) ile yıkanarak huniye ilave edilmiştir. Çözücü karışımı ve numune huniden iyice süzildükten sonra, süzüntü döner buharlaştırıcıda 1 mL'den daha az kalana kadar buharlaştırılmıştır. Döner buharlaştırıcıdan alınan balon petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı ile iyice yıkanarak 10 mL'lik şişelere alınmıştır. Daha sonra karışımın miktarı azot altında 3 g'a indirilmiştir.

Çizelge 5. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen R² değerleriTable 5. R² values obtained from calibration curve

Bileşik <i>Compound</i>	R ²	Bileşik <i>Compound</i>	R ²
α - HCH	0.9986	Dieldrin	0.9952
β - HCH	0.9984	Endrin	0.9982
γ - HCH (Lindan)	0.9982	β- Endosülfan	0.9967
θ - HCH	0.9983	4,4'-DDD	0.9983
Heptaklor	0.9972	Endrin aldehit	0.9985
Aldrin	0.9987	Endosülfan sülfat	0.9981
Heptaklorepoksit	0.9974	4,4'-DDT	0.9991
α - Endosülfan	0.9991	Endrin keton	0.9980
4,4'-DDE	0.9983	Metoksiklor	0.9969

Elde edilen ekstraktın safsızlıklarından arındırılması için 30 cm boy ve 1.5 cm iç çapa sahip olan cam kolon içine öncelikle bir miktar cam yünü koyulmuştur. Daha sonra 8 g florisil (675 °C de aktive edilmiş) ve 2 g susuz sodyum sülfat eklenmiştir. Kolonun şartlandırılması için 20 mL *n*-hekzan kullanılmıştır. Kolon kurumasına izin verilmeden, 3 g ekstrakt kolona yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra ekstraktın bulunduğu cam şişe iki defa 3 mL *n*-hekzan ile yıkanarak kolona aktarılmıştır. Elüsyon işlemi için 50 mL *n*-

hekzan kullanılmıştır. Buharlaştırma balonunda toplanan karışıma tutucu olarak 100 µL izooktan ilave edilmiş ve karışımın çözücüsü 1 mL'den daha az kalana kadar buharlaştırılmıştır. Döner buharlaştırıcıdan alınan balon *n*-hekzan ile yıkanarak 10 mL'lik cam şişelere alınmıştır. Numunenin son miktarı azot altında 500 mg'a indirilip 0.2 µm'lik PTFE filtreden geçirilerek 1.5 mL'lik GC şişesine aktarılmış ve GC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Bu metoda ait GC-MS/MS kromatogramı Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Pestisitlerin süttten ekstraksiyonunun GC-MS/MS kromatogramı
 Figure 2. GC-MS/MS chromatogram of pesticides extraction from milk

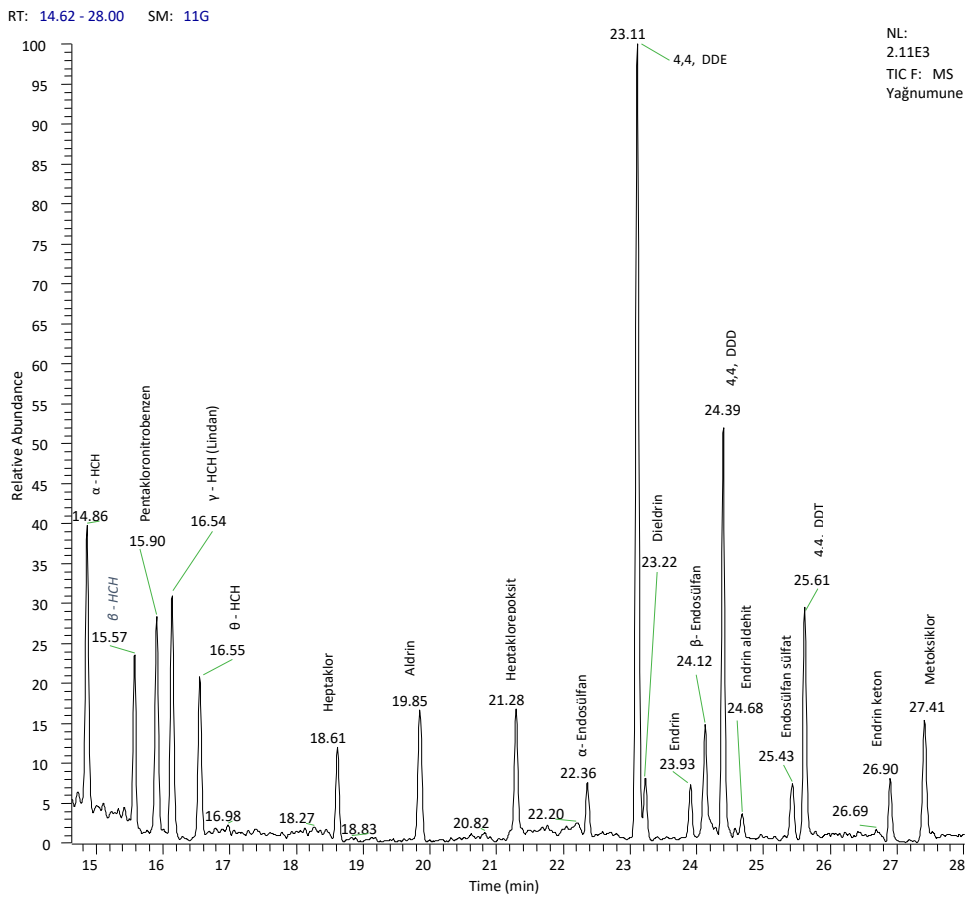
Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyon metodu

Oda sıcaklığına getirilen 200 g süt numunesi 1000 mL'lik ayırma hunisine koyulmuştur. İçerisine önce pestisit standart çözeltisinden 105 µL ve 105 µL iç standart çözeltisi, sonra süttü yağın ayrılmasına hazırlamak için 200 mL aseton eklenmiştir. Daha sonra ayırma hunisi içerisindeki karışım 10 dakika süre ile disperser örnek parçalayıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Sonra 200 mL petrol eteri eklenerek ayırma hunisi 10 dk boyunca elde çalkalanmıştır. Yaklaşık 15-20 dk içerisinde ayırma hunisinde iki faz oluşmak üzere ayırım gerçekleşmiştir. Karışımdaki asetonun uzaklaştırılması için ayırma hunisine yavaş yavaş 200 mL saf su eklenmiş, 5dk karıştırılmış ve yine faz ayırımının oluşması için beklenmiştir. Bu durumda ayırma hunisinde üç faz oluşmuştur. Faz ayırımının daha net gözlenmesi için yaklaşık 50 mL etilalkol kullanılmıştır. Ayırma hunisinin altında toplanan saf su ve aseton fazı daha sonra içerisine 100 mL petroleteri ilave edilip sıvı sıvı ekstraksiyon adımlarının tekrar edilmesi için bir

behere toplanmıştır. Ayırma hunisinin üstünde oluşan içerisinde yağ ve petrol eteri olan faz ise polipropilen santrifüj tüplerine alınarak 4000 rpm'de, 20°C sıcaklıkta 10 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz 500 mL'lik buharlaştırma balonuna aktarılmıştır. Diğer tarafta, örnek içerisinde kalan eser miktardaki suyu uzaklaştırmak için, 15 cm iç çapa sahip cam huniye önce bir miktar cam yünü ve üzerine 30 g susuz sodyum sülfat konulmuştur. Santrifüj sonrası 500 mL'lik buharlaştırma balona alınan petrol eteri ve süt yağı karışımı sodyum sülfattan geçirilerek 250 mL'lik buharlaştırma balonunda toplanmıştır. Daha sonra balonda toplanan karışımdaki çözücü döner buharlaştırıcıda 5 mL kalana kadar buharlaştırılmıştır. Buharlandırmadan sonra balonda kalan yağ 10 mL'lik cam şişeye alınmış ve balon yaklaşık 2 mL petrol eteri ile yıkanmıştır. Daha sonra şişede toplanan yağdaki çözücü azot altında buharlaştırılmıştır. Kalan yağ numunesinin 0.5 g'ı 250 mL'lik buharlaştırma balonuna alınmış, üzerine 15 g sodyum sülfat ve 100 mL petroleteri eklenmiş, buharlaştırma

balonunun ağzı bir kapak yardımıyla kapatılarak 5 dk boyunca karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda çözücü karışımı süzgeç kâğıdından süzülerek başka bir 250 mL'lik buharlaştırma balonuna toplanmış ve örnek içerisindeki çözücü döner buharlaştırıcı ile örnek miktarı 1 mL kalana kadar buharlaştırılmıştır. Buharlaştırma sonrası balonda kalan numune en az 5 mL petroleteri ile yıkanarak cam şişelere alınmış ve daha sonra azot altında son miktar 1 g olarak ayarlanmış ve bu kısma saflaştırma işlemi uygulanmıştır.

Elde edilen ekstraktın safsızlıklarından arındırılması, pestisitlerin süttten ekstraksiyon metodunda olduğu gibi yapılmıştır. Farklı olarak 10 g florisil kullanılmış, kolonun kurumasına izin verilmeden 1 g ekstrakt kolona yüklenmiştir. Ayrıca, elüsyon işlemi için 80 mL *n*-hekzan kullanılmıştır. Bu metoda ait GC-MS/MS kromatogramı Şekil3'de verilmiştir.



Şekil 3. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonunun GC-MS/MS kromatogramı
Figure 3. GC-MS/MS chromatogram of pesticides extraction from milk fat

Sütte ve süt yağında pestisit tayini metot validasyonları

Sütte 18 klorlu pestisit bileşiklerinin tayinine ilişkin metot geliştirme aşaması tamamlandıktan sonra, iki farklı analiz metodu geliştirildiği için iki metot validasyon işlemi Anonymous (2009)'a göre

yapılmıştır. İkinci metotta validasyon parametrelerinden biri olan doğrusal aralık ve çalışma aralığı birinci metotta olduğu gibi incelenmiştir. Fakat algılama sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), doğruluk ve tekrarlanabilirlik

parametreleri için ayrı deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Organik klorlu pestisitlerin birçoğunda yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Çalışmada, pestisitlerin süttten ekstraksiyonu ile elde edilen geri kazanım değerleri % 83.3- 102.0 arasında değişirken, pestisitlerin yağdan ekstraksiyonu ile elde edilen geri kazanım değerleri % 67 - 86 arasında bulunmuştur. Pestisitlerin süttten ekstraksiyonu ile elde edilen LOD değerleri 0.36 - 0.56 µg kg⁻¹ arasında ve LOQ değerleri 1.13-1.86 µg/kg arasında değişim gösterirken, pestisitlerin yağdan ekstraksiyonu ile elde edilen LOD değerleri 0.72 - 1.11 µg/kg arasında, LOQ değerleri 2.00-2.95 µg/kg arasında değişim göstermiştir. Bu çalışmada aranılan pestisitlerin her birinden elde edilen LOQ değerlerinin, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen MRL (maksimum kalıntı limiti) değerlerinin altında olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle yöntem kullanılabilirlik açısından olumlu bulunmuştur.

Yönteme ilişkin ayrıca belirsizlik hesaplamaları da yapılmıştır. Belirsizlik kaynakları, kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılmak üzere hazırlanan ana ve iç olmak üzere iki stok çözelti, metot uygulamasının başında örneğe iç standardın eklenmesi, örneğin tartımı, örneğin son miktarının ayarlanması, kalibrasyon grafiği, geri kazanım ve tekrarlanabilirliktir. Tüm bunların hesaplanmasında Anonymous (2009)'den faydalanılmıştır. Yapılan çalışmada iki farklı metot geliştirilmiştir, fakat belirsizlik hesabı geliştirilen iki metot için de aynı adımları içermektedir. Belirsizlik değeri ölçüm sonucu ± genişletilmiş belirsizlik % 95 güven aralığında ve k=2 şeklinde raporlanmıştır.

Piyasadan alınan UHT ve pastörize süt örneklerinde pestisit analizleri

Bu çalışma kapsamında satın alınan 60 adet UHT süt ve 27 adet pastörize süt örnekleri üzerinde yapılan analizler neticesinde, aranılan 18 organik klorlu pestisit bileşiklerinin hiç birine rastlanılmamıştır. Çalışma kapsamında analiz edilen 87 adet süt örneğinde organik klorlu pestisit bulunamayışı sevindirici bir durumdur. Benzer sonuçlar Keskin (2008), Güvenç (2008) ve Anonymous (2012) tarafından da ortaya

konmuştur. Çalışmada analiz edilen UHT ve pastörize sütlerde aranılan organik klorlu pestisitlerin kalıntılarına rastlanılmamasının en önemli sebebi bu bileşiklerin kullanımının ülkemizde yıllar önce yasaklanmış olması gösterilebilir. Ayrıca sütlere uygulanan ısı işlemlerin kalıntı düzeylerinde azalmalara neden olduğu söylenebilir (Karakaya ve Boyraz, 1992). Daha genel sonuçlara ulaşılması için, belli bölgelerde, bir laktasyon süresi boyunca her ay örnek alınarak hammaddeden son ürüne kadar analizler yapılarak çalışmalar tekrarlanabilir.

Sonuç olarak, UHT ve pastörize süt örnekleri kullanılarak iki farklı ekstraksiyon metodu geliştirilmiş ve organik klorlu pestisitlerin tespiti için GC-MS/MS kullanılmıştır. Geliştirilen metotların validasyonu yapılmış ve belirsizlik bütçesi hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalarda, organik klorlu pestisitler yönünden yöntemin duyarlılığının, doğruluğunun ve tekrarlanabilirliğinin yeterli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla çalışmada kullanılan her bir yöntemin güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır. İlaveten, çalışmada analizi yapılan 60 UHT ve 27 pastörize süt örneklerinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmaması insan sağlığı açısından olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Ancak bu türden çalışmaların tüm laktasyon periyodunu kapsayacak şekilde hammaddeden son ürüne kadar genişletilmesi önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Laboratuvar çalışmaları sırasında verdikleri tüm desteklerden ötürü TÜBİTAK ÜME'ye ve yetkililerine, verilerin değerlendirilmesi sırasında bilgisini ve yardımını esirgemeyen TÜBİTAK ÜME Kimya Grubu araştırmacılarından Sayın Burcu BİNİCİ'ye teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Acara, A. (2006). Türkiye'nin kalıcı organik kirletici maddelere (POP'ler) ilişkin Stockholm sözleşmesi için taslak ulusal uygulama planı. Unido-POP'ler Projesi. Proje No. GF/TUR/03/008, 237s.

Akyüz, N., Bakırcı, İ. (1991). Pestisitlerin gıda zincirine girişi, I. Uluslararası Çevre Koruma

- Sempozyumu, 8-8 Haziran 1991, İzmir, Türkiye, vol.2: 254-265.
- Anonymous (1979). Environmental health criteria 9: DDT and its derivatives. World Health Organization, Geneva.
- Anonymous (1997). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Pestisit Kalıntı Limitleri. 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı T.C. Resmi Gazete, Ankara.
- Anonymous (1999). US EPA (United States Environmental Protection Agency), Summary of OPP reduced- risk pesticides initavite., 2 pp.
- Anonymous (2004). Türkiye Çevre Atlası. T. C. Çevre ve Orman Bakanlığı. Erişim: <http://www2.cedgm.gov.tr/dosya/cevreatlasi.htm>. Erişim Tarihi: 15.09.2012.
- Anonymous (2007). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: 2007/17. 9 Mart 2007 tarih ve 26457 sayılı T.C. Resmi Gazete, Ankara.
- Anonymous (2009). Tübitak UME, Kimyasal Ölçümlerde Metot Validasyonu ve Belirsizlik Hesaplamaları, Kocaeli.
- Anonymous (2012). Ulusal Kalıntı Kontrol Planı. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Ciscato, C.H.P., Gebara, A.B., Spinosa, H.S. (2002). Pesticide residues in cow milk consumed in Sao Paulocity, Brazil. *J Environ Sci Health Part B*, 37 (4), 323-330.
- Çok, I., Bilgili, A., Özdemir, M., Özbek, H., Bilgili, N., Burgaz, S. (1997). Organochlorine pesticide residues in human breast milk from agricultural regions of Turkey, 1995-1996. *Bull Environ Contam Toxicol*, 59: 577-582.
- Erdoğan, Ö., Covaci, A., Kurtul, N., Schepens, P. (2004). Levels of organohalogenated persistent pollutants in human milk from Kahramanmaraş region, Turkey. *Environ Int*, 30: 659-666.
- Ghidini, S., Zanardi, E., Battaglia, A., Varisco, G., Ferretti, E., Campanini, G., Chizzolini, R. (2005). Comparison of contaminant residue levels in organic and conventional milk and meat products from northern Italy. *Food Addit Contam*, 22 (1): 9-14.
- Güvenç, D. (2008). Samsun yöresinden toplanan çiğ süt örneklerinde bazı pestisit kalıntılarının araştırılması üzerine bir çalışma, Ondokuz Mayıs Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Doktora Tezi, 64s.
- Jonh, P.J., Bakore, N., Bhatnagar, P. (2001). Assessment of organochlorine pesticide residue levels in dairy milk and buffalo milk from Jaipur City, Rajasthan, India. *Environ Int*, 26: 231-236.
- Kampire, E., Kiremine, B.T., Nyanzi, S.A., Kishimba, M. (2011). Organochlorine pesticide in fresh and pasteurised cow's milk from Kampala markets, Uganda. *Chemosphere*, 84: 923-927.
- Karakaya, M. ve Boyraz, N. (1992). Gıda kirlenmesinde pestisitler ve korunma yolları. *Çevre Dergisi*, 1(4): 11-15.
- Kavas, G., Kınık, Ö. (2002). Süt ve ürünlerinde pestisitler. *Gıda Müh Der*, 12: 31-38.
- Keskin, F.İ. (2008). Türkiyede çiğ sütlerde bazı organik fosforlu insektisit kalıntılarının incelenmesi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Ens., Doktora Tezi, 62s.
- Lehotay, S.J. (2006). Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach for determining pesticide residues. In: Pesticide Protocols. Ed., Vidal J.L.M. Humana Press Totowa, New Jersey, 239-263.
- Maitre, M.I., Sierra, P., Lenardon, A., Enrique, S., Marino, F. (1994). Pesticide residue levels in Argentinian pasteurized milk. *Sci Total Environ*, 155: 105-108.
- Mallatou, H., Pappas, C.P., Kondyl, E., Albanis, T.A. (1997). Pesticide residue in milk and cheese from Greece. *Sci Total Environ*, 196: 111-117.
- Martinez, M.P., Angulo, R., Pozo, R., Jodral, M. (1997). Organochlorine pesticides in pasteurized milk and associated health risks. *Food Chem Toxicol*, 35: 621-624.
- Öztürk, S. (1990). Tarım İlaçları. *Hasad Yayıncılık*, 65-71.

Pala, M. 2018. Tarım ilaçları sorunu. *Gıda Tekn Der*, 22(2): 6.

Paya, P., Anastassiades, M., Mack, D., Sigolova, I., Tasdelen, B., Oliva, J., Barba, A. (2007). Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multi residue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical Bioanal Chem*, 389:1697-1714.

Ridgway, K., Lalljie, S.P.D., Smith, R.M. (2007). Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. *J Chromatogr A*, 1153: 36-53.

Stefanelli, P., Muccio, A. D., Ferrara, F., Barbini, D. A., Generali, T., Pelosi, P., Amendola, G., Vanni, F., Muccio, S. D., Ausili, A. (2004). Estimation of intake of organochlorine pesticides and chlorobiphenyls through edible fishes from the Italian Adriatic Sea during 1997. *Food Control*, 15: 27–38.

Weber, C.I., Mureşan, Gh., Georgescu, B. (2008). Organochlorine pesticide residue analysis from cow milk: A review. *B UASVM Anim Sci Biotechnol*, 65(1-2): 43-48.

TÜKETİME HAZIR MİDYE DOLMALARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Fatma Öztürk*, Hatice Gündüz

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 25.07.2018; Kabul / Accepted: 18.08.2018; Online baskı / Published online: 26.09.2018

Öztürk, F., Gündüz, H. (2018). Tüketime hazır midye dolmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. GIDA (2018) 43 (5): 745-750 doi: 10.15237/gida.GD18077

Öztürk, F., Gündüz, H. (2018). Determination of microbiological quality of ready-to-eat stuffed mussels. GIDA (2018) 43 (5): 745-750 doi: 10.15237/gida.GD18077

ÖZ

Bu çalışma İzmir’de satışı sunulan midye dolmaların mikrobiyel kalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 10 farklı bölgeden 50 farklı satıcıdan alınan midye dolmalarda toplam aerob mezofil bakteri (TAMB), toplam maya-küf (TMK), toplam koliform ve *Staphylococcus aureus* sayısı araştırılmıştır. Çalışma sonunda midye dolmalardaki TAMB sayısının 2.8-6.82; TMK sayısının <2.00-4.81; koliform sayısının <2.00-5.43 ve *Staphylococcus aureus* sayısının <2.00-5.04 log KOB/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca midye dolmaların % 8’inin 5 log KOB/g’nin üzerinde TAMB sayısına sahip olduğu ve mikrobiyal kalitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple özellikle tüketime hazır gıdaların üretimi, dağıtımı ve satışı sırasında çapraz kontaminasyonu önlemeye yönelik çabaların artırılması ve özellikle personel hijyenine gereken önemin verilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Midye dolma, aerob mezofil bakteri, maya küf, koliform, *Staphylococcus aureus*.

DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF READY-TO-EAT STUFFED MUSSELS

ABSTRACT

This study was carried out to determine the microbial quality of stuffed mussels sold in Izmir. For this purpose, total aerobic mesophilic bacterium (TAMB), total yeast-mold (TYM), total coliform and *Staphylococcus aureus* counts were investigated in stuffed mussel purchased from 50 different vendors in 10 different regions. At the end of the study, the number of TAMB was 2.8-6.82; TYM number <2.00-4.81; Coliform count <2.00-5.43 and the number of *Staphylococcus aureus* <2.00-5.04 log CFU/g in stuffed mussel. It was also found that 8 % of the mussels stuffed have TAMB numbers above 5 log CFU/g and the microbial quality was found to be low. Therefore, it is necessary to increase the efforts to prevent cross-contamination especially during the production, distribution and sale of ready-to-eat food, and especially to give the necessary precautions for personnel hygiene.

Keywords: Stuffed mussel, Aerobic mesophilic bacterium, Yeast-mold, Coliform, *Staphylococcus aureus*.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉ fatma.ozturk@ikc.edu.tr

☎ (+90) 232 329 3535/4215

☎ (+90) 232 325 0535

GİRİŞ

Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) *Mytilae* familyasında yer alan, Karadeniz kıyılarında ve Türkiye'nin diğer sahillerinde yaygın olarak bulunan bir bivalve türüdür (Manousaridis vd., 2005; Mannas vd., 2014; Kocatepe vd., 2016). Bu tür, denizel ekoloji açısından oldukça büyük öneme sahip olmasının yanında kaliteli ve ucuz protein kaynağı olması nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Goulas vd., 2005; Ulusoy ve Özden, 2011; Kök vd., 2015). Midyeler düşük miktarda yağ ve kolesterol içerirken çoklu doymamış yağ asitleri bakımından (toplam yağ asitlerinin % 42-45'i) oldukça yüksek değerlere sahiptir (Orban vd., 2002; Goulas vd., 2005). A, B1, B2, B6, B12, C vitaminlerini ve kalsiyum, demir, magnezyum, fosfor, selenyum gibi mineralleri yapısında ihtiva etmesi nedeniyle beslenme açısından oldukça değerli bir gıdadır (Ulusoy ve Özden, 2011; Kök vd., 2015). Ayrıca bu türün kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı düşünülmektedir (Kromhout vd., 1985).

Dünyada kurutulmuş, tütülenerek, marine edilerek, kızartılarak ve konserve yapılarak değerlendirilen midyeler ülkemizde daha çok midye dolma şeklinde tüketilmektedir (Bindu vd., 2004; Durgun, 2013). FAO tarafından tüketime hazır ürünler sınıfına dahil edilen midye dolma, Türkiye'de genelde sokak satıcıları tarafından satışa sunulan geleneksel bir gıda ürünüdür (FAO 1997; Bingöl vd., 2008; Kışla ve Üzgün, 2008).

Sokakta satılan gıdaların güvenliği hammadde kalitesinden, işleme ve depolama uygulamalarına kadar birçok faktörden etkilenmektedir (Hanashiro vd., 2005). Bu gıdalar, böcek, sinek ve hava kirliliği gibi çevresel koşullara maruz kalmaktadır. Ayrıca çoğu sokak satıcısı gıdaları çapraz bulaşmalara maruz bırakmakta, hijyenik olmayan koşullarda ve uygun olmayan sıcaklıklarda depolayarak gıda güvenliği için gereken koşulları göz ardı etmektedir. Bu durum midye dolma gibi sokakta satışa sunulan ürünlerin patojenik bakteriler açısından riskli gruba girmesine neden olmaktadır (Hanashiro vd., 2005; Ateş vd., 2011). Buna ek olarak, yüksek glikojen ve serbest aminoasit içeriği, yüksek su aktivitesi (yaklaşık 0.95) ve yüksek pH (6.7-7.1) değerleri

midyeleri mikroorganizmaların gelişimi için ideal bir substrat yapmaktadır (Goulas vd., 2005; Marino vd., 2005). Bu sebepler ile açık alanlarda herhangi bir tedbir alınmadan satılan midye dolmalar, gıda zehirlenmelerine ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmektedir (Normanno vd., 2006; Lhafi ve Kuhne, 2007; Kocatepe vd., 2016).

Sonuç olarak; kirli sulardan elde edilen ve hijyen koşulları göz ardı edilerek üretilen midye dolmalar uygun olmayan koşullarda satışa sunulduğunda mikroorganizma yükü artmakta ve halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Kışla ve Üzgün, 2008; Kök vd., 2015). Bu çalışmanın amacı; İzmir'de satışa sunulan midye dolmaların mikrobiyel kalitesinin belirlenmesidir. Bu amaçla, 10 farklı bölgeden 50 farklı satıcıdan alınan midye dolma örneklerinde toplam aerop mezofil bakteri (TAMB), toplam maya-küf, toplam koliform ve *Staphylococcus aureus* sayısı araştırılmıştır. Çalışmada, sadece genel mikrobiyolojik kalite analizi yapılmış, buna göre koliform grup içinde *E. coli* varlığının belirlenmesine gerek duyulmamıştır. Benzer şekilde tipik *Staph. aureus* kolonileri için koagülaz testi yapılarak halk sağlığı açısından değerlendirme yapılmamıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Midye dolmaların toplanması

İzmir'de 2016 yılı Mart-Haziran aylarında 10 farklı bölgeden, sokakta midye dolma satışı gerçekleştiren 50 farklı satıcıdan rasgele olacak şekilde midye dolma örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler soğuk zincir altında (+4 °C'de) laboratuvara getirilmiş ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

10 g midye dolma örneği aseptik koşullarda 90 ml steril Maximum Recovery Diluent çözeltisi içerisine aktararak homojenize edilmiştir. Homojenizattan 1/10 seyreltme oranına dikkat edilerek 10⁶ dilüsyonlara kadar seyreltme yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0.1 mL alınarak besiyeri içeren Petri kutularına yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. TAMB sayımı için Plate Count Agar'a ekim yapıp 28-30 °C'de 48 saat, TMK sayımı için Potato Dekstroz Agar'a ekim yapıp 28-30 °C'de 5 gün, toplam koliform sayımı için

Violet Red Bile Agar'a ekim yapıp 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerlerinde gelişen kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiştir. *Staphylococcus aureus* sayımı için Baird-Parker Agar'a ekim yapıp 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen tipik kolonilere Gram boyama ve katalaz testleri yapılmıştır (Harrigan, 1998; Anonymous, 2000).

BULGULAR

Midye dolma örneklerinde tespit edilen TAMB, TMK, toplam koliform ve *Staphylococcus aureus* sayısı Çizelge 1'de verilmiştir. Tüketime hazır ürünlerdeki TAMB sayısı gıdaların işlenmesi, depolanması ve satışı sırasında uygulanan sanitasyonun etkinliğini göstermektedir (Khan vd., 2005; Kışla ve Üzgün, 2008). Yapılan bu çalışma sonucunda İzmir'de satışa sunulan midye dolmalardaki TAMB sayısının 2.8-6.82 log KOB/g arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 1. İzmir'de satışa sunulan midye dolmaların mikrobiyolojik analiz sonuçları (n= 50)

Table 1. The results of microbiological analysis of mussel stuffs sold in İzmir

Mikroorganizma <i>Microorganism</i>	Minimum değer (log KOB/g) <i>Min (log CFU/g)</i>	Maksimum değer (log KOB/g) <i>Max (log CFU/g)</i>	Ortalama değer (log KOB/g) <i>Mean (log CFU/g)</i>
Toplam aerop mezofil bakteri	2.18	6.82	3.61
Toplam maya- küf	<2.00	4.81	3.3
Toplam koliform	<2.00	5.43	3.48
<i>Staph. aureus</i>	<2.00	5.04	3.19

SONUÇ VE TARTIŞMA

Kışla ve Üzgün (2008) sonbahar ve kış aylarında satın alınan midye dolmaların % 16'sında ilkbahar ve yaz aylarında satın alınan midye dolmaların % 72'sinde 5 log KOB/g üzerinde TAMB tespit etmişlerdir. Bingöl vd. (2008) İstanbul'da satışa sunulan midye dolmalardaki TAMB sayısının 10²-10⁷ KOB/g arasında olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Hampikyan vd. (2008) yine İstanbul'da satışa sunulan midye dolmalardaki TAMB sayısını 1.2x10³-2.3x10⁷ KOB/g düzeyinde tespit etmişlerdir. Durgun (2013) tarafından İzmir'de seyyar satıcılardan satın alınan midye dolmaların TAMB sayısının ortalama 2.51 log KOB/g düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Kök vd. (2015) ise İzmir ve Aydın illerinde sokakta satılan midye dolmaların TAMB sayısını 2-6.44 log KOB/g olarak tespit etmişlerdir. Kocatepe vd. (2016) tarafından Sinop kıyılarında sokakta ve restoranda satılan midye dolmanın TAMB sayısının 4.96-5.35 log KOB/g arasında değiştiğini ve sokakta satılan midyelerin restoranda satılanlara kıyasla daha yüksek düzeyde TAMB sayısına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışma sonucunda tespit edilen TAMB sayısının diğer araştırmalarla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, tüketime hazır ürünler olan midye dolmanın yüksek TAMB sayısı bu gıdaların hijyen kurallarına uygun olarak üretilmediğini, depolanmadığını ve satışa sunulmadığını göstermektedir. TMK sayısı, gıdaların üretimi sırasındaki hijyenik koşullar hakkında bilgi vermektedir (Bayazit vd., 2003). Tarafımızca yürütülen çalışmada midye dolmalardaki TMK sayısının <2.00-4.81 log KOB/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Bingöl vd. (2008) ise midye dolmalardaki TMK sayısının 2-6 log KOB/g düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir.

Fekal koliform grup bakterilerin doğal habitatları sıcakkanlı hayvanların bağırsakları olmakla birlikte dışkı kökenli olmayan koliformlar toprak, bitki ve yüzey sularında da yaygın olarak bulunmaktadır (Ateş vd., 2011). Gıdalarda bulunan fekal olmayan koliform grubu bakterilerin varlığı sadece genel bir kalite yetersizliğini, yetersiz hijyenik işleme, depolama ve taşıma koşulları ile yetersiz ısı işlem

yapıldığını göstermektedir. Kirlilik belirtisi olarak dikkate alınan fekal olmayan koliform grubu varlığı, üründe patojen mikroorganizmaların varlığına doğrudan işaret etmez (Anonymous, 2000; Anonymous, 2005; Kışla ve Üzgün, 2008) ancak halk sağlığı açısından potansiyel tehlikeleri çağrıştırır ve dolayısı ile bu gibi ürünlerde, fekal olmayan koliformlara yüksek sayılarda rastlanırsa daha dikkatli olunmasını ve daha detaylı mikrobiyolojik analizler yapılmasının gerekliliğini ortaya çıkarır. Yapılan bu çalışma sonucunda İzmir'de satışa sunulan midye dolmalardaki koliform bakteri sayısının $<2.00-5.43$ log KOB/g arasında değiştiği ve midye dolmaların % 66'sında koliform bakteri bulunduğu tespit edilmiştir. Bingöl vd. (2008) İstanbul'da satılan midye dolmaların 130 tanesinde (% 77.38) ortalama 2.8×10^5 KOB/g düzeyinde koliform bakteri tespit etmişlerdir. Hampikyan vd. (2008) ise koliform bakteri sayısının $1 \times 10^1-5.8 \times 10^6$ KOB/g arasında değiştiğini, Kocatepe vd. (2016) tarafından da Sinop kıyılarında sokak ve restoranlarda satışa sunulan midye dolmalarındaki sayının $3.08-4.14$ log KOB/g arasında olduğu belirlenmiştir. Kışla ve Üzgün (2008) sonbahar ve kış aylarında satın alınan midye dolmaların % 28'inde, ilkbahar ve yaz aylarında satın alınan midye dolmaların ise çoğunda koliform bakteri tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların aksine Kök vd. (2015) İzmir ve Aydın illerinde satışa sunulan midye dolmalarda koliform bakteri tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışma sonucunda midye dolmalarda tespit edilen koliform bakteri sayısı Kök vd. (2015) haricindeki araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Koliform bakteri sayısının yüksek olması, midye dolmaların hazırlanması, depolanması ve satışı sırasındaki sanitasyon uygulamalarının yetersiz olduğunu göstermektedir.

Bir gıdada *Staphylococcus aureus* varlığı, uygun olmayan işleme prosesine ve çapraz bulaşma olasılığına işaret etmektedir (Kışla ve Üzgün, 2008). Yapılan bu çalışma sonucunda İzmir'de satışa sunulan midye dolmalardaki *Staph. aureus* sayısının $<2.00-5.04$ log KOB/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Benzer şekilde; Kök vd. (2015) İzmir ve Aydın illerinde sokaklarda satılan midye dolma örneklerinde *Staph. aureus* sayısını 2-4.55

log KOB/g olarak tespit etmişlerdir. Hampikyan vd. (2008) ise midye dolmalardaki *Staph. aureus* sayısının $1.0 \times 10^2-3.1 \times 10^2$ KOB/g arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, İzmir'de satışa sunulan midye dolmaların % 50'sinde *Staph. aureus* tespit edilmiştir.

Bingöl vd. (2008) İstanbul ilinde satışa sunulan 168 midye dolma örneğinin 40 tanesinde ve Ateş vd. (2011) 600 adet midye dolma örneğinin 360 tanesinde *Staph. aureus* tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışma Bingöl vd. (2008) ve Ateş vd. (2011) tarafından yürütülen çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Araştırma sonuçları dikkate alındığında, İzmir'de satışa sunulan midye dolmaların hazırlanışı, dağıtımı ve satışı sırasında çapraz bulaşmaların olduğu, kullanılan alet-ekipmanın temizlik ve dezenfeksiyon işleminin etkili bir şekilde yapılmadığı ve özellikle çalışan personelin kişisel hijyenine gereken önemi vermediği tespit edilmiştir.

Herhangi bir tedbir alınmadan sokak tezgâhlarında satışa sunulan tüketime hazır gıdaların, gıda zehirlenmesi ve gıda kaynaklı hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir araç olduğu bilinmektedir (Zhang vd., 1998; Hanashiro vd., 2005; Bingöl vd., 2008). Yapılan bu araştırmada, İzmir'de satışa sunulan midye dolma örneklerinin hijyenik kalitesinin düşük olduğu saptanmıştır. Bu bağlamda, bu ürünlerin tüketiciye kaliteli, temiz ve güvenilir bir şekilde sunulması için işlenmesi, muhafazası ve satışı sırasındaki hijyen ve sanitasyon koşullarının iyileştirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada elden edilen sonuçlar özetlenecek olursa;

-İzmir'de satılan midyelerin mikrobiyolojik kalitesinin yeterli olmadığı söylenebilir. Bununla birlikte, çalışmanın amacı doğrultusunda Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği ile bir kıyaslama yapılmamıştır.

-Her ne kadar bu çalışmada elde edilen sonuçlar, daha önce yapılmış olanlar ile uyum gösteriyorsa da mevsimsel ve yöresel farklılıklara bağlı olarak bu gibi ürünlerde farklılıklar çıkması beklenebilir.

-Sadece İzmir'de satılan midyelerde değil, açıkta satılan tüm gıdalarda gerekli hijyen kontrolleri sıklıkla yapılmamıştır.

KAYNAKÇA

Anonymous, (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara, Türkiye, 522 s.

Anonymous, (2011). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı 3. Mükerrer Resmî Gazete.

Anonymous, (2005). Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed A.K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358 sayfa.

Ateş, M., Ozkizilcik, A., Tabakoglu, C. (2011). Microbiological analysis of stuffed mussels sold in the streets. *Indian J Microbiol*, 51(3): 350-354, doi: 10.1007/s12088-011-0174-6.

Bayizit, A.A., Yılsay, T.Ö., Yılmaz, L. (2003). Bazı soğuk mezelerin hijyenik kalitelerinin belirlenmesi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (4): 35-42.

Bindu, J., Srinivasa Gopal, T.K., Unnikrishnan Nair, T.S. (2004). Ready-to-eat mussel meat processed in retort pouches for the retail and export market. *Packag Technol Sci*, 17(3): 113-117, doi: 10.1002/pts.637.

Bingöl, E.B., Colak, H., Hampikyan, H., Muratoglu, K. (2008). The microbiological quality of stuffed mussels (midye dolma) sold in Istanbul. *Br Food J*, 110(11): 1079-1087, doi: 10.1108/00070700810917992.

Durgun, S. (2013). İzmir'de açıkta satılan midye dolmaların mikrobiyolojik açıdan incelenmesi. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Manisa, Türkiye, 66s.

FAO, (1997). Street foods. FAO food and nutrition paper 63. Report of an FAO technical meeting on street foods, Calcutta, India, 6 to 9 November 1995. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Goulas, A.E., Chouliara, I., Nessi, E., Kontominas, M.G., Savvaidis, I. N. (2005). Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging. *J Appl Microbiol*, 98(3): 752-760, doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02512.x.

Hampikyan, H., Ulusoy, B., Bingöl, E.B., Çolak, H., Akhan, M. (2008). İstanbul'da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 38(2): 87-94.

Hanashiro, A., Morita, M., Matt, G.R., Matt, M. H., Torres, E.A.F.S. (2005). Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of Sao Paulo City, Brazil Agnes. *Food Control*, 16(5): 439-444, doi: 10.1016/j.foodcont.2004.05.004.

Harrigan, W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press. San Diego.

Khan, M.A., Parrish, C.C., Shahidi, F. (2005). Enumeration of total heterotrophic and psychrotrophic bacteria using different types of agar to evaluate the microbial quality of Blue Mussels (*Mytilus edulis*) and Sea Scallops (*Placopecten magellanicus*). *Food Res Int*, 38(7): 751-758, doi: 10.1016/j.foodres.2005.03.001.

Kışla, D., Üzgün, Y. (2008). Microbiological evaluation of stuffed mussels. *J Food Prot*, 71(3): 616-620, doi: 10.4315/0362-028X-71.3.616.

Kocatepe, D., Taşkaya, G., Turan, H., Kaya, Y. (2016). Microbiological investigation of wild, cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis* L. 1819) and stuffed mussels in Sinop-Turkey. *Ukr Food J*, 5(2): 299-305.

Kök, F., Şahiner, C., Koçak, P., Göksoy, E. Ö., Beyaz, D., & Büyükyörük, S. (2015). Determination of microbiological quality of stuffed mussels sold in Aydın and İzmir. *MANAS J Eng*, 3(1): 70-76.

Kromhout, D., Bosschieter, E.B., Coulander, C. D.L. (1985). The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from

- coronary heart disease. *N Engl J Med*, 312(19): 1205-1209, doi: 10.1056/NEJM198505093121901.
- Lhafi, S.K., Kuhne, M. (2007). Occurrence of *Vibrio* spp. in Blue Mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. *Int J Food Microbiol*, 116(2): 297-300, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.01.007.
- Mannas, H., Mimouni, R., Cihouqy, N., Hamadi, F., Urtaza, J.M. (2014). Occurrence of *Vibrio* and *Salmonella* species in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Moroccan Atlantic Coast. *Springerplus*, 3(1): 265, doi: 10.1186/2193-1801-3-265.
- Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E.K., Tsiotsias, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2005). Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. *Food Microbiol*, 22(1): 1-9, doi: 10.1016/j.fm.2004.06.003.
- Marino, A., Lombarda, L., Fiorentio, C., Orlandella, B., Monticelli, L., Nostro, A., Alonzo, V. (2005). Uptake of *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* Non-O1 and *Enterococcus durans* by, and depuration of Mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Int J Food Microbiol*, 99(3): 281-286, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.09.003.
- Normanno, G., Parisi, A., Addante, A., Quaglia, N.C., Dambrosio, A., Montagna, C., Chiocco, D. (2006). *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and microorganisms of fecal origin in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) sold in the Puglia Region (Italy). *Int J Food Microbiol*, 106(2): 219-222, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.05.020.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Marzetti, A., Caproni, R. (2002). Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian Sites. *Food Chem*, 77(1): 57-65, doi: 10.1016/S0308-8146(01)00322-3.
- Ulusoy, Ş., Özden, Ö. (2011). Preservation of stuffed mussels at 4°C in modified atmosphere packaging. *J Aquat Food Prod Technol*, 20(3): 319-330, doi: 10.1080/10498850.2011.573180.
- Zhang, S., Iandolo, J., Stewart, C. (1998). The Enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus* spp Encodes a second enterotoxin determinant (sej). *FEMS Microbiol Lett*, 168(2): 227-233, doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13278.x.



KARAYEMİŞ MEYVESİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE FONKSİYONEL GIDALARDA KULLANIM POTANSİYELİ

Beyza Vahapoğlu, Esmâ Nur Altan, İbrahim Gülseren*

Istanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi (İZÜ), Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş / Received: 17.05.2018; Kabul / Accepted: 15.09.2018; Online baskı / Published online: 01.10.2018

Vahapoğlu, B., Altan, E.N., Gülseren, İ. (2018). Karayemiş meyvesinin biyoaktif özellikleri ve fonksiyonel gıdalarda kullanım potansiyeli. *GIDA* (2018) 43 (5): 751-764 doi: 10.15237/gida.GD18055

Vahapoğlu, B., Altan, E.N., Gülseren, İ. (2018). A review on bioactive properties of cherry laurel and its potential utilization in functional foods. GIDA (2018) 43 (5): 751-764 doi: 10.15237/gida.GD18055

ÖZ

Karayemiş, besin değeri yüksek olan bir meyvedir. Bünyesinde değerli yağ asitleri, organik asitler ve mineral maddeler bulundurmaktadır. İçerdiği fenolik bileşikler ve bu bileşiklerin ortaya çıkardığı yüksek antioksidatif kapasite, karayemişi bu anlamda değerli bir kaynak haline getirmektedir. Karayemişin geleneksel Türk halk tıbbında da önemli bir yeri vardır ve solunum ile sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Geleneksel tedavi yöntemi olarak özellikle anti-diyabetik etkisi dolayısıyla sıklıkla tüketilmektedir. Buna rağmen mevcut durumda karayemişin ülkemizde ekonomik potansiyelini karşılamış bir meyve olduğunu söylemek zordur. Grubumuz karayemişin biyoaktif özelliklerinin (özellikle anti-karsinojenik özellikler) değerlendirilmesi alanında faaliyet göstermektedir. Karayemişin geleneksel tedavi yöntemlerindeki kullanımının incelenmesi, karayemiş bileşenlerinin fonksiyonel gıda formülasyonlarında kullanılması ve kullanım alanlarının artırılması, bu değerli meyvenin ekonomik potansiyeline ulaşması bağlamında önem arz etmektedir. Buna ek olarak kapasite arttırıcı kültürleme çalışmaları da ürünün ticari potansiyeli açısından kritiktir. Bu derlemede, karayemiş meyvesinin fonksiyonel özelliklerinin araştırılması, karayemiş bileşenleri-sağlık ilişkisinin kurulması ve bu alandaki yenilikçi gıda uygulamalarının artırılması bağlamında mevcut durum değerlendirilmektedir.

Anahtar kelimeler: Karayemiş; fonksiyonel gıdalar; fenolik bileşikler; biyoaktif özellikler; anti-karsinojenik aktivite.

A REVIEW ON BIOACTIVE PROPERTIES OF CHERRY LAUREL AND ITS POTENTIAL UTILIZATION IN FUNCTIONAL FOODS

ABSTRACT

Cherry laurel is a fruit with high nutritional value containing significant amounts of valuable fatty acids, organic acids and minerals. Its phenolic compounds and their antioxidative capacity establish cherry laurel as a valuable antioxidant source. Cherry laurel has played eminent roles in Turkish folk medicine, especially in regards to respiratory and digestive disorders, while it has also been traditionally due to its anti-diabetic effect. Currently, it is difficult to claim cherry laurel has met its economic potential. Our group is involved in the evaluation of its bioactivities, particularly anti-carcinogenic properties. The investigation of cherry laurel in traditional treatments, utilization in functional foods, and broadening of its utilization spectrum will realize its potential. Furthermore, investigations on culturing of cherry laurel varieties will have a defining role in harvest capacity and commercial potential. Here, current situation is evaluated regarding the functional properties of cherry laurel, and increasing extent of innovative food applications.

Keywords: Cherry laurel; functional foods; phenolic compounds; bioactive properties; anti-carcinogenic activity.

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ ibrahim.gulseren@izu.edu.tr,

☎ (+90) 212 692 9619

☎ (+90) 212 693 9758

GİRİŞ

Karayemiş, (*Laurocerasus officinalis*, Roem., syn: *Prunus laurocerasus* L.) Roseaceae ailesinden olan ve yaprak dökmeyen bir ağaçtır. Bu ağacın meyvesi karayemiş ismi ile birlikte “Taflan”, “Laz Yemişi”, “Laz Kirazı” ve “Karamış” isimleriyle tanınmaktadır. Meyveleri oval, 8-20 mm çapında, koyu mor ve olgunlaştığında siyah renktedir (İslam, 2002). Karayemiş ağacı 6 m'ye kadar uzayabilmektedir. Yaprakları koyu yeşil, ince ve ortalama 16,3 cm uzunluğundadır (İslam ve Deligöz, 2012). Şekil 1'de Samsun'da bulunan Karadeniz Tarımsal Araştırma Müdürlüğü tarafından tedarik edilmiş olan karayemiş türlerine ait bir fotoğraf sunulmaktadır. Karayemiş, mart ayından nisan ayının ilk yarısına kadar çiçek açıp temmuz ve eylül ayları arasında meyve vermektedir (İslam, 2002; Beyhan, 2010). Karayemiş farklı toprak türlerinde yetişebilen bir meyve türüdür. Karadeniz Bölgesi çevresinde,

bazı Balkan ülkelerinde, Batı Avrupa, Güney ve Batı Kafkasya, İran, Doğu Marmara ve bazı Akdeniz ülkelerinde yetişmekte olup özellikle Doğu Karadeniz bölgesinde tüketimi oldukça yaygındır (Kolaylı vd., 2003). Birçok ülkede yetişmesine rağmen, kullanım alanı gelişmemiş ve yöresel tüketim ya da üretimin önüne geçememiş bir meyvedir. Kullanım alanlarının artması ile karayemiş üretiminde modern tarım tekniklerinin uygulanmasına ihtiyaç duyulacaktır. Bu bağlamda yapılmakta olan seleksiyon çalışmaları, karayemişin kullanılabilirliği ve endüstriyel ürünlerde kapasite artırma faaliyetleri açısından önem taşıyacaktır. Bu çalışmada karayemiş meyvesinin gerek geleneksel tıbbımızda, gerekse de modern fonksiyonel gıdalar biliminde anlamı ve önemi ile bu bilgilerin ışığında bu önemli ürünüme değer kazandırılması ihtiyacı vurgulanmaktadır.



Şekil 1. Üç farklı karayemiş türüne ait meyve örnekleri (Soldan sağa: 55K06, 61K04 ve 61K05). Numune tedariki ve isimlendirilmesi, Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü (Samsun) tarafından yapılmıştır.

KARAYEMİŞ SELEKSİYONU

Karayemiş meyvesinin kimyasal ve fiziksel özellikleri türüne göre farklılık göstermektedir (Sülüoğlu vd., 2015). Farklı türlerdeki meyvelerin rengi ve şekli değişebildiği gibi şeker içeriği ve yağ içeriği de değişebilmektedir. Benzer şekilde toplam fenolik içeriği %68 oranına kadar değişim gösterebilmektedir (Halilova ve Ercisli, 2010). Ülkemizde şu ana kadar yapılan çalışmalarda, karayemişin ‘Oxygemmis’, ‘Globigemmis’ ve

‘Angustifolia’ olmak üzere üç kültür formu tespit edilmiştir (Ayaz vd., 1997). Bol miktarda yüksek kaliteli ürün elde edebilmek için karayemişin yetiştiği ideal toprağın ve üstün tiplerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu alanda çeşitli çalışmalar mevcuttur. İslam ve Deligöz (2012), karayemişin yetiştiği toprak türlerini araştırmışlardır. Karayemişin derin, iyi havalandırılan, nemli ve humuslu, killi-kumlu topraklarda iyi yetiştiğini gözlemişlerdir. Aynı zamanda asidik

topraklarda karayemişin yetişmesi mümkün olsa da ürünün kireçli topraklara tolerans gösterdiğini ve havalanması iyi olan derin topraklarda verimin arttığını ifade etmişlerdir. Sülüoğlu ve Çavuşoğlu (2010) karayemişin sera koşullarında köklenme kapasitesine farklı dozlardaki indol-3-bütirik asit (IBA)'nın etkisini araştırmışlardır. IBA toksik olmayan ve çok sayıda bitki türünün köklenmesini teşvik eden yardımcı bir maddedir. 1 ve 2 g.L⁻¹ IBA uygulaması ile maksimum kök uzunluğuna ulaşıldığını ve kök kalitesinin arttığını belirtmişlerdir. Çelik ve ark. (2015) karayemişin yeşil, yarı-odunsu ve odunsu yapraklı çeliklerin köklenmesi üzerine farklı dozlardaki IBA uygulamalarının etkisi araştırmışlardır. Araştırmacılar temmuz ayında alınan yapraklı yarı odunsu çeliklere 5 farklı dozda (0, 50, 100, 500 ve 1000 ppm) IBA uygulanmıştır. 100 ppm gibi düşük IBA dozu uygulanarak seradaki perlit ortamında ve buhar ile nemlendirildiğinde kolaylıkla çoğaltılabileceğini tespit etmişlerdir (Çelik vd., 2015). Dolayısıyla ülkemizde meyve veriminin iyileştirilmesi ve yüksek kapasiteli tarımsal üretim için araştırmaların da sürdürüldüğünü söylemek yerinde olacaktır. Bu sayede endüstriyel gıda ürünleri için gerekli ham maddenin temini mümkün olacaktır.

KARAYEMİŞİN BİLEŞİMİ

Karayemiş zengin besin içeriğine sahip değerli bir meyvedir. Meyvenin kimyasal bileşimi incelendiğinde nem içeriğinin %75-84, kül içeriğinin %0.21-0.81, protein içeriğinin %0.50-2.3, yağ içeriğinin %0.09-0.25 ve karbonhidrat içeriğinin %11.21-20.23 aralığında değiştiği görülmektedir (Kolaylı vd., 2003; Şahan vd., 2010; Alaşalvar vd., 2005). Şeker içeriği üzerine yapılan

çalışmalarda en yüksek şeker içeriğinin kuru ağırlık bazında %14-27 oranlarında glikoz ve %20-27 oranlarında fruktoza karşılık geldiği görülmüştür. Sakkaroz içeriği ise genellikle iz miktarda olmak üzere, en yüksek %0.114 olarak tespit edilmiştir (Ayaz vd., 1997a; Ayaz vd., 1998). Şeker alkol olarak ise en yüksek %7-15 aralığında sorbitol ve %3-5 aralığında mannitol içermektedir. Toplam şeker içeriği olarak yabancı karayemişin diğer kültürlere göre şeker içeriğinin %23 daha yüksek olduğu görülmüştür (Ayaz, 1997). Bir başka çalışmada ise şeker kompozisyonu yaş ağırlığı bakımından incelendiğinde %5-6 glukoz, %4-5 fruktoz, %1-5 sorbitol ve bunlara ek olarak %0.1-0.2 ksiloz ve %0.05-0.09 arabinoz içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca karayemiş numunelerinin yaş ağırlık bazındaki sakkaroz miktarı ölçülemediğinden, karayemiş pekmezinde az miktarda varlığı gözlemlenmiştir (Alaşalvar vd., 2005). Çelik vd. (2011), Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yetişen karayemiş genotipinin fiziksel ve kimyasal meyve karakteristiklerini incelemişlerdir. İncelenen ürünlerde meyve ağırlığı 1.87-4.01 gr arasında bulunmuştur. En yüksek toplam fenolik madde içeriği taze ağırlıkta 503 mg.100 g⁻¹ olarak ölçülmüştür. Taze ağırlıkta bulunan toplam karotenoid miktarı 207-278 mg.100 g⁻¹, C vitamini miktarı 2.1-4.1 mg.100 g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Çözünabilir katı içeriği, ham lif, ham protein, pektin, kül ve pH miktarları sırasıyla %9.64-17.10, %0.44-0.85, %1.44-2.09, %0.20-0.47, %0.25-0.71 ve 4.30-4.93 aralığındadır. Literatürde sunulmuş bulunan karayemiş meyvesine ait temel kompozisyonel analiz verilerinin bir kısmı Çizelge 1'de sunulmaktadır.

Çizelge 1. Karayemiş meyvesine ait temel kompozisyonel analizler*

Nem (%)	Kül (%)	Toplam Protein (%)	Toplam Yağ (%)	Toplam Çözünabilir Şeker (%)	Kaynak
76.73-81.95	0.400-0.80	0.50-1.57	0.09-0.25	11.61-12.57	Alaşalvar ve ark. (2005)
75.9-84.1	0.21-0.31	1.9-2.3	-	-	Kolaylı ve ark. (2003)
79.18-80.19	0.67-0.81	0.92-0.99	0.14-0.17	11.21-12.01	Şahan ve ark. (2012)

*Nem, kül, toplam protein, toplam yağ ve toplam çözünabilir şeker verileri, % konsantrasyon cinsinden özetlenmektedir.

Karayemiş meyvesinin “Globigemmis” türünün çiçeklenme sonrası şeker bileşiminde olan değişim incelenmiştir. Fruktoz ve glikoz seviyesi olgunlaşma süresinin başlarında azalma gösterirken sonraki dönemlerde artış göstermiştir. Sorbitol miktarı ise her gelişim aşamasında düşüş göstermiştir. Çalışmada sakkaroz gelişimi ise ilk haftalarda gözlemlenmemiştir ancak sonraki aşamalarda nispeten düşük miktarlarda sakkaroz tespit edilmiştir (Var ve Ayaz, 2004).

Karayemiş meyvesinin yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1) ve linoleik asit (C18:2) içerdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmalarda en yüksek yağ asidi içeriğinin yaklaşık %48 oranında linoleik asit olduğu bildirilmiştir (Ayaz vd., 1997b).

Karayemiş çekirdeği %18,3 oranında yağ içermektedir. Karayemiş çekirdeğinin yağ asidi içeriği incelendiğinde ise oleik asit baskın yağ asidi olarak tespit edilmiştir ve bu yağ asidini linoleik ve palmitik asit izlemiştir (Özgül-Yücel, 2005). Aynı zamanda çekirdekte □ -tokoferol ve □ -sitosterol varlığı da tespit edilmiştir (Alaşalvar vd., 2006).

Yine “Globigemmis” türünün olgunlaşma süresince yağ asit kompozisyonunun değişimi incelenmiştir ve meyvelerin yağ asidi içeriği ile doymuş ve doymamış yağ asidi içeriklerinin hasat zamanına bağlı olarak farklılık arz ettiği anlaşılmıştır (Ayaz ve Kadioğlu, 2000). Ayrıca karayemiş meyvesinin değişen konsantrasyonlarda riboflavin, tokoferol, β-karoten ve retinol içerdiği de bulunmuştur (Sanches-Silva vd., 2013).

Eken ve ark. karayemiş meyvesi ve tohumlarının esansiyel element ve metal içerikleri üzerine yaptığı çalışmada karayemiş meyvesinin içerdiği mineralleri yaklaşık olarak %67.4 potasyum, %10.5 magnezyum, %0.2 kalsiyum ve %0.2 sodyum olarak tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmada karayemiş meyvesinin içerdiği iz elementler arasında demir, bakır, çinko, nikel, molibden, kobalt ve krom tespit edilmiştir. Bununla birlikte örneklerde civa, kadmiyum, arsenik, kurşun, gümüş ve alüminyum gibi toksik

mineraller tespit edilememiştir (Eken vd., 2017). Kalyonlu ve ark. (2013) meyvenin mineral içeriğini incelemişlerdir ve karayemiş meyvesinde en yüksek miktarda bulunan mineralin potasyum olduğunu bildirmişlerdir. Bu özellikleriyle karayemiş, mineral içeriğiyle sağlık açısından risk oluşturmadan günlük diyetimize olumlu katkılarda bulunabilecek bir meyvedir.

Estringü vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, 12 çeşit karayemiş meyvesinin taze ağırlık bazında mineral, şeker ve organik asit içeriğini incelenmiştir. Meyvelerin içerdikleri başlıca mineraller arasında fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, sodyum, manganez, demir, bakır ve çinko tespit edilmiştir. Meyvelerin tamamında malik asit baskın olmak üzere, oksalik, sitrik, asetik, süksinik ve fumarik asitlerin konsantrasyonları da raporlanmıştır.

Karahalil ve Şahin (2011) yaptıkları çalışmada ise organik asit içeriği bakımından karayemiş meyvesi incelenmiş; oksalik asit, malik asit, L-askorbik asit, asetik asit, sitrik asit, süksinik asit ve fumarik asit içerdiği bildirilmiştir. Aynı zamanda Şahan ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada karboksilik asit miktarı türe göre çeşitlilik gösterirken, hidroksisüksinik asit ve benzoik asit farklı kültürlerdeki karayemişlerin tamamında temel bileşen olarak tespit edilmiştir.

Temel kompozisyonel bilgilere ek olarak, karayemiş ile ilgili literatürde meyve ekstraktları ve bunlarda bulunan fenolik bileşenler detaylı olarak incelenmiştir. Özellikle fenolik bileşenlerin kompozisyonu ile ilgili değerlendirmelerin numunelerin fenolik profillerini kısmen açıklamış olması dolayısıyla bu alanda yeni ve daha detaylı analizlerin de yayınlanmasına gereksinim duyulmaktadır. Bununla birlikte özellikle meyve ekstraktlarının anti-oksidatif ve anti-karsinojenik aktivitelerin temel kaynağı da fenolik bileşenler olduğundan bu alandaki analizler de kritiktir ve bu husustaki bilgiler karayemiş bileşenlerinin fonksiyonel gıdalarda kullanılmasının temelini oluşturacaktır.

Ayaz ve ark. (1997b), GC-MS analizine dayalı olarak yaptıkları çalışmada vanilik asidi bütün

karayemiş türlerinde ana fenolik asit olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlara göre, karayemiş meyvesinde hem sinamik asitler (p-kumarik, n-kafeik) hem de benzoik (p-hidroksibenzoik, proto kateşik ve vanililik) asitler tespit edilmiştir. Karahalil ve Şahin (2011) çalışmasında metanol ile ekstrakte edilen karayemiş ekstraktında klorojenik asit ana fenolik asit olarak bulunmuştur. Meyvelerde yüksek seviyelerde p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, kateşik, protokateşik asit ve p-kumarik asit bulunduğu görülmüştür. Çok küçük konsantrasyonlarda şiringik asit, ferulik asit, rutin ve gallik asit tespit edilmiş ancak meyvelerin metanolik ekstraktlarında kafeik asit, benzoik asit, o-kumarik asit, absisik asit ve trans-sinamik asit saptanmamıştır. Çakır ve Gülseren (2017) metanol ile elde ettikleri karayemiş ekstraktlarında da ana fenolik asit olarak klorojenik asit olarak bulunmuştur. Bayrambaş tarafından yapılan bir çalışmada ise epigallokateşin, epigallokateşin gallat, gallik asit, kateşin gallat, prosiyanidin B2, epikateşin, gallokteşin gallat, kateşin, klorojenik asit, protokateşik asit etil ester, kuersetin-3-glukozid, rutin, kaempferol ve keraşyanin klorid içerdiği görülmüştür (Bayrambaş, 2016). Özellikle antosiyaninlerin analizi ile ilgili veriler oldukça kısıtlıdır (Çakır ve Gülseren, 2017). Bu analizlerde elde edilen verilerle farklı türlerin yetiştirme koşullarının (coğrafi alan ve yükseklik vb.) antioksidatif kapasiteye net bir etkisi olduğu vurgulanmıştır (Çakır ve Gülseren, 2017; Bayrambaş, 2016).

Fenolik asit içeriği üzerine yapılan çalışmalar karayemiş analizinde ekstraksiyon yönteminin önemini de göstermiştir. Karabegovic ve ark. (2014) mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, klasik ekstraksiyon ve Soxhlet ekstraksiyonu tekniklerinin karayemiş meyve ve yapraklarının kompozisyonu ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. İncelenen ekstraksiyon metotlarıyla elde edilen numunelerin ekstraksiyon verimleri farklı olmakla birlikte polifenolik bileşik içeriğinin hemen hemen aynı olduğu belirlenmiştir. Karayemiş meyvesinde en yüksek klorojenik asit olmak üzere vanilik asit, kafeik asit ve rutin bulunmuştur. Aynı zamanda klorojenik

asit karayemiş yapraklarının ana fenolik bileşiği olarak belirlenmiş ve bunun dışında o-kumarik asit, kuersetin 3-glukozid, luteolin 7-glukozid, apijenin 7-glukozid, kaempferol 3-glukozid ve naringenin tespit edilmiştir (Karabegovic vd., 2013, 2014). Kadioğlu ve Yavru (1998) karayemiş meyvesinin gelişme ve olgunlaşma süresince kimyasal içeriğinin ve polifenol oksidaz (PPO) aktivitesinin değişimini incelemişlerdir. Meyve gelişimi ve olgunlaşma sırasında çözünür şeker ve çözünür protein seviyeleri kademeli olarak artarken, askorbik asit seviyesi azalmıştır. PPO aktivitesi ve fenolik içeriği, meyvenin gelişimi sırasında kademeli olarak artmış, ancak olgunlaşma aşamasında azalmıştır.

KARAYEMİŞİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ

Günümüzde yapılan çalışmalarda oksidatif reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin vücutta birçok olumsuz etkiye yol açtığı görülmüştür. Kararsız halde bulunan serbest radikaller kararlı hale geçebilmek için vücuttaki hücreleri kullanarak hücrelere hasar vermektedir ve bu sırada hasar gören hücrelerde yaşlanma süreçleri ve çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Kanser, kalp ve damar hastalıkları, diyabet, astım bu hastalıklar arasında sıralanabilir (Okçu ve Keleş, 2010). Bu hastalıklar toplumlar için büyük bir risk, sosyal güvenlik sistemleri için ise ağır bir yük oluşturmaktadır ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır (Özel ve Birdane, 2014). Birçok çalışmada, antioksidan aktivitesine sahip bileşiklerin serbest radikalleri süpürerek olumsuz etkileri ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Meral vd., 2012). Dolayısıyla gıdaların antioksidan aktivitesi üzerine yapılan çalışmalar artmakta ve önem kazanmaktadır.

Doğada binlercesi bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Ho vd., 1992). Karayemişin sahip olduğu antioksidan aktivitesinin önemli bir bölümü de fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Orhan vd., 2003). Kolaylı ve ark. (2003) karayemişin kimyasal bileşimini ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir ve karayemiş meyvesinin zengin bir antioksidan bileşik kaynağı olduğunu

saptamışlardır. Karayemiş meyvesinin sulu ekstraktının antioksidan ve radikal süpürücü aktivitelerinin, bütillenmiş hidroksitolüen (BHT), C vitamini ve Trolox gibi referans antioksidanlar ile karşılaştırılabilir veya onlardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Güder ve Korkmaz (2012) tarafından karayemiş ve böğürtlen meyvelerinin sulu ve etanollü ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi ile DPPH serbest radikali, süperoksit iyon radikali ve hidrojen peroksit süpürücü ve demir iyonları şelatlayıcı aktivitelerini incelenmiştir. Her iki meyvenin de antioksidan aktivitesinin referans bileşiklerden (BHA, BHT ve α -tokoferol) daha yüksek olduğu görülmüştür.

Celep vd. (2012) tarafından kıvılcık, Trabzon hurması ve karayemiş meyvelerinin antioksidan özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada, karayemiş meyvesinin toplam fenolik ve flavanoid miktarının diğer iki meyveden daha az olduğu bulgulanmıştır. Üç meyvede de metal şelatlama aktivitesi gözlenmemiştir. Kiraz, karayemiş ve kıvılcık meyvelerinin özellikleri karşılaştırıldığında antioksidan kapasitelerinin yüksekliğine göre sırasıyla kıvılcık, karayemiş ve kiraz etkin bulunmuştur (Çapanoğlu vd., 2011).

Liyana-Pathirana ve ark. (2006), karayemiş meyvesi ve pekmezinin antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Taze ağırlıkları baz alındığında karayemiş pekmezi, karayemiş meyvesine oranla daha yüksek antioksidan aktivitesi göstermektedir. Kuru ağırlık baz alındığında ise karayemiş meyvesinin hidrojen peroksit ve DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin pekmezin aktivitesinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmacılar bu durumun nem içeriğinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar karayemiş meyve ve pekmezinin oksidatif stresin neden olduğu dejeneratif hastalıkların iyileşmesinde yararlı etkileri olabileceğini vurgulamışlardır.

Birçok çalışmada karayemiş türlerinde bulunan birincil fenolik bileşen olarak belirlenen klorojenik asidin (50-1600 mg.kg⁻¹) antibakteriyel, antioksidan ve antikarsinojenik aktivitelere sahip

bir bileşik olduğu bilinmektedir (Meng vd., 2013). Kahve içerisindeki klorojenik asit, LDL oksidasyonunu engelleyip kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterebilmektedir (Yukawa vd., 2004). Saf klorojenik asit, oral glikoz tolerans testinde (OGTT) plazma glikoz pikinde önemli bir azalmaya neden olmakta ve glisemik indeks düşürücü muhtemel bir ajan olarak tip 2 diyabetin gelişme riskini azaltmaktadır (Bassoli vd., 2008). Aynı zamanda ekomya ağaçlarının yapraklarından ekstrakte edilerek analiz edilen klorojenik asidin yağ emilimini inhibe ederek karaciğerde yağ birikimine ve kilo alımına karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Li vd., 2012). Bir başka çalışmada ise klorojenik asidin anti-karsinojenik etkisi araştırılmış ve *in vitro* ortamda A549 insan kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Feng vd., 2005).

Benzer şekilde, grubumuzun çalışmalarında karayemiş ekstraktlarının insandan izole edilmiş HCT-116 kolon kanseri hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği dolayısıyla da anti-karsinojenik etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır (Çakır ve Gülseren, 2017). Ekstraktların anti-karsinojenik özelliklerine ek olarak, kalsiyum pektat jellerinde stabilize edilerek liyofilize formda hazırlanan fonksiyonel fenolik ekstraktlarının da benzer şekilde anti-karsinojenik etkiye sahip olduğu ve gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerinde kullanıma uygun olduğu gösterilmiştir. Bu yaklaşımla söz konusu bileşenler gastrik, intestinal ya da kolonik teslimat amaçlarına uygun biçimde formüle edilebilmektedirler (Çakır ve Gülseren, 2017). Söz konusu çalışmaların biyokimyasal temelini oluşturmak amacıyla yine grubumuz tarafından karayemiş ekstraktlarının apoptotik özellikleri incelenmiştir (Çakır ve Gülseren, 2018). Akış sitometrisi kullanılarak yapılan bu deneylerde ekstrakt konsantrasyonuna ve karayemiş türüne bağlı olarak karayemiş ekstraktlarının kanser hücrelerini değişen oranlarda apoptoza uğrattığı gösterilmiştir (Çakır ve Gülseren, 2018).

Dimetil sülfoksit ile ekstrakte edilen karayemiş meyvesinin insandan izole edilmiş prostat, meme, kolon, akciğer, karaciğer ve serviks kanser hücre

hatları ve normal fibroblast hücrelerinde sitotoksik etkisini araştırılmıştır (Demir vd., 2017). Ekstrakt prostat ve meme kanserine karşı antiproliferatif etki göstermez iken kolon ve akciğer kanserlerinde seçici sitotoksosite sergilemiştir. Eken vd. (2017), karayemiş meyve ekstraktının dimetoatla oluşan hepatotoksosite üzerine etkisini incelemiştir. Dimetoat karaciğer toksisitesine neden olan bir bileşiktir. Karayemiş meyvesinden elde edilen ekstrakt, bu bileşiğin oluşturduğu hasarı büyük ölçüde iyileştirmiştir.

Başka bir çalışmada, karayemiş meyvesinin antiproliferatif etkisi üzerine yapılan incelemelerde, karayemiş meyvesinin kanser hücrelerine karşı antikanser ajan etkinliği göstermediğini bulgulamıştır. Öte yandan karayemişin kemoterapötik ajanlarla karşı sitotoksitesiyi azaltıcı doğal bir kaynak olarak kullanılabilirliğini belirtilmiştir (Aydın vd., 2016). Numunelerin kompozisyonu ve anti-karsinojenik özelliklerinde açığa çıkan farklılıklar; numune, ekstraksiyon yöntemi, hücre kültürü gibi farklı aşamalarda ortaya çıkan farklılıkların bir fonksiyonudur. Yukarıda özetlenen çalışmalar arasındaki farklılıklar kısmen bu faktörlere bağlanabilir. Türk geleneksel tıbbında kullanılan bazı bitki türlerinden elde edilen etanolik ve sulu ekstraktların *in vivo* deneyler ile anti-inflamatuar ve antinosiseptif aktivitelerini araştıran bir çalışmada (Erdemoğlu vd., 2003), su ile ekstrakte edilen karayemiş yaprağının aktivitesi zayıf bulunurken etanolle ekstrakte edilen karayemiş yaprağı herhangi bir mide hasarına yol açmadan güçlü bir antinosiseptif ve anti-inflamatuar aktivite göstermiştir.

Karayemiş meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktların sinirler arası haberleşmede etki olan asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimlerinin inhibisyonuna etkisi incelenmiştir. Enzim inhibisyonu sinirler arası iletişim sekteye uğramasını önlemekte ve Alzheimer gibi hastalıkların ortaya çıkmasına engel olmaktadır. Araştırma sonucunda AChE için % 44 ve BChE için %20 dolaylarına kadar inhibisyon söz konusu olmaktadır (Orhan ve Küpeli-Akkol, 2011).

Karayemiş, ülkemizde halk tarafından anti-diyabetik etki gösterdiği düşüncesiyle yaygın olarak tüketilmektedir. Sülüoğlu ve Çavuşoğlu (2011) çalışmasında yürütülmüş olan bir ankette karayemiş tüketenlerin %49'unun meyveyi anti-diyabetik etkisi ile tanıdığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda bu ankete katılanlar arasında kanser (%10) ve mide (%10) rahatsızlıklarına karşı kullananlar ve kolesterol düşürücü olduğunu söyleyenler (%11) mevcuttur. Şenaylı vd. (2012) makalesinde, karayemiş çekirdekleri ile sıçanlar üzerinde yaptığı hayvan deneylerinde karayemiş çekirdeklerin anti-diyabetik etkisi olduğu tespit edilmiştir. Pre-diyabetik tanısı konulmuş bir hastanın düzenli olarak yaban mersini suyu ve karayemiş meyvesi tüketmesi sonucu kan şekeri değerlerinde ciddi bir düşüş olduğu görülmüştür (Aktan vd., 2014). Orhan vd. (2015) makalesinde, karayemiş meyve ve çekirdeklerinin *in vivo* ortamda hipoglisemik etkisini incelenmiştir. Çekirdekli karayemiş, çekirdeksiz karayemiş ve karayemiş çekirdeği olmak üzere üç farklı örnek diyabetik hayvanlara verilmiştir ve kan şekeri değerlerinde verilen ekstraktlara göre sırasıyla %11,6, %17,2 ve %21,5 düşüş olduğu görülmüştür.

Karayemiş ülkemizde birçok sağlık probleminde geleneksel bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Meyvesi ve çekirdeği mide ülseri, sindirim sistemi hastalıkları, bronşit, egzama, hemoroid, diyabet, astım ve hazımsızlık gibi hastalıkların tedavisinde ve ağrı kesici, spazm giderici, yatıştırıcı, uyuşturucu ve diüretik özellikleri dolayısıyla kullanılmaktadır (Ayaz vd., 1997; Eken vd., 2017). Yaprakları ise öksürük, yüksek ateş, diyabet, mide ve barsak rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Eken vd., 2017). Bunlara ek olarak yapraklarının ağrı kesici, sakinleştirici ve uyuşturucu özelliği bulunmaktadır. Taze yapraklar ateş yükselmesi durumunda alın üzerine konulduğunda ateş düşürücü etki göstermektedir (Erdemoğlu vd., 2003).

KULLANIM ALANLARI

Kendine özgü tadı, etnik ve farmakolojik özellikleriyle bilinen karayemiş meyvesi taze veya kurutulmuş olarak tüketilmektedir (Karahalil ve

Şahin, 2011). Aynı zamanda reçel, marmelat, konserve, turşu, meyve suyu ve alkollü içeceklerin üretiminde kullanılmaktadır (Ayaz vd., 1997). Karayemiş yağı; alkollü ve alkolsüz içkiler, dondurulmuş tatlılar, şekerlemeler ve pişmiş ürünler gibi çeşitli gıda ürünlerine aroma verici katkı maddesi olarak katılmaktadır (Khan ve Abourashed, 2011). Yabani türdeki meyveleri acı tadı nedeniyle genellikle doğrudan tüketilmemektedir (Ayaz, 1997).

Kalyoncu, karayemişin hasat döneminin biyoteknik özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır ve 1. hasat dönemine (20 Temmuz) göre, 3. hasat döneminde (2 Ağustos) meyvelerin fiziksel, mekanik ve kimyasal değişimlerinin farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir (Kalyoncu, 2016). Dolayısıyla karayemişin taze tüketilmesi ve işlenmiş ürünlerde hasat dönemi göz önüne alınarak değerlendirilmesi önem kazanmaktadır.

Depolama sürecinde kalite parametrelerinde ortaya çıkan değişiklikler de ürünün kullanım değerini etkilemektedir. Bu bağlamda, depolama sıcaklığının karayemiş meyvesinin çeşitli özelliklerine (fenolik içeriği, antioksidan aktivitesi, kalite parametreleri) etkisi incelenmiştir (Öztürk vd., 2015). Karayemiş $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ve $90\pm 5\%$ bağıl nemde 3 hafta boyunca depolanmıştır ve depolanma süresi arttıkça meyvede ağırlık kaybı artmıştır. Buna bağlı olarak depolama süresince çözünebilir kuru madde içeriği ve L^* değerinin arttığı gözlemlenmiştir. Meyve sertliği, renk parlaklığı, titrasyon asitliği, C vitamini, toplam fenolik madde miktarı, total flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivitesinde ise kayıplar oluşmuştur.

Özbey (2009), karayemiş suyunun ve nektarlarının üretim ve depolama süresinin, meyvedeki antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriğini nasıl etkilediğini incelemiştir. Karayemiş suyu ve nektarlarının pastörizasyona bağlı olarak fenolik madde içerikleri ile antioksidan aktivitelerinde gerçekleşen düşüşün nispeten az olduğu gözlemlenmiştir. Pastörize edilen numuneler 6 ay süreyle depolanmıştır ve depolama sürecinde fenolik madde içeriği kayda değer miktarda değişmemiş ancak antioksidan aktivitesi iki katına

çıkıştır. Bu bulguların, polimer bileşiklerin veya glikozit formdaki fenoliklerin parçalanarak antioksidan aktivitesi yüksek ağırlık kısımları açığa çıkartmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Konak ve ark. (2015), kurutulmuş karayemiş meyvesinin kek ve kurabiye örneklerinde kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Karayemiş kabaca öğütülüp belirli oranlarda kek ve kurabiyelere eklenmiştir. Keklerin elastikiyetini azaltıp sertleştirdiğini, kurabiyeleri ise yumuşattığı gözlemlenmiştir. Duyusal analizlerde yüksek oranda meyve içeren ürünler panelistler tarafından düşük oranda meyve içerenlere göre daha fazla beğenilmiştir. Bu çalışma karayemişin doğru yöntemlerle değerlendirilmesi durumunda tüketici kabulünün artabileceğini göstermektedir.

Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilen karayemiş yapraklarının ekmelerde bozulma nedeni olan mantarlar üzerindeki antifungal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, en yüksek toplam antifungal etki, etanol ve aseton ekstraktlarında gözlemlenmiştir. Bütün karayemiş yaprak ekstraktlarına söz konusu organizmaların duyarlılığı karşılaştırıldığında, *P. verrucosum* diğer organizmalara göre daha yüksek direnç gösterirken, *F. oxysporum* en duyarlı mikroorganizma olmuştur. Dolayısıyla, karayemiş yaprak ekstraktlarının gıda sektöründe potansiyel ve doğal bir antifungal madde kaynağı olarak değerlendirilebileceği anlaşılmaktadır (Şahan, 2011).

Karayemişin gıda ürünlerine eklenmesi bağlamında, karayemiş pulpu eklenmiş tarhananın fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri incelenmiştir (Tarakçı vd., 2012). Karayemiş pulpu eklenen tarhana örneklerinde L^* , a^* ve b^* değerleri azalırken; toplam fenolik, DPPH serbest radikal süpürücü değeri, demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü, absorpsiyon kapasitesi, köpük stabilitesi ve viskozite değeri artmıştır. Yapılan duyusal analizlerde %5 ve %10 karayemiş pulpu eklenen tarhana örnekleri panelistlerce tercih edilmiştir. Böylelikle karayemiş meyvesinin tarhana üretiminde kullanılarak ürünlerin antioksidan içeriğine katkıda sağlayabileceği

anlaşılmalıdır. Tarhanaya karayemiş posası eklenmesinin de, son üründe uçucu aromatik bileşikler ve minör mineral içeriğini önemli ölçüde etkilediği görülmüştür (Temiz ve Tarakçı, 2017).

Temiz ve ark. (2014) farklı konsantrasyonlarda (%0, %5, %10, %15 ve %20) karayemiş marmeladı eklenmiş yoğurtların fiziko-kimyasal ve duyuşsal özelliklerini incelemiştir. Marmeladın konsantrasyonu arttığında titrasyon asitliği, a^* renk değeri (yeşillik-kızarıklık) ve genel kabul edilebilirliği olumlu olarak; viskozite, L^* (beyazlık ve yumuşaklık) ve b^* (sarılık / mavilik) renk değerleri ve su salma ise olumsuz olarak etkilenmiştir. Depolama süresinde ise pH, su salma, viskozite, L^* ve b^* renk değerleri ve genel kabul edilebilirlikte azalma görülmüştür. Araştırmacılar meyveli yoğurt üretiminde %15 karayemiş marmeladı kullanımını tavsiye etmişlerdir (Temiz vd., 2014). Aynı grubun, karayemiş pulpu ekleyerek yaptıkları yoğurdun toplam katı madde miktarı ve pH değeri normal yoğurda göre daha yüksek iken; % yağ içeriği, % kül miktarı, viskozitesi ve serum ayrılma miktarı daha düşük olarak ölçülmüştür. Dolayısıyla teknik anlamda da ürün özelliklerinde bazı iyileşmeler söz konusudur (Temiz vd., 2017).

Güleç ve Turhan Özdemir (2017), karayemiş meyvesinin kuruma karakteristiğini incelemişler ve karayemiş meyvesinin kurutulmasında değerlendirilebilecek kurutma modelleri belirlemişlerdir. Çalışmada infrared ile kurutma, mikrodalga ile kurutma ve geleneksel kurutma yöntemlerine başvurulmuştur. Nem gidermede geleneksel kurutma yönteminin çok uzun süre gerektirdiği, infrared kurutucu ve mikrodalga kurutucu ise geleneksel kurutmaya oranla daha kısa süre gerektirdiği görülmüştür. En yüksek kuruma hızına ve en iyi nem kaybına mikrodalga kurutma yöntemiyle ulaşılmıştır. Kurutma sonucu meyvelerde nem kaybı dolayısıyla büzüşmeler görülmüştür. Karayemiş meyvesinin kurutulması meyveyi yıl boyu tüketilebilir hale getirecektir ve depolamada kolaylık sağlayacaktır. Kuru karayemişin doğrudan tüketilebilir veya gıda endüstrisinde ara ürün olma özelliği nedeniyle

kurutulması üzerine yapılacak çalışmalar kullanılabilirliğini arttıracaktır.

Ergüney ve ark. (2015), karayemiş meyvesini püre haline getirip, dondurarak kurutma ile tozunu elde etmişlerdir ve elde edilen karayemiş tozunun fiziksel özelliklerini iyileştirilmesini incelemiştir. Çalışmada meyve tozu ve örneklerinin eldesi sırasında, katkı maddesi içermeyen kontrol numunesi ve topaklaşma önleyici katkı maddesi içeren (maltodekstrin ve trikalsiyum fosfat, TCP) diğer numuneler arasında yapısal farklılıkları incelemiştir. Kontrol numunesinde, öğütme ve eleme işlemleri sırasında kekleşme ve yapışkanlık gözlenmiştir ve bu durum, kayıplara neden olmuştur. Yalnızca bir katkı maddesi (maltodekstrin veya TCP) içeren numunelerde, kekleşme ve yapışkanlık sorunlarının azaldığı tespit edilmiştir. Maltodekstrin ve TCP bileşiklerinin birlikte kullanıldığı numunelerde ise yapışkanlık, kekleşme ve topaklanma sorunları ile karşılaşmamıştır. Maltodekstrin ve trikalsiyum fosfat gibi maddeler nem tutucu etki gösterirler ve partiküller arasında fiziksel bir bariyer gibi davranırlar. Bu durum ürünün yapısını da iyileştirir. Bu nedenle, karayemiş tozu üretiminde karşılaşılabilecek sorunların çözümünde maltodekstrinlerin trikalsiyum fosfat ile birlikte kullanılmasını tavsiye etmişlerdir (Ergüney vd., 2015). Gıda endüstrisinde ara ürün olarak kolay muhafaza ve depolanabilme özelliği nedeniyle genellikle toz formlar tercih edilmektedir. Yapılan çalışma ile karayemiş tozu gıda endüstrisinde ara ürün olarak kullanılabilme özelliği taşıdığını göstermiştir (Ergüney vd., 2015). Son olarak, uygun enkapsülasyon yöntemleri ile karayemiş fenoliklerinin ısı kararlılığının da arttırılabileceği gösterilmiştir (Bayrambaş, 2016). Bu bağlamda karayemiş ekstraktlarının kek formülasyonlarında değerlendirilmesi mümkün olmuştur (Bayrambaş, 2016).

SONUÇ

Günümüzde yapılan çalışmalar, gıdalarda bulunan biyoaktif bileşenlerin, kronik hastalıkları önleyici veya hastalık boyunca alternatif tedavi sağlayıcı etkileri olduğunu göstermektedir. Tüketicilerin bilinçlenmesi ve fonksiyonel gıdalara olan talebin

artması ile gıda teknolojisi alanında çalışan uzmanlar, bütün dünyada biyoaktif bileşenlerin izolasyonu ve identifikasyonu alanlarına yoğun bir ilgi göstermektedir. Bu bağlamda, yüksek antioksidatif kapasiteye sahip doğal gıdalar oldukça önem taşımaktadır. Gıda endüstrisi, yeni ticari ürünleri formüle etmek için yüksek oranda fenolik bileşik ve zengin antioksidan içeriğine sahip olan bitkileri değerlendirmektedir.

Karayemiş ülkemizin doğal florasında yer alan, işlenebilirliği ve besin değeri ile gıda endüstrisi için gelecek vaat eden bir meyvedir. Zengin polifenol içeriği ve yüksek antioksidan aktivitesine sahiptir. Bunun yanı sıra içerdiği organik asitler, değerli yağ asitleri, mineraller ve vitaminler açısından da oldukça zengindir. Karayemiş meyvesinin gıdalarda kullanımı üzerine yapılan çalışmalarda genellikle olumlu sonuçlar elde edilmiştir fakat gıda endüstrisindeki kullanımında kayda değer bir artış görülmemektedir. Endüstriyel kullanımına yönelik araştırmaların artması, karayemişin ticari değerini arttıracaktır.

Mevcut durumda karayemiş meyvesi genellikle uygun tarım teknikleriyle yetiştirilmemekte ve ağaçlar kendi halinde büyümektedir. Modern yöntemlerin kullanılması, uygun yetiştirilme tekniğinin belirlenmesi ve uygulanması durumunda verim ve kalite artış gösterecektir. Buna bağlı olarak üretim kapasitesinde de artışlar olacaktır. Bu durumda karayemişe olan ilginin artması, bu alanda istihdam sağlanması ve karayemişin endüstriyelmesi mümkün olabilecektir. Bununla birlikte ülkemizde yetişen birçok karayemiş türünün olması; bu alanda yapılan araştırmalarda analiz edilen numunelere ait sonuçların karşılaştırılmasını, türlerin üretim kapasitelerinin belirlenmesini ve mutlak ticari potansiyelin analizini zorlaştırmaktadır. Dolayısıyla tedarigi ve tespiti nispeten kolay olan türlere yönelmesi ihtiyacı bulunmaktadır.

Meyvenin anti-karsinojenik, anti-oksidatif ve anti-diyabetik özellikleri olması; karayemiş bileşenlerini fonksiyonel gıdalar ve gıda takviyeleri endüstrileri için cazip kılmaktadır. Bu özellikleriyle karayemiş ihracat potansiyeli de yüksek bir meyvedir. Bu meyvenin ticari ürünlere

dönüştürülmesi ve ekonomik değerinin artırılması için öncelikli olarak meyvenin ve ekstraktlarının fonksiyonel özellikleri hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Bunun yanında, son dönemde yapılan çalışmalarda (Bayrambaş, 2016), karayemiş polifenollerinin kararlılığını arttırmak amacıyla iyonik jelasyon yöntemi ile gam arabik matrislerinde enkapsülasyon yapılmıştır. Enkapsüle halde elde edilen polifenol sistemleri, uygun bir gıda sistemi olan kek örneklerinin zenginleştirilmesinde başarılı olarak kullanılmıştır. Gerek mikroenkapsülasyon, gerekse de nanoenkapsülasyon alanında bu tip çalışmaların artırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmalarla karayemiş bileşenlerinin biyoaktivitesini korumak ve tüketici ürünlerinde bu bileşenlerin değerlendirilmesini sağlamak mümkün olacaktır. Bu bulgulara paralel olarak gerek koloidal vektörlerde (çoklu emülsiyonlar, lipozomal sistemler vs), gerekse de tablet formülasyonlarında ya da alternatif başka formlarda gıda takviyesi, farmasötik uygulama ya da tamamlayıcı tıp uygulamalarında bu bileşenlerin değerlendirilmesi ve katma değerli ürünlere dönüştürülmesi olanaklı görünmektedir. Bununla birlikte ekstraktlar, posalar ya da saflaştırılmış bileşenler arasında doğrudan çalışmalara gereksinim bulunmaktadır. Bu değerlendirmeler ışığında genel gıda formülasyonlarının ötesinde katma değerli ürünlerin tasarlanması mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

Aktan, A.H., Ozcelik, A., Cure, E., Cure, M. C., Yuce, S. (2014). Profound hypoglycemia-induced by vaccinium corymbosum juice and laurocerasus fruit. *Indian J Pharmacol*, 46(4): 446-447.

Alaşalvar, C., Al-Farsi, M., Shahidi, F. (2005). Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties and pekmez. *J Food Sci*, 70(1): 47-52.

Alaşalvar, C., Wanasundara, U., Zhong, Y., Shahidi, F. (2006). Functional lipid characteristics of cherry laurel seeds (*Laurocerasus officinalis* Roem.). *J Food Lipids*, 13 (2006): 223-234.

- Ayaz, F.A. (1997). Studies on water soluble sugar and sugar alcohol in cultivars and wild forms of *Laurocerasus officinalis* Roem. *Pak J Bot*, 29(2): 331-336.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A. (2010). Changes in fatty acid composition of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* 'Globigemmis') fruit during maturation. *N Z J Crop Horti Sci*, 28: 209-212.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Hayırlıoğlu-Ayaz, S. (1998). Determination of some low molecular weight carbohydrates in the fruits of wild cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) using gas chromatography. *Turk J Bot*, 22(2): 65-68.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Reunanen, M., Var, M. (1997a). Phenolic acid and fatty acid composition in the fruits of *Laurocerasus officinalis* roem. and its cultivars. *J Food Compos Anal*, 10(4): 350-357.
- Ayaz, F. A., Kadioğlu, A., Reunanen, M., Var, M. (1997b). Sugar composition in fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its three cultivars. *J Food Compos Anal*, 10(1): 82-86.
- Aydın, A., Erenler, R., Yılmaz, B., Tekin, Ş. (2016). Antiproliferative effect of cherry laurel. *J. Turkish Chem. Soc. Sect. Chem.*, 3(3): 217-228.
- Bassoli, B. K., Cassolla, P., Borba-Murad, G.R., Constantin, J., Salgueiro-Pagadigorria, C.L., Bazotte, R.B., ... & de Souza, H. M. (2008). Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochem Funct*, 26(3): 320-328.
- Bayrambaş, K. (2016). Çeşitli gıda sistemlerinin enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerini ile zenginleştirilmesi, Doktora Tezi, Tunceli Üniversitesi, Tunceli.
- Beyhan, O. (2010). A study on selection of promising native cherry laurel (*Prunus laurocerasus* l.) genotypes from Sakarya, Turkey. *J Anim Plant Sci* 20(4): 231-233.
- Celep, E., Aydın, A., Yeşilada, E. (2012). A comparative study on the *in vitro* antioxidant potentials of three edible. fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food Chem Toxicol*, 50: 3329-3335.
- Çakır, B., Gülseren, İ. (2017). Dissolution kinetics of polyphenol bearing calcium pectate hydrogels in simulated gastric or intestinal media and their anti-carcinogenic capacities. *Food Hydrocoll*, 70: 69-75.
- Çakır, B., Gülseren, İ. (2018). Determination of the anti-carcinogenic and apoptotic characteristics of cherry laurel extracts and their functional lyophilizates. *Traditional Foods 2018 Conference* Girne, KKTC.
- Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D., de Vos, C. H., Hall, R. D., Beekwilder, J. (2011). Procyanidins in fruit from Sour cherry (*Prunus cerasus*) differ strongly in chainlength from those in Laurel cherry (*Prunus laurocerasus*) and Cornelian cherry (*Cornus mas*). *J. Berry Res*, 1(2011): 137-146.
- Çelik, F., Ercisli, S., Yılmaz, S., Hegedus, A. (2011). Estimation of certain physical and chemical fruit characteristics of various cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) genotypes. *Hortscience*, 46(6): 924-927.
- Çelik, H., İslam, A., Kalkışım, Ö. (2015). Effect of cutting time and IBA application on rooting of edible cherry laurel (*Prunus laurocerasus* cv.'Kiraz') cuttings. *Anadolu Tarım Bilim Derg*, 30(3): 215-220.
- Demir, S., Turan, İ., Demir, F., Ayazoğlu, E., Aliyazıcıoğlu, Y. (2017). Cytotoxic effect of *Laurocerasus officinalis* Extract on human cancer cell lines. *J Res Pharm*, 21: 121-126.
- Eken, A., Baldemir, A., Ünlü-Endirlik, B., Bakır, E., İlgün, S. (2017). Essential element and metal content of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* roem.) fruit and seeds. *J Health Sci*, 26(1): 1-4.
- Eken, A., Ünlü-Endirlik, B., Bakır, E., Baldemir, A., Yay, A. H., Cantürk, F. Effect of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) fruit on dimethoate induced hepatotoxicity in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23(5): 779-787.
- Erdemoglu, N., Küpeli, E., Yeşilada, E. (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J Ethnopharmacol*, 89(1): 123-129.
- Ergüney, E., Gülsünoglu, Z., Fıratlıgil-Durmuş, E., Kiliç-Akyılmaz, M. (2015). Karayemiş tozu

- fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi. *Akademik Gıda*, 13(2): 108-114.
- Esringu, A., Akšić, M., Ercisli, S., Okatan, V., Gözlekçi, S., Çakır, Ö. (2016). Organic acids, sugars and mineral content of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) accessions in Turkey. *C R Acad Bulg Sci*, 69(1): 115-122.
- Feng, R., Lu, Y., Bowman, L.L., Qian, Y., Castranova, V., Ding, M. (2005). Inhibition of activator protein-1, NF- κ B, and MAPKs and induction of phase 2 detoxifying enzyme activity by chlorogenic acid. *J Biol Chem*, 280(30): 27888-95.
- Güder, A., Korkmaz, H. (2012). Investigation of antioxidant activity and total anthocyanins from blackberry (*Rubus hirtus* Waldst. and Kit) and cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.). *Asian J Chem*, 24(10): 4525-4231.
- Güleç, F., Özdemir, G.D.T. (2017). Karayemiş (*Laurocerasus officinalis* Roem.) meyvesinin kuruma karakteristiğinin incelenmesi. *Akad Zir Derg*, 6(1): 73-80.
- Halilova, H., Ercisli, S. (2010). Several physico-chemical characteristics of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* roem.) fruits. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 24(3): 1970-73.
- Ho, C.T. (1992). Phenolic compounds in food: an overview. *Health I ACS Symposium Series; American Chemical Society* Washington, ABD.
- İslam, A. (2002). 'Kiraz' cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). *NZ J Crop Horti Sci*, 30(4): 301-302.
- İslam, A., Deligöz, H. (2012). Ordu ilinde karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu. *Akad Zir Derg*, 1(1): 37-44.
- Kadioğlu, A., Yavru, I. (1998). Changes in the chemical content and polyphenol oxidase activity during development and ripening of cherry laurel fruits. *Phyton (Horn, Austria)*, 37(2): 241-252.
- Kalyoncu, H. İ. (2016). Karayemiş (*Prunus laurocerasus*) meyvesinin biyo-teknik özellikleri üzerine hasat dönemlerinin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- Kalyoncu, H. İ., Ersoy, N., Elidemir, A. Y., & Dolek, C. (2013). Mineral and some physico-chemical composition of 'karayemis' (*Prunus laurocerasus* L.) fruits grown in northeast Turkey. *World Acad Sci Eng Technol*, 7(6): 430-433.
- Karabegović, I. T., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Todorović, Z. B., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L. (2014). The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Ind Crops Prod*, 54: 142-148.
- Karabegović, I. T., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L. (2013). Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. *Sep Purif Technol*, 120: 429-436.
- Karahalil, F.Y., Şahin, H. (2011). Phenolic composition and antioxidant capacity of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) sampled from Trabzon region, Turkey. *Afr J Biotechnol*, 10(72): 16293-99.
- Khan, I.A., Abourashed, E.A. (2011). Leung's Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. John Wiley & Sons.
- Kolaylı, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F., Dinçer, B. (2003). Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem.(cherry laurel) fruit grown in the Black Sea region. *J Agric Food Chem*, 51(25): 7489-94.
- Konak Ü. İ., Erem F., Altındağ G., Certel, M. (2015). Effect of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* roem.) incorporation on physical, textural and functional properties of cakes and cookies. *Uludag Üniv Zir Fak Derg*, 29(2): 13-24.
- Li, W.N., Han, Y.D., Liu, Y.H., Chen, Y., Xiao, Y. (2012). Effects of chlorogenic acid extract from leaves of eucommia ulmoides on key enzyme activities in lipid metabolism. *Trad Chinese Drug Res Clin Pharmacol*, 23(1): 30-33.
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., Alaşalvar, C. (2006). Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chem*, 99(1): 121-128.
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J., Hu, Y. (2013). Roles of chlorogenic acid on regulating

- glucose and lipids metabolism: a review. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 801457.
- Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S. (2012). Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *İğdır Univ Fen Bilim Enst Derg*, 2(2): 45-50.
- Okçu, Z., Keleş, F. (2010). Kalp-damar hastalıkları ve antioksidanlar. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*, 40(1), 153-160.
- Orhan, I., Aydın, A., Çölkesen, A., Sener, B., Isimer, A. I. (2003). Free radical scavenging activities of some edible fruit seeds. *Pharm Biol*, 41(3): 163-165.
- Orhan, I., Küpeli-Akkol, E. (2011). Estimation of neuroprotective effects of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) by *in vitro* methods. *Food Res Int*, 44(2011): 818-822.
- Orhan, N., Damlacı, T., Baykal, T., Özek, T., Aslan, M. (2015). Hypoglycaemic Effect of seed and fruit extracts of laurel cherry in different experimental models and chemical characterization of the seed extract. *Rec Nat Prod*, 9(3): 379-385.
- Özbey, A. (2009). Karayemiş meyvesinin fenolik kompozisyonunun belirlenmesi ve meyve suyu üretiminin optimizasyonu, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Özel, G.S.K., Birdane, Y.O. (2014). Antioksidanlar. *Kocatepe Vet J*, 7(2): 41-52.
- Özgül-Yücel, S. (2005). Determination of conjugated linolenic acid content of selected oil seeds grown in Turkey. *J. Am. Oil Chem. Soc*, 82(12): 893-897.
- Öztürk, B., Çelik, S. M., Karakaya, M., İslam, A., Yarılgı, T. (2015). Storage temperature affects phenolic content, antioxidant activity and fruit quality parameters of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *J Food Process. Preserv*, 41(1): e12774.
- Şahan, Y. (2011). Effect of *Prunus laurocerasus* L. (cherry laurel) leaf extracts on growth of bread spoilage fungi. *Bulg J Agric Sci*, 14(1):83-92.
- Şahan, Y., Cansev, A., Celik, G., Cinar, A. (2010). Determination of various chemical properties, total phenolic contents, antioxidant capacity and organic acids in *Laurocerasus officinalis* fruits. *XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium 22-27 Augustos 2010, Lizbon, Portekiz*, 359-366p.
- Sanches-Silva, A., Albuquerque T. G., Finglas, P., Ribeiro, T., Valente, A., Vasilopoulou, E., ... & S. Costa, H. (2013). Carotenoids, vitamins (A, B2, C and E) and total folate of traditional foods from Black Sea Area countries. *J Sci Food Agric*, 93(14): 3545-3557.
- Sülüsoğlu, M., Cavusoglu, A. (2010). Vegetative propagation of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) using semi-hardwood cuttings. *Afr J Agric Res*, 5(23): 3196-3202.
- Sülüsoğlu, M., Çavuşoğlu, A. (2011). Karayemiş yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve kullanım alanlarının ortaya konması. *Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi* 4-8 Ekim, 2011, Şanlıurfa, Türkiye, 869-875.
- Sülüsoğlu, M., Çavuşoğlu, A., Erkal, S. (2015). A promising fruit: Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L.) and steps on breeding. *Ekin J Crop Breed*, 1(1): 26-32.
- Senaylı, A., Sahin, A., Senaylı, Y., Elmastas, M. (2012). Evaluation of the anti-diabetic activity of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*). *Open Conf Proc J*, 3(1): 8-12.
- Tarakçı, Z., Anıl, M., Koca, I., İslam, A. (2012). Effects of adding cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) on some physicochemical and functional properties and sensorial quality of tarhana. *Qual Assur Saf Crop*, 5(1): 347-355.
- Temiz, H., Tarakçı, H. (2017). Composition of volatile aromatic compounds and minerals of tarhana enriched with cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*). *J Food Sci Technol*, 54(3): 735-742.
- Temiz, H., Tarakçı, Z., İslam, A. (2014). Effect of cherry laurel marmalade on physicochemical and sensorial characteristics of the stirred yogurt during storage time. *GIDA*, 39(1): 1-8.
- Temiz, H., Tarakçı, Z., Yarılgıç, T., Dağ, B. (2017). Some physicochemical properties and mineral contents of stirred yoghurts containing

different fruit marmalades. *Int J Dairy Technol*, 71(1): 264-268.

Var, M., Ayaz, F. A. (2004). Changes in sugar composition in cherry laurel (cv oxygemmis) fruit during development and ripening. *Pak J Bot*, 36(2): 389-394.

Yukawa, G. S., Mune, M., Otani, H., Tone, Y., Liang, X. M., Iwahashi, H., Sakamoto, W. (2004). Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility of low-density lipoproteins and serum lipid levels in humans. *Biochem (Mosc)*, 69(1): 70-74.



MİKRODALGA TEKNOLOJİSİNİN BİTKİSEL DOKULARDAN MAKRO VE MİKRO BİLEŞENLERİN ÖZÜTLENMESİNDE KULLANIMI

Pınar Özer, Ahmet Görgüç, Fatih Mehmet Yılmaz*

Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın, Turkey

Geliş / Received: 08.06.2018; Kabul / Accepted: 15.09.2018; Online baskı / Published online: 01.10.2018

Özer, P., Görgüç, A., Yılmaz, F.M. (2018). Mikrodalga teknolojisinin bitkisel dokulardan makro ve mikro bileşenlerin özütlenmesinde kullanımı. *GIDA* (2018) 43 (5): 765-775 doi: 10.15237/gida.GD18060

Özer, P., Görgüç, A., Yılmaz, F.M. (2018). *The use of microwave technology on the extraction of macro and micro components from plant tissues. GIDA* (2018) 43 (5): 765-775 doi: 10.15237/gida.GD18060

ÖZ

Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumunda kızılötesi ve radyo dalgaları arasında yer alan, dalga boyları 1 mm – 1 m ve frekansları 300 MHz ile 300 GHz arasında değişen elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalga işleminde gıdanın içerisindeki polar su molekülleri, elektrik alan etkisi ile polarize olmakta ve moleküllerin titreşimi sonucu oluşan ısı, özütleme verimini de arttırmaktadır. Mikrodalga teknolojisi, birçok özütleme tekniğine göre maliyetinin düşük, proses süresinin kısa olması ve besinsel bileşenlerin daha iyi korunması gibi avantajlara sahiptir. Mikrodalga teknolojisinin bitkisel dokulardan protein, karbonhidrat, uçucu yağ ve fenolik gibi maddeleri özütlemeye kullanımı ile ilgili özellikle son yıllarda yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu derleme kapsamında, mikrodalga teknolojisi, bitkisel materyallerden farklı makro ve mikro bileşenlerin mikrodalga destekli özütlenmesi ile ilgili güncel çalışmalara da değinilerek literatür çalışmalarına yer verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mikrodalga, özütleme, makro bileşen, mikro bileşen

THE USE OF MICROWAVE TECHNOLOGY ON THE EXTRACTION OF MACRO AND MICRO COMPONENTS FROM PLANT TISSUES

ABSTRACT

Microwaves are the electromagnetic waves between the infrared and radio waves in the electromagnetic spectrum, and they have a wavelength of 1 mm – 1 m and a frequency of 300 MHz - 300 GHz. In microwave process, the polar water molecules in the food are polarized by the electric field, and the heat generated by the vibrations of the molecules increases the extraction efficiency. Microwave technology has advantages such as low cost, short process time and better preservation of nutritional components compared to many extraction techniques. There have been many studies related with the use of microwave technology on extracting protein, carbohydrate, essential oil and phenolic compounds from plant tissues, especially in the recent years. In this review, microwave technology and microwave-assisted extraction of different macro- and micro-components from plant materials are presented from the literature by considering latest studies.

Keywords: Microwave, extraction, macro component, micro component

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ fatih.yilmaz@adu.edu.tr,

☎ (+90) 256 213 7503

☎ (+90) 256 213 6686

GİRİŞ

Mikrodalga Teknolojisi

Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumda 1 mm – 1 m dalga boyu ve 300 MHz ile 300 GHz frekans aralığında bulunan, iyonize olmayan elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalgalar dalga boyu açısından kızılötesi ışınlar ile radyo dalgaları arasında yer almaktadır (Villanueva, 2018). Mikrodalga teknolojisinin keşfi, 2. Dünya Savaşı sırasında Percy Spencer tarafından askeri ekipman üretimi ve tasarımı ile ilgili çalışmalar sırasında gerçekleştirilmiştir (Osepchuk, 1984).

Mikrodalga Ekipmanı

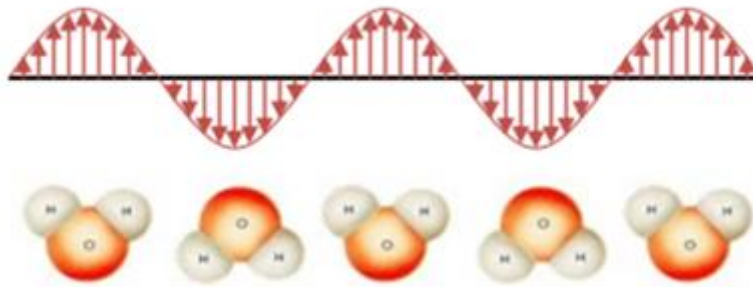
Mikrodalgalar, magnetron gibi özel elektron tüplerinde elektrik enerjisini belli bir dalga boyundaki elektromanyetik radyasyona dönüştürülerek elde edilmektedir. Dalga kılavuzu, ışınları mikrodalga kaynağından mikrodalga boşluğuna iletir; aplikatör ise numunenin yerleştirildiği bölme verilen isimdir (Uslu ve Certel, 2006). Mikrodalga ekipmanları ışınlama moduna göre ikiye ayrılmaktadır: Çok modlu ve tek modlu. Ev tipi ve deneysel çalışmalarda kullanılan mikrodalga cihazlarının çoğunun çok modlu olduğu belirtilmektedir. Bu modda çalışan mikrodalgalarda bulunan karıştırıcı fan sistemi ve döner tabla, örneğin farklı noktalarındaki özdeş olmayan ısınmayı engellemektedir. Tek modlu

sistemlerde ise oluşturulan elektromanyetik dalgalar yalnızca belirli bir noktaya odaklanmaktadır (Tsubaki vd., 2018).

Mikrodalga Çalışma Prensibi

Mikrodalga çalışma prensibi, iyonların iletimi ve dipol rotasyonu (dönme) yoluyla molekül üzerine mikrodalganın etkimesi temeline dayanmaktadır. Bunlardan birincisi olan iyonik iletim, bir manyetik alan uygulandığında iyonların elektroforetik göçüdür. Çözgenin bu iyon akışına karşı oluşan direnci sürtünme ile sonuçlanır ve böylece çözgen ısınır (Meda vd., 2017). İkincisi yani dipol rotasyon ise, uygulanan manyetik alanla dipollerin yeniden düzenlenmesi anlamına gelir (Xia vd., 2013).

Gıda içerisinde polar su molekülleri dağınık bir şekilde bulunur. Elektrik alan uygulandığında, polar moleküller alanın yönüne göre hizalanır ve elektrik alanının salınımını takip ederek dönme eğilimi gösterirler (Şekil 1). Su moleküllerinin birbirleriyle ve ortamdaki diğer moleküllerle sürtünmesine bağlı olarak ısı oluşur. Bu nedenle mikrodalga ile ısıtılacak materyalin içerisinde su moleküllerinin varlığı şarttır (Chaturvedi, 2018).



Şekil 1. Su moleküllerinin elektrik alanla etkileşimi

Mikrodalga Teknolojisinin Kullanım Alanları

Mikrodalga teknolojisi, gıda endüstrisi tarafından pişirme, çözme, temperleme, kurutma, dondurarak kurutma, pastörizasyon, sterilizasyon,

ısıtma ve ısıtma gibi işlemlerde kullanılmaktadır (Çizelge 1). Bunun yanında, endüstriyel ürünlerin kurutulması (kağıt, odun), kimyasal tepkimelerin hızlandırılması, endüstriyel ürünlerin eritilmesi,

sinterleme (seramik, maden tozu), plazma üretimi, mineral prosesleri (kaya parçalama, ufalama), atık arıtma ve geri dönüşüm prosesleri gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Regier vd., 2016). Mikrodalga destekli özütleme işleminde, hedeflenen bileşen ya

da bileşenler bir çözgen vasıtasıyla özütlenerek ilaç, kozmetik, gıda takviyeleri ve gıda katkı maddeleri gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Mandal vd., 2007).

Çizelge 1. Mikrodalga teknolojisinin farklı kullanım alanları

Uygulama	Frekans (MHz)	Güç (kW)	Ürün
Temperleme	915	30-70	Kırmızı et, beyaz et (balık ve kümes hayvanları)
Kurutma	915 - 2450	30-50	Makarna, soğan, çerez gıdalar, meyve suları
Ön ısıtma	915	50-240	Domuz pastırması, köfte, kümes hayvanları eti, sucuk, sosis, sardalya
Pastörizasyon & Sterilizasyon	2450	10-30	Taze makarna, hazır yemekler, poşet ambalajlı gıdalar, yarı-katı gıdalar, süt, dilim ekme
Pişirme	915	2-10	Ekme, donat (donut) fermantasyonu

Mikrodalga Teknolojisinin Avantajları

Mikrodalga teknolojisinin özütleme işleminde kullanımının avantajları konuyla ilgili çalışmış farklı yazarlar tarafından belirtilmiştir. Bunlar özetlenecek olursa:

-Elektromanyetik enerjinin çoğu ısıya dönüştüğü için enerji tasarrufu ve verimliliği vardır (Ince vd., 2014).

-Özütleme verimi yüksektir (Krishnan vd., 2016).

-İşlemler hızlı ve oldukça kısa sürede gerçekleşir (Simić vd., 2016).

-Toksik çözgen kullanımını azaltır ve yeşil özütleme için uygundur (Ranic vd., 2014).

-Homojen ısı dağılımı sağlar ve yüzeyin aşırı ısınmasını engeller.

-Yüksek sıcaklıklara ulaşılmaması ve işlem süresinin kısa olmasından dolayı vitamin ve fenolik maddeler başta olmak üzere genel olarak degradasyon oranı düşüktür. (Alvarez vd., 2017; Barba vd., 2016).

Dielektrik Isıtma, Permittivite (ϵ) ve Kayıp Faktörü

Mikrodalgalar veya yüksek frekanslı radyo dalgaları kullanarak ısıtmaya dielektrik ısıtma adı verilmektedir. Mikrodalgalar bir materyali ısıtırken ısıtılan materyalin dielektrik özelliklerine bağlı

olarak yansıtılabilir, absorbe edilebilir veya absorbe edilmeden geçirilebilir. Materyallerin dielektrik özellikleri permittivite kavramı ile belirtilmektedir. Permittivite, bir materyalin elektromanyetik dalgalara karşı nasıl cevap verdiğini gösteren bir terimdir (Eşitlik 1) (Roelvink, 2013).

$$\epsilon = \epsilon' - j \epsilon'' \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Dielektrik sabiti (ϵ') materyalin oluşan enerjinin ne kadarını depolayabileceğini, dielektrik kayıp faktörü (ϵ'') materyalin oluşan enerjinin ne kadarını absorbe edip ısıya dönüştürebileceğini ve j ise $\sqrt{-1}$ 'i ifade etmektedir.

Mikrodalga enerjisinin bir materyali aşarken uğradığı enerji kaybına, o materyalin “kayıp faktörü” denilmektedir. Kayıp faktörü yüksek olan gıdalar mikrodalga etkisiyle daha çabuk ısınmaktadır. Kayıp faktörü değeri; elektromanyetik dalgaların frekansına, materyalin sıcaklığına, fiziksel durumuna ve kimyasal bileşimine bağlı olarak değişmektedir (Adetunji vd., 2017).

Mikrodalga'nın Genel Özütleme Mekanizması

Mikrodalga teknolojisi ile özütleme işlemlerinde çözgenin var olduğu ya da çözgenin kullanılmadığı durumlar söz konusudur. Nitekim literatür çalışmaları incelendiğinde de hem çözgenin yer aldığı hem de çözgen kullanılmadan özütleme işlemlerini ele alan çalışmalara rastlamak mümkündür. Çözgen, mikrodalga enerjisini absorblamaktadır; polar çözgen (etanol, metanol, su, vb.) kaynama noktasına ulaşana kadar ısıdıktan sonra örnek matrisine yayılmakta ve böylelikle analitleri çözmektedir. Herhangi bir çözgen ilave etmeden bitkisel materyalin mikrodalga reaktörüne yerleştirilmesiyle de özütleme gerçekleştirilebilmektedir. Bu kapsamda farklı şekilde yeni (novel) tasarlanmış mikrodalga ekipmanları geliştirilmiştir. Bu sistemde, bitki materyali içindeki suyun iç ısı, bitki hücrelerini etkilemektedir. Mikrodalga ısıtma etkisiyle, bitki materyali içerisindeki metabolitler ve içten dışa aktarılan su serbest bırakılmaktadır (Li vd., 2012). Mikrodalga ile özütleme işlemi esnasında, bitkisel hücre duvarında ani sıvı buharlaşması ve basınçla yapısal bozulma gerçekleşmekte ve hücre protoplazması daha geçirgen hale gelerek analitlerin özütlenmesi daha kolay hale getirilmektedir (Maran vd., 2014).

Mikrodalga Destekli Özütleme İşlemine Etki Eden Faktörler

Frekans, mikrodalga kaynağının işlem süresini etkilemektedir. Kullanılan kaynağın frekansı arttıkça, gıdaya ulaşan elektromanyetik penetrasyon miktarı azalmaktadır. Bu yüzden özütleme işlemi yapılacak gıdaya özgü frekans seçimi önemlidir (Chaturvedi, 2018).

Mikrodalga destekli özütlemeye etki eden ikinci bir faktör ise mikrodalga gücüdür. Endüstride kullanılan birçok mikrodalga sistemi 5 - 100 kW arasında değişen mikrodalga gücünde çalışmaktadır. Mikrodalga gücü arttıkça, aynı miktardaki bileşenin özütlenme hızı da genellikle artmaktadır (Thirugnanasambandham vd., 2015). Bu duruma bağlı olarak gıda matrisinden hedef bileşenin özütlenme süresi azalmakta; ancak aynı zamanda artan mikrodalga gücü, daha fazla enerji maliyetini de beraberinde getirmektedir.

Mikrodalga gücündeki artış, belirli bir noktadan sonra gerçekleşen kütle transferine bağlı olarak özütleme hızını da değiştirmektedir. Mikrodalga gücünün artışı her zaman daha yüksek verimde özütleme sağlanacağı anlamına gelmemektedir. Özütlenecek bileşenler artan güce bağlı olarak yükselen sıcaklıklardan etkilenecek bozunabilmektedirler. Bu yüzden, farklı bitki materyalleri ve onlardan özütlenecek hedef bileşikler için optimum gücün belirlenmesi önemlidir (Simić vd., 2016).

Özütleme verimini arttıran başka bir faktör ise mikrodalga gücüne bağlı sıcaklıktır. Özütleme işleminde bitkisel materyalin içinde bulunduğu çözgenin sıcaklığı da özütleme verimi ile doğrudan ilişkilidir. Yüksek sıcaklıklarda, viskozite ve yüzey gerilimindeki düşüş nedeniyle çözgenin çözme gücü artmaktadır. Mikrodalga, çözgenin analitleri çözmesini kolaylaştırmakta ve matrise nüfuzunu arttırmaktadır. Ancak oluşan yüksek sıcaklıkların hedef analitin dekompozisyonuna veya degradasyonuna neden olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır (Tsubaki vd., 2013).

Özütlemeye etki eden bir diğer faktör ise gıdanın kütlesidir. Aynı hacimde olup, kütlesi yüksek olan örnekler genellikle düşük olanlara kıyasla daha fazla mikrodalga gücü absorbe edebilmektedir. Bundan dolayı işlemler esnasında aşırı basınç oluşum faktörünü göz önünde bulundurarak en uygun mikrodalga işlem koşullarının belirlenmesi önemli görülmektedir. Eğer toplam kütle az ise kesikli bir sistem işlem için daha uygundur (Routray ve Orsat, 2012).

Son olarak, bitki materyalinin içerisinde bulunan su ya da nem, mikrodalgayı absorbe etmesi ve dielektrik özelliklerini etkilemesinden ötürü özütlemeye etki eden faktörlerden birisidir. Bitki materyalinde bulunan suyun serbest ya da bağlı formu da mikrodalga etkinliğini belirlemektedir. Serbest suda bulunan polar moleküller bağlı forma kıyasla mikrodalga'nın oluşturduğu elektrik alandan daha fazla etkilenmektedir (Chandrasekaran vd., 2013). Dolayısıyla bitkinin kurutulmuş ya da taze olması da mikrodalga özütleme işleminde özütlenme verimini etkileyen faktör olarak değerlendirilebilir.

Özütlemede Doğru Çözgen Seçimi

Doğru çözgen seçimi özütleme işlemi için ana unsurdur. Seçilen çözgenin mikrodalga ışınlarını iyi absorplaması, analitin matrisiyle etkileşimi ve analiti çözebilir olması gerekmektedir. Çözgen mikrodalga enerjisi ememiyorsa, ısıtma ve özütleme işlemini gerçekleştiremez. Büyük dipol momente sahip olan çözgen, mikrodalga ışıması altında daha hızlı ısınacaktır. Basit bir şekilde su ve metanol arasında karşılaştırma yapıldığı zaman metanolün dielektrik sabiti suya göre daha düşük ama dielektrik kaybı daha yüksektir. Bu, metanolün mikrodalga geçişini engelleme kabiliyetinin düşük, ancak mikrodalga enerjisini ısıya dönüştürme kabiliyetinin yüksek olduğunu gösterir (Eskilsson ve Bjorklund, 2000). Özütlemede, hekzan ve toluen gibi polar olmayan çözgen gerekliyse, bu çözgenlerin su metanol ve aseton gibi yüksek bir dipol momente sahip polar çözgenlerle karıştırılması önerilmektedir (Büyüktuncel, 2012).

Mikrodalga Teknolojisi ile Bitkisel Dokulardan Bileşenlerin Eldesi

Mikrodalga teknolojisinin, bitkisel doku matrislerinden bileşiklerin özütlemede kullanımı giderek artmaktadır (Teo vd., 2013). Mikrodalga özütlemede ısı ve kütle aktarımı, katı matrisin içinden dışarıya doğru aynı yönde olmasından dolayı geleneksel özütlemeyle kıyasla daha kolay gerçekleşmektedir (Seoane vd., 2018).

Mikrodalga Teknolojisi ile Proteinlerin Özütleme

Son zamanlarda, mikrodalga enerjisinin bitkisel dokulardan protein özütlemede kullanılması; gücü, elverişliliği, verimi ve maliyet açısından uygunluğu ile oldukça popüler olmuştur

(Phongthai vd., 2016). Hayvansal proteinlerden daha düşük maliyetli olan bitkisel proteinler, fonksiyonel nitelikli ve zengin aminoasit profiline sahip gıda üretimi amacıyla kullanılmaktadır (Pojić vd., 2018). Mikrodalga teknolojisinin özütleme esnasında hücre yapısını etkilediği ve böylece özütleme verimine doğrudan etkisi olduğu belirtilmektedir. Choi vd. (2006), mikrodalga gücüne tabi tutulmadan önce soya fasulyesinin hücre duvarının sıkı, düzgün ve düzenli olduğunu elektron mikroskopuyla gözlemlemişlerdir. Mikrodalga, soya fasulyesinin hücre yapısını gevşeterek hücre duvarının parçalanmasını sağladığı ve böylelikle çözünür soya proteininin özütleme verimini arttırdığını bildirmişlerdir. Mikrodalga teknolojisinin protein özütleme verimine etkisini ele alan bir diğer çalışmada, Khan vd. (2011) mikrodalga, kuru hava ile ısıtma ve kısmi kaynatma yöntemleriyle stabilize edilmiş pirinç kepeğinden protein özütleme gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen protein verimleri sırasıyla %69.61, %67.59 ve %58.75 olarak bulunmuştur. En yüksek protein verimi mikrodalga ile yapılan özütleme işleminde bulunmuştur. Phongthai vd. (2016), başlangıç protein içeriği %14.13 olan pirinç kepeğine mikrodalga uygulayarak toplam proteinin %71.27'sini özütlemişler; mikrodalga gücü ve özütleme süresinin protein özütleme verimi üzerine doğrudan etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Ochoa Rivas vd. (2017)'ne göre, mikrodalga kullanımı birincil protein yapısında değişikliğe neden olmazken ikincil protein yapısını etkileyerek ürünün yağ emme indeksi, su emme indeksi, köpük aktivitesi, emülsifiye edici aktivite ve in vitro protein sindirilebilirliği gibi belirli fonksiyonel özelliklerini geliştirmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Mikrodalga destekli protein özütleme çalışmaları

Örnek	Hedef Madde	Parametre	Bulgular	Kaynak
Pirinç (<i>Oryza sativa</i> L.) kepeği	Protein	1000 W, 90 s, 0,89g/10ml	Alkali özütleme yöntemine göre %33,18 daha fazla verim elde edilmiştir.	Phongthai vd., 2016
Yerfıstığı (<i>Arachis hypogaea</i> L.) unu	Protein	725 W, 8 dk.	Alkali özütleme yöntemiyle birlikte mikrodalga kullanılarak toplam verim %77 arttırılmıştır.	Ochoa Rivas vd., 2017

Mikrodalga Teknolojisi ile Karbonhidratların Özütlenmesi

Mikrodalga ile karbonhidrat özütlemeye literatürde yaygın olarak polisakkaritlerin özütleme çalışmalarına rastlanılmaktadır. Hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan polisakkaritler, çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Basit ve güvenilir yöntem olan ısıtma, kaynatma ve geri akış yöntemleri uzun özütleme süresi ve yüksek sıcaklıktan dolayı polisakkaritlerin bozulmasına ve farmakolojik aktivitelerinin azalmasına neden olabilmektedir. Genel olarak matriste yer alan suyu ısıtan ve/veya ek bir çözügen kullanımı gerektirmeyen mikrodalga işlemi, alkalilerin kullanımına kıyasla polisakkaritlerin fizikokimyasal özelliklerini daha iyi korumaya olanak sağlamaktadır (Florez vd., 2015). Thirugnanasambandham vd. (2014), pitaya bitkisinden (*Hylocereus undatus* L.) pektin özütlemesi için seçilen optimum koşullarda (45 °C, 20 dk., 400 W) maksimum özüt veriminin %7.5 olduğunu bulgulamışlardır. Bagherian vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, greylif (*Citrus paradisi* L.) kabuğundan pektinin klasik yöntemle özütleme işleminde verimi %19.16 iken mikrodalga özütlemeye kullanılan 450 W, 630 W, 900 W'lık güçlerde verimler sırasıyla %21.23, %22.71 ve %26.27'ye olarak bulgulanmıştır. Geleneksel yöntemin 90 dk. uygulanması ile en yüksek verim elde edilirken, mikrodalga uygulaması ile aynı verim iki dk. gibi çok kısa sürede elde edilmiştir. Uygulanan mikrodalga gücü ile gerçekleşen hücre duvarı matrisinin gevşemesi ve parenşima hücre ayrılmasının pektin özütleme verimini artırdığı yorumu yapılmıştır.

Mikrodalga destekli özütleme işleminde güç ve sürenin doğru orantılı olarak karbonhidrat özütleme verimini arttırdığı ancak; uzun süren işlemlerde polisakkaritlerin degradasyonuna neden olabileceği de bildirilmiştir. Bu durumu da göze alarak Kumar vd. (2016), tamarillodan (*Cyphomandra betacea* L.) polisakkarit özütlemesi için optimum işlem koşullarını 60 °C, 60 dk. ve 400 W olarak belirlemişlerdir. Bu koşullarda en yüksek özütleme verimini ise %35 olarak bildirmişlerdir. Swamy vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada, muzdan pektin özütleme için kullanılan

sürekli ve kesikli mikrodalga özütleme işlemleri sonucunda, kesikli yöntem (vurgu oranı: 0.5, pH 3, 900 W) veriminin sürekli yöntem veriminden %2.18 daha fazla olduğu rapor edilmiştir. Düzenli uygulanan mikrodalga açma-kapama periyotları, bitki hücresinin şişmesini ve özütlenen pektin miktarının artmasını sağlamıştır. Ayrıca, vurgu oranı azaldıkça özüt veriminde artış gerçekleşmiştir. Xu vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada, mikrodalga ile hünnap (*Zizyphus jujub* L.) meyvesinden tatlandırıcı üretimi amacıyla polisakkarit özütlemesi gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga (300 W, 50 °C, 25 dk.) ile gerçekleştirilen özütlemeye işlem süresinin çok kısa olduğu belirtilmiş ve hünnap meyvesinin farklı anlamda işlenmesi için teknolojik detaylara yer verilmiştir.

Mikrodalga Teknolojisi ile Uçucu yağların Eldesi

Sadece fiziksel yollarla izole edilmesi gereken uçucu yağlar, bitkisel materyallerden elde edilmektedir. Kullanılan fiziksel yöntemler; damıtma (buhar, buhar/su ve su ile), sıkma (aynı zamanda narenciye kabuğu yağları için soğuk presleme olarak da bilinir) veya doğal malzemelerin kuru olarak damıtılmasıdır (piroliz) (Filly vd., 2014). Uçucu yağlar, uçucu bileşikler olarak tanımlanırlar. Yağ terimi, hidrofobik ve viskoz karakteristikler (suda çözünmeyen) belirtmek için kullanılırken, uçucu terimi bitkinin doğal özünü ve tipik kokusunu belirtmek için kullanılır (Hosseini vd., 2013). Günümüzde hem gıda hem de kozmetik sanayi için çok değerli görülen ve ticari değeri oldukça yüksek olan uçucu yağların eldesinde mikrodalga teknolojisinin kullanıldığı çalışmalara da sıkça rastlanılmaktadır. Ferhat vd. (2008), portakaldan uçucu yağ özütlemesinde kullanılan çözümsüz mikrodalga (100 °C, 10 dk., 200 W) özütleme işleminden sonra elde edilen verim ile hidrodistilasyon sonucu elde edilen verimi aynı oranda (%0,4) bulmuş ve uygulanan diğer bir yöntem olan soğuk pres yönteminde ise daha düşük verim elde ettiklerini bildirmişlerdir (%0.162). Ayrıca, taze portakal kabuklarından çözümsüz mikrodalga uygulaması ile limonen bileşiğinin %95'inin özütlemesini gerçekleştirmişlerdir. Çözügen kullanılmadan gerçekleştirilen başka bir çalışmada

ise Bayramoğlu vd. (2008) kekik otundan (*Origanum vulgare* L.) uçucu yağ özütlemesinde özütleme verimi 0.054 ml/g bulmuş ve bu değer, geleneksel hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen verimden (0.048 ml/g) daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Uçucu yağların mikrodalga ile özütlenmesi işlemlerinde çözenin kullanılmadığı çalışmalara rastlamak da mümkündür. Bununla ilişkili olarak, Chen vd. (2016), Çin greyfurtuna (*Citrus grandis* L.) iki basamaktan oluşan mikrodalga özütleme işlemi uygulamışlardır. İlk aşamada herhangi bir su veya çözen kullanmadan uçucu yağları özütlemişler, ikinci aşamada ise kalan posadan pektin özütlemesi yapmışlardır. Çözgeniz mikrodalga ile uçucu yağ özütleme, 180 dakikalık hidrodistilasyonla kıyaslandığında verimi %33.7 oranında arttırmıştır. Posaya uygulanan mikrodalga ile pektin özütlemesinde ise geleneksel asidik çözelti özütlemesiyle kıyaslandığında %3.29 daha fazla verim elde edilmiştir.

Mikrodalga Teknolojisi ile Fenolik Bileşiklerin Özütlenmesi

Biyoaktif bileşikler tıp ve eczacılıkta nutrasötik olarak da kullanılmaktadır (Teo vd., 2013). Bu bileşiklerin bazı hastalıklara karşı koruyucu ya da tedavi edici yararlı etkileri olduğu belirtilmektedir (Dahmoune vd., 2015). Bitki kaynaklı en önemli biyoaktif bileşikler başta flavonoidler olmak üzere fenolik bileşiklerdir (Orsat ve Routray, 2018). Flavonoidlerin genel olarak antioksidan ve serbest radikalleri uzaklaştırıcı etkileri vardır ve vücuda alındığı zaman oksidatif reaksiyonlara karşı koruyucu etki gösterirler (Baki vd., 2018).

Fenolik maddeler aynı zamanda farklı çevre koşullarına oldukça duyarlıdır ve hızla degrade olabilirler. Bu yüzden fenolik maddelerin özütlenmesinde işlem parametrelerinin kontrol edilmesi önem arz etmektedir. Hiranvarachat ve Devahastin (2014), havuçtan (*Daucus carota var. sativa* L.) mikrodalga ile β -karoten özütleme işleminde sıcaklık artışının özütlemeyi arttırdığını ancak; 58 °C'den sonra sıcaklığın degradesyona neden olduğunu belirtmişlerdir.

Mikrodalga işleminin fenoliklere olan verim etkisini gösteren bir diğer çalışmada Liazid vd. (2010), üzümde (*Vitis vinifera* L.) antosiyanin özütlemesi için 50 °C'de 20 dk. ve 100 W güçte uygulanan mikrodalga uygulaması ile glukozitler ve açıl türevlerinde %100 geri kazanım sağlanabildiğini belirtmişlerdir.

Farklı bitkisel materyallerden fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli özütlenmesi ile ilgili genel literatür bilgileri ve bu konuda bazı çalışmalar özet halinde Çizelge 3'te verilmiştir.

SONUÇ

Mikrodalga teknolojisini bitkisel dokulardan bileşenlerin özütlenmesinde kullanımı, hızı ve enerji verimliliği açısından uygun bir yöntemdir. Mikrodalga, geleneksel özütleme yöntemleriyle kıyaslandığı zaman daha yüksek verim ve yüksek sıcaklığın neden olduğu besinsel kayıpları azaltmasıyla diğer özütleme yöntemlerine alternatif bir yöntem olarak görülmektedir. Literatürde, mikrodalga'nın bitkisel dokulardan protein özütlemesinde kullanımı sınırlıdır ve bitki kaynaklı protein özütlemesinde yeni ve gelişmekte olan bir yöntem olarak görülebilir. Bitkisel materyallerin hücre yapılarının farklı olması, hedeflenen maddelerin niteliklerinin de yine farklı olmasından dolayı konuyla ilgili daha çok çalışmanın yapılması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. Benzer şekilde; bitkisel materyallerden protein, karbonhidrat, fenolik madde ve uçucu yağ gibi bileşenlerin eldesinde kullanılan mikrodalga destekli özütleme yöntemleri, farklı bitkisel materyaller ile yapılacak ileri çalışmalarla geliştirilmelidir.

Çizelge 3. Mikrodalga destekli fenolik madde özütlemeye çalışmaları

Örnek	Hedef madde	Parametre	Bulgular	Kaynak
İğde (<i>Hippophae rhamnoides</i> L.)	Flavonoid	400 W, 15 dk.	Çözgensiz mikrodalga özütlemeye verimi, geleneksel yöntemle özütlemenin %3'ünü oluşturmuştur.	Issartier vd., 2011.
Siyah çay (<i>Camellia sinensis</i> L.)	Fenolik madde	900 W, 90 s	210 saniyelik geleneksel demlemeye kıyasla mikrodalga ile %43 daha fazla fenolik konsantrasyonu elde edilmiştir.	Spigno ve Favari, 2009.
Mor mısır (<i>Zea mays</i> L.)	Antosiyanin	555 W, 19 dk. 1,5 M HCl – %95 etanol (15:85, v/v)	Özütlemeye verimi %98,85'tir. 60 dakikalık geleneksel özütlemeye sonucu elde edilen toplam antosiyanin miktarı, mikrodalga özütlemeye ile elde edilenin %85,6'sı kadardır.	Yang ve Zhai, 2010.
Yerfıstığı (<i>Arachis hypogaea</i> L.) kabuğu	Fenolik madde	%90 güç, 30 s, 1,5 g kabuk + 37,5 ml %30 etanol çözeltisi	%90 güçte özütlenen kabuğun miktarı 1,5 gramdan 3,5 grama çıkarıldığında özütlenen toplam fenolik miktarında %35,6 azalma olmuştur. 1,5 g kabuk için mikrodalga'nın %10 güçten %90'a yükseltilmesiyle özütlemeye verimi %53,9 artmıştır.	Ballard vd., 2010.
Yeşil çay (<i>Camellia sinensis</i> L.)	Fenolik madde	600 W, 100 °C, 20 dk. 600 W, 80 °C, 30 dk.	Yüksek özütlemeye verimi için elverişlidir. Yüksek ısının neden olacağı kayıpları önlemek için elverişlidir.	Nkhili vd., 2009.
Pitaya (<i>Hylocereus undatus</i> L.)	Betalain	100 W, 35 °C, 8 dk.	9 mg/L betalain özütlenmiştir. Sıcaklık ve örnek miktarı arttıkça özütlemeye verimi artmıştır.	Thirugnanasambandham ve Sivakumar, 2017.

KAYNAKLAR

Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V., Raghavan, V. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction

techniques: A review. *Food Hydrocolloids*, 62, 239-250.

Álvarez, A., Poejo, J., Matias, A. A., Duarte, C. M., Cocero, M. J., Mato, R. B. (2017). Microwave

- pretreatment to improve extraction efficiency and polyphenol extract richness from grape pomace. Effect on antioxidant bioactivity. *Food Bioprod Process*, 106, 162-170.
- Baki, S., Tufan, A. N., Altun, M., Özgökçe, F., Güçlü, K., Özyürek, M. (2018). Microwave-assisted extraction of polyphenolics from some selected medicinal herbs grown in Turkey. *Rec Nat Prod*, 12, 29-39.
- Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., O'Keefe, S. (2010). Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chem*, 120(4), 1185-1192.
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., Orlien, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review. *Trends Food Sci Tech*, 49, 96-109.
- Bayramoglu, B., Sahin, S., Sumnu, G. (2008). Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *J Food Eng*, 88(4), 535-540.
- Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A., Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chem Eng Process: Process Intensification*, 50(11-12), 1237-1243.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi. *Eċ Fak Derg*, 32(2), 209-242.
- Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., Basak, T. (2013). Microwave food processing—A review. *Food Res Int*, 52(1), 243-261.
- Chaturvedi, A. K. (2018). Extraction of Nutraceuticals from Plants by Microwave Assisted Extraction. *Sys Rev Pharm*, 9(1).
- Chen, Q., Hu, Z., Yao, F. Y. D., Liang, H. (2016). Study of two-stage microwave extraction of essential oil and pectin from pomelo peels. *LWT-Food Sci Tech*, 66, 538-545.
- Choi, I. L., Choi, S. J., Chun, J. K., Moon, T. W. (2006). Extraction yield of soluble protein and microstructure of soybean affected by microwave heating. *J Food Process Pres*, 30(4), 407-419.
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chem*, 166, 585-595.
- Villanueva, M., Harasym, J., Muñoz, J. M., Ronda, F. (2018). Microwave absorption capacity of rice flour. Impact of the radiation on rice flour microstructure, thermal and viscometric properties. *J Food Eng*.
- Eskilsson, C. S., Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J Chromatogr A*, 902(1), 227-250.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Visinoni, F. R. A. N. C. O., Vian, M. A., Chemat, F. (2008). Solvent free microwave extraction of essential oils. Green chemistry in the teaching laboratory, *Chim Oggi*, 21-23.
- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G., Chemat, F. (2014). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chem*, 150, 193-198.
- Flórez, N., Conde, E., Domínguez, H. (2015). Microwave assisted water extraction of plant compounds. *J Chem Technol Biot*, 90(4), 590-607.
- Hiranvarachat, B., Devahastin, S. (2014). Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels. *J Food Eng*, 126, 17-26.
- Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr Polym*, 95(1), 50-56.
- Ince, A. E., Sahin, S., Sumnu, G. (2014). Comparison of microwave and ultrasound-assisted extraction techniques for leaching of phenolic compounds from nettle. *J Food Sci Tech*, 51(10), 2776-2782.
- Konak, Ü. İ., Certel, M., Helhel, S. (2009). Gıda sanayisinde mikroalgla uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3), 20-31.

- Krishnan, R. Y., & Rajan, K. S. (2016). Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*: study of kinetics and thermodynamics. *Sep Purif Technol*, 157, 169-178
- Kumar, S., Sivakumar, M., Ruckmani, K. (2016). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Cyphomandra betacea* and its biological activities. *Int J Biol Macromol*, 92, 682-693.
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M., Chemat, F. (2012). Microwave-assisted extraction of antioxidants and food colors. *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*, Springer:Boston, MA., ISBN; 978-1-4614-4830-3.
- Liaqid, A., Guerrero, R. F., Cantos, E., Palma, M., Barroso, C. G. (2011). Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. *Food Chem*, 124(3), 1238-1243.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., Sridhar, R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds. *Carbohydr Polym*, 101, 786-791.
- Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacogn rev*, 1(1), 7-18.
- Meda, V., Orsat, V., Raghavan, V. (2017). Microwave heating and the dielectric properties of foods. In *The Microwave Processing of Foods* (Second Edition), Woodhead:Cambridge, ISBN; 978-0-08-100528-6.
- Nkhili, E., Tomao, V., El Hajji, H., El Boustani, E. S., Chemat, F., Dangles, O. (2009). Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols. *Phytochem Analysis*, 20(5), 408-415.
- Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S. O., Chuck-Hernández, C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: effects in yield and functional properties of protein isolates. *Food Bioprocess Tech*, 10(3), 543-555.
- Orsat, V., Routray, W. (2018). Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids. *Water Extraction of Bioactive Compounds*; ISBN: 9780128096154.
- Osepchuk, J. M. (1984). A history of microwave heating applications. *IEEE Transactions on Microwave theory and Techniques*, 32(9), 1200-1224.
- Perino-Issartier, S., Abert-Vian, M., Chemat, F. (2011). Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products. *Food Bioprocess Tech*, 4(6), 1020-1028.
- Phongthai, S., Lim, S. T., Rawdkuen, S. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. *J Cereal Sci*, 70, 146-154.
- Pojić, M., Mišan, A., Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends Food Sci Tech*.
- Ranic, M., Nikolic, M., Pavlovic, M., Buntic, A., Siler-Marinkovic, S., Dimitrijevic-Brankovic, S. (2014). Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface methodology. *J Clean Prod*, 80, 69-79.
- Regier, M., Knoerzer, K., Schubert, H. (Eds.). (2016). *The microwave processing of foods*. Woodhead:Cambridge.
- Roelvink, J., Trabelsi, S., Nelson, S. O. (2013). A planar transmission-line sensor for measuring the microwave permittivity of liquid and semisolid biological materials. *IEEE T Instrum Meas*, 62(11), 2974-2982.
- Routray, W., Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food Bioprocess Tech*, 5(2), 409-424.
- Seoane, P. R., Flórez-Fernández, N., Piñeiro, E. C., González, H. D. (2018). Microwave-Assisted Water Extraction. *Water Extraction of Bioactive Compounds*; ISBN: 9780128096154.
- Sevindik, O., Selli, S. (2017). Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri. *GIDA*, 42(1).
- Simić, V. M., Rajković, K. M., Štojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L.,

- Karabegović, I. T. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Sep Purif Technol*, 160, 89-97.
- Spigno, G., De Faveri, D. M. (2009). Microwave-assisted extraction of tea phenols: a phenomenological study. *J Food Eng*, 93(2), 210-217.
- Swamy, G. J., Muthukumarappan, K. (2017). Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chem*, 220, 108-114.
- Teo, C. C., Chong, W. P. K., Ho, Y. S. (2013). Development and application of microwave-assisted extraction technique in biological sample preparation for small molecule analysis. *Metabolomics*, 9(5), 1109-1128.
- Thirugnanasambandham, K., Sivakumar, V., Maran, J. P. (2014). Process optimization and analysis of microwave assisted extraction of pectin from dragon fruit peel. *Carbohydr Polym*, 112, 622-626.
- Thirugnanasambandham, K., Sivakumar, V., Maran, J. P. (2015). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Int J Macromol*, 72, 1-5.
- Thirugnanasambandham, K., Sivakumar, V. (2017). Microwave assisted extraction process of betalain from dragon fruit and its antioxidant activities. *J Saudi Soc Agri Sci*, 16(1), 41-48.
- Tsubaki, S., Onda, A., Hiraoka, M., Fujii, S., Azuma, J. I., Wada, Y. (2018). Microwave-Assisted Water Extraction of Carbohydrates From Unutilized Biomass. *Water Extraction of Bioactive Compounds*; ISBN; 9780128096154.
- Tsubaki, S., Oono, K., Onda, A., Yanagisawa, K., Azuma, J. I. (2013). Comparative decomposition kinetics of neutral monosaccharides by microwave and induction heating treatments. *Carbohydr Res*, 375, 1-4.
- Uslu, M. K., Certel, M. (2006). Dielektrik ısıtma ve gıda işlemede kullanımı. *Teknolojik Araştırmalar GTED*, 3(1), 61-69.
- Xia, T., Zhang, C., Oyler, N. A., Chen, X. (2013). Hydrogenated TiO₂ nanocrystals: a novel microwave absorbing material. *Adv Mater*, 25(47), 6905-6910.
- Xu, M., Yao, X., & Wang, J. (2017). Study on Extraction Technology of Polysaccharides from Jujube by Microwave Method. *OALib Journal*, 4(03), 1.
- Yang, Z., Zhai, W. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. *Innov Food Sci Emerg*, 11(3), 470-476.

KARRAGENANLAR VE ET PROTEİNLERİ ARASINDAKİ ETKİLEŞİMLERİN DİFFERANSİYEL TARAMALI KALORİMETRE İLE İNCELENMESİ

Esen Eyiler^{1*} Halil Vural²

¹Akeniz Üniversitesi Korkuteli Meslek Yüksekokulu, Antalya, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 12.06.2018; Kabul / Accepted: 27.08.2018; Online baskı / Published online: 01.10.2018

Eyiler, E., Vural, H. (2018). Karragenanlar ve et proteinleri arasındaki etkileşimlerin differansiyel taramalı kalorimetre ile incelenmesi. *GIDA* (2018) 43 (5): 776-786 doi: 10.15237/gida.GD18061

Eyiler, E., Vural, H. (2018). Determination of interactions between meat proteins and carrageenans with differential scanning calorimetry. GIDA (2018) 43 (5): 776-786 doi: 10.15237/gida.GD18061

ÖZ

Bu çalışma kapsamında et proteinlerinin farklı karragenanlar ile etkileşimi NaCl eklendiği ve eklenmediği durumlarda araştırılmıştır. Bu amaçla et proteinlerinin denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p) ve camsı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve karragenanların jelleşme sıcaklıkları differansiyel taramalı kalorimetre (DTK) ile incelenmiştir. DTK'dan elde edilen termogramlarda miyosin için 57.96°C, sarkoplazmik proteinler için 66.08°C ve aktin için 79.23°C olmak üzere 3 temel T_p değeri bulunmuştur. Kıyma haline getirilmiş dana eti tuz eklendiğinde miyosin ve aktinin T_p değerlerinde azalma sarkoplazmik proteinlerinininde ise artış gözlenmiştir. Karragenanlar eklendiğinde ise proteinlerin aktin ve miyosinin T_p değerlerinde azalma gözlenmiştir. Karragenanlar etkilerini tuz varlığında daha belirgin olarak göstermişlerdir ($P \leq 0.05$). Camsı geçiş sıcaklığı DTK termogramlarında basamak değişim olarak gözlenmiştir. Tuz eklemenin camsı geçiş sıcaklığı üzerine önemli bir etkisi gözlenmezken ($P > 0.05$), eklenen karragenanlardan yalnızca ι -karragenan artışa neden olmuştur ($P \leq 0.05$). κ ve λ -karragenan ise camsı geçiş sıcaklıklarında azalmaya neden olmuşlardır ($P > 0.05$).

Anahtar kelimeler: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre, Karragenan, Et proteinleri

DETERMINATION OF INTERACTIONS BETWEEN MEAT PROTEINS AND CARRAGEENANS WITH DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY

ABSTRACT

In this study the interactions between meat proteins and κ , ι , λ -carrageenans with or without NaCl were investigated. For this purpose the thermal denaturation (T_p) and glass transition temperatures (T_g) and gelation temperatures of carrageenans were determined by using differential scanning calorimetry (DSC). Three denaturation peaks were found for ground meat which were 57.96°C for myosin, 66.08°C for sarcoplasmic proteins and 79.23°C for actin. The T_p of myosin and actin were decreased while T_p of sarcoplasmic proteins were increased when NaCl was added. Addition of carrageenans decreased the T_p of actin and myosin and it was observed that effect of carrageenans was increased when salt was added. The T_g was observed as step change in the thermograms. Addition of salt did not affect T_g of samples, only ι -carrageenan increased T_g of samples ($P \leq 0.05$). On the other hand κ , λ -carrageenan caused a decrease in the T_g of samples ($P > 0.05$).

Keywords: Differential Scanning Calorimetry, Carrageenan, Meat Proteins

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ eseneyiler@gmail.com ,

☎ (+90) 242 643 5000

☎ (+90) 242 643 5005

GİRİŞ

Düşük yağlı et ürünlerinde karragenan ve aljinatlar gibi su bağlayıcı özelliği olan polisakkaritlerin kullanımı, tüketicilerin düşük yağlı et ürünlerini tercih etmelerinden dolayı, et üreticilerince oldukça ilgi görmektedir (Amako ve Xiong 2001). Karragenanlar jel oluşturma ve su tutma özellikleri dolayısıyla, düşük yağlı et ürünlerinin üretiminde en çok kullanılan katkı maddelerindedir (Zhou vd. 2010, Candoğan ve Kolsarıcı 2003). Li ve Yiang (2004) karragenanların bu özelliklerinin ilk olarak proteinlerin polar grupları ile etkileşime girerek ve jel sistemine entegre olarak güçlü jel yapıları oluşturmalarından, ikincil olarak da karragenan molekülünün yapısında serbest su ile daha fazla hidrojen bağı oluşmasını sağlayan anyonlardan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Ayrıca karragenanların düşük yağlı et ürünlerindeki fonksiyonellikleri termal olarak geri dönüşümlü özelliklerinden de kaynaklanmaktadır (Amako ve Xiong 2001). Karragenanlar su yosunlarından elde edilen sülfatlanmış polisakkaritlerdir ve 3 temel türü vardır; bunlar kappa (κ), iota (ι) ve lambda (λ) karragenandır. Bu üç karragenanın birbirinden farkı sülfatlanma şekilleri ve sülfat grupları ile bağlanmış katyonlardan kaynaklanmaktadır (Towle 1973).

Düşük yağlı et ürünlerinin üretiminde kullanılan hidrokolloidlerin et proteinlerinin termal geçiş sıcaklıkları üzerinde etkili olduğu vurgulanmaktadır. Shand vd. (1994) et parçalarına %2 oranında κ -KRG eklendiğinde, et proteinlerinin stabilize olduğunu ve bu etkinin κ -KRG ve et proteinleri arasındaki ilişkiden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Et proteinleri için tipik geçiş sıcaklıkları; miyosin ve alt birimleri için 54 – 58°C arasında, sarkoplazmik proteinler için 67°C ve aktin için 71- 83°C arasındadır ve bu proteinlerin termal özellikleri pH ve tuzdan etkilenmektedir (Wright vd. 1977; Harwalker ve Ma 1990). Ete sodyum klorür eklenmesi veya pH'nın düşürülmesi proteinlerin stabilitesini etkilemekte ve denatürasyon sıcaklıklarını düşürmektedir (Lüisa vd. 2008. Pighin vd.2008). Differansiyel taramalı kalorimetre (DTK) kas dokusundaki et proteinlerinin termal denatürasyonlarını çalışmak

için etkin bir yöntem olarak görülmekte ve kasılmayı sağlayan proteinler olan aktin ve miyosin ile sarkoplazmik proteinler bu yöntem ile birbirlerinden ayrılabilir (DeFreitas 1997). DTK birinci derece ve ikinci derece geçişlerin analizlerinde kullanılabilir. Gıdalarda birinci derece geçişler protein denatürasyonu, nişastaların jelatinizasyonu erime proseslerini, ikinci derece geçişler ise camsı geçiş sıcaklıklarının analizini içermektedir. Camsı geçiş amorf maddelerin bir özelliğidir ve nişasta granülleri ve dondurulabilen gıdalar camsı geçiş sıcaklığı göstermektedir (Ma, vd. 1990). Gıdalar dondurulduklarında mikrobiyolojik olarak stabil olmalarına rağmen kimyasal ve fiziksel bozulmalara uğrayabilmektedir. Gıdaların uzun süre depolanmasının dondurulmuş amorf camsı fazda olmaları ile sağlanabileceği belirtilmektedir. Camsı durumdaki bir gıda da moleküllerin hareket kabiliyetlerinin çok sınırlı olmasından dolayı bu durumdaki gıdaların depolama sırasında zarara uğramadığı savunulmaktadır (Orlien vd 2004). Akköse ve Aktaş (2008) gum arabik ve κ -KRG ekledikleri etleri, camsı geçiş sıcaklığı ve -18°C'da depoladıkları çalışmalarında iki sıcaklık arasında ürünlerin kaliteleri arasında önemli bir farklılık olmadığını bu nedenle de ürünlerin -18°C yerine camsı geçiş sıcaklıkları olan -13°C 'da depolanabileceğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı tuz içeren ve içermeyen kıyma haline getirilmiş dana eti örneklerine farklı konsantrasyonlarda eklenen κ , ι ve λ -KRG ile et proteinleri arasında bir etkileşim meydana gelip gelmediği T_p sıcaklıklarındaki meydana gelen kaymaların DTK ile belirlenerek incelenmesidir. Ayrıca örneklerinin camsı geçiş sıcaklıklarında meydana gelen değişimlerde incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan kıyma haline getirilmiş dana eti yerel kasaplardan tuz ise marketten temin edilmiştir. Katkı maddesi olarak kullanılan Kappa (κ), Lambda (λ) ve iota (ι) karragenanlar (KRG) Cargill'den (İstanbul/Türkiye) tarafından temin edilmiştir.

Metot

Örneklerin Hazırlanması

Karragenanların termal özelliklerinin belirlenebilmesi amacıyla her bir maddenin saf su içerisinde %2'lik çözeltileri hazırlanmıştır. Karragenanların et proteinlerinin denatürasyon sıcaklıkları üzerine etkisinin belirlenebilmesi amacıyla kıyma haline getirilmiş dana etine %3, 2 ve 1 oranında κ , λ ve ι KRG eklenmiş ve homojen bir karışım elde edilebilmesi amacıyla 5 dakika boyunca mikserle karıştırılmıştır. DeFreitas vd (1997) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda % 0.5 oranında KRG kullanıldığında proteinlerin termal özelliklerinde değişime neden olmadığını belirtmelerinden dolayı çalışmamızda karragenanların etkisini daha belirgin gözlemleyebilmek amacıyla belirtilen konsantrasyon kullanılmıştır. Denemeler tuzun etkisinin gözlenebilmesi amacıyla tuz yokluğunda ve varlığında gerçekleştirilmiştir. Tuzun et proteinleri üzerine etkisinin gözlenebilmesi içinse örnekler %2 oranında tuz ilave edilmiştir.

Termal özelliklerin incelenmesi

Karragenanlar çözeltileri, kıyma haline getirilmiş dana eti ve karışımların termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (Q20, TA Instruments, USA) kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla örneklerden 6 ± 0.5 mg örnek alınarak alüminyum diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) kaplarına tartılmış ve hermetik olarak kapatılmıştır. Kaplar DTK hücresine yerleştirildikten sonra 20°C 'da dengelenmiş ve $20-100^{\circ}\text{C}$ arasında $5^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ile referansa karşı tarama gerçekleştirilmiştir. Karragenanların termal değişimleri geri dönüşümlü olduğundan örnekler jel-sol geçişlerin belirlenebilmesi için $100-20^{\circ}\text{C}$ arasında yine $5^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ile taranmıştır. Analizlerde referans olarak boş, hermetik olarak kapatılmış DTK kabı kullanılmıştır. Sonuçlar TA Universal Analysis 2000 ile analiz edilmiştir. Bu analizler ile etteki proteinlerin denatürasyon pik (T_p) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH J/g) belirlenmiştir.

Ürünlerin camsı geçiş sıcaklıklarının belirlenmesinde hermetik olarak kapatılan örnek kaplarının DTK hücresine yerleştirilmesinden sonra örnekler 20°C 'da dengelenmiştir. Örnek ve

referans kabı denge sıcaklığına ulaştığında $5^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ile kaplar -80°C 'a soğutulmuş ve bu sıcaklıkta 15 dakika tutulmuştur. Süre sonunda kaplar tavlama sıcaklığına getirilmiş ve 60 dk. beklenmiştir. Kaplar tekrar -80°C 'a soğutulmuş ve 15 dakika bu sıcaklıkta tutulmuş ve devamında $5^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ile 20°C 'a kadar taranmıştır (Akköse ve Aktaş 2008). Camsı geçiş sıcaklığı elde edilen termogramlarda basamak değişim olarak gözlenmektedir (Akköse ve Aktaş 2008).

İstatistiksel analizler

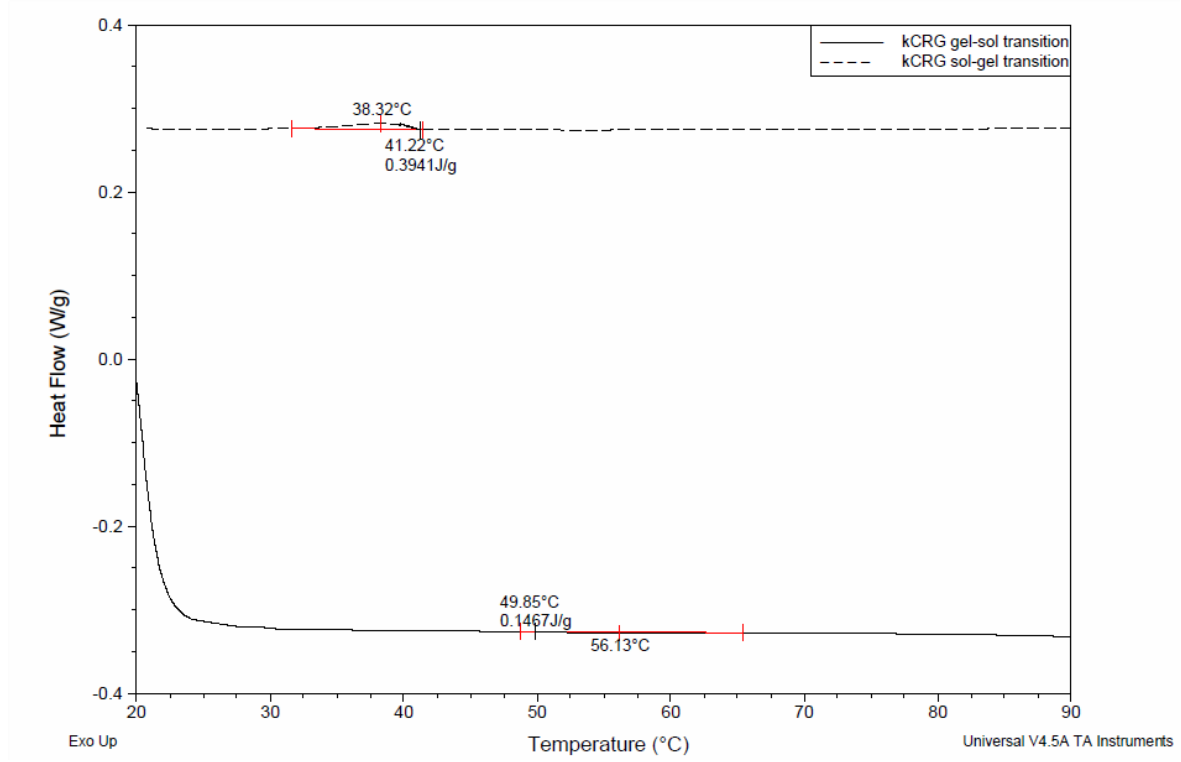
Elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS paket programı kullanılmıştır. Varyans analizi ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki farklar Duncan analizi ile incelenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Karragenanlar, kıyma haline getirilmiş dana eti ve karışımların termal denatürasyon sıcaklıklarına ait sonuçlar

Karragenanların %2 lik çözeltileri üzerinde gerçekleştirilen DTK incelemelerine göre, κ KRG'in termal olarak geri dönüşümlü olduğu bulunmuştur. κ KRG'in jel-sol geçişi pik sıcaklığı 56.13°C olarak, sol-gel geçiş sıcaklığı ise 38.29°C olarak bulunmuştur (Şekil 1). Bu durum κ KRG'nin termal olarak dönüşümlü olduğunun bir göstergesidir. λ ve ι CRG için $20-100^{\circ}\text{C}$ aralığında belirgin bir pik elde edilememiştir. %1 ve 2'lik κ KRG ve metil selüloz jellerinin termal özelliklerini deiyonize su içeren referansa karşı $10-80^{\circ}\text{C}$ aralığında $1^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ artışla DTK ile inceleyen Tomsic vd. (2008) κ KRG'a ait jel-sol geçiş sıcaklıklarını %1 ve 2'lik çözeltiler için sırasıyla 40.9°C ve 51.6°C olarak, sol-jel geçiş sıcaklıklarını ise sırasıyla 28.4 ve 36.7°C bulunduğunu belirtmişlerdir. Buna karşılık DeFreitas vd (1997) tarafından gerçekleştirilen ve et proteinleri ile κ CGN arasındaki etkileşimlerin incelendiği bir çalışmada $25-110^{\circ}\text{C}$ arasında $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ artışla yapılan taramalarda %0.5 κ KRG'a ait termal geçiş pikinin belirlenemediğini, %2'lik κ KRG çözeltilisinin ise jel-sol geçiş sıcaklığının 54.5°C olarak bulunduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda bulunan değerler literatürde belirtilen değerlerden daha yüksektir bu durumun, çalışmalarda

hazırlanan karragenan ve çözeltilerinin gerçeleştirilen tarama sıcaklık farklılıklarından konsantrasyonlarındaki ve DTK'da kaynaklandığı düşünölmektedir.



Şekil 1: κ -karragenanın 20-100°C aralığında sol-jel ve jel-sol değışimlerini gösteren DTK termogramı

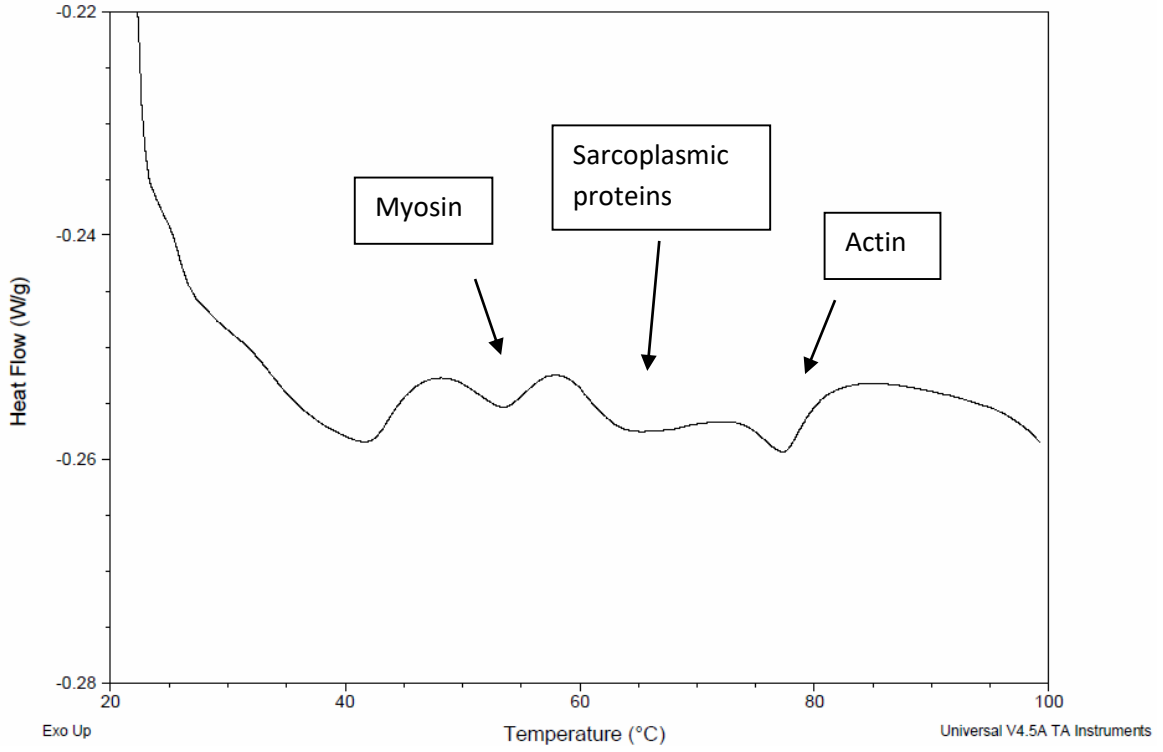
Figure 1: The sol-gel and gel-sol transitions of κ -carrageenan in DSC thermogram

Kıyma örneğinin DTK ile analizi sonucunda elde edilen termogramlarda 3 endotermik pik gözlenmiştir (Şekil 2). Bu piklerden birincisi miyosine, ikincisi sarkoplazmik proteinlere ve üçüncüsü ise aktine ait denatürasyon piklerini göstermektedir. Deantürasyon pik sıcaklıkları (T_p) ise sırasıyla, miyosin için 57,96°C, sarkoplazmik proteinler için 66.08°C ve aktin için 79.23°C olarak bulunmuştur. Kıymaya %2 oranında NaCl eklendiğinde T_p değerleri miyosin ve aktin için sırasıyla 56.06 ve 75.25°C'a düşmüş, sarkoplazmik proteinlerin T_p değeri ise 68.17°C'a yükselmiştir. Miyosin ve aktin tuzda çözünen proteinler olduklarından dolayı tuz eklenmesi ile birlikte bu proteinler destabilize olmuşlar ve denatürasyon sıcaklıkları düşmüştür. Bu durum miyosin ve aktinin denatürasyona daha az dayanıklı hale geldiğini göstermektedir. Aynı şekilde miyosinin denatürasyonu için gerekli olan enerji (ΔH) tuz

varlığında 0.5030'dan 0.0291J/g'a, aktinin denatürasyonu için gerekli enerji ise tuz varlığında 0.1847'den 0.0092 J/g'a düşmüştür. Chen vd. (2007) keten tohumunun et proteinleri ile etkileşimlerini inceledikleri çalışmalarında kontrol grubuna (tuz ve keten tohumu içermeyen örnek) ait örneğin DTK incelemelerinde 3 temel pik bulunmuş bu sıcaklıkların 58.4°C, 66.6°C ve 81.9°C olduğu ve sırasıyla miyosin, sarkoplazmik proteinler ve aktine ait olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada kıymaya % 2.5 oranında tuz eklenmesi durumunda miyosin ve aktinin T_p değerlerinin sırası ile 3°C ve 8.5°C azaldığı buna karşılık sarkoplazmik proteinlerin T_p değerlerinin 1.9°C arttığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Pighin vd (2008), tarafından gerçekleştirilen çalışmada ete % 0.7 oranında tuz eklendiğinde miyosinin ΔH ve aktinin T_p değerinin belirgin şekilde azaldığı, miyosinin T_p ve aktinin ΔH değerlerinde ise çok

az oranda azalma olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre özellikle aktinin ortama eklenen tuz nedeniyle destabilize olduğu böylece

bu proteinin denatürasyona karşı daha duyarlı hale geldiğini belirtmişlerdir.



Şekil 2: Et proteinlerinin denatürasyonunu gösteren DTK termogramı.

Figure 2: DSC thermograms of denaturation of meat proteins.

κ KRG'in tuz eklenmediği durumda et proteinlerinden miyosinin T_p değerini düşürdüğü gözlenmiştir (Çizelge 1). Ancak bu düşme yalnızca %1 oranında κ KRG kullanıldığında istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Miyosinin denatürasyonu için gerekli enerjiye (ΔH) bakıldığında ise örnekler eklenen κ KRG oranı arttıkça denatürasyon için gerekli enerjinin azaldığı gözlenmiştir. Tuz eklenen örnekler kendi arasında incelendiğinde tuz varlığında κ KRG eklemek önemli bir değişikliğe neden olmamıştır ($P > 0.05$). κ KRG örneklerde %2 oranında kullanıldığında ise miyosine ait denatürasyon piki belirlenememiştir. Denatürasyon için gerekli enerjide de denatürasyon piklerine benzer şekilde önemli bir farklılığa rastlanmamıştır ($P > 0.05$). κ KRG'in sarkoplazmik proteinler üzerine etkisine bakıldığında (Çizelge 2) ise %2 oranında κ KRG

ve tuz içeren örnek hariç diğer örneklerde önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($P > 0.05$). Tuz içeren örneklerdeki temel etkinin kontrol ile karşılaştırıldığında κ -karragenandan değil tuzdan kaynaklandığı düşünülmüştür. Sarkoplazmik proteinlerin ΔH değerlerinin κ KRG'dan nasıl etkilendiğinde bakıldığında ise yalnızca %3 oranında κ KRG içeren örnekte önemli bir artış gözlenmiştir ($P \leq 0.05$). Diğer örneklerde tuz ya da karragenan eklemenin herhangi bir etkisi gözlenmemiştir ($P > 0.05$). κ KRG'in esas etkisi özellikle %2 ve 3 oranında kullanıldığında aktin üzerinde gözlenmiştir. Tuz içeren ve içermeyen bu örnekler için aktinin T_p değerlerinde önemli bir azalmaya sebep olmuştur ($P \leq 0.05$). Aktine ait ΔH değerlerine bakıldığında ise özellikle %2 oranında tuz ve κ KRG içeren örnekteki artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Çizelge 1: Örnekler ve kullanılan katkı maddeleri.
Table 1: Samples and additives used

Sample	Amount of Salt (%)	Carrageenan	Carrageenan percentage (%)
K	-	-	-
KT	2	-	-
KκCGN1	-	κ- Carrageenan	1
KκCGN2	-	κ- Carrageenan	2
KκCGN3	-	κ- Carrageenan	3
KTκCGN1	2	κ- Carrageenan	1
KTκCGN2	2	κ- Carrageenan	2
KTκCGN3	2	κ- Carrageenan	3
KλKGN1	-	λ- Carrageenan	1
KλKGN2	-	λ- Carrageenan	2
KλKGN3	-	λ- Carrageenan	3
KTλKGN1	2	λ- Carrageenan	1
KTλKGN2	2	λ- Carrageenan	2
KTλKGN3	2	λ- Carrageenan	3
KιKGN1	-	ι- Carrageenan	1
KιKGN2	-	ι- Carrageenan	2
KιKGN3	-	ι- Carrageenan	3
KTιKGN1	2	ι- Carrageenan	1
KTιKGN2	2	ι- Carrageenan	2
KTιKGN3	2	ι- Carrageenan	3

Çizelge 2: κ-karragenan kullanılan tuz içeren ve içermeyen örneklerin proteinlerine ait denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p), Camısı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH) sonuçları.

Table 2: The denaturation peak temperatures (T_p), Glass transition temperatures and energy for denaturation of samples with κ-carrageenan and with or without NaCl

Sample	Myosin		Sarcoplasmic proteins		Actin		T_g (°C)
	T_{p1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_{p2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{p3} (°C)	ΔH_3 (J/g)	
Minced meat (K)	57.96 ^a	0.5030 ^{ab}	66.08 ^a	0.3688 ^a	79.23 ^a	0.1847 ^a	-15.73 ^{ab}
KκKRG1	55.62 ^b	0.0763 ^a	66.06 ^a	0.2092 ^a	78.70 ^{ab}	0.2147 ^{bc}	-15.34 ^a
KκKRG2	57.54 ^a	0.0143 ^{bc}	66.02 ^a	0.3600 ^a	78.33 ^b	0.1271 ^{abd}	-15.49 ^{ab}
KκKRG3	56.76 ^{ab}	0.0027 ^c	64.30 ^a	1.6324 ^b	78.28 ^b	0.0906 ^{ade}	-15.84 ^b
K+NaCl	56.06 ^b	0.0291 ^{bc}	68.17 ^b	0.3185 ^a	75.25 ^c	0.0092 ^{de}	-15.79 ^b
KTκKRG1	55.84 ^b	0.0210 ^{bc}	68.21 ^b	0.3653 ^a	74.53 ^{cd}	0.0031 ^e	-15.60 ^{ab}
KTκKRG2	ND	ND	65.97 ^a	0.0090 ^a	71.46 ^e	0.3239 ^c	-16.34 ^c
KTκKRG3	55.37 ^b	0.0023 ^c	69.22 ^b	0.1233 ^a	74.25 ^d	0.0165 ^{de}	-16.50 ^c

K: Kıyma, T: Tuz, κKRG: kappa-karragenan.

K: Minced Meat, T: Salt, κKRG: Kappa-carrageenan

a-e: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

a-e: The difference between the results with different letters is significant ($P < 0.05$)

λ KRG'nin et proteinleri üzerine etkisi Çizelge 3'de gösterilmiştir. Çizelgeden de gözlemediği üzere tuz içeren ve içermeyen örnekler kendi içlerinde değerlendirildiğinde λ KRG eklemek miyosinin T_p ve ΔH değerleri üzerinde önemli bir etki göstermemiştir ($P > 0.05$). Buradaki temel etkinin ortama eklenen tuzdan kaynaklandığı gözlenmektedir. Sarkoplazmik proteinlere ait sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 3) miyosine benzer şekilde eklenen λ KRG'nin T_p değerleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmektedir ($P > 0.05$). Tuzun kullanılmadığı örneklerde %2 ve 3 oranında λ KRG eklemenin ΔH değerlerinde belirgin bir artışa neden olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Elde edilen sonuçlara göre örnekler λ KRG eklemenin temel etkisinin aktin üzerine olduğu gözlenmiştir. Tuzun kullanılmadığı örneklerde kıyma haline getirilmiş dana etine %2 ve 3 oranında λ KRG eklendiğinde aktinin T_p değerlerinde önemli bir artış bulunmuştur ($P < 0.05$). Buna karşın λ KRG tuz ile birlikte kıymaya eklendiğinde, yalnızca tuz içeren örneğe göre T_p değerlerinde azalmaya neden olmuştur ($P < 0.05$). ΔH değerlerinde ise tuz içeren örnekler ve içermeyen örnekler kendi

aralarında değerlendirildiğinde önemli bir fark gözlenmediğinden ($P > 0.05$) azalmanın temel nedeninin λ KRG değil tuz olduğu düşünülmektedir. λ KRG'nin miyosin üzerine etkisi incelendiğinde (Çizelge 4) λ KRG'nin etkisini özellikle %2 oranında kullanıldığında gösterdiği belirlenmiştir. Tuzun kullanıldığı ve kullanılmadığı örneklerde %2 oranında λ KRG eklemek tuz içeren ve içermeyen kontrol örneklerine göre önemli bir artışa neden olmuştur ($P < 0.05$). Miyosine ait ΔH değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Sarkoplazmik proteinlerde ise tuz içeren ve içermeyen örnekler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında T_p değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmediğinden buradaki temel etkinin λ KRG'dan değil tuzdan kaynaklandığı düşünülmektedir. λ KRG'nin aktin üzerine etkisine bakıldığında tuz içermeyen örnekler, tuzsuz kontrol ile karşılaştırıldıklarında, tuz içeren örnekler ise tuz içeren kontrol ile karşılaştırıldıklarında T_p değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Bu nedenle burada λ KRG'nin aktinin denatürasyon sıcaklığı üzerine etkisinin olmadığı tuzun daha belirgin bir etki gösterdiği düşünülmektedir.

Çizelge 3: λ -karragenan kullanılan tuz içeren ve içermeyen örneklerin proteinlerine ait denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p), Camı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH) sonuçları.

Table 3: The denaturation peak temperatures (T_p), Glass transition temperatures and energy for denaturation of samples with λ -carrageenan and with or without NaCl

Sample	Myosin		Sarcoplasmic Proteins		Actine		T_g (°C)
	T_{p1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_{p2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{p3} (°C)	ΔH_3 (J/g)	
Minced meat (K)	57.96 ^a	0.5030 ^{ab}	66.08 ^a	0.3688 ^{abc}	79.23 ^c	0.1847 ^a	-15.73 ^{ab}
K λ KRG1	58.36 ^a	0.0152 ^a	65.92 ^a	0.5328 ^{bc}	79.82 ^{cde}	0.2266 ^a	-15.19 ^a
K λ KRG2	58.44 ^a	0.0298 ^a	67.04 ^a	0.7051 ^c	80.70 ^e	0.1887 ^a	-15.33 ^a
K λ KRG3	57.79 ^a	0.0114 ^a	66.40 ^a	0.7578 ^c	80.19 ^d	0.1301 ^a	-15.19 ^a
K+NaCl	56.06 ^b	0.0291 ^a	68.17 ^{ab}	0.3185 ^{abc}	75.25 ^b	0.0092 ^b	-15.79 ^{ab}
KT λ KRG1	55.27 ^b	0.0071 ^a	69.45 ^b	0.1450 ^{ab}	74.37 ^a	0.0094 ^b	-16.27 ^{bc}
KT λ KRG2	55.41 ^b	0.0411 ^{ab}	69.77 ^b	0.3649 ^{abc}	74.64 ^{ab}	0.0153 ^b	-15.78 ^{ab}
KT λ KRG3	55.62 ^b	0.0946 ^b	66.31 ^a	0.0703 ^a	74.52 ^a	0.1146 ^{ab}	-16.63 ^c

K: Kıyma, T: Tuz, λ KRG: lambda -karragenan.

K: Minced Meat, T: Salt, λ KRG: Lambda-carrageenan

a-e: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

a-e: The difference between the results with different letters is significant ($P < 0.05$)

Çizelge 4: ι -karragenan kullanılan tuz içeren ve içermeyen örneklerin proteinlerine ait denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p), Camısı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH) sonuçları.

Table 4: The denaturation peak temperatures (T_p), Glass transition temperatures and energy for denaturation of samples with ι -carrageenan and with or without NaCl

Sample	Myosin		Sarcoplasmic Proteins		Actin		T_g (°C)
	T_{p1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_{p2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{p3} (°C)	ΔH_3 (J/g)	
Minced meat (K)	57.96 ^b	0.5030 ^a	66.08 ^a	0.3688 ^{ab}	79.23 ^a	0.1847 ^a	-15.73 ^{ab}
K ι KRG1	58.43 ^b	0.0062 ^a	66.24 ^{ab}	0.2402 ^{ab}	79.58 ^a	0.3178 ^c	-15.15 ^{bc}
K ι KRG2	59.78 ^c	0.0094 ^a	66.90 ^{abc}	1.0387 ^{bc}	80.36 ^a	0.1231 ^{ab}	-14.94 ^c
K ι KRG3	58.24 ^b	0.0044 ^a	67.20 ^{abc}	1.3264 ^c	80.29 ^a	0.1393 ^{ab}	-14.14 ^d
K+NaCl	56.06 ^a	0.0291 ^a	68.17 ^{bcd}	0.3185 ^{ab}	75.25 ^b	0.0092 ^b	-15.79 ^a
KT ι KRG1	56.36 ^a	0.0388 ^a	67.13 ^{abc}	0.3480 ^{ab}	74.71 ^b	0.0337 ^b	-16.45 ^c
KT ι KRG2	58.06 ^b	0.0222 ^a	69.44 ^d	0.2016 ^a	75.17 ^b	0.0087 ^b	-14.66 ^{cd}
KT ι KRG3	57.16 ^{ab}	0.0912 ^a	68.83 ^{cd}	0.3147 ^{ab}	74.74 ^b	0.0513 ^{ab}	-14.62 ^{cd}

K: Kıyma, T: Tuz, ι KRG: iota -karragenan.

K: Minced Meat, T: Salt, λ KRG: Lambda-carrageenan

a-e: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

a-e: The difference between the results with different letters is significant ($P < 0.05$)

Defreitas vd. (1997) çalışmasında %2 oranında kullanılan KRG'in et proteinlerinin termal geçiş sıcaklıkları üzerine etkisinin proteinler ile karragenanlar arasında etkileşimi göstermeyecek kadar az olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada özellikle ortama eklenen κ -KRG'in düşük iyonik güçte (0.18) kullanıldığında et proteinlerinden aktin üzerinde destabilize edici özelliği olduğunu belirtmişler, yüksek iyonik güçlere çıkıldığında ise bu etkinin gözlenmediğini vurgulamışlardır. Tavuk eti proteinlerinin KRG'lar ile etkileşiminin incelendiği bir çalışmada %2 oranında eklenen KRG'ların ikinci pike ait T_p değerinin belirlenmesini engellediği belirtilmiştir. κ KRG'in %2 oranında eklendiği durumda birinci pikin T_p değerinin 63.3'den 64.4'e yükseldiği, üçüncü pike ait T_p değerinin ise 78.3'den 76.3'e düştüğü rapor edilmiştir. λ KRG varlığında ise üçüncü pike ait T_p değerinin azaldığı ve 77.2 bulunduğu belirtilmiştir. Karragenanların yanı sıra sisteme %2.5 oranında tuz eklenmesi durumunda κ KRG'nin aktin ve miyosinin termal stabilitesini etkilediği ancak sarkoplazmik proteinler üzerine önemli bir etki göstermediği belirtilmiştir. Tuzlu ve tuzsuz örnekler arasında yapılan karşılaştırmalar

sonucunda κ KRG'nin etkisinin iyonik güce bağlı olduğu vurgulanmıştır.

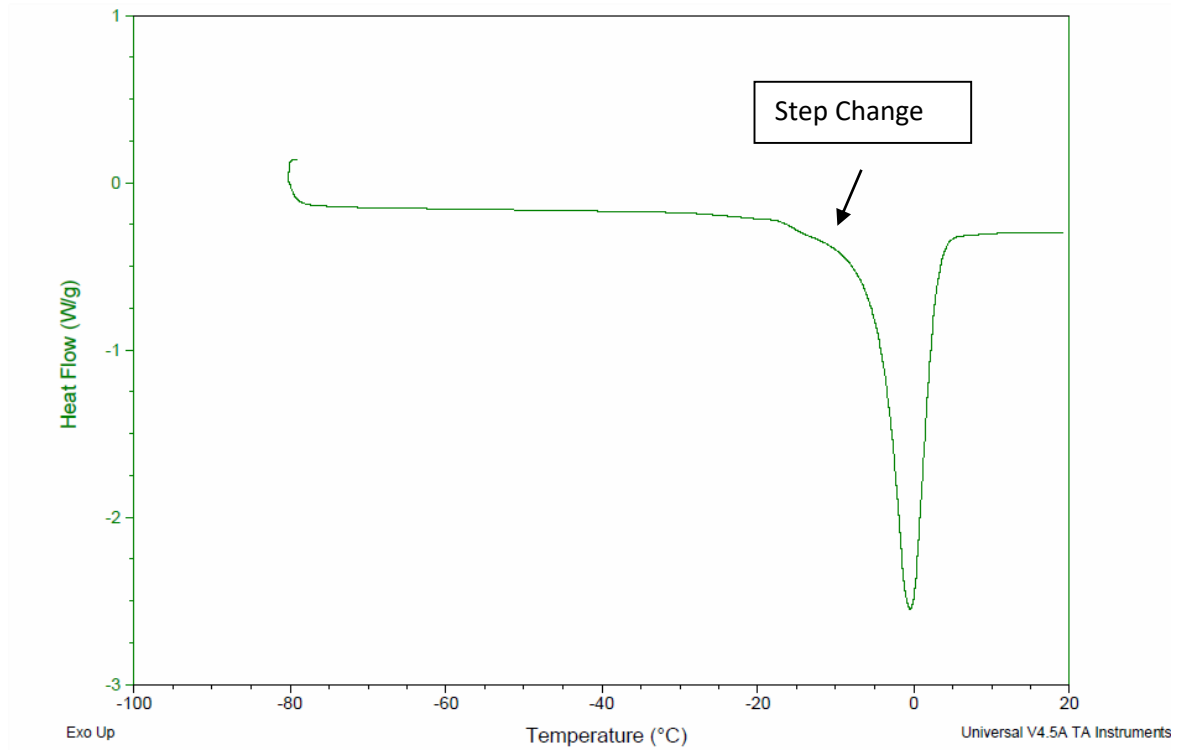
Çalışmamızda elde sonuçlarda da benzer şekilde tuz eklendiği durumda özellikle κ KRG'nin denatürasyon sıcaklıkları üzerine daha etkili olduğu denatürasyon sıcaklıklarında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Bu azalmanın kullanılan karragenan konsantrasyonu arttıkça daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Proteinlerin denatürasyon sıcaklıklarında meydana gelen bu azalmanın proteinleri destabilize ettiği yani denatürasyona daha duyarlı hale geldiği belirtilmektedir (DeFreitas vd. 1997). Tuz ile birlikte λ ve ι -karragenan eklenen örneklerin denatürasyon sıcaklıklarında düşüş meydana gelmiş ancak bu düşme tuz içeren kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Dickensen (2003) proteinlerin üzerindeki pozitif yüklü HN^{3+} gruplarının κ ve λ KRG'da bulunan OSO^{3-} grupları ile güçlü kompleksler oluşturduğu belirtmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında daha öncede belirtildiği üzere kullanılan

karragenan konsantrasyonları arttırıldığında proteinlere ait denatürasyon sıcaklıklarındaki düşüşlerin de arttığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra λ KRG kullanılan örneklerde T_p değerlerinde meydana gelen değişimin κ KRG kullanılan örnekler göre daha fazla olduğu gözlenmiş, bu durumun λ KRG'in yapısında bulunan OSO^3 -gruplarının κ KRG'dan daha fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu durum karragenanlar ile proteinler arasında bir etkileşim olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Camsı geçiş sıcaklığı (T_g) DTK termogramlarında basamak değişim olarak gözlenmekte (Şekil 3) ve TA universal analysis 2000 programında bulunan hesaplama yönteminde basamak değişiminin başlangıç ve sonlanma sıcaklıkları seçilerek

hesaplama yapılmakta ve orta nokta camsı geçiş sıcaklığı olarak alınmaktadır. Camsı geçiş sıcaklığı DTK analizlerinde ikinci derece geçiş olarak adlandırılmakta ve zaman-sıcaklık ile ilgili özelliklerin yanı sıra suyun dondurma ve depolama süresince durumu hakkında bilgi verebilmektedir. Ürünlerin depolanması sırasında sıcaklığın T_g 'den düşük olduğu durumlarda konsantre haldeki su kinetik olarak immobilize hale gelmekte ve bozulma reaksiyonlarında yer almamakta ya da bu reaksiyonları desteklememektedir. Camsı materyalin moleküler mobilitesi oldukça düşmektedir. Böylece gıdaların depolanması esnasında meydana gelen tekstür kaybı, enzimatik bozulma, tat-koku kaybı gibi birçok değişim gecikmektedir (Sunooj vd. 2009).



Şekil 3: Kıymaya ait camsı geçiş sıcaklığı (T_g) DTK termogramı.

Figure 3: Glass transition temperature of minced meat

Elde edilen sonuçlara bakıldığında kontrol grubuna ait T_g değeri $-15.73^{\circ}C$ olarak bulunmuştur (Çizelge 2). Kıyma haline getirilmiş dana eti örneğine ait T_g değeri örneğe tuz

eklendiğinde $15.79^{\circ}C$ olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu değişimin önemli olmadığı gözlenmiştir ($P > 0.05$). κ KRG içeren örneklerin (Çizelge 2) camsı geçiş

sıcaklıklarına bakıldığında yalnızca tuz varlığında örnekler %2 ve 3 oranında κ KRG eklemenin T_g değerlerinde azalmaya yol açtığı belirlenmiş ve azalmanın istatistik olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). λ KRG kullanılan örneklerde de benzer şekilde tuz eklenmeyen örneklerin T_g değerlerinde önemli bir değişim gözlenmezken ($P > 0.05$), tuz varlığında %1 ve 3 oranında λ KRG kullanıldığında belirgin bir azalma gözlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 3). ι KRG kullanılan örneklerin camsı geçiş sıcaklıklarında ise tuz bulunan ve bulunmayan örneklerde %2 ve 3 oranında ι KRG kullanıldığı durumda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığı ve bu artışın istatistik olarak önemli olduğu gözlenmiştir ($P \leq 0,05$) (Çizelge 4). Elde edilen sonuçlara göre ι KRG'in proteinlerin denatürasyon sıcaklıkları üzerine önemli bir etkisi gözlenmezken camsı geçiş sıcaklığını belli konsantrasyonlarda belirgin şekilde etkilemiştir.

SONUÇ

Kıyma haline getirilmiş dana etinin DTK ile incelenmesi sonucunda et proteinlerine ait üç temel pik gözlenmiştir. Bunlar sırasıyla miyosin, sarkoplazmik proteinler ve aktine aittir. Kıymaya NaCl eklenmesi durumunda ise bu proteinlerden miyosin ve aktinin T_p değerlerinde azalmaya sarkoplazmik proteinlerin T_p değerlerinde ise artışa neden olduğu belirlenmiştir. Denatürasyon sıcaklıklarındaki azalma bu proteinlerin destabilize olduğunun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Kıymaya farklı karragenanlar eklendiğinde ise T_p değerlerinde genellikle azalma gözlenmiş ve bu azalmanın eklenen karragenan oranları arttıkça daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Karragenanlar arasında ise en belirgin etkiyi λ KRG'in gösterdiği bulunmuş, bunun sebebinin ise yapısındaki OSO^3 -gruplarının daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Camsı geçiş sıcaklıklarında ise yalnızca ι KRG belirgin bir artış sağlamış ve istenen etkiyi göstermiştir. Camsı geçiş sıcaklığının daha yüksek olması depolama esnasında daha yüksek sıcaklıkların kullanılmasını sağlayacağından tercih edilen bir durumdur. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre karragenanlar ve et proteinleri arasında bir etkileşim olduğunu söylemek mümkündür ancak denatürasyon sıcaklıklarındaki değişimin çok az

olması nedeniyle ileri analiz yöntemleri ile daha kesin sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Akkose, A., Aktas, N. (2008). Determination of glass transition temperature of beef and effects of various cryoprotective agents on some chemical changes. *Meat Sci.* 80: 875–878.

Amako, D.E.N., Xiong, Y.L. (2001). Effects of carrageenan on thermal stability of proteins from chicken thigh and breast muscles. *Food Res Int.* 34: 247-253.

Candogan, K., Kolsarici, N. (2003). The effects of carrageenan and pectin on some quality characteristics of low-fat beef frankfurters. *Meat Sci.* 64: 199–206.

Chen, H.H., Xu, S.Y., Wang, Z. (2007). Interaction between flaxseed gum and meat protein, *J Food Eng.* 80: 1051-1059.

DeFreitas, Z., Sebranek, J.G., Olson, D.G., Carr, J.M. (1997). Carrageenan effects on thermal stability of meat proteins. *J Food Sci.* 62(3): 544-547.

Dickensen, E., (2003) Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocoll.* 17: 25-39.

Harwalker U.R., Ma, C.Y. (Ed.), Findlay, C.J., Barbut, S. (1990). Thermal analysis of meat. Ch. 4, In *Therm Anal of Food. Elsevier Applied Science*, New York. p. 93–125.

Li, Y.T., Jiang, Y.M. (2004). Carrageenan and cooked meat products. *Journal Meat.* 9: 46–47.

Ma, C. Y., Harwalkar V. R., Maurice, T. J., (1990). *Instrum and Tech Therm Anal Food Res*, In "Therm Anal Food" p: 1-16.

Orlien, V., Anderson, M. L., Jouhtimaki, S., Risbo, J., & Skibsted, L. H. (2004). Effect of temperature and glassy states on the molecular mobility of solutes in frozen tuna muscle as studied by electron spin resonance spectroscopy with spin probe detection. *J Agric Food Chem.* 52: 2269–2276.

Pighin, D.G., Sancho, A.M., Gonzalez, C.B. (2008). Effect of salt addition on the thermal

- behavior of proteins of bovine meat from Argentina. *Meat Sci.* 79: 549–556.
- Shand, P.J., Sofos, J.N., and Schmidt, G.R. (1994). Differential scanning calorimetry of beef/kappa-carrageenan mixtures. *J Food Sci.* 59: 711–715.
- Sunooj, K.V., Radhakrishna, K., George, J., Bawa, A.S. (2009). Factors influencing the calorimetric determination of glass transition temperature in foods: A case study using chicken and mutton. *J Food Eng.* 91: 347–352.
- Tomšić, M., Prossnigg, F., Glatter, O., (2008) A thermoreversible double gel: Characterization of a methylcellulose and κ -carrageenan mixed system in water by SAXS, DSC and rheology, *J Colloid and Interface Sci.* 322: 41–50.
- Towle, G.A. (1973). Carrageenan. Ch. 5 *In Ind Gums, Polysaccharides and Their Derivatives.* 2nd Edition, Academic Press. New York p. 83–114.
- Voutila, L., Ruusunen, M., Puolanne, E. (2008). Comparison of the thermal characteristics of connective tissue in loose structured and normal structured porcine M. Semimembranosus. *Meat Sci.* 80: 1024–1030.
- Wright, D.J., Leach, I.B., and Wilding, P. (1977). Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins. *J. Sci. Food Agric.* 28: 557–564.
- Zhou, W.W., Meng, L., Li, X., Ma, L., Dai, R. (2010). Effect of the interaction between carrageenan, gellan gum and flaxseed gum on quality attributes of starch-free emulsion-type sausage. *J Muscle Foods.* 21: 255–267.



TERMOSONİKASYON UYGULAMASININ BAL KABAĞI SUYUNUN BİYOAKTİF BİLEŞEN VE ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hande Demir*, Ayşe Kılınç

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

Geliş / *Received*: 13.06.2018; Kabul / *Accepted*: 27.08.2018; Online baskı / *Published online*: 01.10.2018

Demir, H., Kılınç, A. (2018). Termosonikasyon uygulamasının bal kabağı suyunun biyoaktif bileşen ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (5) 787-799 doi: 10.15237/gida.GD18070

Demir, H., Kılınç, A. (2018). Effect of thermosonication on the bioactive components and antioxidant capacity of pumpkin juice. GIDA (2018) 43 (5) 787-799 doi: 10.15237/gida.GD18070

ÖZ

Bu çalışmada; son yıllarda, beslenme ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle birçok araştırmacının dikkatini çekmeyi başaran bal kabağından (*Cucurbita moschata* Butternut) elde edilen bal kabağı suyuna termosonikasyon uygulaması üzerine çalışılmıştır. Bu amaçla; termosonikasyon (40, 50, 60 °C, 30 dak, 37 kHz) uygulanan bal kabağı suyu örneklerinin toplam fenolik madde konsantrasyonu, toplam flavonoid madde miktarı, toplam karotenoid miktarı ve antioksidan kapasite değerleri ultrasonikasyon (23 °C, 30 dak, 37 kHz) ve geleneksel ısı işlem (40, 50, 60, 70, 80 °C, 15 dak) uygulamaları ile karşılaştırılmış olup, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Meyve ve sebze sularının tüketici sağlığı açısından önem taşıyan özelliklerinin başında sahip olduğu biyoaktif bileşenler ve antioksidan kapasitesi gelir. Yapılan çalışmanın, yeni bir ürün olan bal kabağı suyunun, tüketici sağlığına en uygun şekilde üretilebilmesi için, üreticilere pastörizasyon yöntem ve parametreleri konusunda fikir verdiği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Bal kabağı suyu, termosonikasyon, biyoaktif bileşen, antioksidan kapasite

EFFECT OF THERMOSONICATION ON THE BIOACTIVE COMPONENTS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF PUMPKIN JUICE

ABSTRACT

In this study, thermosonication treatment on the pumpkin juice obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata* Butternut) which has recently gained the attention of researchers due to its positive effects on health and nutrition was studied. For this purpose, total phenolics, total flavonoids and total carotenoids content and antioxidant capacity values of thermosonicated (40, 50, 60 °C, 30 min, 37 kHz) pumpkin juice samples were compared to the ultrasonicated (23 °C, 30 min, 37 kHz) and conventional heat-treated (40, 50, 60, 70, 80 °C, 15 min) ones via the statistical analysis. Bioactive components and antioxidant capacity of fruit or vegetable juices are the major properties serving the health of consumers. This study is believed to give idea to the manufacturers on the pasteurization methods and parameters that helps production of pumpkin juice proper for consumer's health.

Keywords: Pumpkin juice, thermosonication, bioactive components, antioxidant capacity

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ hande.genckal@gmail.com,

☎ (+90) 328 827 1000 / 3654

☎ (+90) 328 827 1046

GİRİŞ

Bal kabağı, *Cucurbitaceae* familyasına ait yıllık otsu bir bitkidir. Son yıllarda, beslenme ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle birçok araştırmacının dikkatini çekmeye başlamıştır (Darrudi vd., 2018). FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün) yayımlanmış olduğu son 10 yılda dünyadaki üretim miktarı verilerine bakıldığında, Türkiye kabak üretiminde 414542 ton ile onuncu sırada bulunmaktadır (FAOSTAT 2018). Bu çalışmada kullanılan *Cucurbita moschata*'nın pektin, mineral tuzları, karotenoidler, A vitamini gibi vücut için önemli biyoaktif bileşikler içerdiği bilinmektedir (Aydın 2014). *Cucurbita moschata* hakkında yapılan çalışmalar sonucu, A vitamini eksikliğinde oluşan görme bozuklukları, diyabet, kanser, hipertansiyon, yüksek kolesterol, mide, kolon kanseri, akciğer, göğüs, gibi hastalıkların riskinin azaltılmasında rol oynadığı için, bal kabağının daha fazla tüketilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (Noelia vd., 2011). Meyveler ve sebzeler, insan sağlığı için diyetin önemli ve ayrılmaz bir parçasıdır ve vücut için gerekli vitaminleri, mineralleri, karotenoidleri, flavonoidleri ve diyet lifini önemli miktarda içermektedir (Khandpur ve Gogate 2016). Ülkemiz meyve ve sebze çeşitliliği ve üretimi açısından zengin bir ülkedir. Bu durum meyve ve sebze suyuna olan ilgiyi arttırmaktadır (Taştan 2014). Meyve ve sebze suları; su (%80–95), vitamin ve mineraller açısından insan sağlığına yararlı bileşenleri içerdiklerinden yüksek besin değerine sahip içecekler olup, yüksek miktarda su içerdiklerinden mikrobiyolojik stabiliteleri çok düşüktür (Dinçer 2014). Meyve ve sebze suyu endüstrisinde, mikrobiyel inaktivasyon için en yaygın olarak kullanılan yöntem ısı işlemlerdir (Dinçer ve Topuz, 2018). Ancak, bu yöntemler ile vitamin, tat, renk, duyuşal özellikler gibi çeşitli kalite parametrelerinde önemli kayıplar oluşmaktadır. Bu etkilerden uygulanan yüksek sıcaklık sorumludur ve besin bileşenlerinin kaybı, lezzet, tat ve dokudaki değişiklikler gözlelenebilir ve çoğu zaman ürünü geliştirmek için katkı maddelerine ihtiyaç duyulur (Martini 2013). Artan tüketici talebi nedeniyle, pastörizasyon ve sterilizasyon için alternatif yöntemler arandığında, besin içeriği ve genel gıda kalitesi üzerinde nispeten daha olumlu etkileri nedeniyle yeni gıda

işleme yöntemleri önem kazanmaktadır (Piyasena vd., 2013). Ultrasonikasyon, gıdaların korunması ve kalitenin iyileştirilmesi için geleneksel olmayan bir işleme teknolojisi olarak kabul edilmektedir (Cao vd., 2018). Ultrasonikasyon çalışmaları çoğunlukla bitkisel kaynaklardan değerli madde ekstraksiyonu üzerine yoğunlaşmıştır (Tavman vd., 2009; Çağdaş vd., 2011). Ultrases işleme veya sonikasyon, gıda endüstrisinde potansiyel alternatif teknolojilerden biridir. Sonikasyon tek başına gıdadaki bakterileri öldürmede çok etkili değildir; ancak, basınç ve/veya ısı ile birleştirilmiş ultrases kullanımı ümit vaat etmektedir (Ercan ve Soysal, 2011). Ultrases ve ısı uygulaması, termosonikasyon (TS) olarak adlandırılmaktadır. Isı ve ultrases kombine kullanımının, ısı işlemlerin zaman ve/veya sıcaklıklarında (%25–50 oranında) azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Sıcaklığın ve/veya işlem süresinin azaltılması ise gıda kalitesinin iyileştirilmesine neden olmaktadır (Demirdöven ve Baysal, 2009). Ülkemizde bal kabağı üretimi yapılmaktadır, ancak bal kabağı suyu üretimi henüz yapılmamaktadır. Çin, Hindistan gibi bal kabağı üretimi fazla olan ülkelerde bal kabağı suyu üretilmektedir ve bal kabağından üretilen birçok ürün gıda sektöründe yerini almaktadır. Meyve suyu ve pastacılık sektöründe bal kabağı suyu ve konsantranesinin kullanılması mümkündür. Bal kabağı meyvesinin bütün özellikleri göz önünde bulundurularak hammadde olarak yeni kullanım alanlarına sunmak amacıyla değişik işleme yöntemlerinin geliştirilmesi bu sebze katma değer kazandırılması açısından önem taşımaktadır. pH derecesi 4.5 ve altında olan gıdalar 100 °C'nin altında sıcaklık derecelerinde pastörize edilerek dayanıklı hale getirilebildikleri bilinmektedir (Cemeroğlu, 2011). Bal kabağı suyu, pastörizasyon uygulaması yapılabilmesi için bu çalışma kapsamında pH değeri 4.3'e ayarlanarak asitlendirilmiştir.

Bu amaçla bu çalışma kapsamında; bal kabağı suyunda geleneksel ısı işlem ve son yıllarda sıkça kullanılan düşük sıcaklıklarda ultrases ile pastörizasyon işlemi uygulamalarının, ürünün toplam fenolik madde konsantrasyonu, toplam flavonoid madde miktarı, toplam karotenoid

miktarı ve antioksidan kapasite değerleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bal kabağı suyu üretimi için gerekli olan bal kabakları (*Cucurbita moschata* Butternut) Osmaniye’de bulunan bir manavdan temin edilmiştir. Bu çalışmada toplam 5 adet bal kabağı kullanılmış olup, bu bal kabakları Eylül, 2017 döneminde hasat edilmiştir. Bal kabaklarının hasarsız, çürümemiş, boyunlu, ten rengi kabuk rengine ve turuncu et rengine sahip olmasına dikkat edilmiştir.

Yöntem

Bal Kabağı Suyu Üretimi

Bal kabakları (kabuklu) sirkeli suda yaklaşık 10 dak bekletildikten sonra musluk suyunda yıkanmıştır.

$$Verim (\%) = \frac{(\text{sebze ağırlığı (g)} - (\text{sebze kabuğu (g)} + \text{posa (g)}))}{(\text{sebze ağırlığı (g)})} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Ultrasonikasyon, Termosonikasyon ve Isıl İşlem Uygulamaları

Bal kabağı suyu örnekleri, belirtilen yöntemle üretildikten sonra plastik kapaklı cam tüplere 10 mL hacimde dağıtılmıştır. Örnek içeren bu tüpler ultrasonikasyon (US) ve termosonikasyon (TS) uygulaması için sıcaklığı (23, 40, 50, 60 °C) ayarlanmış olan ultrasonik (Elmasonic ultrasonic E-100H, Almanya) su banyosunun merkezine dik bir şekilde yerleştirilmiştir. 37 kHz frekansta, 150 W etkin ultrasonik güç ile çalışan bu su banyosunda numuneler 30 dakika muamele edilmiştir. Isıl işlem (İİ) uygulaması için ise örnek içeren tüpler, benzer şekilde istenilen sıcaklığa (40, 50, 60, 70, 80 °C) ayarlanmış olan su banyosunda (Precisdig, JP Selecta S.A., İspanya) 15 dakika muamele edilmiştir. Bu sürelerin sonunda bal kabağı suyu içeren tüpler analizleri yapılmak üzere su banyosundan çıkartılarak buzlu suya daldırılmıştır.

Her üç uygulama çeşidinde de deney tüplerinin su seviyesinin altında kalacak şekilde su banyosuna yerleştirilmesine ve ısı transferinin etkin bir şekilde yapılabilmesi için elle sürekli olarak çalkalanmasına dikkat edilmiştir. Uygulama başlangıcında bir adet K tipi ısı çift sıcaklık

Steril edilmiş olan ev tipi bıçak yardımıyla kabukları soyulduktan sonra, orta kısımda bulunan çekirdekler çıkartılmış ve bal kabağı dilimlenmiştir. Bal kabağı dilimlerinden, katı meyve sıkacağı ile (J700, Braun, Almanya, 1000 W) bal kabağı suyu ekstraksiyonu yapılmış ve elde edilen bu su, elle sıkılmış olan limon suyunun ilavesi ile pH yaklaşık 4.3’e sahip olacak şekilde asitlendirilmiştir. Bu şekilde üretilen ve hiçbir işlem görmeyen bal kabağı suyu, kontrol örneği olarak ifade edilmiştir. İşlem (ultrasonikasyon, termosonikasyon ve ısıl işlem) görececek olan bal kabağı suyu örnekleri de aynı metot ile pH 4.3’e kadar asitlendirilmiştir. Bal kabağı suyunun verimini hesaplama işlemi Demirdöven ve Baysal (2015)’e göre eşitlik 1 kullanılarak yapılmıştır.

sensörü bir tüpteki bal kabağı suyu içerisine daldırılmıştır. Bal kabağı suyunun soğuk noktasındaki sıcaklık istenilen seviyeye (23, 40, 50, 60, 70 ve 80 °C) ulaştığı anda uygulama süresi başlatılmıştır. Uygulamalar esnasında su banyolarının sıcaklıkları artış gösterdiğinde buz küpleri ilave edilerek sıcaklıklar 23 ± 1 °C (US için), 40 ± 3 , 50 ± 3 , 60 ± 3 °C (TS için), 40 ± 3 , 50 ± 3 , 60 ± 3 , 70 ± 5 ve 80 ± 5 °C’lerde (İİ için) sabit tutuldu. Bu çalışmada yer alan ultrasonikasyon, termosonikasyon ve geleneksel ısıl işlem uygulamalarının sıcaklık ve süre parametreleri ön çalışmalar doğrultusunda belirlenmiş olup, termosonikasyon ve ısıl işlem uygulamalarında 5 log mikrobiyel inaktivasyonun sağlandığı sıcaklık değerleri olan 60 °C ve 80 °C’nin üzerine çıkılmamıştır.

Bal Kabağı Suyunda Biyoaktif Bileşen ve Antioksidan Kapasite Analizleri

Üretildikten sonra taze ya da ultrasonikasyon, termosonikasyon veya ısıl işlem uygulaması yapılmış olan bal kabağı suyu örneklerinin biyoaktif bileşen ve antioksidan aktivite özellikleri aşağıda belirtilen analizler yardımıyla yapılmıştır. Analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde konsantrasyonu Sun vd. (2007)'e göre spektrofotometrik olarak Folin–Ciocalteu reaktifi yardımıyla 750 nm'de yapılan okumalar ile gerçekleştirilmiştir. 0, 50, 100, 150, 250 ve 500 mg/L konsantrasyonlarında hazırlanan gallik asit çözeltisi ile hazırlanan standart eğri ile örnekler korele edilmiş ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/mL cinsinden ifade edilmiştir.

Toplam flavonoid madde tayini

Toplam flavonoid madde tayini, Tchabo vd. (2017) ile Chen vd. (2015)'e göre 510 nm dalga boyunda, kateşin referans standardı kullanılarak yapılmıştır. Buna göre; 0.3 ml bal kabağı suyu, 4.7 mL %80'lik (v/v) metanol çözeltisi ile karıştırılmış ve bu karışıma %5'lik NaNO₂ çözeltisinden 0.3 ml (w/v) ilave edilmiştir. 6 dakika bekleme süresi sonunda, %10'luk (w/v) AlCl₃ çözeltisi eklenmiş ve 10 dakika beklemeye bırakılmış, bunu takiben, 4 mL %4'lük (w/v) NaOH çözeltisi de ilave edildikten sonra karışımın absorbansı spektrofotometrede ölçülmüştür. Numuneler, %80'lik (v/v) metanol çözeltisine karşı okunmuş olup, sonuçlar µg kateşin eşdeğeri/mL bal kabağı suyu olarak verilmiştir.

Toplam karotenoid tayini

Bal kabağı suyu örneklerinde toplam karotenoid tayini Adiamo vd. (2018)'e göre yapılmıştır. Buna

$$\% \text{ DPPH inhibisyon} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2})$$

A_{DPPH} : DPPH çözeltisinin 517 nm'de absorbansı
 $A_{\text{örnek}}$: örneğin 517 nm'de absorbansı
FRAP yönteminde ise FRAP reaktifi ile 10 dakika karanlıkta bekleyen örneklerin absorbans değerleri 595 nm'de spektrofotometre yardımıyla ölçülmüş olup, sonuçlar troloks eşdeğeri (µmol/mL) cinsinden verilmiştir. DPPH ve FRAP analizleri 3 paralel örnekten, 2 tekrarlı ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Taze, ultrases, termosonikasyon ve geleneksel ısı işleme tabii tutulmuş olan örneklerin biyoaktif bileşen ve antioksidan kapasite sonuçlarının ortalamaları arasındaki farkların kayda değer (%95

göre, bir ayırma hunisi içerisinde bulunan 50 mL'lik petrol eteri:metanol (90:10) çözgeni üzerine 5 mL bal kabağı suyu eklenmiştir. Bu karışım 10 sn çalkalanmıştır. 5 dak faz ayrımı için beklenildikten sonra, üst fazdan alınan 5 mL ekstrakt 900xg'de 15 dak santrifüj edilmiştir. Buradan alınan 5 mL süpernatant ise bir deney tüpünde 5 mL petrol eteri ile karıştırılmıştır. Son karışımın absorbansı spektrofotometrede suya karşı 450 nm'de okunmuştur. Standart eğri, petrol eterinde çözdürülmüş 1 – 20 µg/mL konsantrasyon aralığındaki β-karoten (Sigma) ile çizdirilmiş olup, sonuçlar, µg β-karoten/mL bal kabağı suyu şeklinde ifade edilmiştir.

Antioksidan kapasite tayini

Karaca (2011)'e göre 4000 rpm'de 10 dak santrifüj edilen bal kabağı suyu örneklerinin antioksidan kapasiteleri DPPH yöntemi (Tzulkher vd., 2007) ve FRAP yöntemi (İncedayı 2018) ile analiz edilmiş ve hesaplanmıştır. Buna göre; ilk önce 2 mL DPPH (%100 metanolde 0.025 g/l) çözeltisine 0.1 mL bal kabağı suyu eklenmiştir. Şahit çözelti olarak %80'lik metanol çözeltisi (v/v) kullanılmıştır. Karanlıkta 30 dakika bekleme aşamasından sonra karışımın absorbansı spektrofotometrede 517 nm'de ölçülmüştür. Antioksidan kapasite, eşitlik 2 yardımıyla DPPH'in inhibisyon %'si olarak ifade edilmiştir.

güven aralığında) olup olmadığını belirleyen tek-yönlü ANOVA testi (Tukey metodu) ve söz konusu örneklerin kümelendikleri yerlerin belirlenmesi için yapılan temel bileşenler analizi (principal component analysis, PCA) istatistik yazılımı Minitab (versiyon 16.0, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. PCA analizinde tüm uygulamalar ve tüm analiz sonuçları dahil edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Meyve ve sebze sularında C vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşiklerin varlığı ürünün besinsel değerini temsil eder. (Anaya-Esparza vd, 2017). Meyve ve sebze

sularının sağlık üzerine kansere yakalanma sıklığının ve ölümcüllüğünün azalması, kardiy ve serebrovasküler hastalıkların engellenmesi gibi olumlu etkilerinin ise sahip oldukları antioksidan maddelerden kaynaklandığı bilinmektedir (Tiwari vd., 2009). Bu nedenle meyve ve sebze sularına uygulanan işlemlerin biyoaktif ve antioksidan bileşenler üzerine etkisinin belirlenmesi önem taşır.

Bal kabağından, taze ve ultrasonikasyon, termosonikasyon ve ısı işlem uygulamak için üretilmiş olan bal kabağı suyu örneklerinde eşitlik 1'e göre hesaplanan verim %37 ilâ 45 arasında değişmektedir. Elde edilen verim, Demirdöven ve Baysal (2015)'in herhangi bir işlem görmemiş olan kontrol portakal suyu örneği için bildirmiş oldukları %45.39'a yaklaşmış olup, Uçan vd. (2014)'nin doğal bulanık limon suyu için bildirmiş oldukları %39.74 verim ile de uyumludur.

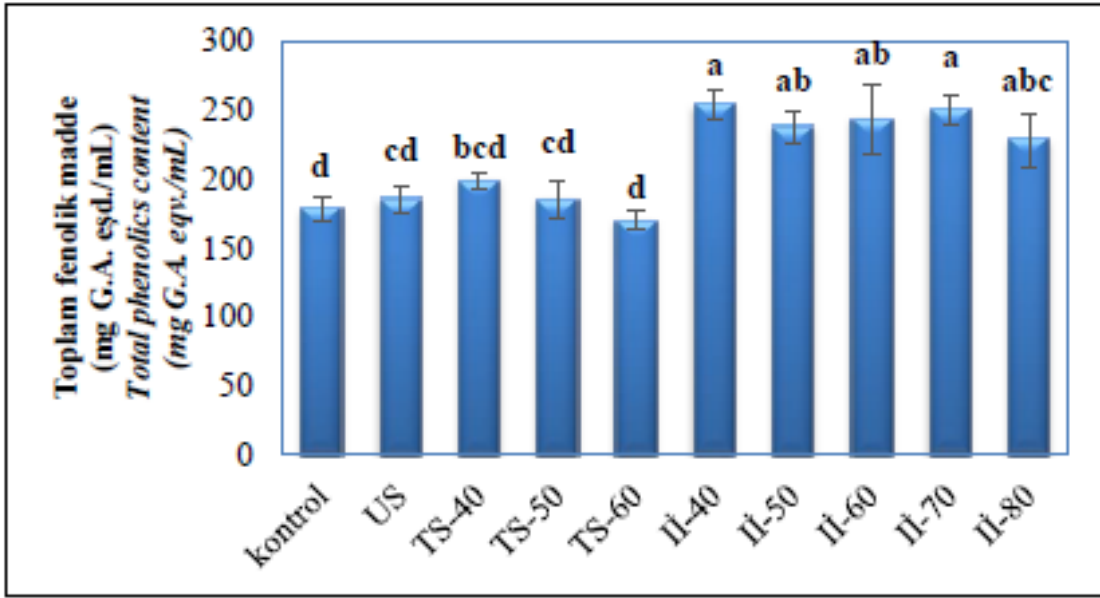
Bal kabağı suyu örneklerine uygulanan ultrases, termosonikasyon ve ısı işlemlerin toplam fenolik madde üzerindeki etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. Buna göre kontrol örneği ile ultrases ve termosonikasyon (TS-40, 50, 60) uygulanmış örnekler arasındaki fark ($P < 0.05$) önemsizdir. Fakat adı geçen örnekler ile ısı işlem görmüş olan örnekler arasındaki fark ($P < 0.05$) kayda değerdir. Isıl işlem görmüş olan örneklerin tümü diğer örneklerden yüksektir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği ise 253.9 ± 10.4 mg G.A. eşd./mL ile 40°C 'de ısı işlem görmüş olan örneğe aittir.

Literatürde termosonikasyon sonucunda toplam fenolik bileşenlerin hücre duvarının mekanik hasarı ile birlikte daha kolay serbest kaldığı bildirilmiştir. Bitkisel kaynaklardan ultrasonikasyon ile fenolik madde ekstraksiyonu yapılan çalışmalarda süre ve sıcaklık ikilisinin fenolik madde eldesi üzerinde önemli ölçüde etkili olduğu tespit edilmiştir (Costa vd., 2013). Cruz-Cansino vd. (2015) ise mor kaktüs armudu suyunda uyguladıkları ultrasonikasyonun, toplam fenolik madde içeriğinde artış sağladığını (kontrolle göre) gözlemlemişlerdir. Bu çalışma

kapsamında bal kabağı suyu ile yapılan çalışmada ise ultrases ya da termosonikasyon uygulamaları bal kabağı suyunun toplam fenolik madde içeriğinde artışa neden olmamakla birlikte, var olan değerlerde herhangi bir düşüş te kaydedilmemiştir. Pokhrel vd. (2017) havuç suyuna uygulamış olduğu termosonikasyon ($50, 54, 58^\circ\text{C}$, 10 dak) sonucunda toplam fenolik madde içeriğinin kontrole göre değişmediğini bildirmiş ve bu durumu işlem süresinin yetersiz kalmasına bağlamıştır. Ayrıca, Cao vd. (2018) mumacağı meyvesi (bayberry) suyu üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada ultrasonikasyon ile toplam fenolik maddenin artabilmesi için en etkili parametrelerin güç ve süre olduğunu belirtmişlerdir. En yüksek sıcaklıkların uygulandığı TS-60 ve II-80'e bakıldığında, II-80 ile elde edilen toplam fenolik madde, TS-60'dan yaklaşık %35 daha fazladır (Şekil 1).

Yapılan uygulamalar sonucunda kontrol örneği ile ultrases uygulaması ve termosonikasyon uygulaması (TS-40, 50, 60) yapılmış olan örnekler arasında pH bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamakta olup, ısı işlem (II-40, 50, 60, 70, 80) ise kontrol örneğine göre pH'ta hafif bir düşüşe neden olmuştur. Her 3 işlem türü için de pH değerinin 4.6'nın üzerine çıkmadığı belirtilmiştir (Kılınç 2018). Toplam titrasyon asitliği (%SSA) değeri bakımından ultrases, termosonikasyon ve ısı işlem uygulamaları ile kontrol örneği arasındaki fark önemsiz ($P < 0.05$) bulunmuştur (veri gösterilemiyor).

Flavanoidler bitkilerde yaygın olarak bulunan ve C6-C3-C6 karbon iskeletine sahip doğal bileşiklerdir. Biyoaktif bileşenlerin eldesi için ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi yaygın olarak kullanılmış olup, bazı çalışmalarda ultrasesin sonokimyasal etkileri nedeniyle istenmeyen reaksiyonların tetiklendiği veya hızlandığı görülmüştür (Qiao vd., 2014). Bu nedenle yapılan uygulamaların bal kabağı suyunun flavonoid içeriği üzerindeki etkisinin belirlenmesi önemlidir.



Şekil 1. Bal kabağı suyuna uygulanan ultrasnes, termosonikasyon ve ısıl işlemin toplam fenolik madde üzerine etkisi

Figure 1. Effect of ultrasonication, thermosonication and heat treatment on the total phenolics content of pumpkin juice

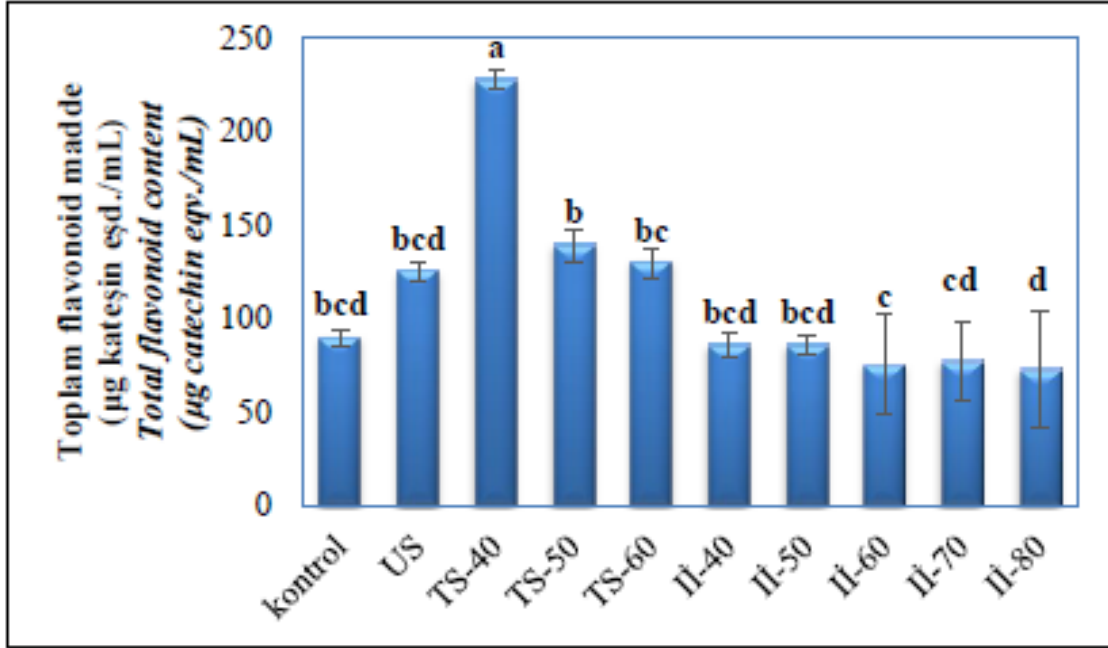
Bal kabağı suyu örneklerine ultrasnes, termosonikasyon ve ısıl işlem uygulamalarının toplam flavonoid miktarı üzerine etkisi Şekil 2’de verilmektedir. Şekil 2 incelendiğinde toplam fenolik madde içeriğinde elde edilen sonuçların tersine, termosonikasyon uygulanmış olan örneklerin (TS-40, 50, 60) toplam flavonoid miktarları, ısıl işlem görmüş olan örneklerden daha yüksektir. En yüksek toplam flavonoid madde miktarı TS-40 örneğinde 227.9 ± 5.5 µg kateşin eşd./mL olarak elde edilmiş olup, termosonikasyon örneklerinde sıcaklığın artışı ile birlikte toplam flavonoid miktarının düştüğü görülmüştür (Şekil 2). Benzer bir sonuç elma suyuna termosonikasyon uygulamış olan Abid vd. (2014) tarafından elde edilmiş olup, ultrasonik su banyosunda yapılan çalışmalarda sıcaklığın 20 °C’den 40 ve 60 °C’ye çıkması ile toplam flavonoid miktarı kademeli olarak düşmüştür. Abid vd. (2014) bu durumu sıcaklık artışının bioaktif maddelerin yıkımına neden olma konusunda çok etkili olması ile açıklamıştır. Isıl işlem uygulanmış olan bal kabağı örneklerinde de sıcaklığın artışı ile birlikte toplam flavonoid madde miktarı hafifçe düşmüştür (Şekil 2). Bunun yanında, ultrasnes ve termosonikasyon uygulanmış

örneklerin toplam flavonoid madde miktarları her ne kadar aralarındaki fark önemsiz çıksa da (TS-40 dışında) kontrole göre daha yüksektir (Şekil 2). Aakil vd. (2013) greylfurt suyuna 20 °C’de 30, 60 ve 90 dakika ultrasnes uyguladıklarında kontrole göre toplam flavonoid miktarının artış gösterdiğini görmüşlerdir. Benzer bir sonuç Bhat vd. (2011) tarafından kasturi misket limonu suyuna yapılan ultrasonikasyon denemesinde elde edilmiştir. Ashokkumar vd. (2008) ultrasonikasyon ile flavonoid artışını ultrasonik dalgalar ile oluşan hidroksil radikallerinin oluşmasıyla birlikte moleküllerin hidroksilasyonunda artış olması ile açıklamıştır. Bu çalışmada, en yüksek sıcaklığa sahip termosonikasyon uygulaması olan TS-60 ile, toplam flavonoid miktarı, kontrole göre yaklaşık %45 artış göstermiş, bu da söz konusu uygulama sonucunda elde edilen bal kabağı suyuna tüketici açısından olumlu bir özellik kazandırmıştır.

Bal kabağının iyi bir karotenoid kaynağı olduğu bilinmekle birlikte, çeşitli bal kabağı türlerinde farklı oranlarda karotenoid bulunduğu bildirilmiştir (Carvalho vd., 2014). Ayrıca, Carvalho vd. (2014), *C. moschata* türü bal kabağı

üzerinde yapmış oldukları araştırmada, bal kabağında en başta β -karoten olmak üzere, α -karoten ve 9 ve 13-Z- β -karoten bulunduğunu göstermişlerdir. Garcia-Parra vd. (2018) ise bal

kabağında aynı zamanda lutein de bulunduğunu belirtmiştir.



Şekil 2. Bal kabağı suyuna uygulanan ultrases, termosonikasyon ve ısıl işlemin toplam flavonoid üzerine etkisi

Figure 2. Effect of ultrasonication, thermosonication and heat treatment on the total flavonoid content of pumpkin juice

Bal kabağı suyu ile yapmış olduğumuz çalışmada, US, TS-40 ve TS-50 örneklerinin kontrolden daha düşük toplam karotenoid, TS-60 örneğinin ise kontrol örneği ile aynı oranda toplam karotenoid sahip olduğu Şekil 3'de görülmektedir. Hem termosonikasyon hem de ısıl işlem uygulamalarında sıcaklık artışı ile birlikte toplam karotenoid miktarının da artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 3).

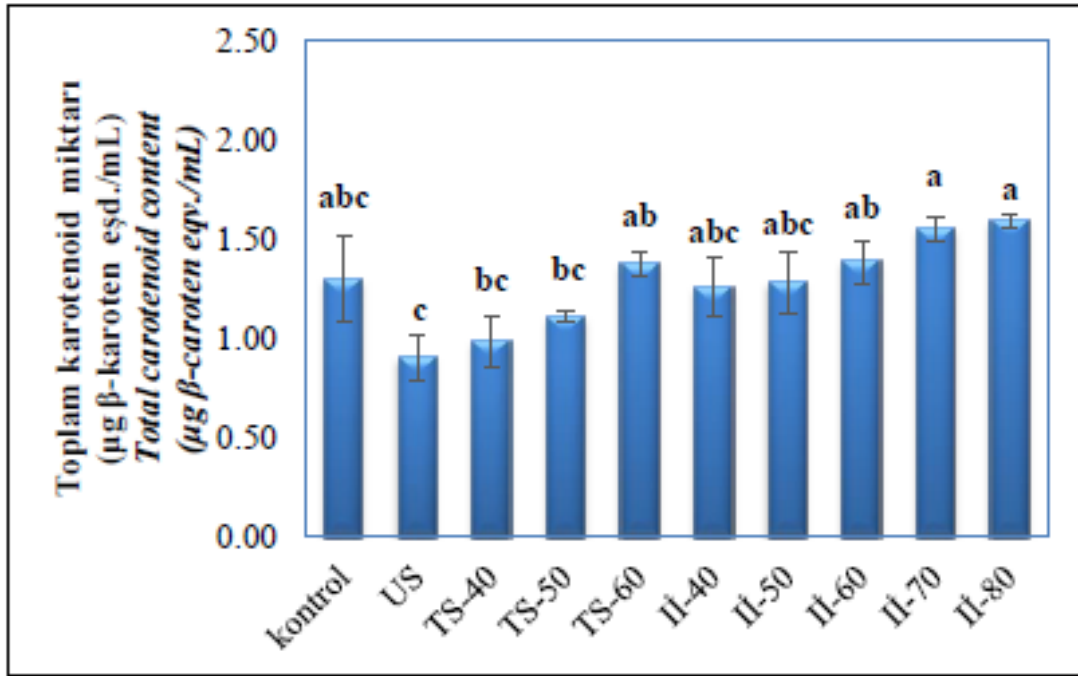
Yapılan bir çalışmada bal kabağı püresine 90 °C'de 10 dak uygulanan ısıl işlemin toplam karotenoid miktarında (işlem görmemiş göre) değişime neden olmadığı görülmüştür (Garcia-Parra vd., 2018). Carvalho vd. (2014) ise, pişirilen (kaynayan suda) bal kabağı örneklerinin toplam karotenoid miktarlarının işlem görmemiş örneğe göre daha yüksek olduğunu raporlamıştır. Karotenoidlerin biyoyararlıklarının uygulanan işlemler ile arttığı önceki birçok çalışmada belirtilmiştir. Bal kabağına uygulanan işlemler gıda matrisini

zayıflatmış ve karoten tutan liflerin gevşemesine neden olmuştur (Carvalho vd., 2014). Knockaert vd. (2011) karotenoidlerin bitki hücrelerinde bulunan kromoplastlardan salınımının ısıl işlemlerle birlikte artış gösterdiğini bildirmiştir.

Vücudumuzda bulunan serbest radikallerin zararlı maddeler olduğu, oksidatif strese bağlı birçok hastalığın kaynağı olduğu bilinmektedir. Antioksidan maddelerin ise bu serbest radikalleri süpürmekle birlikte bahsi geçen hastalıkların oluşma riskini düşürdüğü bildirilmiştir (Aadil vd., 2013). Sebze ve meyvelerde C vitamini ve fenolik bileşikler gibi bileşenlerin antioksidan kapasiteden sorumlu olan majör bileşenler olduğu bilinmektedir (Aadil vd., 2013). Çeşitli gıdaların antioksidan kapasitesi ihtiva ettikleri antioksidan madde karışımının farklı antioksidan aksiyonlarına dayanır. Bu çalışmada bal kabağı suyunun antioksidan kapasitesi hem DPPH radikalinin süpürülmesi (DPPH yöntemi) hem de demir

(III)'ün indirgenmesi (FRAP yöntemi) esaslarına göre ortaya konulmuştur. Bilindiği gibi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), birçok antioksidan maddenin serbest radikalleri süpürme (scavenging) kabiliyetinin (bir bileşiğin elektron verme kabiliyeti) ölçülmesinde kullanılan radikal-üretici (radical-generating) bir maddedir (Gülçin vd., 2010). Bu kapsamda serbest bir radikal olan DPPH'in stabilize edilmesi için antioksidanların

hidrojen verme kapasitesi ölçülmüştür (Tomadoni vd., 2017). FRAP metodunda ise; Fe(III)-tripiridiltriiazin (TPTZ) kompleksinin antioksidanların etkisiyle koyu mavi renkli Fe(II)-tripiridiltriiazin kompleksine indirgenmesi ve bu kompleksin maksimum absorbands verdiği 593 nm'de ölçülmesi söz konusudur (Okan vd., 2013).



Şekil 3. Bal kabağı suyuna uygulanan ultrases, termosonikasyon ve ısı işlemin toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi

Figure 3. Effect of ultrasonication, thermosonication and heat treatment on the total carotenoid content of pumpkin juice

Bal kabağı suyunun antioksidan kapasitesi üzerinde ultrases, termosonikasyon ve ısı işlemin etkisini özetleyen Çizelge 1'e baktığımızda; ultrases, termosonikasyon (TS-40, 50, 60) ve ısı işlem uygulamaları arasında DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan kapasite bakımından istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) bir fark bulunmamaktadır. Kontrol (taze) örneğinin antioksidan kapasitesi (DPPH yöntemi) ise diğer tüm örneklerden düşüktür. En yüksek sıcaklıklara sahip olan termosonikasyon (TS-60) ve ısı işlem (II-80) uygulamalarının antioksidan kapasiteyi kontrol örneğine göre sırasıyla 2.3 ve 2.4 kat artırdığı görülmüştür (Şekil 4). Tomadoni vd.

(2017) çilek suyuna uyguladıkları ısı işlem (90 °C, 60 sn) ve ultrasonikasyon (10 ve 30 dak) sonrasında (0. gün) örneklerin DPPH % inhibisyon değerlerinin kontrole göre artış gösterdiğini bildirmişler ve söz konusu artışı ultrasonikasyonun biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerindeki etkisine bağlamıştır. Çalışmamızdan farklı olarak, Zafra-Rojas vd. (2013) mor kaktüs armudu suyu üzerinde uyguladıkları ultrasonikasyonun (%60 ve 80 amplitüd parametreleri için) antioksidan kapasitesi (DPPH) bakımından kontrole göre fark ($P < 0.05$) yaratmadığını bildirmiştir.

Bal kabağında antioksidan özellik gösteren maddelerin karotenoidler ve fenolik maddeler olduğu Garcia-Parra vd. (2018) tarafından bildirilmiştir. Dinî vd. (2013) biyolojik yapıların ısı ile birlikte değişebildiğini ve bu değişimin çözünmeyen fenolik bileşikler daha fazla çözünür hale dönüştürebileceğini bildirmiştir. İİ-70 ve İİ-80 örneklerindeki antioksidan kapasite (DPPH) artışının, bahsedilen dönüşümden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 1’de görülebileceği gibi, FRAP yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite bakımından, kontrol (taze) örneği ile ultrasonikasyon uygulanmış bal kabağı suyu örneği arasında önemli bir fark ($P < 0.05$) bulunmamaktadır.

Bunun yanında termosonikasyon uygulanan örneklerde sıcaklığın artışıyla birlikte antioksidan kapasitede (FRAP yöntemi) düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Bal kabağı suyunun FRAP yöntemine göre antioksidan kapasite verileri genel olarak (Çizelge 1) taze elma, üzüm, ananas ve portakal suyu gibi çeşitli meyve sularına göre oldukça düşüktür (Wern vd., 2016). DPPH radikalının süpürülmesi ve demir (III) iyonunun indirgenmesi yukarıda da belirtildiği gibi iki farklı mekanizma olup, bal kabağı suyunun antioksidan kapasitesinin demir (III) indirgeme özelliğinin, DPPH radikal süpürme özelliğine göre farklı olduğu görülmektedir (Thaipong vd., 2006).

Çizelge 1. Bal kabağı suyuna uygulanan ultrases, termosonikasyon ve ısı ile işlemin antioksidan kapasite üzerine etkisi

Table 1. Effect of ultrasonication, thermosonication and heat treatment on the antioxidant capacity of pumpkin juice

Örnek Sample	Antioksidan kapasite (% DPPH inhibisyonu)	Antioksidan kapasite (μmol trolox/mL)
	Antioxidant capacity (DPPH% inhibition)	Antioxidant capacity (μmole trolox/ mL)
Kontrol (Control)	9.19 \pm 2.74 ^b	0.104 \pm 0.006 ^a
US	18.75 \pm 3.26 ^a	0.100 \pm 0.004 ^{ab}
TS-40	21.32 \pm 2.65 ^a	0.085 \pm 0.003 ^{cd}
TS-50	24.50 \pm 2.44 ^a	0.078 \pm 0.001 ^d
TS-60	20.74 \pm 2.72 ^a	0.059 \pm 0.004 ^e
İİ-40	16.46 \pm 1.01 ^{ab}	0.096 \pm 0.001 ^{abc}
İİ-50	19.52 \pm 2.93 ^a	0.086 \pm 0.001 ^{cd}
İİ-60	19.82 \pm 0.42 ^a	0.080 \pm 0.001 ^d
İİ-70	23.99 \pm 2.29 ^a	0.095 \pm 0.001 ^{abc}
İİ-80	22.29 \pm 0.41 ^a	0.090 \pm 0.006 ^{bcd}

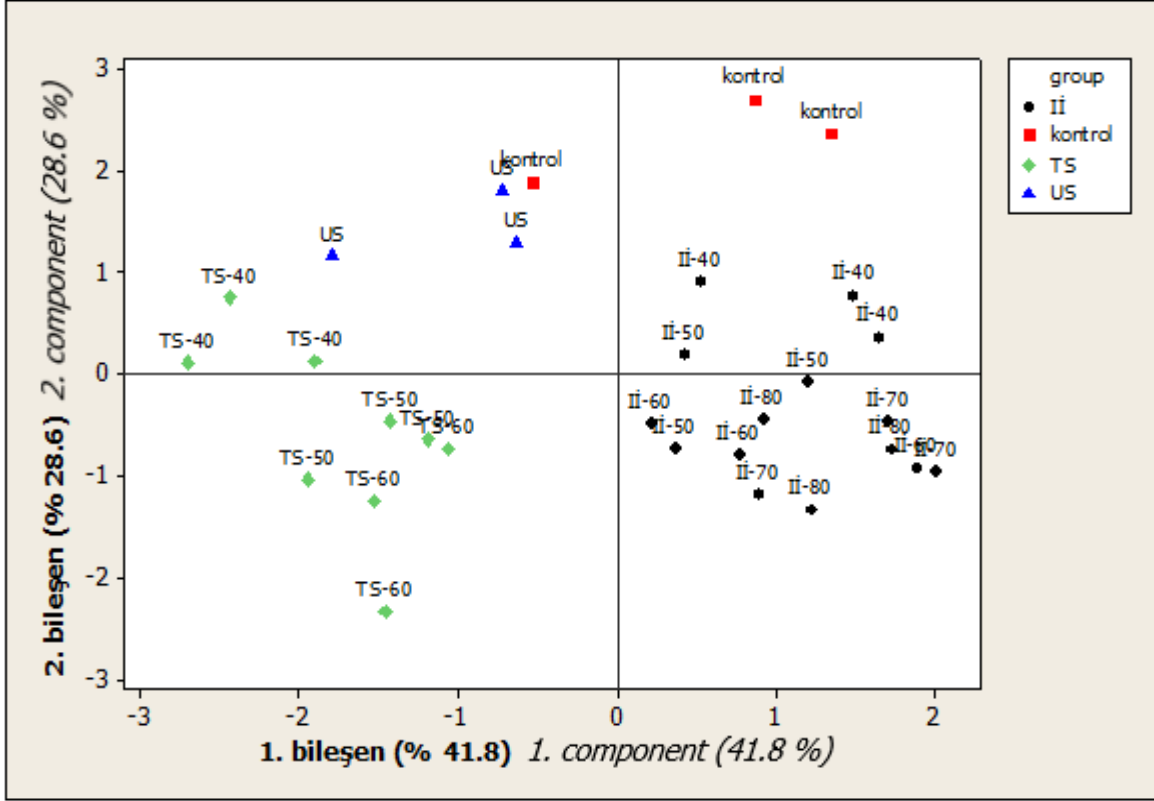
Not: Sonuçlar 3 sonucun ortalaması \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler kayda değer fark ($P < 0.05$) anlamına gelir.

Temel bileşenler analizi (TBA) orijinal değişkenlerin, güçlerine bağlı olarak sıralanmış ve aralarında ilişki olmayan yeni değişkenler setine dönüştürülmesiyle gerçekleştirilen istatistiksel bir analiz yöntemidir (Çilli ve Arıtan 2010). Yapılan temel bileşenler analizine göre birinci ve ikinci bileşenler toplam varyasyonun (% 41.8 + % 28.6) % 70.4’ünü açıklamaktadır. Buna göre birinci bileşen toplam fenolik madde ve toplam karotenoid ile ifade edilebilirken, ikinci bileşen FRAP yöntemi ile antioksidan madde ve DPPH yöntemi ile antioksidan maddenin eksikliği ile

açıklanabilmektedir. Şekil 4’te yer alan kontrol (taze) ve işlem görmüş bal kabağı suyu örneklerinin temel bileşenler analizi sonuçları, ultrasonikasyon ve termosonikasyon görmüş örnekler ile ısı ile işlem görmüş olan örneklerin belirgin bir şekilde ayrıştığını göstermiştir. Ayrıca, kontrol örneklerinin termosonikasyon ve ısı ile işlem uygulamalarından farklı bir yerde konumlanmış olması, bu uygulamaların ölçülen özelliklerde farklılığa neden olduğu anlamına gelmektedir. Benzer şekilde Jabbar vd. (2015)’in havuç suyu üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada

termosonikasyon, ultrasonikasyon ve ısı işlem uygulanmış ve taze örneklerin bariz şekilde

birbirlerinden ayrıştığı TBA analizi ile görülmüştür.



Şekil 4. Bal kabağı suyu örneklerinin temel bileşenler analizi
Figure 4. Principle component analysis of pumpkin juice samples

SONUÇ

Termosonikasyon uygulamasının bal kabağı (*Cucurbita moschata* Butternut) suyunun biyoaktif bileşenleri ve antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisi bu çalışma kapsamında incelenmiş olup, elde edilen sonuçlar ultrases ve ısı işlem yöntemleri ile karşılaştırılmıştır. Buna göre; toplam fenolik madde bakımından ısı işlem görmüş örnekler, toplam flavonoid madde bakımından termosonikasyon görmüş örnekler ve toplam karotenoid madde bakımından ısı işlem görmüş örnekler (ve 60 °C'de termosonikasyon) daha avantajlıdır. Ultrasonikasyon, termosonikasyon ve ısı işlem uygulamaları bal kabağı suyunun antioksidan kapasitesini (DPPH) kontrole göre benzer oranlarda artırmıştır. Bal kabağı suyunun antioksidan özelliğinin ise demir iyonu indirgemekten kaynaklanmadığı görülmüştür.

Yapılan çalışmanın sonuçları, bal kabağı suyunun biyoaktif bileşenleri ve antioksidan kapasitesinin, uygulanan pastörizasyon yöntemlerinden olumsuz etkilenmemesi için üreticilere çeşitli yöntemler ve parametreler sunmuştur. Bu sayede, ülkemizde üretimi yaygın bir sebze olan bal kabağından, henüz ticari bir ürün olmayan bal kabağı suyunun üretimi ile katma değer yaratılması için gerekli olan bilgi temeli oluşturulduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Analizlerin gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Ar. Gör. Dr. Özge SÜFER'e teşekkür ederiz. Bu çalışma Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: OKÜ-BAP-2017-PT3-031) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aadil, R.M., Zeng, X., Han, Z., Sun, D. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chem*, 141: 3201–3206.
- 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: 984–990.
- Adiamo, O.Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E.E., Ahmed, M.I.A. (2018). Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing orange peel and pulp extracts. *Food Chem*, 245: 79–88.
- Anaya-Esparza, L.M., Velázquez-Estrada, R.M., Roig, A.X., García-Galindo, H.S., Sayago-Ayerdi, S., Montalvo-González, E. (2017). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in Food Sci Technol*, 61: 26-37.
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilku, K., Versteeg, C. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 9: 155-160.
- Aydın, E. (2014). Balkabağı (*Cucurbita moschata*) Unu Katkısının Bisküvinin Antioksidan Aktivite ve Besinsel Kalitesine Etkileri, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bursa, 151 s.
- Bhat, R., Kamaruddin, N.S.B.C., Min-Tze, L., Karim, A.A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrason Sonochem*, 18: 1295–1300.
- 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. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 45: 169-178.
- Carvalho, J.L.V., Smiderle, L.A.S.M., Carvalho, J.L.V., Cardoso, F.S.N., Koblitz, M.G.B. (2014). Assessment of carotenoids in pumpkins after different home cooking conditions. *Food Sci Technol*, 34: 365-370.
- Cemeroğlu, B. S. (2004). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Ankara: Gıda Teknolojisi derneği yayınları.
- Chen, Q., Bi, J., Wu, X., Yi, J., Zhou, L., Zhou, Y. (2015). Drying kinetics and quality attributes of jujube (*Zizyphus jujuba* Miller) slices dried by hot-air and short- and medium-wave infrared radiation. *LWT - Food Sci Technol*, 64: 759-766.
- Costa, M.G.M., Fonteles, T.V., de Jesus, A.L.T., Almeida, F.D.L., de Miranda, M.R.A., Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S. (2013). High-Intensity ultrasound processing of pineapple juice. *Food Bioprocess Technol*, 6(4): 997–1006.
- Cruz-Cansino, N.S., Esther Ramírez-Moreno, E., León-Rivera, J.E., Delgado-Olivares, L., Alanís García, E., Ariza-Ortega, J.A., Manríquez-Torres, J.J., Jaramillo-Bustos, D.P. (2015). Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. *Ultrason Sonochem*, 27: 277–286.
- Çağdaş, E., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. (2011). Deve dikenî tohumlarında (*Silybum marianum* L.) bulunan silimarin bileşenlerinin ultrason destekli ekstraksiyonu. *GIDA*, 36(6): 327–333.
- Çilli, M., Arıtan, S. (2010). Temel bileşenler analizi yardımı ile elde edilen daha az sayıda değişken kullanılarak farklı hızlarda insan koşusunun fourier tabanlı modelinin oluşturulması. *Spor Bilim Der*, 21: 1-12.
- Darrudi, R., Nazeri, V., Soltani, F., Shahrpour, M., Ereolano, M.R. (2018) Evaluation of combining ability in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* Duchesene accessions for fruit and seed quantitative traits. *J Appl Res Med Aromat Plant*, 9: 70-77.
- Demirdöven, A. ve Baysal, T. (2009). The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. *Food Rev Int*, 25: 1–11.
- Demirdöven, A. ve Baysal, T. (2015). Effects of electrical pre-treatment and alternative heat treatment applications on orange juice production and storage. *Food Bioprod Process*, 94: 443-452.

- Dinçer, C. (2014). Ultrases pastörizasyon ve membran konsantrasyon yöntemlerinin karadut (*Morus nigra* L) suyu konsantresi üretiminde uygulanabilirliğinin araştırılması, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, 187 s.
- Dinçer, C. ve Topuz, A. (2018). Meyve Suyu İşlemede Ultrases Kullanımı. *GIDA*, 43:569-581.
- Dini, I., Tenore, G.C., Dini, A. (2013). Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties. *LWT- Food Sci Technol*, 53: 382-385.
- Ercan, S. Ş. ve Soysal, Ç. (2011). Use of ultrasound on foods. *GIDA*, 36: 225–231.
- FAOSTAT, (2018). “Kabak üretimi ilk 10 ülke sıralaması (2006-2016)” <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Erişim tarihi: 08.06.2018).
- Garcia- Parra, J., Gonzalez-Cebrino, F., Delgado-Adamez, J., Cava, R., Martin- Belloso, O., Elez-Martinez, P., Ramirez, R. (2018). Application of innovative technologies, moderate-intensity pulsed electric fields and high-pressure thermal treatment, to preserve and/or improve the bioactive compounds content of pumpkin. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 45: 533-61.
- Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M., Aboul-Enein, H.Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arab J Chem*, 3: 43–53.
- Jabbar, S., Abid, 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: 7002-7013.
- Karaca, E. (2011). Nar suyu konsantresi üretiminde uygulanan bazı işlemlerin fenolik bileşenler üzerine etkisi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, 144 s.
- Khandpur, P. ve Gogate P.R. (2016). Evaluation of ultrasound-based sterilization approaches in terms of shelflife and quality parameters of fruit and vegetable juices. *Ultrason Sonochem*, 29: 337-353.
- Kılınç, A. (2018). Bal kabağı suyunun pastörizasyonu, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Osmaniye, 67 s.
- Knockaert, G., Roeck, A.D., Lemmens, L., Buggenhout, S.V., Hendrickx, M., Loey, A.V. (2011). Effect of thermal and high pressure processes on structural and health-related properties of carrots (*Daucus carota*). *Food Chem*, 125: 903-912.
- Martini, S. (2013). Sonocrystallization of Fats, Springer Briefs in Food, Health, and Nutrition, 2013.
- Noelia, J.-V., Roberto, M.-J.M., Jesús, de Z.-M.J., Alberto, G.-I.J. (2011). Physicochemical, technological properties, and health-benefits of *Cucurbita moschata* Duchense vs. Cehualca: A Review. *Food Res Int*, 44: 2587–2593.
- Okan, O.T., Varlıbaş, H., Öz, M., Deniz, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu Karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılacak odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu Üniv Orman Fak Der*, 13(1): 48-59.
- Piyasena, P., Mohreb, E., McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int J Food Microbiol*, 87: 207-216.
- Pokhrel, P.R., Bermúdez-Aguirre, D., Martínez-Flores, H.E., Garnica-Romo, M.G., Sablani, S., Tang, J., Barbosa-Cánovas, G. V. (2017). Combined effect of ultrasound and mild temperatures on the inactivation of *E. coli* in fresh carrot juice and changes on its physicochemical characteristics. *J Food Sci*, 82(10): 2343–2350.
- Qiao, L., Sun, Y., Chen, R., Fu, Y., Zhang, W., Li, X., Chen, J., Shen, Y., Ye, X. (2014). Sonochemical effects on 14 flavonoids common in citrus: relation to stability. *Plos one*, 9(2): e87766.
- Sun, H., Wu, S., Zhang, G., Jiao, C., Guo, S., Ren, Y., Zhang, J., Zhang, H., Gong, G., Jia, Z., Zhang, F., Tian, J., Lucas, W.J., Doyle, J.J., Li, H., Fei, Z., Xu, Y. (2007). Karyotype stability and unbiased fractionation in the paleo-allotetraploid *Cucurbita* genomes, *Mol Plant*, 10: 1293–1306.

- Taştan, Ö. (2014). Berrak meyve suyu üretiminde durultma ajanı olarak kitosan kullanımının meyve suyu ve konsantresinin kalite özelliklerinin etkilerinin belirlenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 169 s.
- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z. (2009). Ultrasound-assisted extraction of antioxidant materials from by-products of plant food processing. *GIDA*, 34: 175–182.
- Tchabo, W., Ma, Y., Kwaw, E., Zhang, H., Li, X., & Afoakwah, N.A. (2017). Effects of ultrasound, high pressure, and manosonication processes on phenolic profile and antioxidant properties of a sulfur dioxide-free mulberry (*Morus nigra*) wine. *Food Bioprocess Technol*, 10(7): 1210–1223.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compost Anal*, 19: 669-675.
- Tiwari, B.K., Donnella, C.P., Cullen, P.J. (2009). Effect of non-thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends Food Sci Technol*, 20: 137-145.
- Tomadoni, B., Cassani, L., Viacava, G., Moreira, M.D.R., Ponce, A. (2017). Effect of ultrasound and storage time on quality attributes of strawberry juice. *J Food Process Eng*, 40: e12533.
- Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M., Amir, R. (2007). Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J Agric Food Chem*, 55: 9559–9570.
- Uçan, F., Ağçam, E., Akyıldız, A. (2014). Doğal bulanık limon suyu üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 39: 25-32.
- Wern, K.H., Haron, H., Keng, C.B. (2016). Comparison of total phenolic contents (TPC) and antioxidant activities of fresh fruit juices, commercial 100% fruit juices and fruit drinks. *Sains Malays*, 45(9): 1319-1327.
- Zafra-Rojas, Q.Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Villanueva-Sánchez, J., Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrason Sonochem*, 20: 1283–1288.



**A RESEARCH ON THE PRODUCTION OF GREEN COFFEE
BEVERAGE FORTIFIED WITH APRICOT PULP**

Canan Ece Tamer*

Bursa Uludag University Faculty of Agriculture Department of Food Engineering, 16059, Gorukle-Bursa, Turkey

Received /Geliş: 13.06.2018; Accepted /Kabul: 19.08.2018; Published online /Online baskı: 01.10.2018

Tamer, C.E. (2018). *A research on the production of green coffee beverage fortified with apricot pulp. GIDA (2018) 43 (5): 800-811 doi: 10.15237/gida.GD18065*

Tamer, C.E. (2018). Kayısı pulpu ile zenginleştirilmiş yeşil kahve içeceği üretimi üzerine bir araştırma. *GIDA (2018) 43 (5): 800-811 doi: 10.15237/gida.GD18065*

ABSTRACT

The purpose of this research was to formulate a novel functional beverage possessing acceptable sensorial properties by using green coffee extract and apricot pulp. Green beans of *C. arabica* and *C. caniphora* were ground and brewed with drip filter coffee machines as 10 and 15% (w/v) concentrations for 10 min. Apricot pulp (38%) and green coffee extracts (62%), sucralose (0.014 g/L) and lemon flavored emulsion (0.15 g/L) were used in the formulation. Bioaccessible phenolics were determined between 3446.62 ± 12.86 and 4042.08 ± 71.26 mg GAE/100mL. Antioxidant activities of bioaccessible phenolics were ranged between 453 ± 0.41 - 514 ± 0.30 μ mol trolox/100 mL and 729 ± 0.03 - 794 ± 0.04 μ mol trolox/100 mL in DPPH and FRAP methods, respectively. Combination of green coffee extracts with apricot pulp allowed designing of functional cold beverage favored by consumers for their organoleptic features.

Keywords: Beverage, green coffee, apricot, antioxidant activity, bioaccessibility

**KAYISI PULPU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ YEŞİL KAHVE
İÇECEĞİ ÜRETİMİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı yeşil kahve ekstraktı ve kayısı pulpu kullanımı ile yeni, fonksiyonel ve kabul edilebilir duyuşal özelliklere sahip bir içeceğin üretilmesidir. *Coffea arabica* and *Coffea caniphora* (Robusta) yeşil daneleri öğütülüp %10 ve %15 (w/v) konsantrasyonlarında 10 dakika süreyle damlamalı filtre kahve makinesinde suyla demlenmiştir. Formulasyonda, kahve ekstraktları (%62), kayısı pulpu (%38), sukraloz (0.014 g/L) ve limon aromalı emulsiyon (0.15 g/L) kullanılmıştır. İçecek örneklerinin biyoerişilebilir fenolik madde miktarı 3446.62 ± 12.86 ve 4042.08 ± 71.26 mg GAE/100mL arasında belirlenmiştir. Biyoerişilebilir fenoliklerin antioksidan aktiviteleri DPPH metoduna göre 453 ± 0.41 - 514 ± 0.30 μ mol troloks/100 mL, FRAP metoduna göre ise 729 ± 0.03 - 794 ± 0.04 μ mol troloks/100 mL arasında değişmiştir. Yeşil kahve ekstraktlarının kayısı pulpu ile kombinasyonu, duyuşal özellikleri bakımından tüketicilerin beğendiği fonksiyonel bir soğuk içeceğin oluşmasına olanak sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: İçecek, yeşil kahve, kayısı, antioksidan aktivite, biyoerişilebilirlik

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ etamer@uludag.edu.tr,

☎ (+90) 224 294 1501

☎ (+90) 224 294 1402

INTRODUCTION

Coffee is one of the most commonly consumed beverage in the world. Unroasted mature or immature coffee beans are named green coffee. The total coffee produced in the world is from *Coffea arabica* (75%) and *Coffea caniphora* (Robusta) (25%) (Etienne, 2005; Belitz et al., 2009).

Green coffee contains poly and monosaccharides, proteins, free amino acids, lipids, fatty acids, sterols, polyphenols, phenolic acids, alkaloids, vitamins and minerals (Parras et al., 2007; Daglia et al., 2007; Köseoğlu Yılmaz et al., 2014). Caffeine in green coffee is a mild stimulant of the central nervous system (Bicho et al., 2013; Herman and Herman, 2013). Especially hydroxycinnamic acids (i.e. caffeic and ferulic acids), and their esters with quinic acid, named as chlorogenic acids (CHAs) are found in green coffee beans (Iwai et al., 2004; Sato et al., 2011; Budryn et al., 2013). CHAs prevent chronic disorders, cardiovascular and rheumatologic diseases with their antimutagenic and anti-inflammatory effects (Cheng et al., 2007). The main contributors to the antioxidant capacity of green coffee are CHAs (Farah et al., 2006; Lima et al., 2010; Abrahao et al., 2010; Babova et al., 2016). Health benefits of coffee is mainly related with its phenolic composition, which is drastically reduced with roasting process (Perrone et al., 2002; Schenker et al., 2002; Somporn et al., 2011). During roasting, CHAs are particularly degraded, as well as antioxidant activity. Eventually, green coffee beans are accepted as better source of these components (Brezová et al., 2009; Köseoğlu Yılmaz et al., 2014; Wei and Tanokura, 2015; Şemen et al., 2017). For this reason, the consumption of green coffee products has shown increase in recent years as a healthier alternative to roasted coffee (Baeza et al., 2018).

The extensive scientific researches have been focused on examination of the relationship between coffee intake and chronic diseases and health outcomes (Pourshahidi et al., 2016). Despite the contradictive effects of caffeine and process induced toxicants of roasted coffee, utilization of green coffee in food industry as well as nutraceutical and pharmaceutical industry

draws a great interest since green coffee is known as good resource of components having antioxidant and radical scavenging activities (Brezova et al., 2009; Anissi et al., 2014; Bresciani et al., 2014).

Health benefits and weight-loss properties of green coffee are under discussion. Recent researches allege that CHAs have antihypertensive effects (Zhao et al., 2012), prophylactic effects on Type II diabetes (Stefanello et al., 2014; Bassoli et al., 2008; Budryn et al. 2016) and lean towards to reduce visceral fat and body weight (Shimoda et al., 2006).

Balanced diet, physical activity and consumption of phytochemicals from various foods and beverages could provide a natural preventive approach to improve health status of individual, including potential efficient cancer prevention with minimal toxicity (Rossi et al., 2014). Nowadays, consumers demand ready to consume products related with health (Costa et al., 2012). Depending on its favorable composition and health-improving properties, utilization of green coffee as a supplement for functional foods has created interest. However, coffee's sensory and technological attributes could limit the use of coffee preparations for enrichment of foodstuffs (Budryn and Nebesny, 2013). Green coffee supplementation of food was the subject of several researches (Glei et al. 2006; Budryn and Nebesny, 2013; Dżiki et al., 2015; Budryn et al., 2016; Vasudevaiah et al., 2017; S'wieca et al., 2017; Se,czyk et al., 2017).

Apricot is a delicious and nutritious fruit. It is rich in minerals such as K and it contains considerable amounts of carotenoids (mainly β -carotene), and phenolics like chlorogenic, caffeic, p-coumaric and ferulic acids and (+)-catechin, (-)-epicatechin and rutin. As precursor of vitamin A, β -carotene is necessary for epithelia tissues covering body and organs, eye-health, osteogenesis, odontogenesis and working of endocrine glands. Apricot is considerable source of provitamin A carotenoids, as 250 g of fresh or 30 g of dried fruit supplies 100% of recommended dietary allowance (RDA) of carotenoids. β -carotene comprises 60-

70% of total carotenoids in the fruit (Dragovic-Uzelac et al., 2007; Haciseferoğulları et al., 2007; Drogoudi et al., 2008).

The main reason of coffee consumption has been related to reduction of temporizing and defatigation, and for enhancing cognitive performance and its antioxidant capacity (Bicho et al., 2013; Herman and Herman, 2013). There is a progressing high interest in producing a “healthy and mild” coffee beverage (Clarke, 1987; Siebert et al., 2018). Because green coffee has a mild, green, bean-like aroma, the beverage containing only green coffee extract could not meet the consumers' expectations. For this reason, designing of novel low calorie functional beverage containing both green coffee extract and apricot pulp sweetened with sucralose was aimed in this research. Determination of extractable and bioaccessible phenolics, antioxidant activity and

also evaluation of organoleptic characteristics of these beverages were the main goals of this research.

MATERIAL and METHODS

Green beans of *Coffea arabica* and *Coffea caniphora* (Robusta) were used after grinding by coffee grinder (Moulinex). Apricot pulp is obtained from Aroma Bursa Fruit Juices and Food Ind. Inc. Lemon flavored emulsion is supplied from AROMSA and sucralose (SPLENDAR®) is purchased from local market. Depending on the result of the preliminary sensory evaluation, the most preferred ratios (%) of green coffee extract and apricot pulp were 62% and 38% respectively. Sucralose (0.014 g/L) was benefitted as zero-calorie sweetener and lemon flavored emulsion (0.15 g/L) was added for flavor balance. Flow diagram of the beverage production is given in Figure 1.

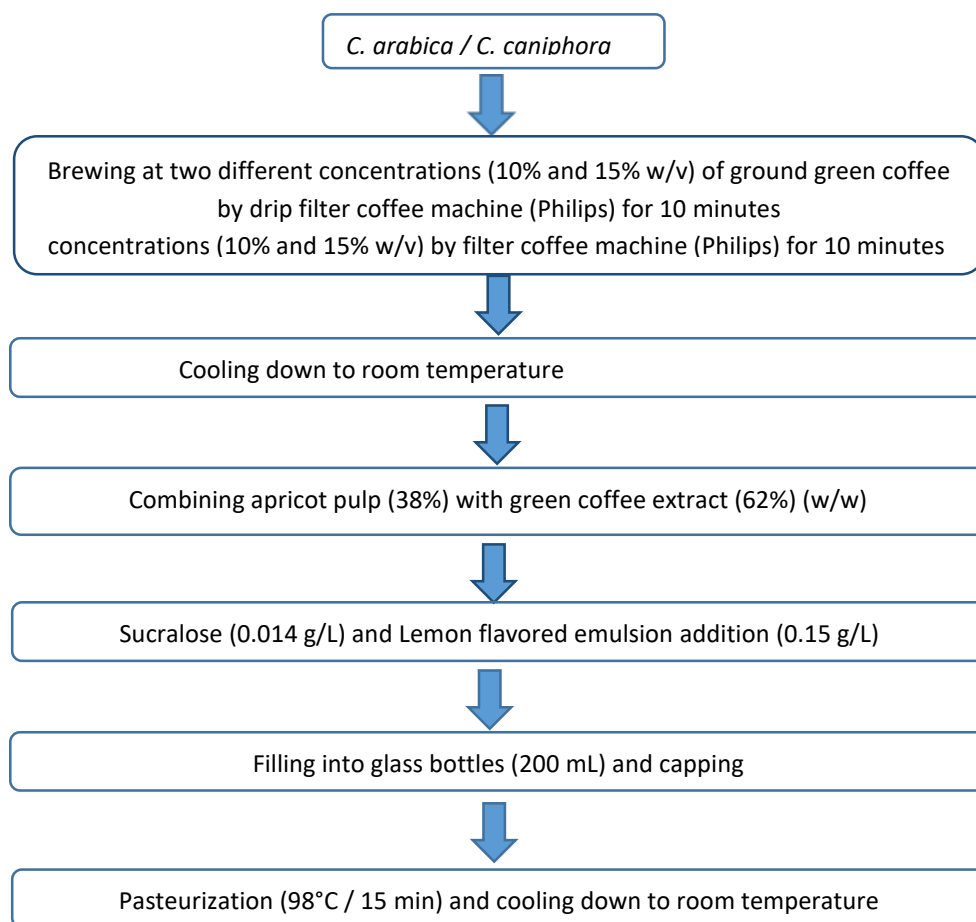


Figure 1. Flow diagram of the beverage production

ANALYSIS

Determination of some physicochemical properties of beverages

The water soluble dry matter (brix^o) is measured by using RA-500 model KEM refractometer, total acidity is determined by potentiometric method, pH analysis were conducted by Mettler Toledo Sevencompact pH/Ion pH meter. Shimadzu (UV 1208) spectrophotometer was used for total phenolics and antioxidant activity analyses. Color analysis was done by Konica Minolta Chroma Meter, CR-5, Japan. All analyses were performed in three replicates.

Extraction method of the samples

The extracts of beverages were prepared according to modified method of Glahn et al. (1998). 2 g of sample was mixed with 20 mL of HCl/methanol/water solution (1:80:10, v/v) and put in a shaking water bath for 2 h at 20°C and then centrifuged (Sigma 3K 30, Germany) at 3500 rpm for 10 min at 20°C. The supernatants were kept at -20°C until analyzed.

In Vitro Digestion Procedure

For the determination of bioaccessibility of phenolics and antioxidants, in vitro digestion enzymatic extraction method that mimics the conditions of gastrointestinal tract (GIT) was applied with slight modifications (Glahn et al., 1998). 10 mL of distilled water and 0.5 mL of pepsin solution (20 g/L pepsin in 0.1 mol/L HCl) were added to 1 mL of sample. By using HCl (5 mol/L), pH was adjusted to 2 and then sample was incubated at 37°C in a shaking water bath for 1 h. Simulation of gastric digestion was stopped by addition of 1 M NaHCO₃ (pH is adjusted to 7.2). 2.5 mL of bile/pancreatin solution (2 g/L of pancreatin and 12 g/L of bile salt in 0.1 M NaHCO₃) and 2.5 mL of NaCl/KCl solution (120 mmol/L NaCl and 5 mmol/L KCl) were added to the sample and simulation of intestinal digestion was conducted for the following 2 h. Samples were centrifuged at 3500 rpm for 10 min and the supernatant was used for determination of the bioaccessibility of total phenolics and their antioxidant activities.

Determination of total phenolic content

Folin-Ciocalteu method was applied to determine total phenolics (Spanos and Wrolstad, 1990). 0.25 mL of sample/extract, 2.3 mL of distilled water and 0.15 mL of Folin-Ciocalteu reagent (FC/Water, 1:5, v/v) were mixed within 10 mL volumetric flasks and vortexed (Velp Scientifica, Italia) for 15 s at room temperature. After 5 min, 0.3 mL of Na₂CO₃ (35%) was added and mixed thoroughly. After incubation for 2 h at room temperature, absorbance of the mixture was measured at 725 nm. Distilled water was used as the blank and gallic acid (GA) solution was used for the calibration of the standard curve ($R^2=0.9835$). Total phenolic content was given as gallic acid equivalents (mg of GAE/100 mL sample).

Determination of antioxidant activity

Antioxidant activity of the samples were measured with DPPH and FRAP assays and the results were given as $\mu\text{mol trolox} / 100 \text{ mL}$.

DPPH method of total antioxidant activity

Antioxidant activity was determined by using modified method of the Katalinic et al. (2006). The assay involves the use of the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), proceed where antioxidants are allowed to react with the stable radical in methanol solution. 0.1 mL sample was added to 3.9 mL of $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ methanol solution of DPPH radical and vortexed (Velp Scientifica, Italia) for 15-30 s. The reaction was proceeded in the dark condition at room temperature for 30 min, and then the absorbance was determined at 515 nm. A trolox calibration curve ($R^2=0.9929$) was obtained by measuring the reduction in absorbance of the DPPH solution in the presence of different concentrations of trolox (10-200 $\mu\text{mol/L}$).

FRAP method of total antioxidant activity

3 mL of FRAP reagent (incubated at 37°C) was mixed with 300 μL of distilled water and 100 μL of the sample (or extraction solvent for the reagent blank) (Benzie and Strain, 1996). The samples and blank were incubated at 37°C for 30 min. Absorbance was measured immediately at 595 nm at the end of the incubation period. The

FRAP reagent was prepared by mixing 25 mL of 0.3 mol/L acetate buffer (pH 3.6), 2.5 mL of 20 mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot x \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and 2.5 mL 10 mmol/L TPTZ solution in 40 mmol/L HCl. The concentration of sample in reaction mixture was 1.10^{-3} M trolox ($R^2=0.9993$). The results were expressed as $\mu\text{mol trolox}/100$ mL sample.

Sensory Analysis

Sensory analysis was done by a selected panel comprising 9 judges from academicians and graduate students. The beverages (15°C) were coded by three-digit random numbers and served to the panelists randomly. Samples were evaluated for color, appearance, odor and taste by using a hedonic scale. For this aim, a 9-point hedonic scale with 9-like extremely, 8-like very much, 7-like moderately, 6-like slightly, 5- neither like or dislike, 4-dislike slightly, 3-dislike moderately, 2-

dislike very much, and 1-dislike extremely was applied. Water was used to clear the palate before the each test sample (Altuğ and Elmacı, 2011).

Statistical Analysis

The experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. The results were statistically evaluated by ANOVA using the JMP 6.0 (SAS Institute Inc. NC, 27513). When significant differences were determined ($p < 0.05$), the Least Significant Difference (LSD) test was used to define the differences among means.

RESULTS and DISCUSSION

The results of the physicochemical analysis of the beverages were shown in Table 1.

Table 1. Physicochemical analysis results of the of beverages (mean \pm standard deviation)

Beverage Samples	Water soluble dry matter (brix $^\circ$) (g/100 g)	Total acidity* (g/100 mL)	pH	Total phenolics		Total phenolics bioaccessibility** (%)
				Extractable phenolics (mg GAE/100 mL)	Bioaccessible phenolics (mg GAE/100 mL)	
A	4.70 \pm 0.10 ^c	0.64 \pm 0.00 ⁿ	3.79 \pm 0.04 ^{bc}	2419.13 \pm 183.04 ⁿ	3446.62 \pm 12.86 ^c	142.47 \pm 9.96 ^b
B	4.60 \pm 0.00 ^c	0.65 \pm 0.02 ⁿ	3.77 \pm 0.04 ^c	2498.15 \pm 135.76 ⁿ	3698.86 \pm 49.58 ^b	148.06 \pm 8.43 ^b
C	5.17 \pm 0.06 ^a	0.66 \pm 0.02 ⁿ	3.86 \pm 0.04 ^a	2476.90 \pm 25.56 ⁿ	3700.05 \pm 80.86 ^b	149.38 \pm 4.39 ^b
D	5.03 \pm 0.06 ^b	0.65 \pm 0.01 ⁿ	3.84 \pm 0.04 ^{ab}	2405.97 \pm 11.93 ⁿ	4042.08 \pm 71.26 ^a	168.00 \pm 2.41 ^a

A: beverage containing *C. robusta* extract (10% w/v)

B: beverage containing *C. arabica* extract (10% w/v)

C: beverage containing *C. robusta* extract (15% w/v)

D: beverage containing *C. arabica* extract (15% w/v)

^{a, b, c, d} Letters indicate significant differences among beverages, $P < 0.05$.

ⁿ indicates statistically insignificant results among beverages, $P > 0.05$.

* as citric acid

** Total phenolics bioaccessibility was calculated as (Bioaccessible phenolics / Extractable phenolics) x 100

The water soluble dry matter (brix $^\circ$) of the beverages were found to vary between 4.60 \pm 0.00-5.17 \pm 0.06 g/100 g. As it was expected, when coffee extract ratio was increased, brix $^\circ$ was also increased. While the differences between brix $^\circ$ and pH value of the samples were statistically significant ($P < 0.05$), the differences between total acidity of the samples were found insignificant ($P > 0.05$). "The sample C" containing *C. robusta* (15%, w/v) had the highest

brix $^\circ$ (5.17 \pm 0.06 g/100g), total acidity (0.66 \pm 0.02 g/100 mL) and pH value (3.86 \pm 0.04).

Jeszka-Skowron et al. (2016) reported that pH was changed in pH of green coffee extracts of Robusta type as 4.29-5.03 and in Arabica type as 4.60-4.92. Because of the use of apricot pulp in the formulation, our pH results was lower than the abovementioned pH values of green coffee extract. Addition of apricot pulp contributed flavor improvement of the beverages as well as

reduced the pH. By this means, beverages could be preserved easily with pasteurization.

Extractable phenolic content of the beverages was not statistically significant ($P > 0.05$), while the highest value of the bioaccessible phenolics (4042.08 ± 71.26 mg GAE/100 mL) was determined in “the sample D”. These results were similar to findings reported by Jeszka-Skowron et al. (2017). Total phenolics of green coffee beans was measured as 46.49 ± 0.78 – 68.01 ± 0.27 and 14.17 ± 0.52 – 17.37 ± 1.96 mg GAE/g for Robusta and Arabica respectively in their study.

Polyphenols must first survive the passage through the gastrointestinal tract (GIT), before exerting any physiological effect (Bouayed et al., 2012). Absorption and metabolism of them are determined principally by their physico-chemical properties. Their structure, molecular size, polymerization or glycosylation degree, solubility, and conjugation with other phenolics are critical factors. In addition to this, food composition, release of phenolics from the food matrix, interactions with other components and the presence of suppressors or cofactors affect bioaccessibility of polyphenols (Parada and Aguilera, 2007). Small-molecular weight phenolic acids like gallic acid, flavones, catechins, quercetin glucosides and isoflavones are easily absorbed through the GIT (Martin and Apple, 2010). Contrarily, higher molecular weight polyphenols like proanthocyanidins are poorly absorbed. Before being absorbed, most proanthocyanidins have to be degraded into monomer or dimer units (Hackman et al., 2008). In vitro digestion procedures have been commonly used and offer an alternative tool to estimate the bioaccessibility of polyphenols depending on their simplicity and speed (Spínola et al., 2018; Carbonell-Capella et al., 2014).

Total phenolics bioaccessibility of the beverage samples changed between 142.47 ± 9.96 % - 168.00 ± 2.41 %. Previous researches reported in vitro

increase of total phenolic and flavonoid contents upon simulated digestion which is in agreement with our results (Chen et al., 2015; Podsędek et al., 2014; Tagliazucchi et al., 2010). It was reported that, when non-extractable phenolics are released from the food matrix by the help of digestive enzymes in the small intestine and bacterial degradation in the large intestine, they may become bioactive in gut (Jenner et al., 2005). Besides, while dietary fiber, divalent elements, and high in protein and viscous meals are likely to induce impairing effects on polyphenol bioaccessibility; digestible carbohydrates, dietary lipids (especially for hydrophobic polyphenols), and additional antioxidants may improve polyphenol bioavailability (Bohn, 2014). It has been found that antioxidants and phenolics in certain fruit and vegetable juices became more bioaccessible post digestion (Ryan and Prescott, 2010; Wootton-Beard et al., 2011). Phenolic compounds from fruit juices are expected to be more bioaccessible and bioavailable than those from fruit flesh because of their differences in proximate fiber content. Kris-Etherton et al. (2002) determined that the bioavailability and antioxidant capacity of the phenolic compounds are preserved, or may increase, when the mango is processed into juice. Fawole et al. (2015) investigated the effect of digestion on total phenolic concentration and antioxidant capacity of pomegranate juice and by-products. Total phenolic compounds and total antioxidant capacity after the duodenal phase of in vitro digestion were higher than the initial values (before digestion), suggesting the effect the environments of in vitro digestion on total phenolics in pomegranate fruit fractions. In contrast, after the duodenal phase, total phenolic compounds decreased significantly compared to gastric phase. Tomas et al. (2018) reported that with an increase in dietary fiber content, there is a concomitant decrease in the in vitro bioaccessibility of antioxidants.

Table 2. Results of the antioxidant activity analysis of beverages (mean \pm standard deviation)

Beverage samples	Antioxidant activity					
	DPPH Chemical extract (μmol trolox/100 mL)	DPPH Physiological extract (μmol trolox/100 mL)	DPPH Bioaccessibility* (%)	FRAP Chemical extract (μmol trolox/100 mL)	FRAP Physiological extract (μmol trolox/100 mL)	FRAP Bioaccessibility* (%)
A	848 \pm 0.02 ⁿ	473 \pm 0.25 ^{ab}	55.77 \pm 2.95 ^{ab}	938 \pm 0.03 ^d	745 \pm 0.04 ^b	79.42 \pm 0.54 ^a
B	845 \pm 0.04 ⁿ	514 \pm 0.30 ^a	60.83 \pm 3.86 ^a	1066 \pm 0.03 ^c	729 \pm 0.03 ^c	68.38 \pm 0.34 ^b
C	846 \pm 0.04 ⁿ	453 \pm 0.41 ^b	53.55 \pm 5.10 ^b	1190 \pm 0.04 ^a	752 \pm 0.10 ^b	63.19 \pm 0.85 ^c
D	843 \pm 0.08 ⁿ	513 \pm 0.11 ^a	60.85 \pm 1.31 ^a	1151 \pm 0.03 ^b	794 \pm 0.04 ^a	68.98 \pm 0.46 ^b

A: beverage containing *C. robusta* extract (10% w/v)

B: beverage containing *C. arabica* extract (10% w/v)

C: beverage containing *C. robusta* extract (15% w/v)

D: beverage containing *C. arabica* extract (15% w/v)

^{a, b, c, d} Letters indicate significant differences among beverages, $P < 0.05$.

ⁿ indicate statistically insignificant results among beverages, $P > 0.05$.

*Bioaccessibility of antioxidant activity was calculated as (antioxidant activity of physiological extract/ antioxidant activity of chemical extract) x 100

Since each individual assay demonstrates antioxidant capacity in a different way, more than one assay should be used to measure the antioxidant activity of foods. For this reason, application of at least two assays based on different reaction mechanisms leads to better projection of the antioxidant activity of a sample (Pekal et al., 2012). Consequently, antioxidant activities of these phenolics were determined spectrophotometrically with DPPH and FRAP methods. As given in Table 2, although DPPH antioxidant activity of extractable phenolics was determined statistically insignificant ($P > 0.05$), antioxidant activities of bioaccessible phenolics were changed significantly ($P < 0.05$). The free radical scavenging capacity of the beverages measured by the DPPH method and the reducing power determined by the FRAP method showed that the antioxidant activity of physiological extract of the beverages was related to their bioaccessible phenolic content. The highest antioxidant activity of bioaccessible phenolics determined with DDPH assay was found in “the sample D” (513 \pm 0.11 μmol trolox/100mL) and “the sample B” (514 \pm 0.30 μmol trolox/100mL) which were prepared from *C. arabica* extract. Also, “the sample D” demonstrated the highest antioxidant activity of bioaccessible phenolics

(794 \pm 0.04 μmol trolox/100mL) determined with FRAP assay.

Jeszka-Skowron et al. (2017) measured antioxidant capacity of Robusta and Arabica type green coffee extract as 32.14 \pm 2.62 – 46.23 \pm 0.54 (mmol trolox/100 g) and 16.13 \pm 2.57- 23.41 \pm 1.81 (mmol trolox/100 g) in DPPH assay respectively.

Bioaccessibility of antioxidant activity of the beverages was changed between 53.55 \pm 5.10% - 60.85 \pm 1.31% for DPPH assay and 63.19 \pm 0.85 % -79.42 \pm 0.54 % for FRAP assay.

The color of green coffee beans can be affected by a number of factors during cultivation, picking, drying, and milling. Color specifications of beverages were noticed in Table 3. All color parameters were measured significantly different ($p < 0.05$). Except a^* (redness) value, “the sample C” had the highest L^* (brightness), and b^* (yellowness), chroma and hue values. Beverages (sample A and sample C) prepared with *C. robusta* extract had higher L^* , b^* , chroma and hue values than others produced with *C. arabica*. Akdemir Evrendilek et al. (2013) determined color parameters of the apricot nectar samples as 34.98, 11.76, and 36.12 for L^* , a^* , and b^* values, respectively. While L^* value of the apricot nectar

was similar to green coffee beverages fortified with apricot pulp; a and b values were lower. This

was related to the difference in beverage formulation containing green coffee extract.

Table 3. Color values of beverages (mean \pm standard deviation)

Beverage samples	L*	a*	b*	Chroma (C*)	Hue
A	34.10 \pm 0.04 ^b	22.14 \pm 0.01 ^b	54.71 \pm 0.07 ^b	58.99 \pm 0.02 ^b	67.97 \pm 0.03 ^b
B	31.88 \pm 0.02 ^d	22.77 \pm 0.02 ^a	52.25 \pm 0.11 ^d	56.99 \pm 0.10 ^d	66.45 \pm 0.03 ^d
C	35.61 \pm 0.05 ^a	21.45 \pm 0.01 ^c	55.78 \pm 0.06 ^a	59.76 \pm 0.06 ^a	68.97 \pm 0.02 ^a
D	32.70 \pm 0.01 ^c	22.78 \pm 0.01 ^a	53.64 \pm 0.06 ^c	58.28 \pm 0.06 ^c	66.98 \pm 0.02 ^c

A: beverage containing *C. robusta* extract (10% w/v)

B: beverage containing *C. arabica* extract (10% w/v)

C: beverage containing *C. robusta* extract (15% w/v)

D: beverage containing *C. arabica* extract (15% w/v)

^{a, b, c, d} Letters indicate significant differences among beverages, $P < 0.05$.

Sensory analysis results were given in Table 4.

Table 4. Sensory analysis results of the of beverages* (mean \pm standard deviation)

Beverage samples	Color	Odor	Appearance	Taste
A	7.78 \pm 0.97	7.44 \pm 0.73	6.56 \pm 1.33	5.89 \pm 2.42
B	7.78 \pm 0.97	7.44 \pm 0.73	6.56 \pm 1.33	6.89 \pm 1.62
C	7.56 \pm 1.13	7.44 \pm 0.73	6.44 \pm 1.59	5.44 \pm 2.46
D	7.44 \pm 1.33	7.44 \pm 0.73	5.78 \pm 1.99	4.78 \pm 2.39

A: beverage containing *C. robusta* extract (10% w/v)

B: beverage containing *C. arabica* extract (10% w/v)

C: beverage containing *C. robusta* extract (15% w/v)

D: beverage containing *C. arabica* extract (15% w/v)

*Results were statistically insignificant among beverages, ($P > 0.05$).

All of the panelists reported their positive opinions about beverage samples. There was no statistically significant difference between tested criteria among beverages ($P > 0.05$). However, when the green coffee concentration increased, color, appearance and taste scores were reduced.

CONCLUSION

Finding possibility of green coffee extract utilization may help to design novel functional apricot beverage. The sensory evaluation results indicated that beverage formulations was given satisfactory overall acceptability. However, increment of the green coffee extract concentration resulted in reduction of appearance and taste scores especially. While “the sample B” containing *C. arabica* extract (10% w/v) was the most preferred beverage for sensory criteria, “the sample D” containing *C. arabica* extract (15% w/v) was the least preferred one. The highest total phenolics bioaccessibility and DPPH bioaccessibility were determined in “the beverage D” containing *C. arabica* extract (15% w/v).

However, “the beverage A” containing *C. robusta* extract (10% w/v) demonstrated the highest FRAP bioaccessibility.

REFERENCES

- Abrahamo, S.A., Pereira, R., Duarte, S.M.D., Lima, A.R., Alvarenga, D.J., Ferreira, E.B. (2010). Coffee (*Coffea arabica* L.) bioactive compounds and antioxidant activity. *Cienc Agrotecnol*, 34: 414-420.
- Akdemir Evrendilek, G., Altuntas, J., Sangun, M.K., Zhang, H.Q. (2013) Apricot nectar processing by pulsed electric fields. *International Journal of Food Properties*, 16:1, 216-227,
- Altuğ, T., Elmacı, Y. (2011). Gıdalarda duyuşal değerlendirme. 2. Baskı. Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 134 s. ISBN: 978994-456-60-87.
- Anissi, J., El Hassouni, M., Ouardaoui, A., Sendide, K. (2014). A comparative study of the antioxidant scavenging activity of green tea, black tea and coffee extracts: a kinetic approach. *Food Chem*, 150: 438-447.

- Babova, O., Occhipinti, A., Maffei, M.E. (2016). Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. *Phytochemistry*, 123: 33-39.
- Baeza, G., Sarriá, B., Bravo, L. and Mateo, R. (2018). Polyphenol content, in vitro bioaccessibility and antioxidant capacity of widely consumed beverages. *J Sci Food Agric*, 98: 1397-1406.
- Bassoli, B.K., Cassolla, P., Borba-Murad, G.R., Constantin, J., Salgueiro-Pagadigorria, C.L., Bazotte, R.B., da Silva R.S., de Souza H.M. (2008). Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: Effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochem Funct*, 26: 320-328.
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). Coffee, tea, cocoa. In: Food Chemistry, Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (Eds.), fourth ed. Springer, Leipzig, pp. 938-951.
- Benzie I.F.F., Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem*, 76: 70-76.
- Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutr Rev*, 72(7): 429-52.
- Bouayed, J., Deuber, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. *Food Chem*, 131(4): 1466-1472.
- Bresciani, L., Calani, L., Bruni, R., Brighenti, F., Del Rio, D. (2014). Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Res Int*, 61: 196-201.
- Brezova, V., Slebođova, A., Stasko, A. (2009). Coffee as a source of antioxidants: an EPR study. *Food Chem*, 114: 859-868.
- Budryn, G., Zyzelewicz, D., Nebesny, E., Oracz, J., Krysiak, W. (2013). Influence of addition of green tea and green coffee extracts on the properties of fine yeast pastry fried products. *Food Res Int*, 50: 149-160.
- Budryn, G., Nebesny, E. (2013). Effect of green and roasted coffee antioxidants on quality and shelf life of cookies and chocolates. *J Food Process Preserv*, 37: 835-845.
- Budryn, G., Zaczynska, D., Oracz, J. (2016). Effect of addition of green coffee extract and nanoencapsulated chlorogenic acids on aroma of different food products. *LWT - Food Sci Technol*, 73:197-204.
- Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, M. J., Frígola, A. (2014). Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 13(2): 155-171.
- Chen, G.L., Chen, S.G., Xie, Y.Q., Chen, F., Zhao, Y.Y., Luo, C.X., Gao, Y.Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to in vitro digestion. *J Funct Foods*, 17: 243-259.
- Cheng, J.C., Dai, F., Zhou, B., Yang, L., Liu, Z.L. (2007). Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure-activity relationship. *Food Chem*, 104: 132-139.
- Clarke, R. J. (1987). Grading, storage, pre-treatments and blending. In: Coffee, Clarke, R.J., Macrae, R. (eds.), Volume 2, Springer, Netherlands, pp. 35-58.
- Costa, A.S.G., Nunes, M.A., Almeida, I.M.C., Carvalho, M.R., Barroso, M.F., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P. (2012). Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds. *LWT - Food Sci Technol*, 49: 324-328.
- Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Berte, F., Gazzani, G. (2007). In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *J Agric Food Chem*, 48: 1449-1454.
- Dragovic-Uzelac, V., Levaj, B., Mrkic, V., Bursac, D., Marija Boras, M. (2007). The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chem*, 102: 966-975. Drogoudi, P.D., Vemmos, S., Pantelidis, G.,

- Petri, E., Tzoutzoukou, C., Karayiannis, I. (2008). Physical characters and antioxidant, sugar, and mineral nutrient contents in fruit from 29 apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars and hybrids. *J Agric Food Chem*, 56(22): 10754-10760.
- Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Krzykowski, A. (2015). Ground green coffee beans as a functional food supplement – Preliminary study. *LWT – Food Sci Technol*, 63(1): 691-699.
- Etienne, H. (2005). Somatic embryogenesis protocol: coffee (*Coffea arabica* L. and *C. canephora* P.). In: Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plant, Jain, S.M., Gupta, P.K. (eds.), Springer, Dordrecht, pp. 167-168.
- Farah, A., De Paulis, T., Moreira, D.P., Trugo, L.C., Martin, P.R. (2006). Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. *J Agric Food Chem*, 54: 374-381.
- Fawole, O.A., Opara, U.L., Chen, L. 2015. Bioaccessibility of total phenolic concentration and antioxidant capacity of pomegranate fruit juice and marc after in vitro digestion. Proc. 5th International Conference Postharvest Unlimited, Eds.: Manganaris et al. *Acta Hort*, 1079, 285-290.
- Glahn, R.P., Lee, O.A., Yeung, A., Goldman, M.I., Miller, D.D. (1998). Caco-2 cell ferritin formation predicts nonradiolabeled food iron availability in an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. *J Nutrition*, 128: 1555-1561.
- Glei, M., Kirmse, A., Habermann, N., Persin, C., Pool-Zobel, B.L. (2006). Bread enriched with green coffee extract has chemoprotective and antigenotoxic activities in human cells. *Nutr Cancer*, 56: 182-192.
- Haciseferoğulları, H., Gezer, I., Özcan, M.M., Asma, B.M. (2007). Postharvest chemical and physical-mechanical properties of some apricot varieties cultivated in Turkey. *J Food Eng*, 79: 364-373.
- Hackman, R.M., Polagruto, J.A., Yan Zhu, Q., Sun, B., Fujii, H., Keen, C.L. (2008). Flavanols: digestion, absorption and bioactivity. *Phytochem Rev*, 7:195-208.
- Herman, A., Herman, A.P. (2013). Caffeine's mechanisms of action and its cosmetic use. *Skin Pharmacol Physiol*, 26: 8-14.
- Iwai, K., Kishimoto, N., Kakino, Y., Mochida, K., Fujita, T. (2004). In vitro antioxidative effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans. *J Agric Food Chem*, 52: 4893-4898.
- Jenner, A. M., Rafter, J., Halliwell, B. (2005). Human fecal water content of phenolics: The extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radic Biol Med*, 38: 763-772.
- Jeszka-Skowron, M., Stanisiz, E., De Pena, M.P. (2016). Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. *LWT - Food Sci Technol*, 73: 243-250.
- Jeszka-Skowron, M., Zgola-Grzeskowiak, A., Waskiewicz, A., Stepien L., Stanisiz, E. (2017). Positive and negative aspects of green coffee consumption - antioxidant activity versus mycotoxins. *J Sci Food Agric*, 97: 4022-4028.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*, 94(4): 550-557.
- Köseoğlu Yılmaz, P., Hacıbekiroğlu, I., Kolak, U. (2014). Effect of roasting on antioxidant and anticholinesterase capacities of coffee. *J Food Nutr Res*, 53(3): 232-239.
- Kris-Etherton, P.M.; Hecker, K.D.; Bonanome, A.; Coval, S.M.; Binkoski, A.E.; Hilpert, K.F.; Griel, A.E.; Etherton, T.D. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 2002, 113, 71-88.
- Lima, A.R., Pereira, R.G.F.A., Abrahao, S.A., Duarte, S.M.D., Paula, F.B.D. (2010). Coffee bioactive compounds. In vitro antioxidant activity of green and roasted coffees before and after decaffeination. *Química Nova*, 33: 20-24.
- Martin, K.R., Appel, C.L. (2010). Polyphenols as dietary supplements: a double-edged sword. *Nutr Diet Suppl*, 2: 1-12.

- Parada, J., Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci*, 72: 21-32.
- Parras, P., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. M., Murcia, M.A. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chem*, 102: 582-592.
- Pekal, A., Drózd, P., Biesaga, M., Pyrzynska, K. (2012). Screening of the antioxidant properties and polyphenol composition of aromatised green tea infusions. *J Sci Food Agric*, 92:2244-2249.
- Perrone, D., Farah, A., Donangelo, C.M. (2012). Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *J Agric Food Chem*, 60:4265-4275.
- Podsedek, A., Redzynia, M., Klewicka, E., Koziolkiewicz, M. (2014). Matrix effects on the stability and antioxidant activity of red cabbage anthocyanins under simulated gastrointestinal digestion. *Biomed Res Int*, 1-11.
- ourshahidi, L.K., Navarini, L., Petracco, M., Strain, J.J. (2016). A comprehensive overview of the risks and benefits of coffee consumption. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 15:671-684.
- Rossi, T., Gallo, C., Bassani, B., Canali, S., Albin, A., Bruno, A. (2014). Drink your prevention: beverages with cancer preventive phytochemicals. *Pol Arch Med Wewn*, 124(12): 713-722.
- Ryan, L., Prescott. S.L. (2010). Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. *Int J Food Sci Tech*, 45, 1191-1197.
- Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi M., Hirano, T., Sugawara, M., Iseki, K. (2011). In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *Int J Pharm*, 403: 136-138
- Schenker, S., Heinemann, C., Huber, M., Pompizzi, R., Perren, R., Escher, R. (2002). Impact of roasting conditions on the formation of aroma compounds in coffee beans. *J Food Sci*, 67:60-66.
- Se czyk, L., S´wieca, M., Gawlik-Dziki, U. (2017). Soymilk enriched with green coffee phenolics - Antioxidant and nutritional properties in the light of phenolics-food matrix interactions. *Food Chem*, 223: 1-7.
- Shimoda, H., Seki, E., Aitani, M. (2006). Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC Complement Altern Med*, 6(9): 1-9.
- Siebert, M., Berger, R. G., Nieter, A. (2018). Enzymatic mitigation of 5-O-chlorogenic acid for an improved digestibility of coffee. *Food Chem*, 258: 124-128.
- Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisut, P., Siriamornpun, S. (2011). Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). *Int J Food Sci Tech*, 46:2287-2296.
- Spanos, G.A., Wrolstad, R.E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson Seedless grape juice. *J Agric Food Chem*, 38: 1565-1571.
- Stefanello, N., Schmatz, R., Pereira, L.B., Rubin, M.A., da Rocha, J.B.T., Facco, G., Pereira, M.E., Mazzanti, C.M.A., Passamonti, S., Rodrigues, M.V., Carvalho, F.B., da Rosa M.M., Gutierrez, J. M., Cardoso, A.M., Morsch V.M., Schetinger M.R.C. (2014). Effects of chlorogenic acid, caffeine, and coffee on behavioral and biochemical parameters of diabetic rats. *Mol Cell Biochem*, 388: 277-286.
- S´wieca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki D., Baraniak B. (2017). Wheat bread enriched with green coffee- In vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. *Food Chem*, 221: 1451-1457.
- Şemen, S., Mercan, S., Yayla, M., Açikkol, M. (2017). Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. *Food Chem*, 215: 92-100.
- Vasudevaiah, A.M., Chaturvedi, A., Kulathooran, R., Dasappa, I. (2017). Effect of green coffee extract on rheological, physico-sensory and

antioxidant properties of bread. *J Food Sci Technol*, 54(7): 1827-1836.

Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem*, 120(2): 599-606.

Wei, F., Tanokura, M. (2015). Chemical changes in the components of coffee beans during roasting. In: *Coffee in Health and Disease Prevention*, Preedy, V.R. (ed.), Elsevier Inc: Academic Press, pp. 83-91.

Wootton-Beard, P., Moran, A., Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Res Int*, 44, 217-224.

Zhao, Y., Wang, J., Balleve, O., Luo, H., Zhang, W. (2012). Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertension Res*, 35(4): 370-374.

FENİLKETONÜRİ HASTALARI İÇİN FENİLALANİN İÇERİĞİ AZALTILMIŞ BİR UN GELİŞTİRİLMESİ

Özlem Kılıç Büyükkurt¹, A. Nur Durak², Mustafa Erbaş^{2*}

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadirli Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Osmaniye, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 08.02.2018; Kabul / Accepted: 04.06.2018; Online baskı / Published online: 05.10.2018

Kılıç Büyükkurt, Ö., Durak, A.N., Erbaş, M. (2018). Fenilketonüri hastaları için fenilalanin içeriği azaltılmış bir un geliştirilmesi. GIDA (2018) 43 (5): 812-825 doi: 10.15237/gida.GD18029

Kılıç Büyükkurt, Ö., Durak, A.N., Erbaş, M. (2018). Development of a new of flour with reduced phenylalanine content for phenylketonuria patients. GIDA (2018) 43 (5): 812-825 doi: 10.15237/gida.GD18029

ÖZ

Fenilketonüri (FKU) hastalığının tedavisinde, fenilalanince kısıtlı diyet tedavinin temelini oluşturmaktadır. Bu nedenle; FKU hastalarının diyetlerinde önemli bir çeşitlilik oluşturmak için buğday unundan fenilalanin içeriği azaltılmış yeni bir un (FAUN) hazırlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla, unda bulunan proteinler *in vitro* olarak hidroliz edilmiş ve amino asitlerin serbestleşmesi sağlanmıştır. Serbestleşebilen bu amino asitlerin içerisindeki fenilalaninin miktarını azaltmak için ise, hidrolizata fenilalanin amonyum liyaz (FAL) enzimi içeren mısır filizi ekstraktı uygulanmış ve sonrasında elde edilen ürün kurutulularak tekrar un haline getirilmiştir. Araştırma sonucunda, *in vitro* hidroliz ile unun serbest fenilalanin içeriğinin yaklaşık 15 kat arttığı ve 6.09 µmol/sa.g FAL enzim aktivitesine sahip mısır filizi ekstraktı uygulamasının da unun serbest fenilalanin içeriğini yaklaşık %50 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca FAUN ile üretilen bisküvilerin, duyuşal özellikleri 9 puanlık hedonik skalaya göre yapılan değerlendirmede 4.5 ve daha yüksek puanları aldığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Fenilketonüri, fenilalanin, fenilalanin amonyum liyaz

DEVELOPMENT OF A NEW OF FLOUR WITH REDUCED PHENYLALANINE CONTENT FOR PHENYLKETONURIA PATIENTS

ABSTRACT

Phenylalanine-restricted diet is the basis of treatment for phenylketonuria (PKU). Therefore; it was aimed to prepare new flour with reduced phenylalanine (FRP) content from wheat flour in order to create a significant diversity in PKU patients' diet. For this purpose, proteins in flour were hydrolyzed by *in vitro* and amino acids were released. In order to reduce the amount of phenylalanine in these free-amino acids, corn seedling extracts containing phenylalanine ammonium lyase (PAL) was applied to hydrolysate, the resulting product was dried and obtained again flour. As a result of the research, it was determined that free phenylalanine content of flour was increased about 15-fold by *in vitro* and application of corn seedling extract with PAL enzyme activity of 6.09 µmol/h.g reduced about 50% of free phenylalanine content of flour. It was also determined that biscuits produced with FRP had sensorial scores of 4.5 or higher, based on the hedonic scale of 9 points.

Keywords: Phenylketonuria, phenylalanine, phenylalanine ammonia lyase

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ erbas@akdeniz.edu.tr

☎ (+90) 242 310 6575

☎ (+90) 242 227 4564

GİRİŞ

Fenilketonüri (FKU) hastalığı, hepatik bir enzim olan fenilalanin hidrosilaz (FAH, EC 1.14.16.1) enziminin ve/veya bu enzimin kofaktörü olan tetrahidrobiyopterin (6R-L-eritro-5,6,7,8-tetrahidrobiyopterin, BH₄) maddesinin eksik veya yetersiz olmasından kaynaklanan otozomal resesif geçişli bir protein metabolizma bozukluğu hastalığıdır (Cleary, 2014; Pinto vd., 2017; Ramírez vd., 2017; Vieira Neto vd., 2018).

Gıdalarla birlikte alınan ve esansiyel bir amino asit olan fenilalanin (Vieira Neto vd., 2018), sağlıklı bireylerde FAH enzimi tarafından geri dönüşümsüz olarak tirozine dönüştürülmektedir. Ancak FKU hastalığına sahip bireylerde; fenilalanin, FAH enzimi ve/veya BH₄ kofaktörünün yokluğu veya eksikliği nedeniyle tirozine dönüştürülemezken kan gibi vücut sıvılarında ve beyin dokusunda birikmektedir (Özer vd., 2008; Banta-Wright vd., 2015; Üstüner Top ve Küçük Alemdar, 2015). Biriken bu fenilalanin; idrar ve terin küf gibi kötü kokmasına, yürümede ve oturmada zorluklara, gelişim ve zeka geriliğine, agresif ve otistik davranışlara, hiperaktiviteye, dikkat eksikliğine, havale, kusma ve dermatolojik rahatsızlıklara neden olmaktadır. Ayrıca, bu bireylerde melanin sentezinin azalması nedeniyle cilt, saç ve gözlerde ebeveynlere göre daha açık renk oluşmaktadır (Köksal ve Gökmen Özel, 2012; Liemburg vd., 2015; Ramírez vd., 2017; Kose vd., 2018).

FKU hastalığında fenilalanince kısıtlı diyet tedavinin temelini oluşturmaktadır (Strisciuglio ve Concolino, 2014; Ho vd., 2016). Bu diyet tedavisinde temel amaç, kan fenilalanin değerini kontrol ederek hastaların normal bir yaşam sürdürmesini sağlamaktır (Vieira Neto vd., 2018; Kose vd., 2018). Bu nedenle hastaların diyetlerinde tüketebilecekleri gıdalar sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre; et, süt, balık, yumurta, tahıllar ve bunların ürünleri gibi protein içeriği yüksek olan gıdalar ve aspartam içeren ürünler tüketilmesi yasak olan gıdalardır (Rohr, 2015; Babaoğlu-Aydaş vd., 2016; Evans vd., 2018). Meyve, sebze gibi düşük protein içeriğine sahip olan gıdalar tüketilmesi sınırlı serbest ve nişasta, bitkisel sıvı yağ gibi protein

içermeyen gıdalar ise tüketimi serbest olan gıdalardır (Goldar vd., 2016). FKU hastaları, fenilalaninin metabolize edilmesi sonucu oluşan tirozinden de yoksun kaldığı için bu hastalarda tirozin esansiyel amino asit konumuna geçmektedir (MacDonald vd., 2011; Karadeniz, 2013; Ney vd., 2016). Bu nedenle diyet tedavisinde fenilalanin içermeyen veya fenilalanin içeriği azaltılmış tirozince zenginleştirilmiş amino asit karışımları ve düşük proteinli ürünler de kullanılmaktadır (Strisciuglio ve Concolino, 2014; Liemburg vd., 2015; Bannick vd., 2015; Crujeiras vd., 2015).

Fenilalanince kısıtlı diyet başarılı bir tedavi yöntemi olmasına rağmen hastaların bu diyeti yaşam boyu sürdürmesi zor olmaktadır. Bu nedenle; yüksek molekül ağırlıklı nötr amino asit (large neutral amino acid, LNAA) desteği, glikomakropeptit (GMP) protein ikamesi ve proteince zengin gıdaların hidrolizi ile elde edilebilen fenilalanin içeriği azaltılmış gıdaların üretimi gibi bu hastaların beslenmesine yönelik yöntemler ve gen, sapropterin dihidroklorid, enzim ikame ve oral enzim tedavisi gibi hastalığın yeni tedavi yöntemleri üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (Pimentel vd., 2014; Pinto vd., 2017). FKU hastaları için enzim ikame ve oral enzim tedavisi çalışmalarında bitkisel ve mikrobiyal kaynaklı bir enzim olan fenilalanin amonyum liyaz (FAL, EC 4.3.1.24) enzimi kullanılmaktadır (Şirin vd., 2016; Barron vd., 2017). Moleküler ağırlığı 77-83 kDa arasında alt birimleri ile birlikte tetramerik halde bulunan FAL enzimi (Goldson vd., 2008), FAH enzimi gibi fenilalanini metabolize etmekte, ancak otokatalitik olması nedeniyle kofaktöre ihtiyaç duymadan fenilalanini trans-sinamik asite ve önemsiz miktarda amonyağa dönüştürmektedir (Sarkissian ve Gámez, 2005; McInnis vd., 2009; Babaoğlu-Aydaş vd., 2013; Ramírez vd., 2017).

Gıdaların fenilalanin içeriğinin azaltılması ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada buğday unu, *Bacillus licheniformis* ve ananas kabuklarından elde edilen enzim ekstraktları ve pankreatin enzimleriyle protein hidrolizi gerçekleştirilmiş ve elde edilen hidrolizat aktif karbondan geçirildikten sonra fenilalanin içeriğinin %66.28 oranında azaldığı

tespit edilmiştir (Carreira vd., 2008). Yapılan bir başka çalışmada ise düşük fenilalaninli tost ekmeği üretmek amacıyla; buğday unu proteinlerinden ve fenilalanince zengin olan gliadin fraksiyonu, susuz alkol çözeltisi kullanılarak ekstrakte edilerek düşük fenilalaninli buğday unu üretilmiştir. Bu undan üretilen ekmeğin fenilalanin içeriğinin kontrol örneğine göre %43.2 azaltıldığı belirtilmiştir (Mohsen vd., 2010). Bunun yanı sıra bazı tahıl filizlerinin FKU hastalarına oral olarak verilmesi gibi çalışmalar da mevcuttur. FAL enzimini, FKU hastalarına oral yolla vermek amacıyla yapılan bir çalışmada; bir çeşit Japon mısırı (*Zea mays* L. cv. japonica) çimlendirilmiş ve elde edilen mısır filizi köklerinin enzim aktivitesinin 9 µmol/sa.g taze ağırlık gibi yüksek bir değere sahip olduğu tespit edilmiştir (López-Villalobos vd., 2014).

FKU hastaları diyetlerinde protein içeriği yüksek temel ve tam gıda kaynaklarını tüketememekteler. Bu hastalara yönelik olarak hazırlanmış gıdalar genellikle belirli ve sınırlı sayıda besin bileşenlerinin karışımları şeklindedir. Bu bakımdan FKU hastaları, beslenmelerinde temel ve tam gıdaların tanımlanmış ve tanımlanmamış olan birçok besin maddesinden mahrum kalmaktadır.

Yukarıda bahsedilen nedenlerle, bu çalışmada; FKU hastalarının diyetlerinde önemli bir alternatif ve çeşitlilik oluşturması ve hastaların yaşam kalitelerini yükseltebilmesi için bu hastalara yönelik olarak tam bir gıda kaynağı olan buğday unundan fenilalanin içeriği azaltılmış yeni bir un hazırlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla; unda bulunan proteinler, sindirim enzimleri ile *in vitro* olarak hidroliz edilmiş ve olabildiğince amino asitlerin serbestleşmesi sağlanmıştır. Serbestleşebilen bu amino asitler içerisinde fenilalanin amino asidinin miktarını azaltmak için ise hidrolizata FAL enzimi içeren mısır filizi ekstraktı uygulanmış ve sonrasında elde edilen ürün kurutulularak tekrar un haline getirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmada, protein ve kül içerikleri sırasıyla %10.5 ve %0.8 olan Türk Gıda Kodeksi Buğday

Unu Tebliği'ne uygun buğday unu ve *Zea mays* spp. mısıır kullanılmıştır. Ayrıca, pepsin (2500 U/mg protein), tripsin (15 U/ml), kimotripsin (40 U/mg protein), karboksipeptidaz (70 U/mg protein) ve proteaz (500 U/g) sindirim enzimleri ile kimyasal maddeler niteliklerine uygun olarak analitik ve kromatografik saflıkta Sigma-Aldrich (Co. LLC., ABD) firmasından temin edilerek kullanılmıştır.

Yöntem

Mısır filizlerinden FAL enzimi içeren ekstraktın elde edilmesi

Bu çalışmada; gıda olarak tüketilebilir, kolay bulunabilir ve yüksek enzim aktivitesine sahip olması nedenleriyle FAL enzim kaynağı olarak mısır tahılı kullanılmıştır. Saf su içerisinde bir gece boyunca bekletilen mısır taneleri (López-Villalobos vd., 2014), pH değeri yaklaşık 6 olan çok amaçlı bitki toprağına yerleştirilerek oda sıcaklığında ve doğal ışık altında plastik saksı içerisinde çimlendirilmeye bırakılmıştır. Mısır taneleri çimlenme ortamına yerleştirildikten sonra (0. gün) tanelerin tamamının filizlenmeye başladığı 4. günden itibaren 8. güne kadar her gün FAL enzim aktivite analizi, modifiye edilmiş olan Goldson vd., (2008) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre; çimlenmenin 7. gününde FAL enzim aktivitesinin en yüksek olduğu tespit edilmiştir ve üretimde kullanılan mısır filizleri çimlenmenin 7. gününde hasat edilerek kullanılmıştır.

Hasat edilen mısır filizleri üzerine; filiz: su oranı 1:5 (w/w) olacak şekilde soğuk (+4°C) su ilave edildikten ve havanda iyi bir şekilde ezildikten sonra karışım 1500xg'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant 1500xg'de 5 dk tekrar santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, süpernatant alınarak moleküler ayırma sınırı (MWCO) 6-8 kDa olan diyaliz tüplerine aktarılmış ve +4°C'de bir gece boyunca diyaliz edilerek düşük molekül ağırlıklı maddelerden arındırılarak FAL enziminin konsantrasyonu bir ekstrakt olarak elde edilmiştir (Babaoglu-Aydaş vd., 2016).

In vitro sindirim

Buğday ununda bulunan proteinlerin *in vitro* sindiriminde, Picariello vd., (2015), Gianfrani vd.,

(2015) ve COST-INFOGEST çalışma grubu (Minekus vd., 2014) metodları yalnızca *in vitro* protein sindirimi için modifiye edilerek kullanılmıştır. *In vitro* protein sindirimi için öncelikle buğday ununun kurumadde içeriği, simüle mide sıvısı (SMS, 0.15 M NaCl) ile yaklaşık %8'e ayarlanmış ve gıda güvenliğinin sağlanması amacıyla 75°C'de 5 dk pastörize edilerek soğutulmuştur. Soğutulan sulu gıda materyalinin pH değeri, 1 M HCl ile 2.5'e ayarlanmış ve enzim: protein oranı 1:50 (w/w) olacak şekilde pepsin enzimi ilave edilerek 500 rpm hızda 1 dk boyunca homojenize olması için karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan homojenizat midedeki hidrolizi simüle etmek için 50 rpm hızda, 37°C sıcaklıkta ve pH değeri 2.5'te sabit tutularak 3 saat süreyle sindirim işlemi gerçekleştirilmiştir.

Mide sindirimi gerçekleştirilen homojenizatın ince bağırsak sindirimi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Öncelikle homojenizatın pH değeri, 1 M NaOH çözeltisi ile 7'ye ayarlanmış ve üzerine enzim: protein oranları sırasıyla 1:100 (v/w), 1:100 (w/w) ve 1:250 (v/w) olacak şekilde tripsin, kimotripsin ve karboksipeptidaz enzimleri eklenerek 500 rpm hızda 1 dk boyunca karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan homojenizat 50 rpm hızda, 37°C sıcaklıkta ve pH değeri 7'de sabit tutularak 2 saat süreyle sindirim işlemi gerçekleştirilerek ince bağırsak sindiriminin ilk aşaması gerçekleştirilmiştir. İnce bağırsak sindiriminin ikinci aşamasında ise ince bağırsak mikrovilluslarına tutunmuş olarak görev yapan enzimlerin (brush wall enzyme) hidrolizini simüle etmek ve homojenizatta kalan dipeptit, tripeptit gibi küçük peptitleri de amino asitlere hidroliz etmek için aynı sıcaklık ve pH değerinde enzim: protein oranı 1:50 (v/w) olacak şekilde proteaz enzimi ilave edilmiştir. Bu homojenizat tekrar 50 rpm hızda, 37°C sıcaklıkta, pH değeri 7'de 2 saat daha sindirime tabi tutulmuştur. Böylelikle ince bağırsak sindiriminin ikinci aşaması da tamamlanarak *in vitro* protein sindirimi tamamlanmıştır. *In vitro* sindirim sonrası sindirim enzimlerinin proteolitik aktivitelerinin durdurulması amacıyla homojenizat 75°C'de 30 dk ısı işleme tabi tutulmuş ve ardından FAL enzim uygulaması gerçekleştirilmiştir.

FAL enzimi içeren mısır filizi ekstraktın uygulaması

FAL enzim uygulaması, *in vitro* sindirim sonrası serbest fenilalanin içeriğini azaltmak için gerçekleştirilmiştir. *In vitro* sindirimi gerçekleştirilen homojenizatın pH değeri ve sıcaklığı, FAL enziminin optimum çalışma koşulları olan sırasıyla 8.5 ve 30°C'ye ayarlanarak homojenizat üzerine *in vitro* sindirimde kullanılan un miktarının %10'u kadar mısır filizinden elde edilmiş olan FAL enzimi içeren ekstrakt eklenmiştir. Homojenizatın pH ve sıcaklık değerleri sabit tutularak 50 rpm hızda 4 saat boyunca inkübe edilerek *in vitro* sindirim sürecinde serbestleşen fenilalanin amino asitlerinin azaltılması amaçlanmıştır (Sarkissian ve Gámez, 2005; Goldson vd., 2008; Lam vd., 2008).

Kurutma

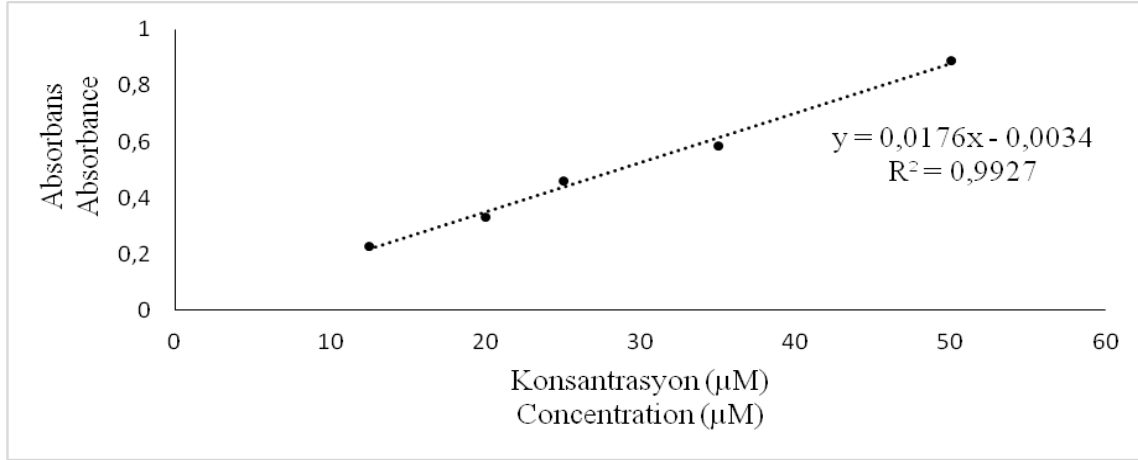
In vitro sindirim ve mısır filizi ekstraktı FAL enzim uygulamasının ardından elde edilen homojenizat, 65°C'de 2 saat süreyle rotary evaporatörde (Laborota 4000, Heidolph, Almanya) konsantre edilmiş, daha sonra vakum kurutucuda (VO200, Memmert, Almanya) 65°C'de, 20 mbar vakum altında 2.5 saat boyunca nem içeriği %14 ve su aktivitesi 0.65 değerinin altına düşünceye kadar kurutulmuştur. Kurutulan örnek, bir öğütücüde (GM-7230 Değirmen, 220-240V AC, 50 Hz, 180 W, Goldmaster, Türkiye) boyut küçültme işlemine tabi tutularak fenilalanin içeriği azaltılmış un (FAUN) haline getirilmiştir.

Mısır filizi FAL enzim aktivite analizi

Mısır filizi FAL enzim aktivite analizi, modifiye Goldson vd., (2008)'e göre gerçekleştirilmiştir. Öncelikle; filiz örnekleri, 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.8), 1 mmol/L etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), 10 mmol/L 2-merkaptotanol ve 25 g/L polivinilpolipirolidondan oluşan ekstraksiyon tamponu ile filiz: ekstraksiyon tampon oranı 1:10 (w/v) olacak şekilde havanda homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler 4°C'de 1 saat difüzyon için bekletildikten sonra 23500xg'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanttaki tuzları gidermek için ekstrakt tuz giderici kolondan (Zeba™ Spin Desalting 7K MWCO, Thermo Scientific, IL, USA) geçirilmiştir. Kolondan geçirilen ekstraktın 100 µL'sine, 100 mmol/L Tris-HCl'den (pH 8.8)

oluşan reaksiyon tamponundan 500 µL eklenmiştir. Üzerine 40 mmol/L L-fenilalanin ve 100 mmol/L Tris-HCl'den (pH 8.8) oluşan substrattan 200 µL eklenerek 37°C'de 15 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyonu durdurmak için, 250 g/L trikloroasetikasitten (TCA) 200 µL eklenmiş ve 13000xg'de 15 dk santrifüj edilmiştir.

Son olarak bu ekstraktların spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japonya) 290 nm dalga boyunda absorbans değerleri kontrol örneğe karşı okunmuştur. FAL enzim aktivitesi, FAL enziminin fenilalanini dönüştürmesiyle oluşan trans-sinamik asit miktarı üzerinden Şekil 1'de verilen kalibrasyon eğrisi ile hesaplanmıştır.



Şekil 1. Trans-sinamik asit kalibrasyon eğrisi

Figure 1. Trans-cinamic acid calibration curve

Buğday ununda toplam amino asit analizi

FAUN üretiminde kullanılan buğday ununun toplam amino asit analizi Aykın-Dinçer vd., (2017) yöntemine göre gerçekleştirilmiş ve analiz sonuçları kurumadde üzerinden verilmiştir.

Serbest fenilalanin analizi

In vitro protein sindirimi ve FAL enzimi uygulaması sürecinde alınan örneklerde serbest fenilalanin içeriği analizi Kıvrak vd., (2014) yöntemine göre LC-MS/MS sisteminde yapılmıştır.

Diğer kimyasal analizler

Buğday unu ve FAUN örneklerinin; su tutma kapasitesi analizi AACC (2011) 56-20.01 standart metoda göre, suda çözünürlük ve su absorpsiyon indeksi analizleri Shi vd., (2016)'ya göre, kurumadde analizi Elgün vd., (2002)'ye göre, pH ve titrasyon asitliği analizi AACC (2011) 02-52 ve AACC (2011) 02-31.01 standart metodlarına göre, toplam protein analizi AACC (2011) 46-12 standart metoda göre ve enzime dirençli nişasta (EDN) analizi AACC (2011) 32-40 standart metoda göre dirençli nişasta enzim kiti (KRSTAR,

Megazyme Int. Wicklow, İrlanda) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Su aktivitesi analizi ise, su aktivitesi tayin cihazı (Aqua Lab 4TE, USA) kullanılarak yapılmıştır.

Fiziksel analizler

Buğday unu ve FAUN örneklerinin renk değerleri, renk ölçüm cihazının (Minolta CR 400, Konica Minolta, Japonya) ölçüm kabına alınan un örneklerinin 3 farklı noktasından ölçüm yapılmasıyla L^* , a^* ve b^* değerleri olarak belirlenmiştir (Protonotariou vd., 2014). Yığın yoğunluğu analizi ise Adeleke ve Odedeji (2010)'a göre gerçekleştirilmiştir.

Duyusal analiz

FAUN örneklerinin duyu tüketilebilirliğini belirlemek için FAUN ve kontrol örneği olarak buğday ununda, modifiye edilmiş Protonotariou vd., (2016) yöntemine göre bisküvi üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen bisküvilerin renk, koku, sertlik, çiğnenebilirlik, yapışkanlık, aromata ve genel beğeni özellikleri, 9 eğitilmiş panelist tarafından kontrol örneğine kıyasla 9 puanlık hedonik skala testine göre değerlendirilmiştir.

İstatistiksel analiz

Araştırmanın mide aşamasında 4 adet, ince bağırsak sindiriminin birinci aşamasında 3 adet ve ince bağırsak sindiriminin ikinci aşamasında ise 3 adet daha olmak üzere *in vitro* sindirim sürecinde toplam 10 adet ve FAL enziminin 240 dakikalık uygulanma sürecinde ise sürecin her 20 dakikasında 1 adet olmak üzere toplam 13 adet örnekleme yapılmıştır. Araştırma iki tekerrürlü, analizler ise iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilere tek yönlü Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar SAS istatistik programı (Cary, NC, ABD) ile gerçekleştirilmiş olup değerler ortalama \pm standart hata şeklinde düzenlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Mısır filizi enzim aktivitesi

FAUN üretiminde kullanılan mısır filizi FAL enzim aktivitesinin maksimum olduğu çimlenmenin 7. günü ortalama 6.09 $\mu\text{mol/sa.g}$ taze ağırlık enzim aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki yüksek FAL enzim aktivitesine sahip olan bir çeşit Japon mısırının (*Zea mays* L. cv. japonica) çimlendirilmesi ile elde edilen mısır filizi köklerinin FKU hastalarına oral olarak verilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, köklerin enzim aktivitesinin 9 $\mu\text{mol/sa.g}$ taze ağırlık olduğu tespit edilmiştir (López-Villalobos vd., 2014). FAL enzim aktivitesi ile ilgili yapılan bir başka çalışmada ise buğday filizinin enzim aktivitesi 1.37 $\mu\text{mol/sa.g}$ taze ağırlık olarak bulunmuştur (Goldson vd., 2008). FAL enzim aktivitesinin bitki çeşidi, ışık, tuz ve stres ile beraber değişebileceği bildirilmiştir (Şirin vd., 2016).

In vitro protein hidrolizi ve FAL enzim uygulamasının unun serbest fenilalanin içeriği üzerine etkisi

Araştırmada kullanılan buğday ununun toplam amino asit içeriğine ait sonuçlar Çizelge 1’de ve bu unun *in vitro* sindirim ve FAL enzim uygulaması sonrasındaki serbest fenilalanin içeriklerine ait sonuçlar Çizelge 2’de verilmiştir. Araştırmada kullanılan buğday ununun toplam fenilalanin içeriğinin 6201 mg/kg olduğu tespit edilmiştir. Literatürde de buğday ununun toplam fenilalanin

içeriği 5270 mg/kg olduğu belirlenmiştir (Türkomp, 2015). *In vitro* protein sindirim sonrasında açığa çıkan serbest fenilalanin miktarının (629.33 mg/kg, Çizelge 2) bu değere göre yaklaşık 10 kat daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun ince bağırsak mikrovilluslarına tutunmuş olarak görev yapan ve düşük molekül ağırlıklı peptitleri amino asitlere hidroliz eden proteaz (brush wall enzymes) enzimlerinin (Srichanun vd., 2014; Da Encarnaçao vd., 2015) *in vitro* sindirimde kullanılmamasından ve dolayısıyla proteinlerin tripeptit ve dipeptitlerden sonra amino asitlere kadar yeterince hidrolize olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

In vitro protein sindiriminin mide, bağırsak birinci ve bağırsak ikinci aşama uygulamalarının ve FAL enzim uygulamasının unun serbest fenilalanin içeriği üzerine önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.01$). *In vitro* sindirim sırasında proteinlerin amino asit ve düşük molekül ağırlıklı peptitlere hidrolize olması ve dolayısıyla serbest fenilalanin içeriğinin artması, yapılan *in vitro* sindirimin kısmen başarılı olduğunu göstermiştir. *In vitro* sindirim ve FAL enzim uygulamasının zamana bağlı olarak unun serbest fenilalanin içeriği üzerine etkisi Şekil 2’de gösterilmiştir. Unun serbest fenilalanin içeriğinin *in vitro* sindirimin başlangıcından sonuna kadar yaklaşık 15 kat arttığı ve FAL enzim uygulamasının başından (629.33 mg/kg) sonuna (287.85 mg/kg) kadar ise %54.2 azaldığı tespit edilmiştir. *Rhodosporidium toruloides* mayasından izole edilen FAL enzimi ile çeşitli ticari protein hidrolizatlarında bulunan fenilalaninin azaltılmasının amaçlandığı bir çalışmada, reaksiyon koşullarında (42°C, pH 8.7) uygulanan FAL enziminin kazein asit hidrolizatındaki fenilalanin seviyesinin yaklaşık %92 oranında azaltıldığı ve diğer protein hidrolizatlarında da benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Castañeda vd., 2015). Gliadin içermeyen buğday unundan düşük fenilalaninli tost ekmeği üretmek amacıyla yapılan başka bir çalışmada ise bu undan üretilen ekmeğin fenilalanin içeriğinin kontrol örneğine göre %43.2 azaltıldığı belirtilmiştir (Mohsen vd., 2010).

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan buğday unun toplam amino asit içeriği (mg/kg.KM)
Table 1. The total amino acid content of wheat flour used in the research (mg/kg.DM)

Amino asit <i>Amino acid</i>	Miktar <i>Quantity</i>	Amino asit <i>Amino acid</i>	Miktar <i>Quantity</i>
Fenilalanin <i>Phenylalanine</i>	6201	Valin <i>Valine</i>	5193
Aspartik asit <i>Aspartic acid</i>	4850	Methionin <i>Methionine</i>	1860
Glutamik asit <i>Glutamic acid</i>	43926	Triptofan <i>Tryptophane</i>	310
Asparjin <i>Asparagine</i>	112	Sistein <i>Cysteine</i>	1838
Serin <i>Serine</i>	5714	İzolösin <i>Isoleucine</i>	4363
Histidin <i>Histidine</i>	2702	Ornitin <i>Ornithine</i>	321
Glisin <i>Glycine</i>	4562	Lösin <i>Leucine</i>	8626
Treonin <i>Threonine</i>	3577	Lisin <i>Lysine</i>	2890
Sitrülin <i>Citruline</i>	78	Hidroksiprolin <i>Hydroxyproline</i>	299
Arjinin <i>Arginine</i>	5127	Sarkosin <i>Sarcosine</i>	100
Alanin <i>Alanine</i>	4042	Prolin <i>Proline</i>	19477
Tirozin <i>Tyrosine</i>	2923	Toplam amino asit <i>Total amino acid</i>	129100

n=2

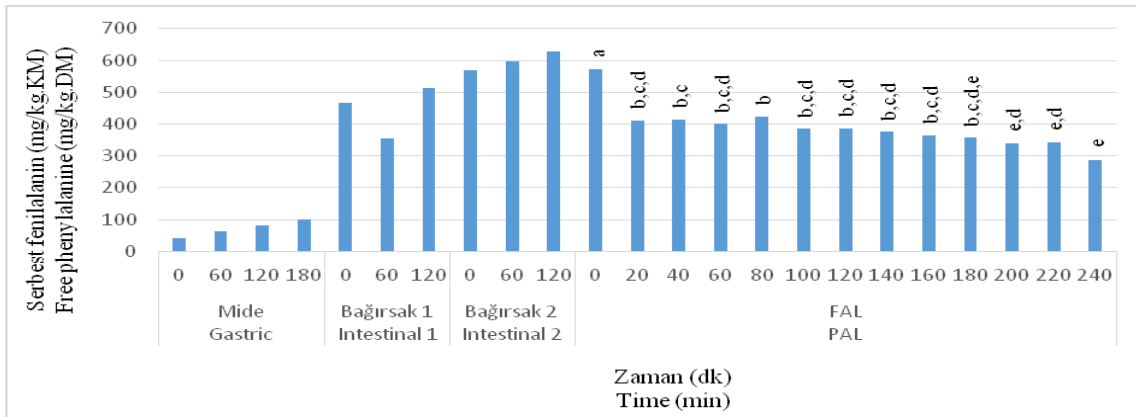
Çizelge 2. *In vitro* sindirim ve FAL enzim uygulamasının unun ortalama serbest fenilalanin içeriği üzerine etkisi

Table 2. Effect of *in vitro* digestion and PAL enzyme application on average free phenylalanine content of flour

Uygulama <i>Application</i>	Fenilalanin (mg/kg.KM) <i>Phenylalanine (mg/kg.DM)</i>
Un <i>Flour</i>	40.93 ^e ± 2.78
Mide <i>Gastric</i>	99.62 ^d ± 25.81
Bağırsak 1 <i>Intestinal 1</i>	512.86 ^b ± 75.48
Bağırsak 2 <i>Intestinal 2</i>	629.33 ^a ± 142.23
FAL <i>PAL</i>	287.85 ^c ± 6.97
Önem <i>Significance</i>	**

Aynı sütündeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0.01$) farklı olduğunu gösterir.
n=2

The different letters in the same column indicate that the averages are statistically significantly ($P < 0.01$) different.



Şekil 2. *In vitro* sindirim ve FAL enzim uygulamasının unun serbest fenilalanin içeriği üzerine etkisi
Figure 2. Effect of *in vitro* digestion and PAL enzyme application on free phenylalanine content of flour

Buğday ununun ve FAUN'un bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Araştırmada kullanılan buğday unu ve FAUN'un bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. Buna göre, FAUN'un suda çözünürlük indeksinin buğday ununa göre çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun, *in vitro* sindirim sırasında proteinlerin peptit ve amino asitlere hidrolize olmasından ve dolayısıyla suda çözünür kurumadde miktarının artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Sharma vd., 2016; Bashir vd., 2017). FAUN'un yığın yoğunluğu değerinin buğday ununa göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, proteinlerin hidroliz olmasıyla birim hacme daha çok kütle girmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada tam buğday ununun yığın yoğunluğu 0.63 g/mL olarak tespit edilmiştir (Sakhare ve Prabhasankar, 2017). FAUN'un nem içeriği buğday ununa göre daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durumun, proteinlerin hidrolizi sonucu oluşan serbest amino asit ve suda çözünür peptitlerin koligatif etkisinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. FAUN'un titrasyon asitliği değeri buğday ununa göre daha yüksek tespit edilmiştir. Buğday ununun titrasyon asitliği, Anonymous (2013)'e göre yüzde asit olarak sülfürik asit cinsinden kurumadede en çok %0.07 olarak belirtilmiştir. Buna göre buğday ununun titrasyon asitliği belirtilen değerler altındayken, FAUN'un asitlik değeri bu değerler üzerinde tespit edilmiştir. Bu durumun *in vitro* sindirim ve FAL enzim uygulaması ile proteinlerin hidrolizi için ortam pH'sının ayarlanmasından ve

hidroliz ile serbest amino asit miktarının artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. FAUN'un titrasyon asitliği değeri buğday ununa göre artarken, pH değeri buğday ununa göre değişmemiştir. Bu durumun nedeni, *in vitro* sindirim sırasında serbest miktarının artmasıyla bu amino asitlerin tamponlama özelliği göstermesi ve dolayısıyla pH değerinin değişmemesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ade-Omowaye vd., (2008) tarafından yapılan bir çalışmada buğday ununun titrasyon asitliği %0.057, Adeleke ve Odedeji (2010) tarafından yapılan bir çalışmada buğday ununun pH değeri 6.01 olarak belirtilmiştir. FAUN ile buğday ununun toplam protein içeriği arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir. Bu durumun *in vitro* protein sindiriminde ve FAL enzim uygulamasında unun azot içeriğinin ve dolayısıyla toplam protein içeriğinin değişmemesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada ekmeklik buğday unularının protein içeriklerinin %11.85-13.44 arasında değiştiği belirtilmiştir (Yağdı, 2004). FAUN'un enzime dirençli nişasta içeriği buğday ununa göre yaklaşık 4 kat daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durum, FAUN üretiminde uygulanan ısıtma, soğutma, pH ayarlama ve karıştırma işlemleri sırasında zedelenmiş nişasta granüllerindeki amiloz zincirlerinin granülden çıkararak yeniden düzenlenmesi ve kurutma ile de retrograde olarak Tip 3 dirençli nişastaya dönüşmesinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir (Candal vd., 2016). Çeşitli nişasta türleri üzerine yüksek basınç ve sıcaklık uygulaması etkisinin araştırıldığı bir

çalışmada basınç ve sıcaklık arttıkça jelatinizasyon derecesinin arttığı ve sonucunda ise EDN içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Papathanasiou vd., 2015). Unda EDN içeriğinin araştırıldığı bir başka

çalışmada ise ıslı işlem ve dondurma uygulaması yapılan un örneğinin, kontrol örneğine göre EDN içeriğinin yaklaşık 8 kat arttığı belirlenmiştir (Arcila ve Rose, 2015).

Çizelge 3. Araştırmada kullanılan unun ve FAUN'un bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları
Figure 3. The results of some physical and chemical analysis of the flour used in research and FRP

Özellikler Properties	Un Flour	FAUN FRP	Önem Significance
Su tutma kapasitesi (g su/ g KM) Water holding capacity (g su/ g DM)	1.14 ^a ± 0.07	1.13 ^a ± 0.08	-
Su absorpsiyon indeksi (g/g) Water absorption index (g/g)	1.02 ^a ± 0.00	1.02 ^a ± 0.01	-
Suda çözünürlük indeksi (g/ 100 g) Water solubility index (g/ 100 g)	0.79 ^b ± 0.04	7.39 ^a ± 0.33	**
Yığın yoğunluğu (g/mL) Bulk density (g/mL)	0.69 ^b ± 0.01	1.03 ^a ± 0.01	**
Nem içeriği (%) Moisture content (%)	9.70 ^b ± 0.25	11.35 ^a ± 0.01	*
Su aktivitesi (a _w) Water activity (a _w)	0.47 ^a ± 0.01	0.41 ^a ± 0.03	-
pH pH	6.34 ^a ± 0.01	5.99 ^a ± 0.36	-
Titrasyon asitliği (% sülfürik asit cinsinden) Titratable acidity (% in sulfuric acid)	0.054 ^b ± 0.00	0.248 ^a ± 0.04	*
Toplam protein içeriği (%) Total protein content (%)	12.71 ^a ± 0.02	11.54 ^a ± 0.39	-
EDN (Enzime Dirençli Nişasta) içeriği (%) ERS (Enzyme Resistant Starch) content (%)	0.14 ^b ± 0.05	0.58 ^a ± 0.05	*

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0.01$, $P < 0.05$) farklı olduğunu gösterir. n=2

The different letters on the same line indicate that the averages are statistically significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$) different.

Araştırmada kullanılan unun ve FAUN'un renk analizi sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. Buna göre, FAUN'un buğday ununa göre daha düşük bir L^* değerine ve dolayısıyla daha koyu bir renge sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun nedeninin *in vitro* sindirim sırasında oluşan serbest amino asitlerin süreçte ve özellikle unun kurutulma aşamasında Maillard reaksiyonuna

girerek enzimatik olmayan esmerleşme yoluyla ürünün rengini koyulaştırmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Serbest amino asitler indirgen şekerlerle Maillard reaksiyonuna girerek ürünlerin daha koyu renkli olmasına neden olmaktadır (Fennema, 1996; Martínez vd., 2015; Oliveira vd., 2017).

Çizelge 4. Araştırmada kullanılan un ve FAUN'un renk analiz sonuçları
Figure 4. The results of color analysis of the flour used in research and FRP

Renk Color	Un Flour	FAUN FRP	Önem Significance
L^*	90.70 ^a ± 0.01	71.62 ^b ± 3.73	*
a^*	-4.91 ^a ± 0.02	-4.37 ^a ± 0.49	-
b^*	15.35 ^a ± 0.05	20.92 ^a ± 3.67	-

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların önemli düzeyde farklı olduğunu gösterir ($P < 0.05$). n=2

The different letters on the same line indicate that the averages are statistically significantly different ($P < 0.05$).

Duyusal değerlendirme

Araştırmada kullanılan undan ve FAUN'dan üretilen bisküvilerin duysal analiz sonuçları Çizelge 5'te verilmiştir. Buna göre, fenilalanin içeriğini azaltmak için yapılmış olan uygulamanın üretilen bisküvi örneklerinin tüm duysal özellikleri üzerine önemli ($P<0.01$, $P<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. FAUN'dan

üretilen bisküvilerin, duysal puanı 9 olarak kabul edilen kontrol örneklerine kıyasla daha düşük puanlar aldığı ancak puanlarının 9 puanlık hedonik skalada kabul edilebilirlik sınırı olan 4.5 puandan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle FAUN ile üretilebilecek bir unlu mamulün FKU hastaları tarafından kabul edilebilir bulunabileceği değerlendirilmiştir.

Çizelge 5. Araştırmada kullanılan undan ve FAUN'dan üretilen bisküvilerin duysal analiz sonuçları
Figure 5. The results of sensory analysis of biscuits produced with flours used in the research

Özellikler <i>Properties</i>	Un <i>Flour</i>	FAUN <i>FRP</i>	Önem <i>Significance</i>
Renk <i>Color</i>	9.00 ^a	6.45 ^b ± 0.44	*
Koku <i>Odor</i>	9.00 ^a	5.82 ^b ± 0.19	**
Sertlik <i>Hardness</i>	9.00 ^a	7.95 ^b ± 0.06	**
Çiğnenebilirlik <i>Chewiness</i>	9.00 ^a	6.49 ^b ± 0.27	*
Yapışkanlık <i>Adhesiveness</i>	9.00 ^a	4.54 ^b ± 0.21	**
Aroma-Tat <i>Aroma-Flavor</i>	9.00 ^a	4.77 ^b ± 0.02	**
Genel Beğeni <i>General acceptance</i>	9.00 ^a	5.60 ^b ± 0.04	*

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların önemli düzeyde ($P<0.01$, $P<0.05$) farklı olduğunu gösterir. n=2
The different letters on the same line indicate that the averages are statistically significantly ($P<0.01$, $P<0.05$) different.

SONUÇ

Bu araştırmada, *in vitro* protein sindirimi yapılan un örneğine, fenilalanin içeriğini azaltmak amacıyla FAL enzimi içeren mısır filizi ekstraktı uygulanmış ve bu uygulamadan sonra un tekrar kurutularak FKU hastaları için fenilalanin içeriği azaltılmış bir un üretme yöntemi gerçekleştirilmiştir. Uygulanan *in vitro* protein sindirimini un proteinlerini hidroliz ettiği ve serbest fenilalanin içeriğini yaklaşık 15 kat arttırdığı, mısır filizi ekstraktı FAL enzim uygulamasının ise bu serbest fenilalanin içeriğini yaklaşık %50 oranında azalttığı ve bu undan yapılan bisküvilerin de duysal olarak kabul edilebilir bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda; *in vitro* protein sindirim sürecinin sonuna ince bağırsak mikrovilluslarına tutunmuş olarak görev yapan enzimlerinin (brush wall enzyme) de ilave edilmesinin daha çok fenilalanin

amino asidinin serbest hale geçmesini sağlayacağı, FAL enzim içeriği ve aktivitesi daha yüksek bitki kaynaklarının veya biyoteknolojik yöntemlerle üretilen saf FAL enzimlerinin kullanılmasıyla da bu araştırmada önerilen yöntemle FKU hastalarına yönelik fenilalanin içeriği daha çok düşürülmüş tam gıda kaynaklarının üretilebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

AACC (2011). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of Analysis. 11th Edition. rev. Methods 02-31. The Association: St. Paul, MN, the U.S.A.

AACC (2011). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of Analysis. 11th Edition. rev. Methods 02-52. The Association: St. Paul, MN, the U.S.A.

- AACC (2011). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of Analysis. 11th Edition. rev. Methods 32-40. The Association: St. Paul, MN, the U.S.A.
- AACC (2011). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of Analysis. 11th Edition. rev. Methods 46-12. The Association: St. Paul, MN, the U.S.A.
- AACC (2011). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of Analysis. 11th Edition. rev. Methods 56-20. The Association: St. Paul, MN, the U.S.A.
- Ade-Omowaye, B.I.O., Akinwande, B.A., Bolarinwa, I.F., Adebisi, A.O. (2008). Evaluation of tigernut (*Cyperus esculentus*) –wheat composite flour and bread. *Afr J Food Sci*, 2: 087-091.
- Adeleke R.O., Odedeji J.O. (2010). Functional Properties of Wheat and Sweet Potato Flour Blends. *Pakistan J Nutr*, 9(6): 535-538, doi: 10.3923/pjn.2010.535.538.
- Anonymous (2013). Türk Gıda Kodeksi. Buğday Unu Tebliği (2013/9). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 2 Nisan 2013 tarih ve 28606 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Arcila, J.A., Rose, D.J. (2015). Repeated cooking and freezing of whole wheat flour increases resistant starch with beneficial impacts on in vitro fecal fermentation properties. *J Funct Food*, 12: 230–236, doi: 10.1016/j.jff.2014.11.023.
- Aykın-Dinçer, E., Koç, A., Erbaş, M. (2017). Extraction and physicochemical characterization of broiler (*Gallus gallus domesticus*) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin. *Poult Sci*, 96(11): 4124–4131, doi: 10.3382/ps/pex237.
- Babaoğlu-Aydaş, S., Ozturk, S., Aslım, B. (2013). Phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activity and antioxidant properties of some cyanobacteria isolates. *Food Chem*, 136(1): 164–169, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.119.
- Babaoğlu-Aydaş, S., Şirin, S., Aslım, B. (2016). Biochemical analysis of *Centaurea depressa* phenylalanine ammonia lyase (PAL) for biotechnological applications in phenylketonuria (PKU). *Pharm Biol*, 54(12): 2838–2844.
- Bannick, A.A., Laufman, J.D., Edwards, H.L., Ventimiglia, J., Feldman, G.L. (2015). Outcomes of referrals to Child Protective Services for medical neglect in patients with phenylketonuria: Experiences at a single treatment center. *Mol Genet Metab*, 115(4): 151-6, doi: 10.1016/j.ymgme.2015.06.003.
- Banta-Wright, S.A., Kodadek, S.M., Steiner R.D. Houck, G.M. (2015). Challenges to breastfeeding infants with phenylketonuria. *J Pediatr Nurs*, 30: 219–226, doi: 10.1016/j.pedn.2014.05.003.
- Barron, C.C., Sponagle, B.J.D., Arivalagan, P., D’cunha, G.B. (2017). Optimization of oligomeric enzyme activity in ionic liquids using *Rhodotorula glutinis* yeast phenylalanine ammonia lyase. *Enzyme Microb Technol*, 96: 151–156, doi: 10.1016/j.enzmictec.2016.10.010.
- Bashir, K., Swer, T.L., Prakash, K.S., Aggarwal, M. (2017). Physicochemical and functional properties of gamma irradiated whole wheat flour and starch. *LWT - Food Sci Technol*, 76: 131-139, doi: 10.1016/j.lwt.2016.10.050.
- Candal, C., Kılıç, Ö., Erbaş, M. (2016). Enzime Dirençli Nişasta Üretim Yöntemleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Amaçları. *GIDA* 41(6): 419-426, doi: 10.15237/gida.GD16015.
- Carreira, R.L., Silva, M.R., Starling, A.L.P., Agiar, M.J.B., Janeiro, J.N., Silvestre, P.C.M. (2008). Association of Two Enzymes for Obtaining Low Phenylalanine Protein Hydrolysates from Wheat Flour. *Int J Food Eng*, 4(7), doi: 10.2202/1556-3758.1544.
- Castañeda, M.T., Adachi, O., Hours, R.A. (2015). Reduction of L-phenylalanine in protein hydrolysates using L-phenylalanine ammonia-lyase from *Rhodospiridium toruloides*. *J Ind Microb Biotech*, 42(10): 1299-307. doi: 10.1007/s10295-015-1664-z.
- Cleary, M.A. (2014). Phenylketonuria. Symposium: Inborn Errors of Metabolism. *Paediatr Child Health*, 25: 3.
- Crujeiras, V., Aldámiz-Echevarría, L. Dalmau, J., Vitoria, I., Andrade, F., Roca, I., Leis, R., Fernandez-Marmiesse, A., Couce, M.L. (2015). Vitamin and mineral status in patients with

- hyperphenylalaninemia. *Mol Genet Metab*, 115: 145–150, doi: 10.1016/j.yimgme.2015.06.010.
- Da Encarnaçao, J.A., Farrell, T.L., Ryder, A., Kraut, N.U., Williamson, G. (2015). In vitro enzymic hydrolysis of chlorogenic acids in coffee. *Mol Nutr Food Res*, 59(2): 231–239, doi: 10.1002/mnfr.201400498.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Certel, M., Kotancılar, H.G. (2002). *Tabul ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü Laboratuvar Uygulama Kılavuzu*, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi: 335, Erzurum, Türkiye, 245 s.
- Evans, S., Daly, A., Chahal, S., Ashmore, C., MacDonald, J., MacDonald, A. (2018). The influence of parental food preference and neophobia on children with phenylketonuria (PKU). *Mol Genet Metab Rep*, 14: 10–14, doi: 10.1016/j.yimgmr.2017.10.007.
- Fennema, O.W. (1996). *Food Chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York, the USA, 1067 p.
- Gianfrani, C., Camarca, A., Mazzarella, G., Di Stasio, L., Giardullo, N., Ferranti, P., Picariello, G., Rotondi Aufiero, V., Picascia, S., Troncione, R., Pogna, N., Auricchio, S., Mamone, G. (2015). Extensive in vitro gastrointestinal digestion markedly reduces the immune-toxicity of *Triticum monococcum* wheat: Implication for celiac disease. *Mol Nutr Food Res*, 59(9): 1844–1854, doi: 10.1002/mnfr.201500126.
- Goldar, P., Givianrad, M.H., Shams, A. (2016). Effect of ultrafiltered milk permeate and non-dairy creamer powder concentration on low phenylalanine yoghurt's physicochemical properties during storage. *J Food Sci Technol*, 53(7): 3053–3059.
- Goldson, A., Lam, M., Scaman, C.H., Clemes, S., Kermode, A. (2008). Screening of phenylalanine ammonia lyase in plant tissues and retention of activity during dehydration. *J Sci Food Agric*, 88(4): 619–625, doi: 10.1002/jsfa.3126.
- Ho, G., Ueda, K., Houben, R.F.A., Joa, J., Giezen, A., Cheng, B., Van Karnebeek, C.D.M. (2016). Metabolic Diet App Suite for inborn errors of amino acid metabolism. *Mol Genet Metab*, 117(3): 322–327, doi: 10.1016/j.yimgme.2015.12.007.
- Karadeniz, Y. (2013). Fenilketonürlü Çocukların Ebeveynlerinin Duygu Durumları ve Gelecekle İlgili Beklentileri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Diyarbakır, Türkiye, 50 s.
- Kıvrak, I., Kıvrak, S., Harmandar, M. (2014). Free amino acid profiling in the giant puffball mushroom (*Calvatia gigantea*) using UPLC–MS/MS. *Food Chem*, 158, 88–92.
- Kose, E., Aksoy, B., Kuyum, P., Tuncer, N., Arslan, N., Ozturk, Y. (2018). The Effects of Breastfeeding in Infants With Phenylketonuria. *J Pediatr Nurs*, 38, 27–32.
- Köksal, G., Gökmen Özel, H. (2012). *Metabolik Hastalıklarda Beslenme*. Reklam Kurdu Ajans Org. Tan. Tas. Rek. San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 40 s. ISBN: 978-975-590-244-9.
- Lam, M., Scaman, C.H., Clemens, S., Kermode, A. (2008). Retention of Phenylalanine Ammonia-lyase Activity in Wheat Seedlings during Storage and in Vitro Digestion. *J Agric Food Chem*, 56(23): 11407–12, doi: 10.1021/jf8021942.
- Liemburg, G.B., Jahja R., Spronsen, F.J., de Sonnevile, L.M., van der Meere, J.J., Bosch, A.M., Hollak, C.E., Rubio-Gozalbo, M.E., Brouwers, M.C., Hofstede, F.C., Vries, M.C., Janssen, M.C., van der Ploeg, A.T., Langendonk, J.G., Huijbregts, S.C., (2015). Is Brief A Useful Instrument in Day To Day Care of Patients with Phenylketonuria?. *Mol Genet Metab*, 114: 425–430, doi: 10.1016/j.yimgme.2014.12.302.
- López-Villalobos, A., Lucker, J., López-Quiróz, A.A., Yeung, E.C., Palma, K., Kermode, A.R. (2014). Preservation of high phenylalanine ammonia lyase activities in roots of Japanese Striped corn: A potential oral therapeutic to treat phenylketonuria. *Cryobiology*, 68(3): 436–445, doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.03.003.
- MacDonald, A., Rocha, J.C., Van Rijn, M., Feillet, F. (2011). Nutrition in phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 104: 10–18, doi: 10.1016/j.yimgme.2011.08.023.
- Martínez, M.M., Pico, J., Gómez, M. (2015). Physicochemical modification of native and

- extruded wheat flours by enzymatic amylolysis. *Food Chem*, 167: 447–453.
- McInnis, S., Clemens, S., Kermod, A.R. (2009). The ornamental variety, Japanese striped corn, contains high anthocyanin levels and PAL specific activity: establishing the potential for development of an oral therapeutic. *Plant Cell Rep*, 28: 503–515, doi: 10.1007/s00299-008-0650-6.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S., Weitschies, W., Brodtkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food –an international consensus. *Food Funct*, 5(6): 1113–1124, doi: 10.1039/c3fo60702j.
- Mohsen, S.M., Yaseen, A.A., Ammar, A.M., Mohammad, A.A. (2010). Quality characteristics improvement of low-phenylalanine toast bread. *Int J Food Sci Technol*, 45: 2042–205, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02365.x.
- Ney, D.M., Stroup, B.M., Clayton, M.K., Murali, S.G., Rice, G.M., Rohr, F., Levy, H.L. (2016). Glycomacropeptide for nutritional management of phenylketonuria: a randomized, controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr*, 104(2): 334–345, doi: 10.3945/ajcn.116.135293.
- Oliveira, L.C., Schmiele, M., Steel, C.J. (2017). Development of whole grain wheat flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. *LWT - Food Sci Technol*, 75: 261–270, doi: 10.1016/j.lwt.2016.08.064.
- Özer, E.A., İbanoğlu, Ş., İbanoğlu, E. (2008). Fenilketonüri Hastalığı ve Fenilalanin Kısıtlı Diyet. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 1139 s.
- Papathanasiou, M.M., Reineke, K., Gogou, E., Taoukis, P.S., Knorr, D. (2015). Impact of high pressure treatment on the available glucose content of various starch types: A case study on wheat, tapioca, potato, corn, waxy corn and resistant starch (RS3). *Innov Food Sci Emerg*, 30: 24–30, doi: 10.1016/j.ifset.2015.05.003.
- Picariello, G., Miralles, B., Mamone, G., Sánchez-Rivera, L., Recio, I., Addeo, F., Ferranti, P. (2015). Role of intestinal brush border peptidases in the simulated digestion of milk proteins. *Mol Nutr Food Res*, 59(5): 948–956, doi: 10.1002/mnfr.201400856.
- Pimentel, F., Alves, R.C., Costa, A.S.G., Torres, D., Almeida, M.F., Beatriz, M., Oliveira, P.P. (2014). Phenylketonuria: Protein content and amino acids profile of dishes for phenylketonuric patients. The relevance of phenylalanine. *Food Chem*, 149: 144–150, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.099.
- Pinto, A., Almeida, M.F., Ramos, P.C., Rocha, S., Guimas, A., Ribeiro, R., Martins, E., Bandeira, A., Macdonald, A., Rocha, J.C. (2017). Nutritional status in patients with phenylketonuria using glycomacropeptide as their major protein source. *Eur J Clin Nutr*, 71(10): 1230–1234, doi: 10.1038/ejcn.2017.38.
- Protonotariou, S., Drakos, A., Evageliou, V., Ritzoulis, C., Mandala, I. (2014). Sieving fractionation and jet mill micronization affect the functional properties of wheat flour. *J Food Eng*, 134: 24–29, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2014.02.008.
- Protonotariou, S., Batzaki, C., Yanniotis, S., Mandala, I. (2016). Effect of jet milled whole wheat flour in biscuits properties. *LWT - Food Sci Technol*, 74: 106–113.
- Ramírez, A.M., Rodríguez-López, A., Ardila, A., Beltran, L., Patarroyo, C.A., Del Pilar Melendez, A., Sánchez, O.F., Alméciga-Díaz, C.J. (2017). Production of human recombinant phenylalanine hydroxylase in *Lactobacillus plantarum* for gastrointestinal delivery. *Eur J Pharm Sci*, 109: 48–55, doi: 10.1016/j.ejps.2017.07.033.
- Rohr, F., Wessel, A., Brown, M., Charette, K., Levy, H.L. (2015). Adherence to tetrahydrobiopterin therapy in patients with phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 114(1): 25–8, doi: 10.1016/j.ymgme.2014.10.013.
- Sakhare, S.D., Prabhasankar, P. (2017). Effect of roller milled fenugreek fiber incorporation on

- functional, thermal and rheological characteristics of whole wheat flour. *Food Measure*, 11(3): 1315–1325, doi: 10.1007/s11694-017-9509-2.
- Sarkissian, C., Gámez, A. (2005). Phenylalanine ammonia lyase, enzyme substitution therapy for phenylketonuria, where are we now?. *Mol Genet Metab*, 86: 22–26.
- Sharma, S., Saxena, D.C., Riar, C.S. (2016). Nutritional, sensory and in-vitro antioxidant characteristics of gluten free cookies prepared from flour blends of minor millets. *J Cereal Sci*, 72: 153-161, doi: 10.1016/j.jcs.2016.10.012.
- Shi, L., Li, W., Sun, J., Qiu, Y., Wei, X., Luan, G., Hu, Y., Tatsumi, E. (2016). Grinding of maize: The effects of fine grinding on compositional, functional and physicochemical properties of maize flour. *J Cereal Sci*, 68: 25-30, doi: 10.1016/j.jcs.2015.11.004.
- Srichanun, M., Tantikitti, C., Kortner, T.M., Krogdahl, Å., Chotikachinda, R. (2014). Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer Bloch*) larvae. *Aquaculture*, 428–429: 195–202, doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.03.004.
- Strisciuglio, P., Concolino, D. (2014). New Strategies for the Treatment of Phenylketonuria (PKU). *Metabolites*, 4(4): 1007-1017, doi: 10.3390/metabo4041007.
- Şirin, S., Babaoğlu-Aydaş, S., Aslım, B. (2016). Biochemical Evaluation of Phenylalanine Ammonia Lyase from Endemic Plant *Cyathobasis fruticulosa* (Bunge) Aellen for the Dietary Treatment of Phenylketonuria. *Food Technol Biotechnol*, 54(3): 296–303.
- TÜRKOMP (2015). Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı. [http:// www.turkomp.gov.tr/compare](http://www.turkomp.gov.tr/compare) (Accessed: 26 January 2018).
- Üstüner Top, F., Küçük Alemdar, D. (2015). Fenilketonürlü Çocuğu Olan Ailelerinin Yaşadıkları Güçlükler: Niteliksel Bir Çalışma. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi*, 12(1): 62-68.
- Vieira Neto, E., Maia Filho, H.S., Monteiro, C.B., Carvalho, L.M., Tonon, T., Vanz, A.P., Schwartz, I.V.D., Ribeiro, M.G. (2018). Quality of life and adherence to treatment in early-treated Brazilian phenylketonuria pediatric patients. *Braz J Med Biol Res*, 51(2): e6709, doi: 10.1590/1414-431X20176709.
- Yağdı, K. (2004). Bursa Koşullarında Geliştirilen Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Hatlarının Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(1): 11-23.

MALAKSİYON SICAKLIK VE SÜRESİNİN ZEYTİNYAĞININ BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hakan Erinç^{1*}, Aslı Yorulmaz², Aziz Tekin³

¹Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye

²Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın, Türkiye

³Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 07.08.2018; Kabul / Accepted: 23.09.2018; Online baskı / Published online: 05.10.2018

Erinç, H., Yorulmaz, A., Tekin, A. (2018). Malaksiyon sıcaklık ve süresinin zeytinyağının bazı özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2018) 43 (5): 826-834 doi: 10.15237/gida.GD18078

Erinç, H., Yorulmaz, A., Tekin, A. (2018). The effect of malaxation time and temperature on some properties of olive oil. GIDA (2018) 43 (5): 826-834 doi: 10.15237/gida.GD18078

ÖZ

Çalışmanın amacı farklı malaksiyon süre (30, 60 ve 90 dk) ve sıcaklıklarının (30, 45 ve 60°C) Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının kalite kriterleri ile oksidatif stabiliteyi üzerine etkilerinin belirlenmesidir. Bu amaçla Edremit yağlık ve Memecik çeşitlerine ait zeytinler laboratuvar koşullarında kırma, malaksiyon, presleme ve santrifüjleme işlemlerine tabi tutularak natürel sızma zeytinyağları elde edilmiştir. Çalışmada, Memecik zeytinyağının serbest yağ asitliği, peroksit değeri ve toplam fenol miktarının Edremit yağlık zeytinyağından daha yüksek olduğu, bununla birlikte K₂₃₂ ve K₂₇₀ ile indüksiyon periyodunun Edremit yağlık zeytinyağında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Malaksiyon süresi ve sıcaklığının zeytinyağlarının serbest yağ asitlikleri, K₂₃₂ ve K₂₇₀ değerleri ve toplam fenol miktarları üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte malaksiyon süresinin artmasıyla birlikte peroksit değerlerinde hafif bir artış olduğu gözlenmiştir. Malaksiyon sıcaklığının artması ile indüksiyon periyodunun arttığı saptanmıştır. Diğer taraftan, zeytinyağların yağ asidi kompozisyonları üzerine malaksiyon şartlarının önemli bir etkisi olmamıştır.

Anahtar kelimeler: Memecik, Edremit yağlık, malaksiyon, kalite, oksidatif stabilite

THE EFFECT OF MALAXATION TIME AND TEMPERATURE ON SOME PROPERTIES OF OLIVE OIL

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the effect of different malaxation time (30, 60 and 90 min) and temperatures (30, 45 and 60°C) on quality criteria and oxidative stability of Edremit yağlık and Memecik olive oils. For this purpose, olives from Edremit yağlık and Memecik varieties were subjected to crushing, malaxation, pressing and centrifugation operations in laboratory scale and extra virgin olive oils were obtained. Results demonstrated that free fatty acidity, peroxide value and total phenol content of Memecik olive oil were higher than Edremit yağlık variety, whereas K₂₃₂ and K₂₇₀ values and induction periods of Edremit yağlık olive oil were higher than Memecik olive oil. The effect of malaxation time and temperature was not influential on free fatty acidity, K₂₃₂ and K₂₇₀ values and total phenol content of olive oils. On the other side, a slight increase in peroxide value was determined when malaxation time was increased. The increase in malaxation temperature led to an increase in induction period of olive oils. On the other hand, there was no significant effect of malaxation conditions on the fatty acid compositions of olive oils.

Keywords: Memecik, Edremit yağlık, malaxation, quality, oxidative stability

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ hakanerinc@hotmail.com

☎ (+90) 388 225 4005

☎ (+90) 388 225 0112

GİRİŞ

Olea Europaea L. meyvelerinden yalnızca fiziksel yöntemlerle elde edilen natürel sızma zeytinyağı, antioksidan özellikteki farklı bileşenler ile çeşitli aroma bileşenlerini bünyesinde barındıran fonksiyonel bir üründür. Zeytinyağının sağlık üzerine olumlu etkileri yüksek oleik asit ve fenolik madde içeriğinden kaynaklanmaktadır. Natürel sızma zeytinyağı sırasıyla zeytinlerin kırılması, oluşan hamurun yoğurulması ve yağ ile su fazlarının ayrılması sonucu elde edilmektedir. Zeytin meyvesinin karakteristik özelliklerinin yanı sıra, üretim sırasında uygulanan tüm teknolojik işlemler üretilen zeytinyağının kalitesini doğrudan etkilemektedir (Clodoveo, 2012).

Malaksiyon, zeytin hamurunun düşük devirde (20-30 devir/dk), sürekli şekilde ve kontrol edilebilir sıcaklıkta yoğurulması olup, yağ verimi ve kalitesini doğrudan etkileyen aşamadır. Malaksiyon sırasında zeytin hamurundaki yağ-su emülsiyonu kırılmakta, küçük yağ damlacıkları birleşerek daha büyük damlalar oluşturmakta ve sürekli bir yağ fazı elde edilmektedir. Bu sayede izleyen fiziki işlemlerle yağ fazının kolaylıkla ayrıştırılması sağlanmaktadır.

Malaksiyon işlemi sırasında uygulanan sıcaklık, süre, zeytin hamuru ile temas eden atmosfer, işlem sırasında kullanılan ılık su ve verim artırıcı maddelerin kullanımı son ürün kalite ve bileşimini etkileyen başlıca parametrelerdir (Clodoveo, 2012). Malaksiyon sıcaklık ve süresinin yağ kalitesi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar literatürde mevcuttur (Salas vd., 1999; Angerosa vd., 2001; Ranalli vd. 2001; Ranalli vd. 2003; Servili vd., 2003; Kalua vd., 2006). Ranalli vd. (2001), zeytin hamurunun 30°C'de 45 dk malakse edilmesi ile arzu edilen duyuşsal özelliklere ve verime sahip zeytinyağı elde edildiğini, ancak işlem 35°C'de gerçekleştirildiğinde verimde artış gözlenmemesinin yanı sıra yağ kalitesinde önemli ölçüde düşüş olduğunu saptamışlardır. Malaksiyon süresinin artışıyla birlikte antioksidan miktarında düşüş meydana geldiği farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Lercker vd., 1999; Di Giovacchino vd., 2002a). Morales vd. (1999) yüksek sıcaklıkta (< 35°C) kısa süreli (< 30 dk) malaksiyon ile arzu edilen özelliklere sahip yeşil

renkli zeytinyağının elde edilebileceğini rapor etmişlerdir. Bununla birlikte Ranalli vd. (2001), malaksiyon koşullarının zeytinyağının fenol miktarını, Angerosa vd. (2001) uçucu bileşen miktarını ve duyuşsal özelliklerini, Servili vd. (2003) ise toplam fenol miktarını ve duyuşsal özelliklerini değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Malaksiyon işleminin Ülkemiz zeytinyağlarının kalite ve oksidatif stabilite ile bileşimine etkisinin incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Sunulan bu çalışmada Edremit yağlık ve Memecik zeytinleri farklı sıcaklık ve sürelerde yağa işlenerek, elde edilen yağların kalite, oksidatif stabilite ve yağ asidi bileşimleri incelenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada analiz edilen natürel sızma zeytinyağları Edremit yağlık ve Memecik çeşidi zeytinlerden elde edilmiştir. Edremit yağlık çeşidi zeytinler Balıkesir ili Edremit ilçesinden, Memecik çeşidi zeytinler ise Aydın ilinden aynı gün içerisinde hasat edilmiş ve Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yağ Teknolojisi laboratuvarına getirilmiştir.

Yöntem

Zeytinyağlarının Üretimi

Edremit yağlık ve Memecik çeşidine ait zeytinler ilk aşamada kırıcıda kırılmışlar, ardından farklı sıcaklık (30, 45 ve 60°C) ve sürelerde (30, 60 ve 90 dk) malakse edilmişlerdir. Zeytin hamuru hidrolik bir pres (Carver laboratory press, Carver, Wabash, ABD) (73.77 kg/cm²) vasıtası ile 60 dk süresince preslenerek yağlı faz elde edilmiştir. Örnekler 6000 devir/dk'da santrifüj edildikten sonra natürel sızma zeytinyağları elde edilmiştir. Üretimde kullanılan tüm ekipmanlar laboratuvar ölçeklidir.

Kimyasal Analizler

Serbest yağ asitliği, Peroksit değeri, Ultraviyole ışığında özgül soğurma (K₂₃₂ ve K₂₇₀)

Yağ örneklerinin serbest yağ asitliği, peroksit değeri, K₂₃₂ ve K₂₇₀ değerleri sırasıyla AOCS Ca 5a-40, Cd 8-53, Ch 5-91 (AOCS, 2003) metodları ile tespit edilmiştir.

Oksidatif stabilite (Ransimat testi)

Örneklerin oksidatif stabilitesi Ransimat cihazı (Metrohm Co., Basel, İsviçre) ile AOCS Cd 12 b-92'e (AOCS, 2003) göre belirlenmiştir.

Toplam Fenol Miktarı

Toplam fenol miktarı Gutfinger (1981)'e göre spektrofotometrik (Shimadzu IU-1800, Japonya) olarak belirlenmiş, sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Yağ asidi kompozisyonu

Çalışma kapsamında üretilen zeytinyağlarının yağ asidi metil esterleri IUPAC (1987)'de verilen yöntemle göre hazırlanmış ve gaz kromatografisi cihazında (GC 2010, Shimadzu, Kyoto, Japonya) DB-23 kapiler kolon (60 m x 0.25mm i.d. and 0.25 µm film thickness) (J&W Scientific) kullanılarak analiz edilmiştir. Kolon fırını, enjeksiyon bloğu ve dedektör (Alev iyonlaştırılmalı dedektör) sıcaklıkları sırasıyla 190, 230 and 240 °C olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum (0.8 mL/dk akış hızı) kullanılmıştır. Split oranı 80:1 olup, sonuçlar % metil esterleri olarak verilmiştir.

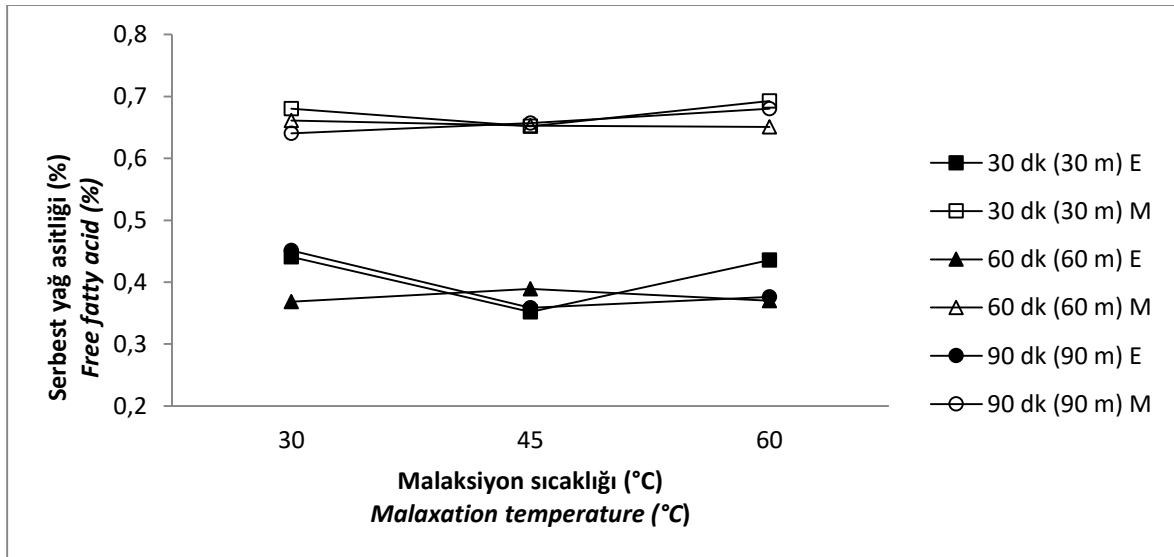
İstatistiksel değerlendirme

Sonuçlar SPSS 15.0 paket programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiş olup ortalamalar

arasındaki fark varyans analizi tekniği (ANOVA) ile tespit edilmiştir. Farklılığın önem derecesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir ($P < 0.05$).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Malaksiyon süresi ve sıcaklığının Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının serbest yağ asidi içerikleri üzerine etkisi Şekil 1'de verilmiştir. Memecik zeytinyağının serbest yağ asidi içerikleri Edremit yağlık çeşidinden elde edilen yağlara göre daha yüksektir. Malaksiyon süresi ve sıcaklığının farklı çeşitlere ait zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asitliği üzerine etkili olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde Di Giovacchino vd. (2002b), malaksiyon süresinin artmasıyla birlikte zeytinyağında serbest yağ asidi düzeyinin önemli derecede değişmediğini rapor etmişlerdir. Di Giovacchino (1991) ise malaksiyon sıcaklığının 32°C'ye kadar artırılmasının yağın serbest yağ asidi değerini etkilemediğini bildirmiştir. Inarejos-García vd. (2009) da analiz edilen uç değerlerde bile (40°C veya 90 dk) malaksiyon parametrelerindeki değişimin yağın serbest yağ asitliğini önemli düzeyde etkilemediğini bildirmişlerdir.

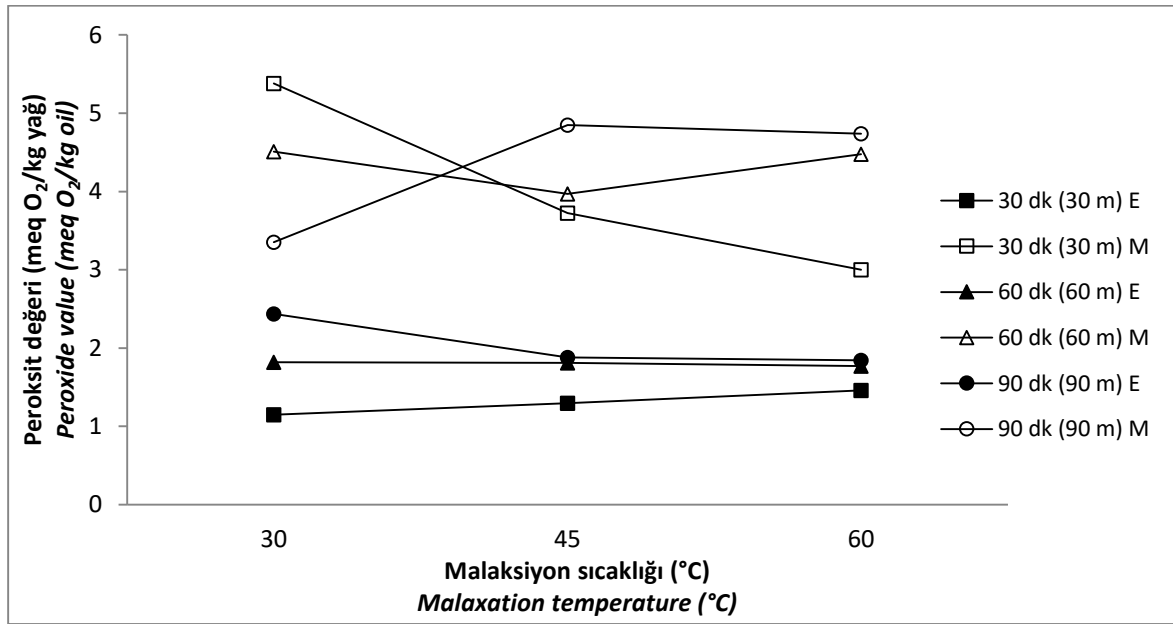


Şekil 1. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının serbest yağ asidi içeriğine etkisi

Figure 1. The effect of malaxation time and temperature on free fatty acid content of olive oils

Malaksiyon koşullarının Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının peroksit değerleri üzerine etkisi Şekil 2'de verildiği gibidir. Memecik zeytinyağlarının peroksit değerleri Edremit yağlık zeytinyağlarına kıyasla daha yüksektir. Aynı malaksiyon sıcaklığında, malaksiyon süresinin artmasıyla birlikte peroksit değerlerinde hafif bir artış olduğu belirlenmiştir. Di Giovacchino vd. (2002b) malaksiyon süresinin 15 dakikadan 90

dakikaya çıkarılmasıyla peroksit değerinde önemli bir değişim olmadığını bildirmişlerdir. Di Giovacchino (1991) ise malaksiyon sıcaklığının 32°C'ye kadar arttırılmasının yağın peroksit değerini etkilemediğini rapor etmiştir. Benzer şekilde Inarejos-García vd. (2009) da uygulanan malaksiyon parametrelerinin yağın peroksit değerini etkilemediğini saptamışlardır.

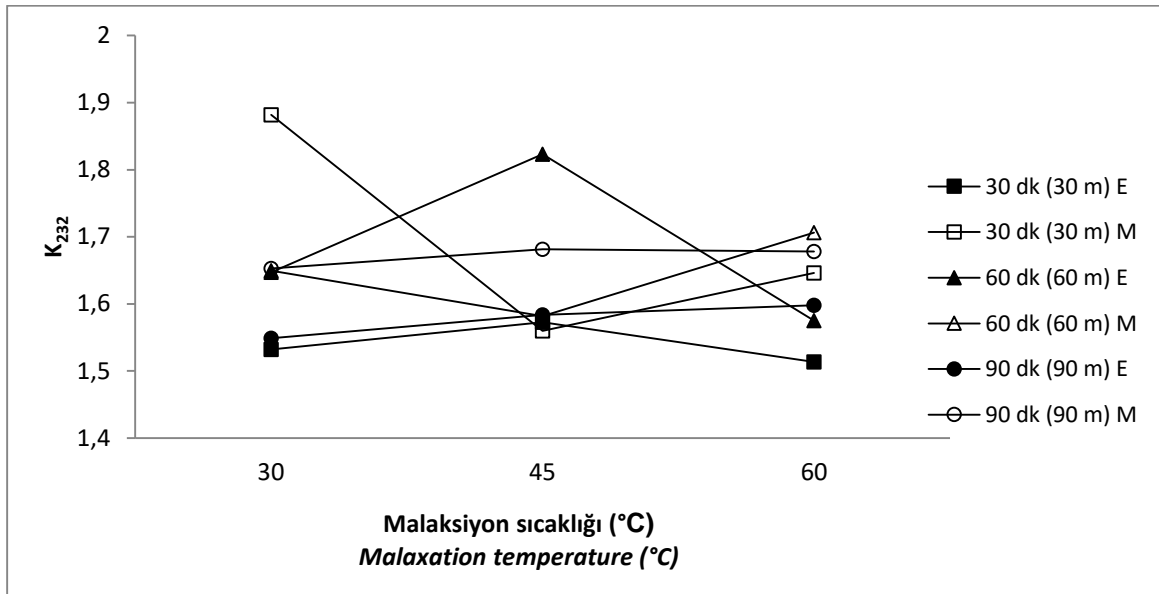


Şekil 2. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının peroksit değerine etkisi

Figure 2. The effect of malaxation time and temperature on peroxide value of olive oils

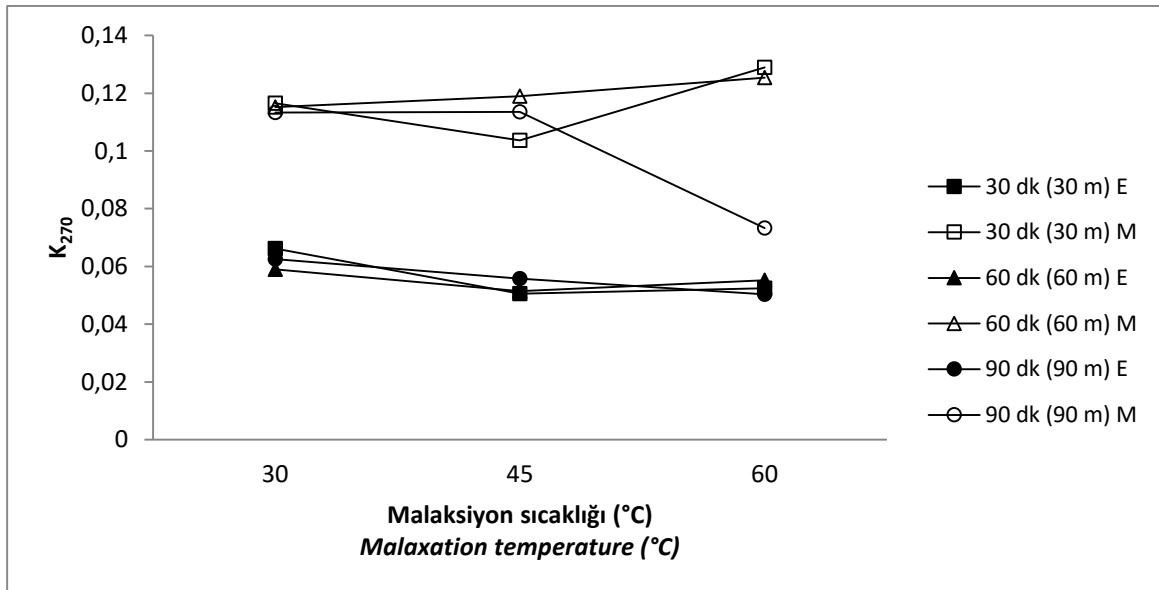
Malaksiyon sıcaklık ve süre değişiminin ultraviole ışıkta özgül soğurma değerlerine (K_{232} ve K_{270}) etkisi sırasıyla Şekil 3 ve Şekil 4'te verildiği gibidir. Edremit yağlık zeytinyağında hem K_{232} (Şekil 3) hem de K_{270} (Şekil 4) değerinin Memecik zeytinyağına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, malaksiyon süresi ve sıcaklığının konjuge dien ve trien miktarları üzerine istatistiki olarak önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Di Giovacchino vd. (2002b) malaksiyon süresindeki değişimin K_{232} ve K_{270} değerlerini önemli düzeyde etkilemediğini, Inarejos-García vd. (2009) ise malaksiyon süre ve sıcaklığının K_{232} ve K_{270} değerleri üzerinde etkili olmadığını göstermişlerdir.

Malaksiyon süresi ve sıcaklığındaki değişimin zeytinyağlarının indüksiyon periyodu olarak ölçülen oksidatif stabiliteyi üzerine etkisi Şekil 5'te verildiği gibidir. Edremit yağlık zeytinyağının indüksiyon periyodunun Memecik zeytinyağına göre daha yüksek olduğu ve her iki zeytinyağında da malaksiyon sıcaklığının artmasıyla birlikte indüksiyon periyodunun arttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde Boselli vd. (2009) malaksiyon sıcaklığı ile indüksiyon periyodunun korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Ancak, Di Giovacchino (2002a) ve Ranalli vd. (2003) tarafından yapılan çalışmalarda ise malaksiyon süresinin artmasıyla birlikte indüksiyon periyodunun azaldığı bildirilmiştir.



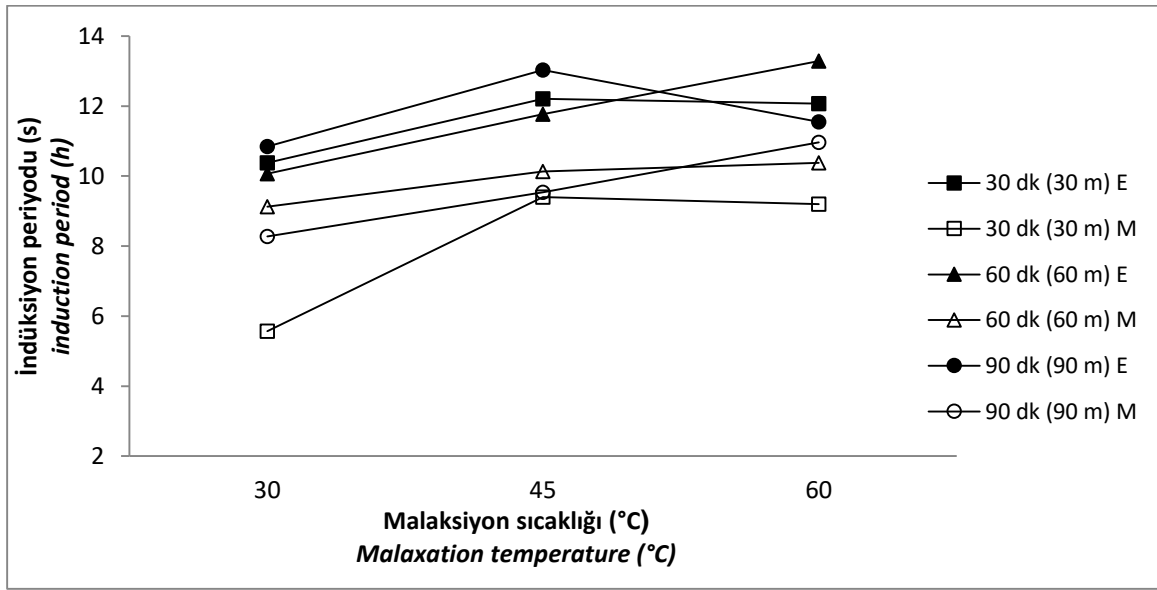
Şekil 3. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının K_{232} değerine etkisi

Figure 3. The effect of malaxation time and temperature on K_{232} value of olive oils



Şekil 4. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının K_{270} değerine etkisi

Figure 4. The effect of malaxation time and temperature on K_{270} value of olive oils



Şekil 5. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının indüksiyon periyotlarına etkisi

Figure 5. The effect of malaxation time and temperature on induction period of olive oils

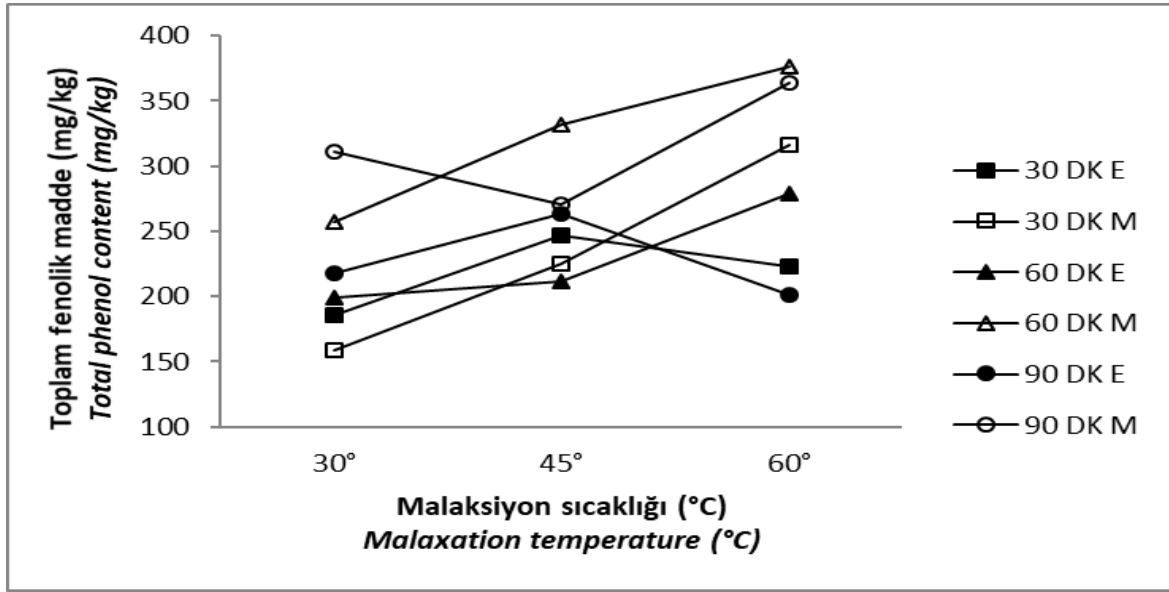
Farklı malaksiyon koşullarının zeytinyağlarının toplam fenol miktarları üzerine etkisi Şekil 6'te verildiği gibidir. Memecik çeşidi zeytinlerden elde edilen zeytinyağının toplam fenol miktarının Edremit yağlık çeşidinden elde edilen zeytinyağına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kalua vd. (2006) farklı malaksiyon sıcaklık (15, 30, 45 ve 60 °C) ve sürelerinin (30, 60, 90 ve 120 dk) zeytinyağının fenolik bileşen miktarı üzerine etkili olduğunu, yüksek sıcaklıklarda degradasyon oranının arttığını rapor etmişlerdir. Literatürde yer alan farklı araştırmalarda (Servili vd., 1994; Angerosa vd., 2001) laboratuvar ölçekli olarak gerçekleştirilen malaksiyon işlemi sırasında sıcaklık artışının toplam fenol miktarında azalmaya neden olduğu bildirilmiş, ancak endüstriyel ekipmanlarla gerçekleştirilen işlemlerde tersi sonuçlar elde edildiği görülmüştür (Di Giovacchino, 1991; Parenti vd., 2000; Di Giovacchino vd., 2002a). Bu durumla bağlantılı olarak, laboratuvar ölçekli olarak elde edilen sonuçların endüstriyel olarak elde edilecek sonuçlar ile paralel olmayabileceği bildirilmiştir (Di Giovacchino vd., 2002a). Malaksiyon süresinin toplam fenol miktarı üzerine etkisi göz önüne alındığında, Di Giovacchino vd. (2002b) işlem süresinin 15 dakikadan 90 dakikaya çıkarılmasıyla birlikte toplam fenol miktarının

önemli düzeyde değiştiğini, süre artışıyla birlikte toplam fenol miktarının azaldığını kaydetmişlerdir. Ranalli vd. (2003) de farklı sürelerin (15, 30, 45, 60 ve 75 dk) toplam fenol miktarı üzerine etkisini incelemişler ve sürenin artmasıyla birlikte toplam fenol miktarının azaldığını bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışma sonucunda, Memecik zeytinyağının toplam fenol miktarının Edremit yağlık zeytinyağından daha yüksek olduğu, bununla birlikte malaksiyon süresinin artması ile literatürde verilen sonuçların (Di Giovacchino vd., 2002b; Ranalli vd., 2003) aksine zeytinyağlarının toplam fenol içeriğinin genel olarak artış gösterdiği, ancak bu durumun uygulanan tüm sıcaklıklar için geçerli olmadığı belirlenmiştir. Literatürdeki bulguların aksine sonuçların bulunması yağ eldesinde kullanılan ekipmanlardan kaynaklanabilir. Ancak istatistiki değerlendirmeler sonucunda malaksiyon süresi ve sıcaklığının toplam fenol miktarları üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Memecik ve Edremit yağlık çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının yağ asidi bileşimleri sırasıyla Çizelge 1 ve 2'de verildiği gibidir. Memecik zeytinyağlarının oleik asit içeriği %71.46-72.62 arasında değişirken, Edremit yağlık zeytinyağlarında % 70.40-70.96 arasında değişen

değerler almıştır. Palmitik asit ikinci baskın yağ asidi olup Memecik ve Edremit yağlık zeytinyağlarında miktarları sırasıyla % 12.30-12.61 ve 12.64-12.98 arasında değişmiştir. Linoleik asit ise üçüncü baskın yağ asididir ve miktarları Memecik zeytinyağlarında % 9.99-11.01, Edremit

yağlık zeytinyağlarında % 11.14-11.31 arasında değişmiştir. Çizelge 1’de verilen sonuçlardan da görüldüğü üzere malaksiyon sıcaklık ve süresinin her iki çeşide ait yağların yağ asidi bileşimleri üzerine önemli bir etkisi olmamıştır.



Şekil 6. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık ve Memecik zeytinyağlarının toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Figure 6. The effect of malaxation time and temperature on total phenol content of olive oils

Çizelge 1. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Memecik zeytinyağlarının yağ asidi bileşimlerine etkisi

Table 1. The effect of malaxation time and temperature on fatty acid composition of Memecik olive oils

Yağ Asitleri Fatty Acids	Memecik								
	30 dk 30 m			60 dk 60 m			90 dk 90 m		
	30°C	45°C	60°C	30°C	45°C	60°C	30°C	45°C	60°C
C 16:0	12.53 ^a	12.51 ^a	12.30 ^a	12.61 ^a	12.41 ^a	12.45 ^a	12.40 ^a	12.35 ^a	12.40 ^a
C 16:1	1.13 ^a	1.16 ^a	1.05 ^a	1.04 ^a	1.03 ^a	0.96 ^a	1.10 ^a	1.03 ^a	1.00 ^a
C 17:0	0.04 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a
C 17:1	0.05 ^a	0.06 ^a	0.05 ^a	0.06 ^a	0.06 ^a	0.05 ^a	0.05 ^a	0.05 ^a	0.15 ^a
C 18:0	2.16 ^a	2.21 ^a	2.16 ^a	2.16 ^a	2.16 ^a	2.13 ^a	2.16 ^a	2.15 ^a	2.19 ^a
C 18:1	71.46 ^a	72.29 ^a	72.59 ^a	71.96 ^a	72.64 ^a	72.27 ^a	72.05 ^a	72.62 ^a	72.02 ^a
C 18:2	11.01 ^a	10.14 ^a	10.25 ^a	10.53 ^a	9.99 ^a	10.48 ^a	10.50 ^a	10.18 ^a	10.16 ^a
C 18:3	0.72 ^a	0.70 ^a	0.68 ^a	0.69 ^a	0.72 ^a	0.69 ^a	0.72 ^a	0.72 ^a	0.73 ^a
C 20:0	0.36 ^a	0.39 ^a	0.39 ^a	0.38 ^a	0.36 ^a	0.36 ^a	0.37 ^a	0.39 ^a	0.39 ^a
C 20:1	0.26 ^a	0.28 ^a	0.29 ^a	0.26 ^a	0.28 ^a	0.27 ^a	0.29 ^a	0.31 ^a	0.29 ^a
C 24:0	0.07 ^a	0.08 ^a	0.09 ^a	0.11 ^a	0.10 ^a	0.09 ^a	0.08 ^a	0.08 ^a	0.12 ^a

^a Aynı satırdaki farklı üst simgeler, $P < 0.05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

^a Different superscript letters in the same row indicate a significant difference between the values at the $P < 0.05$ level

Çizelge 2. Malaksiyon sıcaklık ve süresinin Edremit yağlık zeytinyağlarının yağ asidi bileşimlerine etkisi
 Table 2. The effect of malaxation time and temperature on fatty acid composition of Edremit yağlık olive oils

Yağ Asitleri Fatty Acids	Edremit Yağlık								
	30 dk 30 m			60 dk 60 m			90 dk 90 m		
	30°C	45°C	60°C	30°C	45°C	60°C	30°C	45°C	60°C
C 16:0	12.64 ^a	12.91 ^a	12.77 ^a	12.72 ^a	12.70 ^a	12.73 ^a	12.85 ^a	12.79 ^a	12.98 ^a
C 16:1	0.97 ^a	0.94 ^a	0.92 ^a	0.94 ^a	0.88 ^a	0.92 ^a	0.84 ^a	0.99 ^a	0.95 ^a
C 17:0	0.11 ^a	0.09 ^a	0.11 ^a	0.12 ^a	0.11 ^a	0.11 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a
C 17:1	0.16 ^a	0.16 ^a	0.17 ^a	0.19 ^a	0.17 ^a	0.18 ^a	0.19 ^a	0.18 ^a	0.18 ^a
C 18:0	2.52 ^a	2.55 ^a	2.53 ^a	2.44 ^a	2.50 ^a	2.49 ^a	2.44 ^a	2.51 ^a	2.49 ^a
C 18:1	70.86 ^a	70.84 ^a	70.70 ^a	70.84 ^a	70.96 ^a	70.94 ^a	70.67 ^a	70.46 ^a	70.40 ^a
C 18:2	11.31 ^a	11.14 ^a	11.31 ^a	11.25 ^a	11.24 ^a	11.21 ^a	11.33 ^a	11.44 ^a	11.28 ^a
C 18:3	0.53 ^a	0.52 ^a	0.54 ^a	0.56 ^a	0.56 ^a	0.54 ^a	0.56 ^a	0.57 ^a	0.56 ^a
C 20:0	0.43 ^a	0.41 ^a	0.40 ^a	0.38 ^a	0.39 ^a	0.42 ^a	0.42 ^a	0.37 ^a	0.43 ^a
C 20:1	0.27 ^a	0.27 ^a	0.27 ^a	0.27 ^a	0.27 ^a	0.28 ^a	0.30 ^a	0.25 ^a	0.30 ^a
C 24:0	0.08 ^a	0.07 ^a	0.09 ^a	0.10 ^a	0.11 ^a	0.07 ^a	0.11 ^a	0.09 ^a	0.08 ^a

^a Aynı satırdaki farklı üst simgeler, $P < 0.05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

^a Different superscript letters in the same row indicate a significant difference between the values at the $P < 0.05$ level

SONUÇ

Sunulan bu çalışma sonucunda malaksiyon süresi ve sıcaklığının farklı çeşitlere ait zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asitliği, yağ asidi kompozisyonu, konjüge dien ve trien miktarları üzerine etkili olmadığı, aynı malaksiyon sıcaklığında, malaksiyon süresinin artmasıyla birlikte peroksit değerlerinde hafif bir artış olduğu görülmüştür. İndüksiyon periyodunun ise malaksiyon sıcaklığının artmasıyla birlikte artış gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan malaksiyon süresinin artması ile zeytinyağlarının toplam fenol içeriğinin genel olarak artış gösterdiği, ancak bu durumun uygulanan tüm sıcaklıklar için geçerli olmadığı belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., Vito, R. (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chem*, 72(1): 19-28, doi: 10.1016/S0308-8146(00)00194-1.

AOCS. 2003. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS Press, Champaign, IL (USA).

Boselli, E., Di Lecce, G., Strabbioli, R., Pieralisi, G., Frega, N. G. (2009). Are virgin olive oils obtained below 27° C better than those produced at higher temperatures?. *LWT-Food Sci Tech*, 42(3): 748-757, doi: 10.1016/j.lwt.2008.09.018.

Clodoveo, M. L. (2012). Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future—An overview. *Trends in Food Sci Tech*, 25(1): 13-23, doi: 10.1016/j.tifs.2011.11.004.

Di Giovacchino, L. (1991). L'estrazione dell'olio con la centrifugazione diretta delle paste di olive. Nota I, Influenza della gramolazione. *Riv Ital Sostanze Gr*, 68(8): 413-420.

Di Giovacchino, L., Sestili, S., Di Vincenzo, D. (2002a). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Eur J Lipid Sci Tech*, 104(9-10): 587-601, doi: 10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<587: AID-EJLT587>3.0.CO;2-M.

Di Giovacchino, L., Costantini, N., Ferrante, M. L., Serraiocco, A. (2002b). Influence of malaxation time of olive paste on oil extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a

- centrifugal decanter at water saving. *Grasas Aceites*, 53(2): 179-186, doi: 10.3989/gya.2002.v53.i2.302.
- Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc*, 58(11): 966-968, doi: 10.1007/BF02659771.
- Inarejos-García, A. M., Gómez-Rico, A., Salvador, M. D., Fregapane, G. (2009). Influence of malaxation conditions on virgin olive oil yield, overall quality and composition. *Eur Food Res Tech*, 228(4): 671-677, doi: 10.1007/s00217-008-0977-9.
- IUPAC. 1987. Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivates, International Union of Pure and Applied Chemistry, 7 th ed., IUPAC Method 2.301, Blackwell Scientific Publications.
- Kalua, C. M., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D. (2006). Changes in volatile and phenolic compounds with malaxation time and temperature during virgin olive oil production. *J Agr Food Chem*, 54(20): 7641-7651, doi: 10.1021/jf061122z.
- Lercker, G., Frega, N., Bocci, F. Mozzon, M. (1999). Volatile constituents and oxidative stability of virgin olive oils: influence of the kneading of olive-paste. *Grasas Aceites*, 50(1): 26-29, doi: 10.3989/gya.1999.v50.i1.632.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M., Miniati, E. (1992). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J Agr Food Chem*, 40(9): 1571-1576.
- Morales, M. T., Aparicio, R. (1999). Effect of extraction conditions on sensory quality of virgin olive oil. *J Am Oil Chem Soc*, 76(3): 295-300, doi: 10.1007/s11746-999-0234-9.
- Parenti, A., Spugnoli, P., Cardini, D. (2000). Gramolazione e qualità dell'olio di oliva. *Riv Ital Sostanze Gr*, 77(2): 61-64.
- Ranalli, A., Contento, S., Schiavone, C., Simone, N. (2001). Malaxing temperature affects volatile and phenol composition as well as other analytical features of virgin olive oil. *Eur J Lipid Sci Tech*, 103(4): 228-238, doi: 10.1002/1438-9312(200104)103:4<228::AID-EJLT228>3.0.CO;2-7.
- Ranalli, A., Pollastri, L., Contento, S., Iannucci, E., Lucera, L. (2003). Effect of olive paste kneading process time on the overall quality of virgin olive oil. *Eur J Lipid Sci Tech*, 105(2): 57-67, doi: 10.1002/ejlt.200390018.
- Salas, J. J., & Sánchez, J. (1999). The decrease of virgin olive oil flavor produced by high malaxation temperature is due to inactivation of hydroperoxide lyase. *J Agr Food Chem*, 47(3): 809-812, doi: 10.1021/jf981261j.
- Servili, M., Baldioli, M., Montedoro, G. F. (1994). Phenolic composition of virgin olive oil in relationship to some chemical and physical aspects of malaxation. In *II International Symposium on Olive Growing 356* (pp. 331-336).
- Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S., Montedoro, G. (2003). Volatile compounds and phenolic composition of virgin olive oil: optimization of temperature and time of exposure of olive pastes to air contact during the mechanical extraction process. *J Agr Food Chem*, 51(27): 7980-7988, doi: 10.1021/jf034804k.



KEÇİ SÜTÜNDEN FARKLI PIHTILAŞTIRMA YÖNTEMLERİ İLE ÜRETİLEN TULUM PEYNİRLERİNİN OLGUNLAŞTIRILMASI ESNASINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

Merve Demirtaş, Hayri Coşkun*

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

Geliş / Received: 16.07.2018; Kabul / Accepted: 08.09.2018; Online baskı / Published online: 16.10.2018

Demirtaş, M., Coşkun, H. (2018). Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen Tulum peynirlerinin olgunlaştırılması esnasında meydana gelen değişimler. GIDA (2018) 43 (5): 835-845 doi: 10.15237/gida.GD18073

Demirtaş, M., Coşkun, H. (2018). The changes during ripening of tulum cheeses produced by different coagulation methods from goat milk. GIDA (2018) 43 (5): 835-845 doi: 10.15237/gida.GD18073

ÖZ

Bu çalışmada; iki farklı yöntemle üretilen tulum peynirlerinin olgunlaşması sırasında meydana gelen değişimler ortaya konmuştur. Keçi sütü pastörize edildikten sonra iki kısma ayrılmış, birinci kısım süt enzimle (E), diğer grup ise starter kültür (*Lactococcus lactis* ve *Lactococcus cremoris*) ile (A) pıhtılaştırılmıştır. Peynirler önce 10 °C'de 10 gün, sonra +4 °C'de olmak üzere toplam 90 gün olgunlaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; kurumadde, protein ve yağ değerleri E kodlu peynir örneklerinde yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Ayrıca, E kodlu peynir örneklerinde % WSN, % TCA-SN, % PTA-SN, ADV değerleri ve olgunlaşma indeksi (%) yüksek ($P < 0.05$) çıkmıştır. Toplam canlı bakteri, koliform grubu bakteri, *Staphylococcus aureus* ve maya-küf sayıları enzimle üretilen örneklerde yüksek çıkmıştır ($P < 0.05$). L* değerleri A kodlu peynir örneklerinde yüksek ($P < 0.05$), a* değerleri E kodlu örneklerde düşük çıkmıştır ($P < 0.05$). Yapılan duyu analizler sonucunda A kodlu peynir örneği her dönemde panelistler tarafından daha fazla tercih edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Keçi sütü, Tulum peyniri, olgunlaşma

THE CHANGES DURING RIPENING OF TULUM CHEESES PRODUCED BY DIFFERENT COAGULATION METHODS FROM GOAT MILK

ABSTRACT

In the study; it was aimed to determine the changes in Tulum cheeses made with different methods. The goat milk was separated into two parts; the first part was coagulated by enzyme (E), and the other was coagulated by starter culture (*Lactococcus lactis* ve *Lactococcus cremoris*) (A). The cheeses were ripened at 10 °C for 10 days first and +4 °C for 90 days totally. According to the results; the values of dry matter, protein and fat were higher in samples E ($P < 0.05$). Ripening parameters WSN %, TCA-SN %, PTA-SN %, ADV values were found higher in the samples E ($P < 0.05$). Numbers of total bacteria, coliforms, *Staphylococcus aureus* and molds-yeasts were higher in samples E ($P < 0.05$). L* values were higher in samples A ($P < 0.05$) while a* values were lower in samples E ($P < 0.05$). Samples A were more preferred by the panelists during ripening.

Keywords: Goat milk, Tulum cheese, ripening

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ coskunhayri@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 10 00/ 4829

☎ (+90) 374 254 45 58

GİRİŞ

Keçi sütü ve ondan üretilen ürünlere ve bilhassa peynirlerine olan ilgi pek çok ülkede gün geçtikçe artmaktadır (Kondyli vd., 2016). Bundan dolayı ülkemizde de, keçi yetiştiriciliği merkezi politikalarla desteklenmiştir (Hayaloğlu vd, 2013). Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2017 yılında keçi sayısı bir önceki yıla kıyasla % 2.8 oranında artış göstererek 10 milyon 635 bin başa yükselmiştir (Anonymous, 2018). Bugün Türkiye'de üretilen ve tüketilen 190'dan fazla farklı peynir çeşidi bulunmaktadır (Akınar vd., 2016). Tulum peyniri üretimi kaşar ve beyaz peynirden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Adıgüzel vd., 2009). Türkiye'de 2015 yılında üretilen 665580 ton peynirin yaklaşık olarak %10'unun tulum peynir olduğu, bu oranın da yılda kabaca 70000 tona tekabül ettiği belirtilmektedir (Tekinşen, 2017). Türkiye'de Erzincan Şavak Tulum peyniri önemli bir yer tutmaktadır. Diğer tulum peynir türleri ve bunların üretim yerleri şöyledir: Cimi (Antalya), Divle (Karaman), Kargı (Çankırı, Çorum), Isparta (Isparta), Afyon (Afyon), Selçuklu (Konya), Giresun (Giresun) ve Tomas veya Çökelek (Anadolu'nun Doğu illeri) (Hayaloğlu vd., 2007).

Peynirin ismi, hayvan derisi anlamına gelen "tulum" kelimesinden türemiştir (Akınar vd., 2016). Tulum peyniri, beyaz veya krem renginde, yüksek yağ içeriğine sahip, ufalanabilen, yarı sert bir yapıdadır. Ağızda kolayca dağılabilmektedir. Tulum peyniri ayrıca tereyağimsı bir tada ve keskin bir lezzete sahiptir (Hayaloğlu vd., 2007). Kurt vd. (1991) de Şavak Tulum peyniri için benzer bir tanım yapmışlardır.

Tulum peyniri yer yer karakteristik olan doğal küflü tadı ve aroması için tercih edilmektedir. Olgunlaşma esnasında Tulum peynirine doğal olarak kontamine olan küfler gelişir ve bu şekilde olgunlaşma sürecine katkı sağlamış olurlar. Tulum peyniri üretiminde geleneksel olarak koyun ve keçi sütü kullanılırken, son yıllarda tüketim miktarının artmasıyla birlikte inek sütü de tercih edilmektedir (Adıgüzel vd., 2009).

Tulum peynirlerin olgunlaştırma sürecinde obruk, mağara, mahzen ya da soğuk hava depoları

kullanılmaktadır (Rençber, 2016). Tulum peynirinin paketlenmesinde kimi zaman koyun derisi kullanılsa da, genellikle dayanıklılığı açısından keçi derisi tercih edilmektedir (Bayar ve Özrenk, 2011). Olgunlaşma sırasında keçi derisi Tulum peynirine karakteristik tat ve keskin aroma vermektedir (Çolak vd., 2007). Günümüzde tahta, plastik ambalajlar ya da çömlükler de tulum peynirlerinin olgunlaştırılmasında alternatif olarak kullanılmaktadır.

Bugün peynir satan pazar veya marketler tüketici gözüyle dikkatle incelendiğinde çok farklı çeşitte, özellikte ve fiyatlarda tulum peynirleri görmek mümkündür. Nitekim Erzincan Şavak Tulum peynir örneklerinde ortalama kuru madde % 53.21, yağ % 28.20, protein % 18.51, tuz %3.44 ve asitlik % 1.83 olarak bildirilirken (Kurt vd.,1991), keçi sütünden yapılan Cimi Tulum peyniri örnekleri % 57.73±0.33 kurumadde, % 30.01±0.40 yağ, % 22.27±0.23 protein, % 3.51±0.94 tuz, % 1.75±0.52 asitlik ve 5.10±0.22 pH değerlerini taşımaktadır (Karagözlü vd., 2009). Diğer yandan Divle (Karaman) Tulum peynirlerinin ortalama kuru maddesi % 56.27±7.59, proteini % 25.90±3.40, yağı %23.46±4.48, tuzu % 3.99±0.75, asitliği % 1.074±0.425ve pH'sı 5.42± 0.61 olarak bulunmuştur (Morul ve İşleyici., 2012). Kargı (Çorum) yöresel pazarından temin edilen tulum peynirlerinin ortalama kuru madde değeri % 65.34±3.72 şeklindedir (Dinkçi vd., 2012).

Koçak vd. (2005) Ankara'da satışa sunulan Tulum peyniri örneklerinde suda çözünen azotu (WSN) % 0.598, olgunlaşma indeksini % 17.69, trikloroasetik asitte çözünen azotu (TCA)-SN) % 0.444 ve fosfotungstik asitte çözünen azotu (PTA-SN) % 0.239 olarak tespit etmişlerdir. Çakmakçı vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, Tulum peyniri örneklerinin WSN değerleri; A örneği için % 15.16-24.80, B örneği için % 14.21-25.36, C örneği için % 14.35-26.82 ve D örneği için % 13.75-25.71 olarak bulunmuştur. Divle tulum peynir örneklerinde ortalama WSN değerleri % 21.47±4.16, TCA-SN değerleri % 12.29±2.54 ve PTA-SN % 2.72±0.55 arasında rapor edilmiştir (Hayaloğlu ve Karabulut, 2013). Elazığ'da tüketime sunulan tulum

peynirlerinde olgunlaşma indeksi $\%24.58 \pm 5.48$ şeklinde bulunmuştur (Erdem ve Patır, 2017).

Erzincan (Şavak) tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada, ortalama koliform bakteri sayısı 240 ile ≥ 2400 arasında belirlenirken, toplam bakteri, *Staph. aureus*, maya-küf sayıları sırasıyla 1.8×10^9 , 3.5×10^4 ve 3.6×10^6 KOB/g olarak bulunmuştur (Dığrak vd., 1994). Keçi sütü kullanılarak Cimi Tulum peynirinde ortalama olarak $8.361 \pm 0.90 \log_{10}$ KOB/g toplam bakteri, $5.716 \pm 0.26 \log_{10}$ KOB/g koliform, $4.173 \pm 0.27 \log_{10}$ KOB/g *Staph. aureus* ve $1.623 \pm 0.34 \log_{10}$ KOB/g maya olduğu tespit edilmiştir (Karagözlü vd., 2009). Morul ve İşleyici (2012) Divle tulum peynirleri için ortalama aerobik mezofilik bakteri, koliform, *Staph. aureus* ve maya-küf sayılarını sırasıyla 6.78 ± 1.42 , 3.04 ± 1.52 , 5.04 ± 1.45 ve $6.36 \pm 1.43 \log_{10}$ KOB/g olarak vermişlerdir. Afyon Tulum peyniri örneklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform ve maya-küf sayıları ortalama olarak sırasıyla 6.60, 1.23 ve 2.75 \log_{10} KOB/g şeklinde saptanmıştır (Kara ve Akkaya, 2015).

Erzurum ve Konya çevresindeki marketlerden alınan Tulum peyniri örneğinde yapılan duyu analizi sonuçlarına göre, tulum peynir örnekleri 100 puan üzerinden 70.62 ± 2.07 puan almışlardır (Adıgüzel vd., 2009). Keçi tulumunda olgunlaşan peynirde, metil ketonlar ve/veya yağ asitlerinden kaynaklanan acı ve oksitlenmiş tat meydana geldiği için en düşük puanları aldığı ifade edilmiştir (Çakmakçı vd., 2011).

Görüldüğü üzere, piyasada satılan tulum peynirlerinin kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özellikleri peynir yapımında kullanılan hammaddeye, ambalajlama materyaline, olgunlaşma koşullarına göre değişmektedir. Dünyada yaygın olarak kullanılan enzimle ve asitle süt pıhtılaştırma yöntemlerinin, Tulum peynirinin özellikleri üzerine etkisi hakkında çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, yaygın olarak kullanılan enzim ve asitle çöktürme yöntemleri kullanılarak keçi sütünden Tulum peyniri üretilmiş ve olgunlaşma boyunca bazı özelliklerindeki değişimler incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan çiğ keçi sütü Bolu'da Saanen keçi ırkı yetiştiriciliği yapan bir üreticiden satın alınarak laboratuvara getirilmiştir. Tulum peyniri yapımında starter kültür olarak Maysa Gıda San. ve Tic. A.Ş. firmasından temin edilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* laktik asit bakterileri kullanılmıştır. Pıhtılaştırıcı enzim olarak ticari şirden mayası kullanılmıştır. Maya kuvveti tarafımızdan 1/22.222 şeklinde tespit edilmiştir. Süte maya ilave edilmeden önce $\% 0.02$ oranında CaCl_2 katılmıştır. Tulum peynirlerinin üretimi Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Ar-Ge laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Tulum peynirlerinin üretimi

Tulum peyniri üretiminde yaygın olarak kullanılan iki farklı pıhtılaştırma yöntemi kullanılmıştır. Birinci yöntemde pastörize edilen süt (37 L) laktik asit bakterileri kullanılarak pıhtılaştırılmıştır. Bu yöntem A olarak kodlanmıştır. İkinci yöntemde süt (37 L) şirden mayası (enzim) ile pıhtılaştırılmıştır. Bu yöntemde E olarak kodlanmıştır.

Asitlendirmeye pıhtılaştırma (A) yöntemi ile Tulum peyniri üretiminde kullanılan keçi sütü süzme bezi ve pastörizatörün üzerindeki çelik süzgeç yardımıyla süzümüştür. Süzülen süttten yeteri kadar örnek alınarak hammadde süt için gerekli analizler yapılmıştır. Üretimde kullanılan keçi sütü pastörize kazanında 65 ± 2 °C'de 20 dakika pastörize edilmiştir. Daha sonra pastörize keçi sütü mayalama sıcaklığı olan 35 °C'ye kadar soğutulmuş ve starter üreticisi firmanın önerdiği şekilde 100 L'ye 5 ünite olacak şekilde starter kültür (*L. lactis* ve *L. cremoris*) ilave edilmiştir. Aynı sıcaklıkta (33-35 °C) yaklaşık 22 saat fermentasyona bırakılmıştır. Pıhtılaşmadan sonra teleme özel bıçaklar yardımıyla 1 cm³ olacak şekilde kesilmiştir (teleme pH'sı 4.20). Kesilen telemenin sıcaklığı 85 °C'ye kadar getirilerek bu derecede hafifçe karıştırılarak 10 dakika tutulmuştur. Sonra yine hafifçe karıştırılarak teleme sıcaklığı <30 °C'nin altına düşürülmüştür. Teleme pastörizatörden süzme bezine alınarak kendi halinde 110 dakika süzümüye bırakılmıştır.

Süzme bezi içerisinde bulunan teleme bu amaç için imal edilmiş santrifüje yerleştirilerek, önce 200 devirde 1 saat, sonra 400 devirde 1 saat ve 600 devirde 1.5 saat santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sırasında ara sıra ortam alt üst edilerek fazla suyun teleme bünyesinden uzaklaşması sağlanmıştır. Ham peynir, önceden temizlenmiş derin bir kaba alınarak % 3 oranında tuz içerecek şekilde kuru tuzlama yapılmış, tuzun peynire iyice karışması sağlanmıştır. Tuzlanan peynir, içerisinde hava kalmayacak şekilde plastik kaplara sıkıca doldurulmuştur. Peynir kitlesinden su çıkışını kolaylaştırmak için ambalaj kapağına 2 mm çapında delikler açılmıştır. Ambalaj kabına sıkıca basılan tulum peynirleri, kabın ağız kısmı alta gelecek şekilde ters çevrilerek ilk olarak 10 °C'de 10 gün, daha sonra +4 °C'lik ortama alınarak toplamda 3 ay olgunlaşmaya tabi tutulmuştur.

Enzimle pıhtılaştırma (E) yöntemiyle Tulum peyniri yapımında Kurt vd. (1991) tarafından bildirilen yöntem esas alınmıştır. Önce, üretimde kullanılacak olan keçi sütü süzme bezi ve çelik süzgeç yardımıyla süzölmüştür. Yöntem A'da olduğu gibi süzölen süttten yeteri kadar örnek alınarak gerekli analizler yapılmıştır. Sonra keçi sütü pastörize kazanına alınarak 65±2 °C'de 20 dakika pastörize edilmiştir. Pastörize edilen keçi sütü mayalama sıcaklığı olan 35 °C'ye kadar soğutulmuştur. Süte önce % 0.02 olacak şekilde CaCl₂ ilavesi yapılmıştır. Daha sonra süte, üretici firma önerisi doğrultusunda 100 L'ye 1 ünite olacak şekilde starter kültür (*L. lactis* ve *L. cremoris*) katılmıştır. Mayalama sıcaklığındaki keçi sütüne maya kuvveti 1/22.222 olan mayadan 1.11 mL alıp sulandırılarak 37 L süte ilave edilmiştir. Takiben, 1 saat içinde oluşan pıhtı özel teleme bıçakları yardımıyla 1 cm³ boyutunda kesilmiştir ve suyun uzaklaşması amacıyla süzme bezine aktarılmıştır. İlk olarak teleme 30 dakika ön preslemeye tabi tutulmuş, sonra küçük parçalara ayrılmıştır. Suyun iyice uzaklaşması amacıyla teleme 70 dakika daha preslenmiştir. Tekrar küçük parçalar halinde ufalanan telemeye % 3 oranında tuz ilave edilerek iyice karıştırılmış ve içerisinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde sıkıca plastik kaplara doldurulmuştur. Daha sonra üzerinde 2 mm delikler açılan kapak ile kapatılarak kaplar olgunlaşma boyunca su çıkışını kolaylaştırmak amacıyla ters çevrilmiştir. Ambalajlanarak ters

çevrilmiş peynirler 24 saat oda sıcaklığında dinlendirilmiş ve ardından 10 °C'de 10 gün, daha sonra +4 °C'lik ortama alınarak toplamda 3 ay olgunlaşmaya bırakılmıştır. Her iki yöntemle üretilen peynirlerde analizler olgunlaşmanın 0., 30., 60. ve 90. günlerinde yapılmıştır. Çalışma iki tekerrürlü yürütülmüştür.

Analizler

Süt analizleri pastörize edilmiş sütlerden örnek alınarak yapılmıştır. Alınan süt örneklerinde kuru madde, protein, yağ, % asitlik ve pH tayinleri ve peynir örneklerinde ise kurumadde, protein, yağ, titre edilebilir asitlik (%), pH ve tuz analizleri Kurt vd., (1996)'ne göre yapılmıştır. Tulum peyniri örneklerinde suda eriyen azot (WSN), protein olmayan azot (TCA-SN) ve amino azot (PTA-SN) oranları Butikofer vd. (1993) tarafından önerilen metoda göre yapılmıştır. WSN, TCA-SN ve PTA-SN ekstraktlarındaki azot oranı Kurt vd. (1996)'ne göre tayin edilmiştir. Olgunlaşma indeksinin belirlenmesi için suda eriyen toplam azotun peynirdeki toplam azota oranı hesaplanarak sonuç yüzde olarak ifade edilmiştir (Kurt vd., 1996). Lipoliz analizi, asitlik derecesi olarak (ADV, Acid Degree Value) Salji ve Kroger (1981) ile Case vd. (1985) tarafından tanımlanan yöntemle yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler için örnek alma ve analiz öncesi hazırlıklar Halkman ve Akçelik (2000)'e göre yapılmıştır. Toplam bakteri sayımı Messer vd. (1985)'nin verdiği yöntemle göre Plate Count Agar (PCA) kullanılarak yapılmıştır. Koliform Bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA) ve maya ve küf sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılmıştır. PDA'nın sterilizasyonundan sonra % 10'luk steril tartarik asit ilave edilmiş ve pH 3.5'a ayarlanmıştır (Frank vd., 1985). *Staph. aureus* sayımında Baird Parker Agar (PBA) kullanılmıştır (Tatini vd. 1984). Peynir örneklerinin su aktivitesi tayininde su aktivite cihazı (Novasina marka Lab MASTER-aw cihazı, İsviçre), renk analizlerinde renk tayin cihazı (Konica Minolta CR400, Japonya) kullanılmıştır. Renk cihazıyla CIE (Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) L*, a* ve b* değerleri ölçülmüştür. Peynir örneklerinin duyu analizi Metin (1977)'e göre yapılmıştır. Duyusal panelde "eşleştirerek mukayese testi" kullanılmıştır ve testler 10 eğitilmiş panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizlerde,

Farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen tulum peynirlerinin özellikleri

yöntemler arası farklılığı ortaya koymak amacıyla t-testi dikkate alınmıştır. Olgunlaşma zamanı boyunca meydana gelen değişimler ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir (Devore ve Peck, 1993). Analizler SPSS (IBM SPSS Statistics 17.0.) programıyla yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmada kullanılan hammadde keçi sütlerinin özellikleri

Çalışmada kullanılan hammadde sütlerin ortalama kuru madde değeri % 12.57 ± 0.204 , yağ oranı % 3.78 ± 0.118 , protein oranı % 3.39 ± 0.099 , asitlik (laktik asit cinsinden) değeri % 0.15 ± 0.015 ve pH değeri 6.66 ± 0.049 olarak bulunmuştur.

Tulum peyniri örneklerinin kimyasal özellikleri

Tulum peyniri örneklerinden elde edilen kuru madde (KM) değerleri, Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Tulum peynir örneklerinin kimyasal özellikleri

Table 1. Chemical properties of Tulum cheese samples

Özellikler Properties (%)	Peynirler Cheeses	Olgunlaşma zamanı/ Ripening time (Gün/ Day) ($\bar{x} \pm SD$)				
		0	30	60	90	G $\bar{x} \pm SD$
Kurumadde/ Dry matter	A	42.70 \pm 0.453	43.52 \pm 0.306	43.93 \pm 0.300	43.56 \pm 0.444	43.43 \pm 0.563 ^{a*}
	E	50.43 \pm 0.479	51.01 \pm 0.508	50.60 \pm 1.604	51.63 \pm 0.711	50.93 \pm 0.974 ^b
Yağ/ Fat	A	19.50 \pm 0.707	19.50 \pm 0.707	19.63 \pm 0.479	19.50 \pm 0.000	19.53 \pm 0.432 ^a
	E	23.25 \pm 0.354	22.75 \pm 1.061	21.13 \pm 0.750	22.50 \pm 0.000	22.41 \pm 0.999 ^b
Protein/ Protein	A	16.07 \pm 1.269	16.93 \pm 0.251	16.98 \pm 0.267	17.17 \pm 0.131	16.79 \pm 0.572 ^a
	E	19.47 \pm 1.678	19.89 \pm 0.418	19.89 \pm 0.538	20.78 \pm 0.023	20.01 \pm 0.780 ^b
Tuz/ Salt	A	3.47 \pm 0.000	3.65 \pm 0.000	4.07 \pm 0.085	4.16 \pm 0.199	3.84 \pm 0.317 ^a
	E	3.47 \pm 0.000	3.71 \pm 0.169	3.86 \pm 0.127	4.10 \pm 0.296	3.78 \pm 0.278 ^a
Asitlik/ Acidity	A	0.41 \pm 0.012	0.38 \pm 0.037	0.36 \pm 0.012	0.46 \pm 0.012	0.40 \pm 0.046 ^a
	E	0.31 \pm 0.012	0.14 \pm 0.000	0.14 \pm 0.019	0.20 \pm 0.012	0.20 \pm 0.074 ^b
pH	A	4.55 \pm 0.038	4.54 \pm 0.031	4.64 \pm 0.047	4.62 \pm 0.024	4.59 \pm 0.052 ^a
	E	5.90 \pm 0.049	6.08 \pm 0.016	6.10 \pm 0.035	6.01 \pm 0.042	6.02 \pm 0.089 ^b

A: Asitle pıhtılaştırılmış/ acid coagulated, E: Enzimle pıhtılaştırılmış/ enzyme coagulated. G: Genel ortalama/ General mean. SD: Standart sapma/ Standard deviation. \bar{x} : Ortalama/ Mean

*: Her bir özelliğe ait ortalamalardan farklı harflerle gösterilenler birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harflerle gösterilenler farksızdır ($P > 0.05$). Means belonging to each property having different letters differ from each other ($P < 0.05$), all others not ($P > 0.05$).

Çizelgeden de anlaşılacağı üzere, enzimle pıhtılaştırılarak üretilmiş (E) peynir örneklerinin KM değerleri, asit ile pıhtılaştırılarak üretilmiş (A) örneklerinkinden yüksek çıkmıştır ($P < 0.05$). (Çizelge 1). Fark, üretim yönteminden kaynaklanmıştır. Olgunlaşma boyunca her iki yöntemle üretilen KM değerlerinde artış gözlenmiştir ($P > 0.05$), artış peynir kaplarının ters çevrili olması ve böylece delikli kapaklarından nem kaybı ile açıklanabilir. Klasik yolla üretilen E kodlu tulum peynir örneklerinden elde edilen KM değerleri Kurt vd. (1991)'nin Şavak Tulum peynirinde elde ettiği değerlerle (% 53.21) benzerdir.

E kodlu örneklerin yağ değerleri, A kodlu örneklerin yağ değerlerinden yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Farkın KM ile oransal olduğu düşünülmektedir. Klasik yöntemle üretilen (E) deneme Tulum peyniri yağ değerleri, Morul ve İşleyici (2012) tarafından Divle Tulum peyniri için verilen değerlere benzerdir.

E kodlu örneklerin protein değerleri, A kodlu örneklerinkinden yüksek olduğu Çizelge 1'den görülmektedir ($P < 0.05$). Her iki peynir örneğinde protein değerleri olgunlaşma boyunca artış göstermiş, ancak artış önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. Olgunlaşma boyunca protein

değerlerinde meydana gelen artışın kuru madde değerlerindeki artışa bağlı olarak oransal olduğu düşünülmektedir. Klasik metot kullanılarak üretilen E kodlu Tulum peynirinin protein değerleri, Dinkçi vd., (2012) tarafından Kargı Tulum peyniri için verilen değerden (% 21.37) düşüktür.

Çizelge 1 incelendiğinde; E kodlu örneklerin tuz değerleri, A kodlu örneklerin tuz değerlerinden düşük olduğu ($P > 0.05$) görülmektedir. Her iki yöntemle yapılmış peynir örneklerinin tuz değerleri olgunlaşma boyunca artış göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Artışın, su kaybından kaynaklandığı söylenebilir. Elde edilen tuz değerleri Hayaloğlu ve Karabulut (2013) tarafından Divle Tulum peyniri için tespit edilen tuz değerlerinden (% 2.46) yüksektir.

Çalışmada üretilen A kodlu Tulum peyniri örneklerinin asitlik değerleri E kodlu Tulum peyniri örneklerinin asitlik değerlerinden yüksektir ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Nitekim A yöntemi ile üretilen peynir, laktik asit bakterilerinin ürettiği olduğu laktik asit ile çöktürülmüştür. Asitlik değerlerinde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişim ise önemsizdir ($P > 0.05$). Tulum peyniri örneklerinde tespit edilen asitlik değerleri Dinkçi

vd. (2012)'nin Kargı Tulum peynirinde bulunduğu değerlere yakındır.

Çizelge 1'in incelenmesinden anlaşılacağı üzere; A kodlu peynir örnekleri pH değerlerinin, E kodlu peynir örnekleri pH değerlerinden yüksek olduğu ve aradaki farkın önemli olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Olgunlaşma boyunca peynir örneklerinin pH değerlerinde meydana gelen değişimler önemsizdir ($P > 0.05$). Klasik yöntemle üretilen E kodlu Tulum peynirine ait pH değerleri Tarakçı vd. (2005)'nin tespit ettiği değerlerle benzerlik göstermektedir.

Tulum peyniri örneklerinin biyokimyasal özellikleri

Keçi sütü kullanılarak üretilen tulum peynirlerinin olgunlaşma boyunca suda çözünen azot miktarında meydana gelen değişimler Çizelge 2'te verilmiştir. Çizelge'den de anlaşılacağı üzere; E kodlu örneklerin WSN değerleri A kodlu örneklerden oldukça yüksektir ve aradaki fark önemlidir ($P < 0.05$). Her iki peynir örneğinin WSN değerleri E kodlu peynir örneklerinde fazla olmak üzere olgunlaşma boyunca artış göstermiştir ($P > 0.05$).

Çizelge 2. Tulum peynirlerinde biyokimyasal özelliklerdeki değişimler
Table 2. The changes in biochemical properties of Tulum cheeses

Özellikler / Properties (%)	Peynirler Cheeses	Olgunlaşma zamanı/ Ripening time (Gün/Days) ($\bar{x} \pm SD$)				
		0	30	60	90	G $\bar{x} \pm SD$
WSN	A	0.038±0.005	0.040±0.000	0.049±0.020	0.056±0.079	0.05±0.031 ^{a*}
	E	0.073±0.024	0.084±0.014	0.179±0.025	0.389±0.183	0.18±0.154 ^b
TCA-SN	A	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.00±0.000 ^a
	E	0.035±0.010	0.053±0.019	0.063±0.030	0.147±0.208	0.07±0.091 ^b
PTA-SN	A	0.000±0.000	0.000±0.000	0.007±0.010	0.021±0.030	0.01±0.014 ^a
	E	0.021±0.010	0.027±0.000	0.014±0.000	0.035±0.030	0.02±0.018 ^b
ADV	A	0.76±0.182	1.17±0.597	1.56±0.753	2.02±0.176	1.38±0.620 ^a
	E	0.26±0.075	2.20±1.025	2.19±0.934	3.59±1.842	2.06±1.605 ^a
Olgunlaşma İndeksi/ Ripening index	A	1.51±0.117	1.51±0.027	1.84±0.715	2.09±2.960	1.74±1.183 ^a
	E	2.36±0.625	2.69±0.522	5.74±0.949	11.93±5.637	5.68±4.653 ^b

A: Asitle pıhtılaştırılmış/ acid coagulated, E: Enzimle pıhtılaştırılmış/ enzyme coagulated. G: Genel ortalama/ General mean. SD: Standart sapma/ Standard deviation. \bar{x} : Ortalama/ Mean

*: Her bir özelliğe ait ortalamalardan farklı harflerle gösterilenler birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harflerle gösterilenler farksızdır ($P > 0.05$). Means belonging to each property having different letters differ from each other ($P < 0.05$), all others not ($P > 0.05$).

A kodlu peynir örneğinde TCA-SN tespit edilemezken, E kodlu peynir örneklerinde değerler ilk günde % 0.035 ve 90. günde % 0.147 şeklinde gerçekleşmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 2). İlaveten E kodlu örneklerin PTA-SN değerleri A kodlu örneklerinkinden daha yüksektir ($P < 0.05$). Her iki peynir grubunda PTA-SN değerleri olgunlaşma boyunca artış göstermiştir ($P > 0.05$). E kodlu peynirlerin olgunlaşma indeksi A kodlu peynir örneklerinkinden yüksektir ($P < 0.05$) (Çizelge 2). Olgunlaşma indeksi her iki yöntemle üretilen peynir örneklerinde olgunlaşma boyunca artmıştır ($P > 0.05$). Olgunlaşma boyunca tulum peynirlerine ait lipoliz değerindeki değişimler Çizelge 2’de gösterilmiştir. E kodlu peynir örneklerinin ADV değerleri A kodlu peynir örneklerinkinden yüksek çıkmıştır ($P > 0.05$). Ayrıca, her iki yöntemle üretilmiş peynir örneklerinde olgunlaşma boyunca ADV değerleri artmıştır ($P > 0.05$). A kodlu peynir örneklerinde olgunlaşma parametrelerinden WSN, PTA-SN, olgunlaşma indeksi ve ADV değerinin düşük çıkmasının ve diğer yandan bu örneklerde TCA-SN değerlerinde bir gelişme olmamasının nedeni, bu yöntemle üretilen telemenin ısıtılmış olmasıyla açıklanabilir. Zira telemenin ısıtılmasıyla mikroorganizma sayısında ve enzim aktivitesinde azalma olduğu düşünülmektedir.

Araştırmaya konu olan olgunlaşma parametreleri genel olarak literatürle kıyaslandığında farklı sonuçlar görmek mümkündür. Bunun nedenleri arasında peynirlerin yapım teknikleri, olgunlaştırıldıkları ortam sıcaklıkları, peynir bünyesindeki mikroorganizma çeşitliliği ve sayısı gibi faktörler gösterilebilir (Coşkun, 2000).

Tulum peyniri örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri

Tulum peynir örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca toplam bakteri sayılarındaki değişimler Çizelge 3’de bir araya getirilmiştir. Keçi sütü kullanılarak üretilen Tulum peyniri örneklerinin toplam bakteri sayısı A kodlu örnekte 2.56 ile 6.17 \log_{10} KOB/g arasında, E kodlu örnekte ise 3.06 ile 7.08 \log_{10} KOB/g arasında değişim göstermiş, sayı E kodlu örneklerde daha yüksek ($P < 0.05$) bulunmuştur. Bunun sebebi A örneklerinin telemesinin ısıtılmasına bağlanabilir. Olgunlaşma boyunca A ve E kodlu peynir örneklerinde toplam bakteri sayısı azalmıştır ($P > 0.05$). Tulum peynir örneklerinde belirlenen ortalama toplam bakteri sayısı Öner vd., (2005)’nin belirlediği değerlerden düşüktür.

Çizelge 3. Tulum peynir örneklerinde su aktivitesi ve mikrobiyolojik özelliklerdeki değişimler (\log_{10} KOB/g)

Table 3. The changes in a_w and microbiological properties of Tulum cheese samples (\log_{10} CFU/g)

Özellikler/ Properties	Peynirler/ Cheeses	Olgunlaşma zamanı/ Ripening time (Gün/ Day) ($\bar{x} \pm SD$)				
		0	30	60	90	G $\bar{x} \pm SD$
Toplam Bakteri/ Total count	A	6.17±0.083	3.68±0.077	2.87±0.294	2.56±0.042	3.82±1.520 ^{a*}
	E	6.50±0.247	7.08±0.500	5.77±0.000	3.06±0.337	6.36±0.574 ^b
Koliform/ Coliforms	A	1.77±2.506	0.00±0.000	0.00±0.000	0.00±0.000	0.44±1.252 ^a
	E	1.66±2.349	3.30±0.487	2.46±0.967	3.06±2.239	2.62±1.458 ^b
<i>Staph. aureus</i>	A	3.33±0.017	2.87±0.157	1.00±0.000	1.15±0.213	2.09±1.104 ^a
	E	4.34±0.089	5.38±0.044	4.04±0.152	4.62±0.360	4.60±0.553 ^b
Maya-Küf/ Yeasts and Molds	A	1.87±0.385	1.66±2.349	2.63±0.284	2.92±0.437	2.27±1.075 ^a
	E	2.22±0.110	2.50±3.539	3.68±1.106	3.43±3.439	2.96±2.018 ^b
a_w	A	0.94±0.003	0.94±0.002	0.93±0.008	0.94±0.001	0.94±0.004 ^a
	E	0.94±0.001	0.93±0.001	0.93±0.010	0.93±0.001	0.93±0.006 ^a

A: Asitle pıhtılaştırılmış/ acid coagulated, E: Enzimle pıhtılaştırılmış/ enzyme coagulated. G: Genel ortalama/ General mean. SD: Standart sapma/ Standard deviation. \bar{x} : Ortalama/ Mean

*: Her bir özelliğe ait ortalamalardan farklı harflerle gösterilenler birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harflerle gösterilenler farksızdır ($P > 0.05$). Means belonging to each property having different letters differ from each other ($P < 0.05$), all others not ($P > 0.05$).

Tulum peynir örneklerine ait koliform bakteri sayıları incelendiğinde (Çizelge 3), A kodlu peynir örneğinde başlangıçta tespit edilen koliform sayısı olgunlaşmanın 30. gününde azalma göstererek tespit edilemeyecek düzeye ulaşmıştır. E kodlu peynir örneğinde ise koliform bakteri sayısı $1.66 \log_{10}$ KOB/g ile $3.30 \log_{10}$ KOB/g arasında değişim göstermiş, 30. ve 90. günlerde azalmıştır ($P < 0.05$). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (2011 yılı) peynirlerde koliform sayısına ilişkin bir sınırlama getirilmemiştir.

Analiz edilen tulum peynir örneklerinin *Staph. aureus* sayıları E kodlu peynir örneklerinde yüksek ve A kodlu peynir örneklerinde düşük bulunmuştur ($P < 0.05$) (Çizelge 3). Peynir örneklerinde olgunlaşma boyunca A kodlu olanlarda sayı 90. günde $1.15 \log_{10}$ KOB/g'a düşerken, aynı günde E kodlu örneklerde sayı $4.62 \log_{10}$ KOB/g'a düşmüştür ($P > 0.05$). A kodlu peynir örneklerinde sayının düşük çıkmasının nedeni telemeye ısı uygulaması ile açıklamak mümkündür. *Staph. aureus* sayısı 5×10^5 KOB/g ($5.70 \log_{10}$ KOB/g) olan gıdalar riskli olarak tanımlanmaktadır (Tükel ve Doğan, 2000). Buna göre *Staph. aureus* sayısı en yüksek olan E kodlu örneklerde olgunlaşmanın 90. gününde $4.62 \log_{10}$ KOB/g şeklinde, genel ortalama ise $4.60 \log_{10}$ KOB/g'dır. Bu değerler risk limitinin altındadır. *Staph. aureus* ile ilgili Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde bir düzenleme bulunmamaktadır.

E kodlu peynir örneklerinin maya küf sayısı A kodlu örneklerden yaklaşık 1 log ünite daha yüksektir ($P < 0.05$) (Çizelge 3). Maya küf sayıları olgunlaşmanın ilerlemesiyle her iki peynir grubunda artmıştır ($P > 0.05$). Peynirlerde küf gelişimi peynirin görünüşünü bozmakta ve küf tadı oluşumuna neden olduğundan bozulma etmeni sayılmaktadır (Chapman ve Sharpe, 1990). Dolayısıyla peynirlerde yüksek sayıda küf gelişimi arzu edilmemektedir. Mevcut Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (2011) maya küf sayısı ile ilgili bir kısıtlama bulunmamaktadır. Dığrak vd. (1994), Erzincan tulum (Şavak) peynirlerinin maya-küf sayılarını 3.6×10^6 KOB/g olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 3'ün incelenmesinden anlaşılacağı üzere, E kodlu peynir örneklerinin a_w değerleri A kodlu örneklerle kıyasla daha düşüktür ($P > 0.05$). Başlangıçta peynir örneklerinin a_w değerleri 0.94 iken, özellikle E kodlu peynirlerde olgunlaşmanın 30., 60. ve 90. günlerinde 0.93 olarak gerçekleşmiştir ($P > 0.05$). Parmesan peyniri ve çökelek hariç diğer peynirlerde su aktivitesi değerinin 0.94'ün üzerinde olduğu ifade edilmektedir (Leung vd., 1976).

Tulum peyniri örneklerinin renk değerleri

Çalışma kapsamında keçi sütünden üretilen tulum peynirlerinin renk değerlerindeki değişimler Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. Tulum peynir örneklerinde renk değişimi

Table 4. Color changes in Tulum cheese samples

Renk/ Color	Peynirler/ Cheeses	Olgunlaşma zamanı/ Ripening time (Gün/ day) ($\bar{x} \pm SD$)				G $\bar{x} \pm SD$
		0	30	60	90	
L*	A	94.22±0.072	92.48±0.023	93.19±0.237	93.08±0.834	93.24±0.744 ^{a*}
	E	91.95±0.164	92.12±1.709	86.03±0.493	86.17±1.108	89.07±3.272 ^b
a*	A	-2.25±0.028	-2.04±0.152	-2.16±0.057	-2.15±0.004	-2.15±0.102 ^a
	E	-2.95±0.110	-2.91±0.071	-2.87±0.168	-2.71±0.074	-2.86±0.129 ^b
b*	A	10.91±0.090	10.73±0.242	11.89±0.152	11.69±0.193	11.31±0.546 ^a
	E	10.75±0.824	12.33±0.557	10.86±1.002	11.34±0.447	11.33±0.870 ^a

L*: Parlaklık/ *lightness*, 0-siyah/ *black*, 100-beyaz/ *white*; a*: Kırmızılık/ *redness*, -yeşil/ *green*, + kırmızı/ *red*, b*: Sarılık/ *yellowness*, - mavi/ *blue*, + sarı/ *yellow*.

A: Asitle pıhtılaştırılmış/ *acid coagulated*, E: Enzimle pıhtılaştırılmış/ *enzyme coagulated*. G: Genel ortalama/ *General mean*. SD: Standart sapma/ *Standard deviation*. \bar{x} : Ortalama/ *Mean*

*: Her bir özelliğe ait ortalamalardan farklı harflerle gösterilenler birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harflerle gösterilenler farksızdır ($P > 0.05$). *Means belonging to each property having different letters differ from each other ($P < 0.05$), all others not ($P > 0.05$).*

Çizelgeye göre A kodlu peynir örneklerinde L* değerleri, E kodlu peynir örneklerinden yüksek, yani daha beyaz çıkmıştır ($P < 0.05$). A kodlu peynir örneklerinde rengin daha beyaz çıkması telemenin ısıtılmasından kaynaklanmış olabilir. Bu durum Sulejmani ve Hayaloğlu (2016) tarafından da ifade edilmiştir. Ayrıca her iki peynir örneğinde olgunlaşma sonunda daha düşük L* değerleri elde edilmiştir ($P > 0.05$). L* değerlerinin olgunlaşma süresi sonunda düşük çıkmasının sebebi lipoliz değerinin artmasına bağlanabilir (Sabbagh vd. 2010). Tulum peyniri örneklerinin a* değerleri (Çizelge 4) E kodlu örneklerde daha düşük, diğer bir ifadeyle daha yeşil çıkmıştır ($P < 0.05$). Farklı yöntemlerle üretilen peynir örneklerinin a* değerleri, E kodlu örneklerde daha bariz olmak üzere olgunlaşma boyunca düşüş göstermiştir ($P > 0.05$). Benzer sonuçlar Sert (2011) tarafından da rapor edilmiştir. Çalışmada üretilen Tulum peyniri örneklerinin b* (sarılık) değerleri E kodlu peynir örneklerinde nispeten yüksek gibi görünse de, hem yöntemler arasında ve hem de olgunlaşma esnasında değişim önemsizdir ($P > 0.05$). Tarakçı ve Durmuş (2016) ile Sert (2011) tarafından tespit edilen b* değerleri yaklaşık olarak 8-16 arasında rapor edilmiştir.

Tulum peyniri örneklerinin duyuşal özellikleri

Duyusal testlerden elde edilen sonuçlara göre; panelistler peynirleri duyuşal özellikler bakımından birbirinden farklı bulmuşlardır. Lezzet bakımından panelistler olgunlaşmanın ilk günlerinde A kodlu peyniri daha lezzetli bulurken, olgunlaşmanın sonuna doğru lezzet E kodlu peynir lehine gelişme göstermiştir, ancak olgunlaşma boyunca test edilen tüm günlerde A kodlu peynir daha fazla tercih görmüştür. Burada şu söylenebilir ki, asitle pıhtılaştırılan peynirler taze iken tüketime daha hazır durumdadır. Her iki yöntemle yapılan peynirler keçi sütünden yapılmış olmasına karşın, panelistler A kodlu peynirleri daha beyaz renkte bulmuşlardır. Bu sonucu Çizelge 4'de sunulan L* değerleri de doğrulamaktadır. Her iki yöntemle üretilen tulum peynir örneklerinin yapımında aynı oranda (% 3) tuz kullanılmasına karşın olgunlaşmanın ilk gününde panelistler A kodlu peynir örneklerini daha tuzlu bulmuşlardır. Ancak olgunlaşmanın

sonunda (90. gün) tuzluluk özelliği bakımından panelistlerin çoğu (% 70) peynirleri birbirinden farksız bulmuşlardır. Genel beğeni bakımından, olgunlaşma sonuna doğru E kodlu peynir örneğini tercih edenlerin sayısı artmışsa da, A kodlu peynir örneği her dönemde en çok tercih edilen peynir olmuştur.

SONUÇ

Bu çalışmada keçi sütü kullanılarak iki farklı pıhtılaştırma yöntemiyle Tulum peyniri üretilmiştir. Kullanılan sütün bir kısmı enzimle (E), diğer kısmı asitlendirmeyle (A) pıhtılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; E yöntemiyle elde edilen peynirlerde olgunlaşma parametreleri (TCA-SN, PTA-SN, olgunlaşma indeksi ve ADV değerleri) daha yüksek çıkmıştır ($P < 0.05$). İncelenen peynir örneklerinin toplam canlı bakteri, koliform grubu bakteri, *S. aureus* ve maya-küf sayıları E kodlu örneklerde daha yüksek çıkmıştır ($P < 0.05$). Su aktivitesi değerleri A kodlu peynir örneklerinde daha yüksektir (0.94) ($P > 0.05$). A kodlu peynir örneklerinde L* değerleri, E kodlu peynir örneklerinden yüksektir ($P < 0.05$). Tulum peyniri örneklerinin a* değerleri E kodlu örneklerde daha düşüktür ($P < 0.05$). A kodlu peynir örneği her dönemde panelistler tarafından en çok tercih edilen peynir olmuştur. Kısaca, Tulum peyniri üretiminde kullanılan pıhtılaştırma yöntemleri son ürün özelliklerini önemli ölçüde etkilemiştir. Bu anlamda, klasik yöntemle ile üretilen peynirlerde (E) pek çok kalite özelliği daha iyi olmasına karşın; laktik asit bakterileri ile çöktürülen Tulum peyniri örnekleri (A) daha fazla beğeni toplamıştır. Sonuçlar A yöntemiyle yapılan peynirlerin olgunlaştırmaya gerek kalmaksızın piyasaya sunulabileceğini ve depolama masraflarının azaltılabileceğini göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından yüksek lisans tezi projesi olarak desteklenmiştir (Proje no: BAP-2017.09.04.1228).

KAYNAKLAR

- Adıgüzel, G., Atasever, M., Karakaya, Y., Aydemir, M., Ünsal, C. (2009). Chemical, microbiological and sensorial properties of Tulum Cheese. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (1): 572-580.
- Akpınar, A., Yerlikaya, O., Kınık, Ö., Korel, F., Kahraman, C., Uysal, H.R. (2016). Some physicochemical characteristics and aroma compounds of İzmir tulum cheese produced with different milk types. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54 (1): 27-35.
- Anonymous, (2018). Türkiye İstatistik Kurumu, Hayvansal Üretim İstatistikleri, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002, 7 Haziran 2018.
- Bayar, N., Özrenk, E. (2011). The effect of quality properties on Tulum cheese using different package materials. *Afr J Biotechnol*, 10(8): 1393-1399.
- Bütikofer, U., Rüegg, M., Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese evaluation of a collaborative study. *LWT-Food Science and Technology*, 26(3): 271-275.
- Case, R.A., Bradley, R.L., Williams, R.R. (1985). *Chemical and physical methods. In Standart Methods for the Examination of Dairy Products*, 15th Press, American Public Health Association, Washington D.C.
- Chapman, H.R., Sharpe, M.E. (1990). *Dairy Microbiology: 5 Microbiology of Cheese*, Volume 2–The microbiology of milk products-, Second Ed., Elsevier Applied cience, London and New York.
- Coşkun, H. (2000). Peynirlerin olgunlaşmasında starterlerin rolü, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri), 22-23 Mayıs 2000, Tekirdağ.
- Çakmakçı, S., Gürses, M., Gündoğdu, E. (2011). The effect of different packaging materials on proteolysis, sensory scores and gross composition of tulum cheese. *African J Biotechnol*, 10(21), 4444-4449.
- Çolak, H., Hampikyan, H., Bingöl, E.B., Ulusoy, B. (2007). Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. *Food Control*, 18(5): 576-579.
- Devore, J., Peck, R. (1993). *Statistics: The exploration and analysis of data*, Duxbury Press, An imprint of Wadsworth Publishing Company, Belmont/California/USA.
- Diğrak, M., Yılmaz, Ö., Özçelik, S. (1994). Elazığ Kapalı Çarşısında Satışa Sunulan Erzincan Tulum (Şavak) Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Bazı Fiziksel-Kimyasal Özellikleri. *GIDA*, 19(6): 381-387.
- Dinkçi, N., Ünal, G., Akalın, A.S., Varol, S., Gönç, S. (2012). Kargı Tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49(3): 287-292.
- Erdem, G., Patır, B. (2017). Elazığ'da Tüketime Sunulan Tulum Peynirlerinde Histamin Düzeyleri ile Bazı Kimyasal Kalite Parametreleri Üzerine Araştırmalar. *F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.*, 31 (3): 235 – 241.
- Frank, J.F., Hankin, L., Koburger, J.A., Marth, E.H. (1985). *Test for groups of microorganisms. In "Standart methods for the examination of dairy products. 14th edition APHA, Washington D.C.*
- Halkman, K., Akçelik, M. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları: "05. Gıdaların mikrobiyolojik analizi 1. Temel ilkeler*. Sim Matbaacılık Ltd Şti., Ankara, pp 203-228.
- Hayaloğlu, A.A., Fox, P.F., Güven, M., Çakmakçı, S. (2007). Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Le Lait* 87 (2): 79-95.
- Hayaloğlu, A.A., Karabulut, İ. (2013). Primary and secondary proteolysis in eleven Turkish cheese varieties. *Int J Food Prop*, 16(8): 1663-1675.
- Kara, R., Akkaya, L. (2015). Afyon Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik ve Fiziko-Kimyasal Özellikleri ile Laktik Asit Bakteri Dağılımlarının Belirlenmesi. *AKU J Sci Eng*, 15: 1-6.
- Karagözlü, C., Kılıç, S., Akbulut, N. (2009). Some characteristics of Cimi tulum cheese from producing goat milk. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15: 292-297.
- Koçak, C., Aydemir, S., Seydim, Z.B. (2005). Önemli Bazı Türk Peynirlerinin Proteoliz Düzeyleri (İngilizce). *GIDA*, 30(6): 425-430.

- Kondyli, E., Pappa, E.C., Svarnas, C. (2016). Ripening changes of the chemical composition, proteolysis, volatile fraction and organoleptic characteristics of a white-brined goat milk cheese. *Small Ruminant Res*, 145: 1–6.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1996). *Süt ve mamülleri muayene ve analiz metotları rehberi*, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 257, Erzurum.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A., Akyüz, N. (1991). Erzincan Tulum (Şavak) peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 16(5): 295-302.
- Leung, H., Morris, H.A., Sloan, A.E., Labuza, T.P. (1976). Development of an intermediate moisture processed cheese food product. *Food Technol*, 30:42-44.
- Messer, I.W., Behney, H.M., Luedecke, L.O. (1985). *Microbial Count Method. In "Standart Methods for the examination of Dairy Products. 15th Edition APHA, Washington D.C.*
- Metin, M. (1977). *Süt ve Mamullerinde Kalite Kontrolü*. Ankara Ticaret Borsası Yayınları No: 1, Ankara.
- Morul, F., İşleyici, Ö. (2012). Divle Tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(2): 71-76.
- Öner, Z., Karahan, A.G., Aloğlu, H. (2005). Starter kültür kullanılarak yapılan tulum peynirlerinin bazı özellikleri. *GIDA*, 30(1): 57-62.
- Rençber, F. (2016). Oğlak derisi ve plastik bidonda olgunlaştırılan Muş tulum peynirlerinin bazı karakteristik özellikleri ve gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Sabbagh, N., Gheisari, H.R., Aminlari, M. (2010). Monitoring the chemical and microbiological changes during ripening of Iranian probiotic low-fat White cheese. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5(4): 249-257.
- Salji, J.P., Kroger, M. (1981). Proteolysis and lipolysis in ripening cheddar cheese made with conventional bulk starter and with frozen concentrated direct-to-the-vat starter culture. *J Food Sci*, 46(5): 1345-1348.
- Sert, D. (2011). Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirlerinde kullanılan sütün orijinine bağlı olarak olgunlaşma esnasında meydana gelen bazı değişmelerin belirlenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Tarakçı, Z., Durmuş, Y. (2016). Effects of packaging materials on some ripening characteristics of Tulum cheese. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka* 66(4): 293-303.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Sancak, H., Ekici, K. (2005). İnek sütünden üretilerek cam kavanozlarda olgunlaştırılan Tulum peynirinin bazı özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1): 9-14.
- Tatini, S.R., Hoover, D.G., Lachia, R.V.F. (1984). *Methods for the isolation and enumeration of Staphylococcus aureus: In Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, APHA, Washington DC.
- Tekinşen, K.K., Akar, D. (2017). Erzincan Tulum Peyniri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 12(2): 218-226.
- Tükel, Ç., Doğan, H.B. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları:14. Staphylococcus aureus*. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.



GILABURU (*VIBURNUM OPULUS L.*) MEYVESİNDEN FENOLİK BİLEŞİKLERİN ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU

Yaşar Özlem Alifakı, Özge Şakıyan*, Asli İşçi

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

Geliş / Received: 08.06.2018; Kabul / Accepted: 27.08.2018; Online baskı / Published online: 16.10.2018

Alifakı, Y.Ö., Şakıyan, Ö., İşçi, A. (2018). Gilaburu (*Viburnum opulus L.*) meyvesinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *GIDA* (2018) 43 (5): 846-855 doi: 10.15237/gida.GD18069

*Alifakı, Y.Ö., Şakıyan, Ö., İşçi, A. (2018). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cranberry bush (*Viburnum opulus L.*) fruit. GIDA (2018) 43 (5): 846-855 doi: 10.15237/gida.GD18069*

ÖZ

Bu çalışmanın amacı gilaburu (*Viburnum opulus L.*) meyvesinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyon sistemi ile elde edilmesidir. Gilaburu meyvesinde bulunan yüksek miktardaki fenolik bileşikler, hassas yapıları nedeniyle kolayca bozulabilmektedirler. Bu nedenle, ekstraksiyon yöntemi olarak fenolik bileşiklere en az düzeyde zarar verecek yenilikçi teknolojiler önem kazanmaktadır. Çalışmada, üç farklı katı:solvent oranı (5:100, 10:100, 15:100) ve 6 farklı işlem süresi kullanılarak (1 dk, 10 dk, 20 dk, 30 dk, 60 dk, 120 dk) su ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişkenler olarak toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve renk değerleri belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı değerlerine göre optimum katı: solvent oranı ve optimum ekstraksiyon süresi sırasıyla 5:100 ve 60 dakika olarak bulunmuştur. Ek olarak L*, a*, b* ve toplam renk farkı değerleri toplam fenolik madde miktarlarıyla yüksek oranda pozitif korelasyon göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Ultrason destekli ekstraksiyon, fenolik bileşenler, Gilaburu, optimizasyon

ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM CRANBERRY BUSH (*VIBURNUM OPULUS L.*) FRUIT

ABSTRACT

The aim of the study is extraction of phenolic compounds from cranberry bush (*Viburnum opulus L.*) fruit using ultrasonic bath at 50 °C. High amount of phenolic compounds which is included in the cranberry bush fruit, are easily deteriorated because of their sensible structure. For this reason novel technologies that will fewest harm to phenolic compounds are growing importance. At the study, extraction operation is carried out by water using three different solid:solvent ratio (5:100, 10:100, 15:100) and six different process times (1 min, 10 min, 20 min, 30 min, 60 min, 120 min). Total phenolic contents, antioxidant capacity and color values were determined. The optimum solid solvent ratio and optimum extraction time according to the total phenolic compound values found as 5:100 and 60 minute, respectively. On the other hand L*, a*, b* and total color change values showed a highly positive correlation with total phenolic contents.

Keywords: Ultrasound assisted extraction, phenolic compounds, Cranberrybush fruit, optimization.

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ osakiyan@ankara.edu.tr,

☎ (+90) 312 2033 300/3618

☎ (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

Doğal gıdalara olan ilgi tüketici bilincine paralel olarak gün geçtikçe artmaktadır. Ancak, 230 türü olan *Viburnum* familyasına ait *Viburnum opulus* L.'nin de içinde bulunduğu pek çok böğürtlen türü hala yeterince incelenmemiştir. *Viburnum* türleri endemik özelliktedirler. *Caprifoliaceae*. *V. opulus* var. *opulus* Avrupa'nın doğusu, kuzey doğusu, batısı ve iç kesimlerinde ve doğu Sırbistan'da (Cesoniene vd., 2012), Türkiye'nin İç Anadolu ve Karadeniz Bölgesi'nde (Altan ve Maskan, 2004) yaygın olarak bulunur. Kırmızı renkli, özel asitli tada sahip bu meyve, özellikle Türkiye'de Kayseri yöresinde yetişmekte olup yabancı literatürde Gilaburu (European Cranberrybush) olarak bilinmektedir (Dinç vd., 2012; Çam vd., 2007).

Gilaburu meyvesinin yüksek miktarda fenolik asit ve antosiyanidin (Velioğlu vd., 2006) içerdiği ve bunun yanı sıra askorbik asit (Rop vd., 2010), L-malik asit gibi organik asitler (Çam ve Hışıl, 2007) ve kendine özgü tadını veren valerik asit (Dinç vd., 2012) içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu meyvenin suyu Kayseri'de yaşayan insanlar için geleneksel bir içecektir ve böbrek hastalıkları, menstrual rahatsızlıklar ve mide krampları üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (Soylak vd., 2002). Gilaburunun hipertansiyon, astım, sindirim problemleri ve grip hastalığını tedavi ettiğine inanılmaktadır (Ulger vd., 2013).

Fenolik bileşikler, bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitlerdir; fenolik asitler ve flavonoidlerden oluşurlar. Fenolik bileşikler meyve, sebze ve diyetle tüketilen diğer bitkisel gıdalarda bulunmaktadır. Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları gibi birçok açıdan önem taşırlar (Hakkinen, 2000). Ayrıca, flavonoidler antialerjik, antienflamatuvar, antiviral, antiproliferatif (çoğalmayı önleyici) aktiviteye sahip bileşikler olarak bilinmektedir (Harbonne, 1994). Epidemiyolojik çalışmalarda flavonoid alımı ile kronik kalp rahatsızlıkları, felç,

akciğer kanseri ve mide kanseri arasında zıt ilişkiler saptanmıştır (Hakkinen, 2000).

Yüksek antioksidan kapasiteye sahip doğal kökenli biyoaktif bileşiklere olan ilgi, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve sinir dokusunun bozulumu ile ilgili hastalıkları tedavi edici ve koruyucu etkilere sahip olmaları nedeniyle son yirmi yıldır dikkat çekici bir ölçüde artmıştır (Gil-Chavez vd., 2013). Bu nedenle gıda, ilaç ve kozmetik sanayilerinde doğal kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin karakterize özellikleri bozulmadan en etkili şekilde eldesini sağlayan ekstraksiyon ve separasyon metodunun bulunması temel bir araştırma konusudur. Bitki materyallerinden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon verimliliği ekstraksiyon tekniği, kullanılan solvent, işlem süresi ve sıcaklığı, çözücü-materyal oranı gibi pek çok faktöre bağlıdır (Goli vd., 2005).

Soxhlet ve klasik ekstraksiyon (maserasyon) konvansiyonel ekstraksiyon metodlarıdır ve yüksek miktarda solvent, zaman ve enerji tüketimi gerektirirler. Son yıllarda, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen yeşil ekstraksiyon yöntemleri ile solvent kullanımının ve ekstraksiyon süresinin azaltılması yanında verimin artırılması da hedeflenmektedir (Kutlu vd., 2017). Konvansiyonel solvent ekstraksiyonu, bitki matrikslerinden biyoaktif bileşiklerin endüstriyel ölçekte ekstraksiyonunda en çok kullanılan metottur (Barba vd., 2016). Buna rağmen tüketicilerin günden güne minimal işlenmiş ürünleri talep etmeleri yeşil ekstraksiyon konseptini ortaya çıkarmıştır (Galanakis, 2013). Ultrason destekli ekstraksiyon gibi yenilikçi ekstraksiyon teknikleri, enerji tasarrufu ve çevre dostu özellikleriyle yüksek kalitede ekstraktları daha etkili bir şekilde üretebilmektedirler (Wang ve Weller, 2006). Ultrasonik uygulama, hücre duvarlarını mekanik olarak parçalar ve materyal aktarımını sağlar. Hücre duvarının yıkılmasıyla hücre içindeki sıvı ekstrat hücre dışına kolayca çıkabilmektedir. Ultrason uygulamasıyla hücre duvarı zedelendiğinden, bu yöntemle yapılan ekstraksiyon işlemi diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre çok daha hızlıdır. Ultrason destekli ekstraksiyon sistemi ucuz, basit, verimli

ve etkili olması nedeniyle geleneksel ekstraksiyon tekniklerine iyi bir alternatiftir (Wang ve Weller, 2006).

Fenolik bileşiklerin ve antioksidanların ultrason destekli ekstraksiyonu narenciye (Ma vd., 2009), hindistan cevizi kabuğu (Rodrigues ve Pinto, 2007), akasya çiçekleri ve dalları (Tung vd., 2011), üzüm çekirdekleri (Ghafoor vd., 2009), nar tohumu (Abbasi vd., 2008), çilek (Herrera ve Castro, 2004), melisa ve ısırgan (İnce vd., 2013; 2014), fesleğen (Upadhyay vd., 2015), karayemiş (Karabegovic vd., 2014), jabuticaba (Rodrigues vd., 2015), üzüm (Ghafoor vd., 2009) gibi pek çok üründe denenmiş olup Gilaburu ile ilgili böyle bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı gilaburu meyvesinde bulunan fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonunun incelenmesi ve optimum koşulların belirlenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Denemelerde materyal olarak Kayseri/Gürpınar köyünden 2016 Ekim ayı hasadından taze olarak temin edilen gilaburu meyvesi kullanılmıştır. Meyveler hasat edildikten hemen sonra getirilmiş ve getirildikleri gün içerisinde sapsızlarından ayıklanarak kilitli plastik poşetler içerisinde dondurulmuş ve analizlere kadar -18 °C'de depolanmıştır.

Ekstraksiyon analizleri için Merck (Almanya) den temin edilen DPPH, Folin-Ciocalteu reaktifi, Na₂CO₃, metanol ve gallik asit kimyasalları kullanılmıştır.

Ekstraksiyon İşlemi

Örnek, ekstraksiyon işlemi öncesinde laboratuvar tipi bir parçalayıcı (Waring Commercial Laboratory Blender, Waring Products Division New Hartford, Conn, Amerika) ile 30 saniye süreyle işlenmiştir. Gilaburu meyvesinin suda çözünen kuru madde miktarı %12.91 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada solvent olarak saf su kullanılmıştır. Ultrason ekstraksiyonu için sıcaklığı 50 ±1 °C'ye ayarlanmış 40 W güç ve 35 kHz frekansta çalışan bir ultrasonik su banyosu kullanılmıştır (Bandelin, Sonorex, Türkiye).

Ultrason destekli ekstraksiyon için bağımsız değişkenler ekstraksiyon süresi (1, 10, 20, 30, 60 ve 120 dakika) ve katı:solvent oranı (5:100, 10:100, 15:100) olarak belirlenmiştir. Kontrol olarak 25°C'de ve 50°C'de su ile maserasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Denemeler iki tekerrürlü olarak çalışılmıştır.

Analizler

Toplam fenolik madde

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965).

Antioksidan aktivite

Örneklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde DPPH metodu kullanılmıştır. Bu metod DPPH radikallerinin antioksidanları azaltması prensibine dayanır. Bu azalma renk değişimiyle sonuçlanır. Uygulanan analiz spektrometrede örneklerin 515 nm'de okunmasına dayandırılmıştır (Murathan, 2017). Örneklerin absorbans değerlerinin ölçüm aralığına düşürülebilmesi amacıyla metanolla 71 kat seyreltme gerçekleştirilmiştir.

Renk

Renk ölçümü için renk okuyucusu (Minolta CR-400, Japonya) kullanılmıştır. CIE L*, a*, b* renk değerleri not edilmiş ve Eşitlik 1 kullanılarak renk değişimi (ΔE değeri) hesaplanmıştır;

$$\Delta E = \left[(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2 \right]^{1/2} \quad (1)$$

Eşitlikteki L*, a*, b* değerleri örneğe, L₀*, a₀* ve b₀* değerleri ise referans olarak Baryum sülfata ait olan sırasıyla 93.2, -1.4 ve 0.12 değerleridir (Aydoğdu vd., 2017).

Ekstraksiyon verimi

Ekstraksiyon verimi Eşitlik 2 ile hesaplanmıştır;

$$yield (\%) = (a_i / a_{WE}) \times 100 \quad (2)$$

eşitlikte a_i ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarını, a_{WE} ise yaş gilaburunun toplam fenolik bileşik miktarını temsil etmektedir.

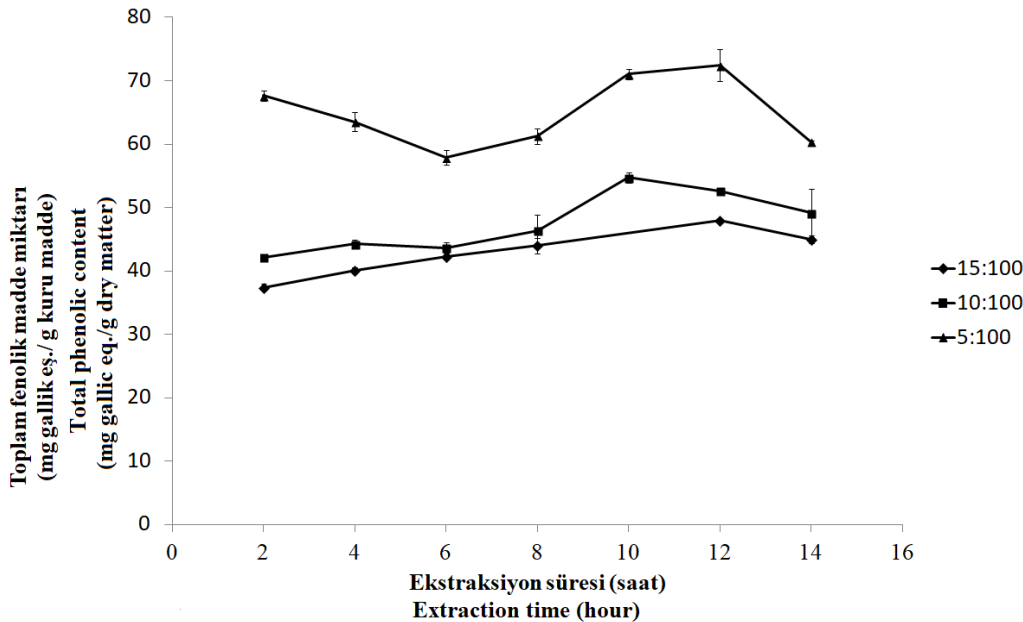
İstatistik analiz

İstatistik analizleri için Minitab 16.0 paket programı kullanılmıştır (Minitab, State College, PA, ABD). Bağımsız değişkenlerin etkilerinin incelenmesi için varyans analizi kullanılmıştır. Değişken ortalamaları Tukey çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Her bir deney koşulu için iki paralel çalışılmış ve bunların ortalamaları kaydedilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Toplam fenolik madde miktarı ve ekstraksiyon verimlerinin karşılaştırılması**

Ultrason destekli ekstraksiyon sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarları 26.61 ± 1.78 ile

50.93 ± 1.16 mg gallik asit/g kuru madde değerleri arasında değişmektedir (Çizelge 1). Konvansiyonel metotta en yüksek toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 25°C ve 50°C 'de yapılan maserasyonda 72.40 ve 45.67 mg gallik asit/g kuru madde olarak bulunmuştur (Şekil 1 ve 2). En yüksek fenolik madde miktarlarının tespit edildiği süreler sırasıyla 12 saat ve 10 saattir. Benzer şekilde, Orakçı (2010) su ile gerçekleştirdiği ekstraksiyon sonucu gilaburunun toplam fenolik madde içeriğini yaş meyvede 47.86 ± 0.16 mg gallik asit/g ekstre olarak rapor etmiştir.



Şekil 1. 25°C maserasyon ile toplam fenolik madde miktarlarının farklı katı:solvent oranlarında (5:100, 10:100, 15:100) zamanla değişimi

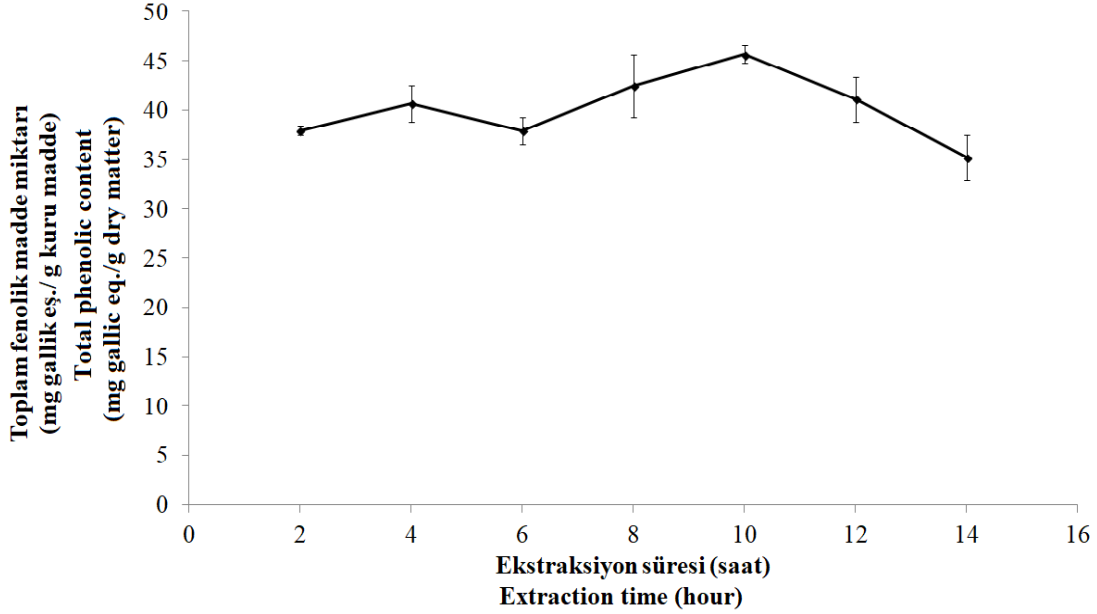
Figure 1. The variation of total phenolic contents at different solid:solvent rates (5:100, 10:100, 15:100) with time at 25°C maceration

Toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon zamanına ve katı:solvent oranına göre değişimi Çizelge 1'de verilmektedir. Veriler incelendiğinde işlem süresinin ve katı:solvent oranının etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. Çalışılan tüm katı:solvent oranları için ekstraksiyon süresi arttıkça belli bir değere kadar toplam fenolik madde miktarının ve ekstraksiyon veriminin arttığı ve sonrasında azalışa geçtiği

gözlemlenmiştir (Çizelge 1). Bu durum kütle aktarımının işlem süresi boyunca devam etmesi ancak belli bir noktada sistemin dengeye gelmesi ve sonrasında fenolik maddelerin ortam koşullarından etkilenerek degrade olmaya başlamaları ile açıklanabilmektedir. Herrera ve Castro (2005) ve Pinelo vd. (2005) ezilmiş böğürtlen ve üzümde yaptıkları çalışmalarda fenolik ekstraksiyonunun süreyle ilişkisini benzer

şekilde bulmuşlardır. Kontrol olarak kullanılan maserasyon işlemi ile elde edilen sonuçlar ile ultrason destekli ekstraksiyon sonucu elde edilen

sonuçlar karşılaştırıldığında ultrason destekli ekstraksiyon ile işlem süresinde yaklaşık % 90 oranında tasarruf sağlandığı dikkati çekmektedir.



Şekil 2. 50 °C maserasyon ile toplam fenolik madde miktarlarının 5:100 katı:solvent oranında zamanla değişimi

Figure 2. The variation of total phenolic contents at 5:100 solid:solvent rate with time at 50 °C maceration

Fenolik madde miktarı üzerine etkili olan bir diğer değişken katı:solvent oranıdır. Birim katı madde başına kullanılan solvent miktarı arttıkça ekstrakte edilen fenolik madde miktarının arttığı saptanmıştır. Bu durum, konsantrasyon gradientinin artmasının ekstraksiyon hızını arttırması ile açıklanabilir (İnce vd., 2013; Alekovski vd., 1998; Cacace ve Mazza, 2003; Sayyar vd., 2009). Benzer sonuçlar Dahmoune vd. (2013)'nın narenciye limon kabuklarından toplam fenolik madde ekstraksiyonunun yapıldığı çalışmasında da görülmektedir.

Renk

Pigment ve renk maddeleri ürünlerin gözlemlenebilir renginin kimyasal bileşenleridir ve renk, ürünlerin görünür albenisini belirler (Wrolstad vd., 2005). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) siyanidin 3-glukozit cinsinden 0.36 ± 0.01

g/kg (donmuş meyve) oranında antosiyanin içerir (Moldovan vd., 2012). Antosiyaninler fenolik bileşikler içerisinde bir grup olup genelde glikozit formlarında olarak meyvelere turuncu, kırmızı, mor ve mavi renklerini verirler (Heredia vd., 1998). Ekstrakt içerisindeki fenolik madde miktarının artışı ile renk değerleri arasında bir bağıntı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada L^* ($r=0.481$ $p=0.000$), a^* ($r=0.563$ $p=0.000$), b^* ($r=0.483$ $p=0.000$) ve toplam renk farkı ($r=0.552$ $p=0.000$) değerlerinin toplam fenolik madde miktarlarıyla yüksek oranda pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. 25°C'de maserasyonla yapılan ekstraksiyonda en yüksek verimle fenolik madde ekstraksiyonunun sağlandığı koşullarda L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 27.08 ± 0.05 , 9.80 ± 0.11 ve 6.67 ± 0.08 bulunmuştur. Toplam renk farkı değeri ise 67.38 ± 0.12 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 1. Ultrason destekli ekstraksiyon işleminde toplam fenolik madde miktarı ve ekstraksiyon verimi üzerine katı solvent oranı ve ekstraksiyon süresinin etkisi
 Table 1. The effect of solid:solvent ratio and extraction time on total phenolic content and extraction efficiency during ultrasound assisted extraction

Katı:solvent oranı <i>Solid:solvent ratio</i>	Süre (dk) <i>Time (min)</i>	Toplam Fenolik Madde Miktarı	Verim %
		mg gallik asit/g kuru madde <i>Total Phenolic Content</i> <i>mg gallic acid/g dry matter</i>	<i>Efficiency %</i>
5:100 25 °C maserasyon (5:100 25 °C maceration)	720	72.40±2.50	100
5:100 50 °C maserasyon (5:100 50 °C maceration)	600	45.67±0.91	63.07
5:100	1	(38.39±1.77) ^{ad}	53.0 ^{ad}
5:100	10	(40.00±4.04) ^{ad}	55.26 ^{ad}
5:100	20	(42.61±1.13) ^{acd}	58.86 ^{acd}
5:100	30	(41.74±2.26) ^{acd}	57.66 ^{acd}
5:100	60	(50.93±1.16) ^{ac}	70.34 ^{ac}
5:100	120	(41.29±1.73) ^{ad}	57.04 ^{ad}
10:100	1	(36.56±1.36) ^{abd}	50.49 ^{abd}
10:100	10	(38.25±1.65) ^{abd}	52.83 ^{abd}
10:100	20	(40.00±0.91) ^{abcd}	55.25 ^{abcd}
10:100	30	(40.65±1.76) ^{abcd}	56.15 ^{abcd}
10:100	60	(43.97±0.29) ^{abc}	60.73 ^{abc}
10:100	120	(37.17±0.70) ^{abd}	51.34 ^{abd}
15:100	1	(33.18±2.64) ^{bd}	45.83 ^{bd}
15:100	10	(26.61±1.78) ^{bd}	36.75 ^{bd}
15:100	20	(33.72±2.20) ^{bcd}	46.58 ^{bcd}
15:100	30	(39.84±0.82) ^{bcd}	55.03 ^{bcd}
15:100	60	(39.02±2.65) ^{bc}	53.90 ^{bc}
15:100	120	(31.68±0.79) ^{bd}	43.76 ^{bd}

Aynı harfe sahip olan sütunlar arasındaki ortalama farkları $P \leq 0.05$ değerinde önemsizdir. (a, b katı:solvent/c, d ekstraksiyon süresine göre)

The difference between columns with similar letter is insignificant for $P \leq 0.05$. (a, b for solid:solvent/c, d for extraction time)

Çalışmada uygulanan bağımsız değişkenlerin renk değerleri üzerine istatistiksel olarak etkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 2). Birim katı madde için kullanılan solvent oranı arttıkça oluşan yüksek konsantrasyon gradientinin etkisiyle ekstraksiyonun hızlandığı daha önce belirtilmişti. Bu durumda, L* değerinin gradient artışıyla azalması beklenirken arttığı gözlemlenmiştir. Bu beklenmedik sonuç işlem koşullarında (50°C'de) ekstrakte edilen ve koyu rengi oluşturan bazı renk pigmentlerinin zarar görmesi, bu nedenle koyu renk oluşturamaması ile açıklanabilir. İşlem süresinin etkisi incelendiğinde ise sadece 120 dakikalık ekstraksiyonun istatistiksel olarak etkili olduğu, diğer sürelerde bir fark oluşmadığı

bulunmuştur. Elde edilen ekstraktların a* ve b* değerlerinin işlem süresi ile değişmediği sadece katı:solvent oranından etkilendiği görülmüştür.

Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivite deneyleri her bir bağımsız değişken seviyesi için en yüksek toplam fenolik madde miktarının tespit edildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Çizelge 3'de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, katı:solvent oranı azaldıkça antioksidan aktivitenin arttığı görülebilmektedir. Bu etkinin nedeni konsantrasyon gradienti artışıyla daha çok fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleşmesidir (Alekovski vd., 1998). En yüksek antioksidan

aktivite değeri ultrason destekli ekstraksiyonda 5:100 katı:solvent oranında 13.89 ± 1.21 mg

DPPH/g kuru madde olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 2. Ultrason destekli ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstaktların renk değerlerine katı solvent oranı ve ekstraksiyon süresinin etkisi

Table 2. The effect of solid:solvent ratio and extraction time on color values of ultrasound extracts

Katı:solvent oranı <i>Solid:solvent ratio</i>	Süre (dk) <i>Time (min)</i>	Renk <i>Color</i>			ΔE
		L*	a*	b*	
5:100 25 °C maserasyon (5:100 25 °C <i>maceration</i>)	720	27.08 ± 0.05	9.80 ± 0.11	6.67 ± 0.08	67.38 ± 0.12
5:100 50 °C maserasyon (5:100 50 °C <i>maceration</i>)	600	24.65 ± 0.08	9.97 ± 0.01	6.77 ± 0.03	69.80 ± 0.08
5:100	1	$(26.60 \pm 0.09)^{ad}$	$(10.49 \pm 0.05)^{ac}$	$(6.88 \pm 0.11)^{ac}$	$(67.98 \pm 0.13)^{ac}$
5:100	10	$(26.34 \pm 0.16)^{ad}$	$(10.40 \pm 0.08)^{ac}$	$(6.78 \pm 0.14)^{ac}$	$(68.21 \pm 0.05)^{ac}$
5:100	20	$(26.50 \pm 0.09)^{ad}$	$(10.61 \pm 0.15)^{ac}$	$(6.84 \pm 0.14)^{ac}$	$(68.10 \pm 0.21)^{ac}$
5:100	30	$(26.24 \pm 0.15)^{ad}$	$(10.93 \pm 0.32)^{ac}$	$(7.17 \pm 0.17)^{ac}$	$(68.44 \pm 0.27)^{ac}$
5:100	60	$(26.23 \pm 0.12)^{ad}$	$(11.43 \pm 0.15)^{ac}$	$(7.36 \pm 0.06)^{ac}$	$(68.57 \pm 0.33)^{ac}$
5:100	120	$(29.81 \pm 0.01)^{ac}$	$(10.08 \pm 0.06)^{ac}$	$(6.78 \pm 0.06)^{ac}$	$(64.76 \pm 0.15)^{ad}$
10:100	1	$(24.18 \pm 0.38)^{bd}$	$(10.47 \pm 0.30)^{ac}$	$(7.04 \pm 0.29)^{ac}$	$(70.37 \pm 0.28)^{ac}$
10:100	10	$(24.11 \pm 0.32)^{bd}$	$(10.61 \pm 0.18)^{ac}$	$(6.99 \pm 0.31)^{ac}$	$(70.46 \pm 0.32)^{ac}$
10:100	20	$(24.10 \pm 0.14)^{bd}$	$(10.69 \pm 0.05)^{ac}$	$(7.05 \pm 0.13)^{ac}$	$(70.49 \pm 0.51)^{ac}$
10:100	30	$(24.27 \pm 0.12)^{bd}$	$(10.65 \pm 0.08)^{ac}$	$(7.01 \pm 0.06)^{ac}$	$(70.31 \pm 0.24)^{ac}$
10:100	60	$(24.04 \pm 0.05)^{bd}$	$(10.85 \pm 0.04)^{ac}$	$(6.97 \pm 0.13)^{ac}$	$(70.56 \pm 0.47)^{ac}$
10:100	120	$(25.02 \pm 0.04)^{bc}$	$(10.41 \pm 0.07)^{ac}$	$(6.81 \pm 0.08)^{ac}$	$(69.51 \pm 0.56)^{ad}$
15:100	1	$(23.38 \pm 0.06)^{bd}$	$(10.08 \pm 0.03)^{bc}$	$(6.58 \pm 0.07)^{bc}$	$(71.05 \pm 0.28)^{bc}$
15:100	10	$(23.70 \pm 0.20)^{bd}$	$(10.23 \pm 0.26)^{bc}$	$(6.66 \pm 0.25)^{bc}$	$(70.76 \pm 0.17)^{bc}$
15:100	20	$(23.68 \pm 0.02)^{bd}$	$(10.38 \pm 0.14)^{bc}$	$(6.59 \pm 0.05)^{bc}$	$(70.80 \pm 0.52)^{bc}$
15:100	30	$(23.07 \pm 0.02)^{bd}$	$(9.89 \pm 0.16)^{bc}$	$(6.19 \pm 0.10)^{bc}$	$(71.29 \pm 0.10)^{bc}$
15:100	60	$(23.10 \pm 0.02)^{bd}$	$(9.95 \pm 0.09)^{bc}$	$(6.26 \pm 0.08)^{bc}$	$(71.27 \pm 0.35)^{bc}$
15:100	120	$(24.68 \pm 0.66)^{bc}$	$(9.63 \pm 0.31)^{bc}$	$(5.6 \pm 0.29)^{bc}$	$(69.61 \pm 0.23)^{bd}$

Aynı harfe sahip olan sütunlar arasındaki ortalama farkları $P \leq 0.05$ değerinde önemsizdir. (a, b, c katı:solvent oranına göre)

The difference between columns with similar letter is insignificant for $P \leq 0.05$. (a, b, c for solid:solvent)

Meserasyonla kıyaslandığında ultrason desteki ekstraksiyonda daha yüksek antioksidan aktivite değerleri elde edilmiştir. İşlem süresinin % 90 oranında kısılması ve dolayısıyla hammaddenin ve ekstraktın işlem koşullarına daha kısa maruz

kalması bu sonucu doğurmuştur. Dahmoune vd. (2013) çalışmamıza benzer şekilde ultrason destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerini konvansiyonel ekstraksiyona göre daha yüksek bulmuşlardır

Çizelge 3. İşlem koşullarının antioksidan aktivite üzerine etkisi
Table 3. The effect of process conditions on antioxidant activities

Uygulama Process	Süre (dk) Time (min)	Katı Solvent Oranı Solvent ratio	Antioksidan Aktivite (mg DPPH/g kuru madde) Antioxidant activity (mg DPPH/g dry matter)
Ultrason destekli ekstraksiyon (<i>Ultrasound assisted extraction</i>)	30	15:100	(7.21±0.45) ^b
Ultrason destekli ekstraksiyon (<i>Ultrasound assisted extraction</i>)	60	10:100	(8.53±0.41) ^b
Ultrason destekli ekstraksiyon (<i>Ultrasound assisted extraction</i>)	60	5:100	(13.89±1.21) ^a
Maserasyon 25 °C (<i>Maceration</i>)	720	15:100	(6.035±0.118) ^c
Maserasyon 25 °C (<i>Maceration</i>)	600	10:100	(7.261±0.51) ^{bc}
Maserasyon 25 °C (<i>Maceration</i>)	720	5:100	(8.785±0.45) ^b

Aynı harfe sahip olan sütunlar arasındaki ortalama farkları $P \leq 0.05$ değerinde önemsizdir. (a, b katı:solvent/c, d ekstraksiyon süresine göre)

The difference between columns with similar letter is insignificant for $P \leq 0.05$. (a, b for solid:solvent/c, d for extraction time)

SONUÇ

Gilaburu meyvesinin içeriğindeki fenolik maddeler ve sağlık üzerine olumlu etkileri değerlendirildiğinde, minimum zararlı bu yararlı bileşiklerin eldesi üzerine yapılan çalışmaların önemi ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada, ultrason destekli ekstraksiyonun gilaburu meyvesinden fenolik bileşiklerin eldesi için değerlendirilmesi, en uygun işlem koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı değerlerine göre optimum katı: solvent oranı ve optimum ekstraksiyon süresi sırasıyla 5:100 ve 60 dakika olarak bulunmuştur. Bu koşullarda antioksidan aktivite değeri ise çalışmanın en yüksek değeri olan 13.89 ± 1.21 mg DPPH/g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Ayrıca renk değerleri ve toplam fenolik madde miktarları arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. Son olarak, geleneksel yöntem ve önerilen yeni teknoloji, işlem süresi bakımından karşılaştırıldığında ultrason destekli ekstraksiyonun maserasyona kıyasla %90 oranında zaman tasarrufu sağladığı sonucuna varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ankara Üniversitesi tarafından BAP 16L0443009 numaralı proje çerçevesinde desteklenmiştir.

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 Technol*, 110(5):435-440.
- Alekovski, S., Sovova, H., Curapova, B., Poposka, F. (1998). Supercritical CO₂ extraction and Soxhlet extraction of grape seeds oil. *Bull Chem Technol Macedonia*, 17:129-134.
- Altan, A., Maskan, M. (2004). Gilaburu (*Viburnum Opulus* L.) meyvesinden hazır içecek tozu eldesi üzerine çalışmalar. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 23-24 Eylül, Van, Türkiye, 18-23 s.
- Aydogdu, A., Sumnu, G., Sahin, S. (2018). Effects of addition of different fibers on rheological characteristics of cake batter and quality of cakes. *J Food Sci Technol*, 55(2):667-677.

- Barba, F.J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A.S., Orlieu, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends Food Sci Technol*, 49:96-109.
- Cacace, J.E., Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *J Food Eng*, 59: 379–389.
- Cam, M., Hisil, Y. (2007). Comparison of chemical characteristics of fresh and pasteurised juice of gilaburu (*Viburnum opulus* L.). *Acta Aliment*, 36:381–385.
- Cam, M., Hisil, Y., Kuscu, A. (2007). Organic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of fruit flesh and seed of *Viburnum opulus*. *Chem Nat Compd*, 43(4):460-461.
- Cesoniene, L., Daubaras, R., Viskelis, P., Sarkinas, A. (2012). Determination of the total phenolic and anthocyanin contents and antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juice. *Plant Foods Hum Nut*, 67(3):256-261.
- Dahmoune, F., Boulekbache, L., Moussi, K., Aoun, O., Spigno, G., Madani, K. (2013). Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Ind Crops Prod*, 50:77-87.
- Dinç, M., Aslan, D., İçyer, N.C., Çam, M. (2012). Gilaburu suyunun mikrokapsülasyonu. *Elect J Food Technol*, 7(2):1-11.
- Galanakis, C.M. (2013). Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. *Food Bioprod Process*, 91(4):575-579.
- Ghafoor, K., Choi, Y.H., Jeon, J.Y., Jo, I.H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *J Agri Food Chem*, 57(11):4988-4994.
- Joana Gil-Chávez, G., Villa, J. A., Fernando Ayala-Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E.M., González-Aguilar, G.A. (2013). Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 12(1):5-23.
- Goli, A.H., Barzegar, M., Sahari, M.A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chem*, 92(3):521-525.
- Hakkinen, S. (2000). *Flavonols and fenolic acids in berries and berry products*. Doctoral Thesis. Kuopio University Publications D. Medical Sciences. 90 p.
- Harborne, J.B. (1994). *The flavonoids: advances in research since 1986*. London UK, Chapman and Hall.
- Heredia, F.J., Francia-Aricha, E.M., Rivas-Gonzalo, J.C., Vicario, I. M., Santos-Buelga, C. (1998). Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes—I. pH effect. *Food Chem*, 63(4):491-498.
- Herrera, M.C., De Castro, M.L. (2005). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *J Chromat A*, 1100(1):1-7.
- İnce, A.E., Sahin, S., Sumnu, G. (2013). Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. *Turk J Agric For*, 37:69-75.
- Ince, A. E., Sahin, S., Sumnu, G. (2014). Comparison of microwave and ultrasound-assisted extraction techniques for leaching of phenolic compounds from nettle. *J Food Sci Technol*, 51(10):2776-2782.
- Karabegovic, I.T., Stojicevic, S.S., Velickovic, D.T., Todorovic, Z.B., Nikolic, N.C., Lazic, M.L. (2014). The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Ind Crops Prod*, 54:142–148.
- Kim, S.M., Zayas, J.F. (1989). Processing parameters of chymosin extraction by ultrasound. *J Food Sci*, 54(3):700-703.

- Kutlu, N., Yeşilören, G., İşçi, A., Şakıyan, Ö. (2017). Konvansiyonel ekstraksiyona alternatif: yeşil teknolojiler. *GIDA*, 42(5):514-526.
- Ma, Y.Q., Chen, J.C., Liu, D.H., Ye, X.Q. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: effect of ultrasound. *Ultrason Sonochem*, 16(1):57-62.
- Moldovan, B., David, L., Chişbora, C., Cimpoiu, C. (2012). Degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules*, 17(10):11655-11666.
- Murathan, Z.,T. (2017). Farklı rakımlarda yetişen *Hippocrepis rhamnoides* L. meyvelerinin antioksidan kapasiteleri ve bazı biyoaktif özelliklerinin incelenmesi. *Erzincan Üniv Fen Bilim Enst Derg*, 10(2):266-277.
- Orakçı, E.E. (2010). *Gilaburunun antioksidan aktivitesi*. Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bitirme Tezi, Kayseri.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., Nunez, M.J. (2005). Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *J Agric Food Chem*, 53(6):2111-2117.
- Rodrigues, S., Pinto, G.A. (2007). Ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. *J Food Eng*, 80(3):869-872.
- Rodrigues, S., Fernandes, F.A., de Brito, E.S., Sousa, A.D., Narain, N. (2015). Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jaboticaba peel. *Ind Crops Prod*, 69:400-407.
- Rop, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., Kramarova, D. (2010). Antioxidant properties of european cranberrybush fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*). *Molecules*, 15:4467-77.
- Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G. (2006). Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (*Gilaburu*, *Viburnum opulus* L.) fruit extract. *Acta Aliment*, 35(4):487-492.
- Sayyar, S., Abidin, Z.Z., Yunus, R., Muhammad, A. (2009). Extraction of oil from *Jatropha* seeds-optimization and kinetics. *Am J App Sci*, 6(7), 1390.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16(3):144-158.
- Soylak, M., Elci, L., Saracoglu, S., Divrikli, U. (2002). Chemical analysis of fruit juice of European cranberry bush (*Viburnum opulus*) from Kayseri, Turkey. *Asian J Chem*, 14:135-138.
- Ulger, H., Ertekin, T., Karaca, O., Canoz, O., Nisari, M., Unur, E., Elmali, F. (2013). Influence of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on 1, 2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon cancer. *Toxicol Ind Health*, 29(9):824-829.
- Upadhyay, R., Nachiappan, G., Mishra, H. N. (2015). Ultrasound-assisted extraction of flavonoids and phenolic compounds from *Ocimum tenuiflorum* leaves. *Food Sci Biotechnol*, 24(6):1951-1958.
- Tung, Y.T., Chang, W.C., Chen, P.S., Chang, T.C., Chang, S.T. (2011). Ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Acacia confusa* flowers and buds. *J Sep Sci*, 34(7):844-851.
- Velioglu, Y.S., Ekici, L., Poyrazoglu, E.S. (2006). Phenolic composition of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) berries and astringency removal of its commercial juice. *Int J Food Sci Technol*, 41:1011-1015.
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Ind Crops Prod*, 44:566-571.
- Wang, L., Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci Technol*, 17:300-312.
- Wrolstad, R.E., Durst, R.W., Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci Technol*, 16:423-428.

EFFECTS OF FAT TYPE ON THE TEXTURAL PROPERTIES OF CORN PUREE

Hakan Erinç*

Dept. of Food Eng., Faculty of Engineering, Niğde Ömer Halisdemir University, Niğde, Turkey

Received / Geliş: 25.05.2018; Accepted / Kabul: 15.10.2018 Published online / Online baskı: 20.10.2018

Erinç, H. (2018). Effects of fat type on the textural properties of corn puree. GIDA (2018) 43 (5): 856-864 doi: 10.15237/gida.GD18044

Erinç, H. (2018). Yağ çeşidinin mısır püresinin tekstürel özellikleri üzerine etkileri. GIDA (2018) 43 (5): 856-864 doi: 10.15237/gida.GD18044

ABSTRACT

In this study, corn flour, milk powder, sugar, emulsifier, and fat (milk fat, palm stearin, sunflower oil and mixture of palm stearin and sunflower oil) were used to produce corn puree. After producing the corn puree, the textural properties of the samples were determined to prepare a formula for a viscoelastic corn puree as a new nutritious product for the food industry. The viscoelastic properties of corn puree samples prepared by various ratios of different fat sources and mix (milk fat, palm stearin, sunflower oil, and a mixture of palm stearin and sunflower oil) were evaluated in the temperature range of 25 to 50°C using a texture analyzer. As the amount of fat increased (40%), the corn puree produced became softer except the sample containing palm stearin, which was found to be harder. As the temperature was reduced, the firmness and work of shear values of purees produced using 10-40% of fat increased.

Keywords: corn, puree, fat, milk fat, palm stearin, sunflower, texture

YAĞ ÇEŞİDİNİN MISIR PÜRESİNİN TEKSTÜREL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZ

Bu çalışmada, mısır unu, süt tozu, şeker, emülgatör ve yağ (süt yağı, palm stearin, ayçiçek yağı ve palm stearin ile ayçiçeği yağı karışımı) mısır püresi üretmek için kullanılmıştır. Gıda sanayi için besleyici değeri yüksek viskoelastik özellikte yeni bir ürün ortaya koyabilmek amacıyla mısır püresi üretildikten sonra ürünlerin tekstürel özellikleri belirlenmiştir. Farklı yağ kaynakları (süt yağı, palm stearin, ayçiçeği yağı ve palm stearin ile ayçiçeği yağı karışımı) ve farklı yağ oranları kullanılarak hazırlanan mısır püresi örneklerinin viskoelastik özellikleri 25 ila 50° C sıcaklık aralığında bir tekstür analiz cihazı ile belirlenmiştir. Yağ miktarı arttıkça, üretilen mısır püresinin sert olduğu tespit edilen palm stearin içeren örnekler haricinde diğer örneklerin daha yumuşak bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık düştükçe, %10-40 yağ kullanılarak üretilen pürelerin sıklığı artmış ve işlenebilirliği zorlaşmıştır.

Anahtar kelimeler: mısır, püre, yağ, süt yağı, palm stearin, ayçiçeği, tekstür

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ hakanerinc@hotmail.com,

☎ (+90) 388 225 4005,

☎ (+90) 388 225 0112

INTRODUCTION

In recent years, the functional and nutritional properties of foods have become important food quality parameters and requirements for the industry. Functional and nutritious foods are particularly important for the feeding of babies during the weaning period since at this critical phase of an infant's life, breast milk is mostly not adequate to meet nutritional requirements and support body growth. To compensate for this deficiency, infants need supplemental foods (Mitzner et al., 1984). Furthermore, with the growing number of working mothers, the demand for easy-to-prepare food and infant food has significantly increased. The World Health Organization (WHO) recognizes that there is a legitimate market for infant formula when a mother cannot or chooses not to breastfeed her child. However, the nutrient composition of infant formulas is often very different from that of breast milk, and some important nutrients found in the latter may be missing in the former. Therefore, particularly in cases where breastfeeding is not possible or is not sufficient alone, there is an obvious need for nutritionally balanced, energy-dense, and easily digestible weaning foods. Presently, various preparations of weaning foods are available in the market for different age groups and nutritional needs. These foods are semi-solid in nature, which makes them easy to handle for feeding infants (Hansen et al., 1981). Furthermore, considering consumer demand for natural and healthy food, it is necessary to produce foods with nutritious raw materials, rather than adding artificial ingredients.

In many developing countries, infant foods are prepared from locally available sources, mainly cereal grains, roots and tubers, which are served in a thick puree form (Sanni et al., 1999). Sweet potato is an important staple food or base material for a variety of food and industrial applications (Ravi et al., 1996). Pureeing of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) is carried out on a large scale around the world (Maleki, 2001). Sweet potato is an economical and healthy food crop containing high β -carotene and carbohydrates, as well as substantial amounts of ascorbic acid and minerals (Woolfe, 1992); however, it lacks other

nutrients, such as protein. Therefore, researchers have examined the ability of some additives to enhance the nutritional value of potato puree. For example, Álvarez et al. (2012) investigated the effect of soybean protein isolate on the physicochemical, functional and sensory characteristics of potato puree and found that the concentration of this isolate had a significant impact on the rheological properties of the samples. Similarly, Conforti et al. (2013) reported that whey protein concentrate, pectin, inulin, and extra virgin olive oil modified the rheological, thermal and structural properties and sensory quality of potato puree. Furthermore, in a very recent study, Miao et al. (2018) investigated the effect of the addition of soybean protein isolate, whey protein isolate, whole milk powder, and sodium caseinate on the rheological, sensory and microstructural properties of potato puree. They reported that these four proteins had a great impact on the investigated properties of potato puree.

Even though potato has certain advantages as infant food over other cereal-based foods, corn (*Zea mays* L.) contains more protein than potato and is cultivated in almost all countries of the world since it can grow in a wide range of climates, including tropical, sub-tropical and temperate regimes. Due to the wider use of corn compared to potato and other cereals (wheat, barley, rye), the demand for it has increased also depending on various factors, such as growing population, increased demand for processed products, growing tendency to eat healthy, increasing animal production, and development of industry. Corn has become a commonly grown agricultural product in many countries, with 90% of production being used as human food (20%) and animal feed (65-70%) due to the nutritional value of corn as a raw material. The remaining 8-10% is utilized in various branches of industry (Özcan, 2009; Babaoğlu, 2005).

Corn has an average of 71.7% starch, 9.5% protein, 9.5% fiber, and 26 mg / kg carotene. In addition, it contains B1 vitamins, pantothenic acid, folate, niacin, vitamin C, dietary fiber, phosphorus, and magnesium. In addition, the

dietary fiber content of corn facilitates the digestive process, prevents constipation, and reduces the risk of coronary heart disease. Corn contains vitamin A, which strengthens the eyes and contributes to production of blood. Furthermore, the cholesterol-lowering, anti-vascular, and hypoallergenic effects of corn have been reported (White and Johnson, 2003; Özcan, 2009; Rose et al., 2010; Anon, 2018).

In the literature, it has been reported that corn puree exhibited a stronger elastic characteristic (Ahmed and Ramaswamy, 2006). This is not suitable for infant formula. Therefore, various ratios of different fat sources (milk fat, sunflower, palm stearin and mixture of sunflower-palm stearin) were used in the production of corn puree, and the textural properties of the samples were determined at different temperatures to generate a new nutritional formula in this study.

MATERIALS AND METHODS

Material

In the production of corn puree, corn flour, emulsifier [mixture of mono-diglyceride (MDG),

palm stearin, sunflower oil (Sunar Group, Adana, Turkey), milk powder, and milk fat (Bakkalbaşıoğlu Dairy Products Inc., Niğde, Turkey) were used. A mix of 37 fatty acid methyl esters (FAMES) (C4-C24) was purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA). All the reagents were of analytical grade.

Methods

Preparation of Corn Puree

Corn flour, sugar, milk powder, emulsifier (0.5% MDG), and different contents of palm stearin, sunflower oil and milk fat were mixed (Table 1). 100 g of this mixture was transferred to a 250 mL beaker, and 200 mL of pure water heated to 80°C was added to the beaker. The mixture was stirred in a bain-marie at 80°C for 10 minutes. The textural analysis of the puree samples was carried out at different temperatures (25-50°C). This allowed the determination of the effect of the components used in different amounts on the textural properties of the final product.

Table 1. Formulas used for the preparation of corn puree samples

	Flour (%)	Milk powder (%)	Sugar (%)	Emulsifier (%)	Sunflower oil (%)	Palm stearin (%)	Milk fat (%)	Mix oil (%)
10S*	60	25	4.5	0.5	10	-	-	-
20S	60	25	4.5	0.5	20	-	-	-
30S	60	25	4.5	0.5	30	-	-	-
40S	60	25	4.5	0.5	40	-	-	-
10Ps	60	25	4.5	0.5	-	10	-	-
20Ps	60	25	4.5	0.5	-	20	-	-
30Ps	60	25	4.5	0.5	-	30	-	-
40Ps	60	25	4.5	0.5	-	40	-	-
10MF	60	25	4.5	0.5	-	-	10	-
20MF	60	25	4.5	0.5	-	-	20	-
30MF	60	25	4.5	0.5	-	-	30	-
40MF	60	25	4.5	0.5	-	-	40	-
10M	60	25	4.5	0.5	-	-	-	10
20M	60	25	4.5	0.5	-	-	-	20
30M	60	25	4.5	0.5	-	-	-	30
40M	60	25	4.5	0.5	-	-	-	40

*10-40 %ofat content, S: Sunflower oil, Ps: Palm stearin, MF: Milk fat and M: Mix oil

Analyses of raw material

Moisture and ash content in corn flour were determined according to the International Chamber of Commerce Standard Methods No: 110/1 and 104/1 (Anon, 2002), respectively, and the protein content was determined according to the American Association for Clinical Chemistry Standard Method No. 46-12 (Anon, 2000). The corn flour was subjected to oil extraction using a Soxhlet apparatus (Gerhardt) according to the American Oil Chemist Society Official method Am 2-93 (Anon, 2003). The FAMES of palm stearin, sunflower oil, mix oil, milk fat and emulsifier (MDG) were prepared following the method described by the International Union of Pure and Applied Chemistry (Anon, 1987). The fatty acid compositions were determined by Shimadzu GC-2010 (Japan) equipped with a DB-23 capillary column (60 m × 0.250 mm × 0.25 µm; J&W) and a flame ionization detector. Helium (1 mL/minutes) was used as the carrier gas. The split ratio was 1:80. The working temperatures of the injector, column and detector were 230, 190 and

240°C, respectively. The FAMES were identified by the reference standard.

Analyses of puree

The color values (L^* , a^* and b^*) of the corn puree samples were measured by a Minolta CR-400 colorimeter (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan). The flow resistance of the samples was determined in a texture analyzer (TA-XTplus, UK) using an apparatus (Figure 1) at room temperature (25°C) (test speed: 1.0 mm/sec and distance: 20 mm). In this analysis, the force required for flow of the product through a certain gap (6 mm) was determined, and the results of the analysis were given in gram. The spreadability properties of the samples were determined at different eating temperatures (25, 30, 40 and 50°C) by the 'measure force in compression' method (test speed: 3.0 mm/second and distance: 16 mm) using the TTC Spreadability Rig HDP/SR equipment in a texture analyzer (TA-XTplus, UK).

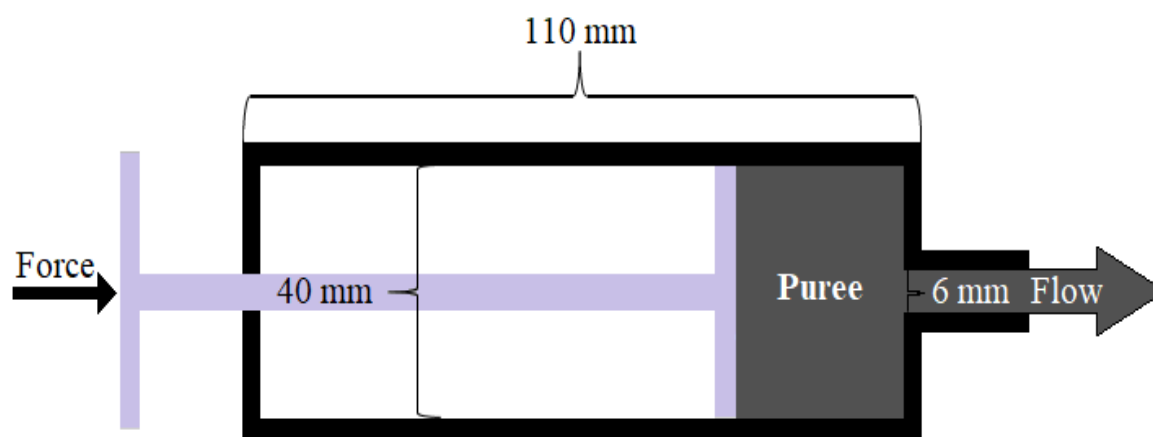


Figure 1. The apparatus used for the flow resistance analysis

Statistical Analysis

Duplicate measurements were performed for each replicate of puree production, and the results were obtained as mean values. The data was analyzed by ANOVA, and multiple comparisons of the means were undertaken using Duncan's test. Statistical analysis was performed with SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS AND DISCUSSION

The moisture, ash, oil and protein contents of the corn flour were determined as $3.50 \pm 0.035\%$, $0.54 \pm 0.012\%$, $3.18 \pm 0.048\%$ and $7.71 \pm 0.002\%$, respectively. The results of the fatty acid composition analysis of the fat samples by gas chromatograph are given in Table 2. MDG used as the emulsifier contained high levels of palmitic acid ($58.94 \pm 0.485\%$) and stearic acid

(39.93±0.252%). The predominant fatty acid was found to be palmitoleic acid (39.18±0.532%) in milk fat, palmitic acid (63.46±0.642%) in palm stearin, and linoleic acid (54.69±0.052%) in sunflower oil. Milk fat is usually used in puree production, but the polyunsaturated fatty acid (PUFA) content of milk fat was quite low

(3.00±0.008%). Even though palmitic acid (34.64±0.222%) was identified as the dominant fatty acid in the mix of palm stearin + sunflower (50:50), high amounts of oleic acid (30.78±0.075%) and linoleic acid (29.82±0.062%) were also determined. The PUFA content of the mixed oil was quite high (29.85±0.062).

Table 2. The fatty acid composition of butter, palm stearin, sunflower oil, mix oil and emulsifier

Fatty acids (%)	Milk fat	Palm stearin	Sunflower oil	Mix oil	MDG
Butyric acid (4:0)	0.25±0.002	ND	ND	ND	ND
Caproic acid (6:0)	0.12±0.001	ND	ND	ND	ND
Caprylic acid (8:0)	1.37±0.008	ND	ND	ND	ND
Capric acid (10:0)	0.87±0.006	ND	ND	ND	ND
Lauric acid (12:0)	2.13±0.005	0.11±0.001	ND	0.06±0.001	ND
Myristic acid (14:0)	2.75±0.003	1.17±0.001	0.08±0.001	0.63±0.000	1.01±0.004
Palmitic acid (16:0)	12.56±0.009	63.46±0.642	5.81±0.012	34.64±0.222	58.94±0.485
Palmitoleic acid (16:1)	39.18±0.532	ND	0.12±0.022	0.06±0.001	ND
Stearic acid (18:0)	13.69±0.012	4.74±0.042	3.25±0.008	3.99±0.042	39.93±0.252
Oleic acid (18:1)	24.32±0.022	25.57±0.132	35.99±0.548	30.78±0.075	0.07±0.001
Linoleic acid (18:2, ω-6)	3.00±0.008	4.94±0.011	54.69±0.052	29.82±0.062	0.05±0.000
Linolenic acid (18:3, ω-3)	ND	ND	0.06±0.001	0.03±0.000	ND
SFA	33.74±0.046	69.48±0.686	9.14±0.021	39.32±0.265	99.88±0.741
MUFA	63.5±0.554	25.57±0.132	36.11±0.570	30.84±0.076	0.07±0.001
PUFA	3.00±0.008	4.94±0.011	54.75±0.053	29.85±0.062	0.05±0.000

ND: Not Detected

SFA: Saturated Fatty Acid, MUFA: Mono Unsaturated Fatty Acid, PUFA: Poly Unsaturated Fatty Acid

Color is considered an important parameter in the marketing of food. The results of the color analysis of puree samples are given in Table 3. Since fat is bright, with the increase in the fat content, the L* (brightness) values of samples increased, but b* (yellowness) values decreased (Table 3). On the other hand, a* (redness) values of samples increased with the increase in the fat content.

The composition of a food product along with its structure determines the rheology of that product (Ahmed and Ramaswamy, 2006). Fat interacts with other ingredients to develop and mold the texture, and gives feeling in the mouth, as well as an overall sensation of the lubricity of the product (Giese, 1996). The rheological and textural properties have been considered to be important analytical tools to provide a fundamental insight into the structural organization of food. Some foods, especially starches and proteins, undergo changes during processing, resulting in viscous

dispersions, solutions or gels depending on temperature and concentration (Gunasekaran and Ak, 2000).

As shown in Figure 2, there was no change in the flow properties of the samples until the fat content reached 20%. This can be explained by the fat binding capacity of starch. It has been reported that one gram of corn starch can bind 0.4 milliliters of fat (Seguchi, 1984). In products containing 30% and 40% fat (except the sample with palm stearin), increasing the fat content in the puree formulation reduced the flow resistance, and more than 20% fat concentration affected the lubricity properties. However, when palm stearin was used, unlike the other fats, the flow resistance of the corn puree increased. On the other hand, increasing the mixed fat (1:1, sunflower oil + palm stearin) increased the fluidity and flow properties of the product similar to those produced with milk fat.

Table 3. The L*, a* and b* values of the corn puree samples

	Samples			
	10S**	20S	30S	40S
L* values	77.03±0.150a	78.71±0.225b	78.91±0.090b,c	80.72±0.105c
	10P	20P	30P	40P
	76.22±0.315a	78.29±0.175b	78.76±0.040c,d	79.75±0.012d
	10MF	20MF	30MF	40MF
	77.44±0.900a	78.61±0.275b	79.11±0.065b,c	79.57±0.355c
	10M	20M	30M	40M
	77.01±0.185a,b	77.67±0.025b,c	78.13±0.215c	79.31±0.225d
a* values	10S	20S	30S	40S
	-4.06±0.010a	-3.81±0.075a,b	-3.97±0.040b,c	-3.71±0.010c
	10P	20P	30P	40P
	-3.81±0.030a	-3.75±0.035a,b	-3.76±0.045b,c	-3.65±0.015c
	10MF	20MF	30MF	40MF
	-4.87±0.145a	-4.61±0.025a,b	-4.69±0.015a,b	-4.78±0.030b
	10M	20M	30M	40M
	-4.78±0.095a,b	-4.71±0.040a,b	-4.66±0.010a,b	-4.50±0.045b
b* values	10S	20S	30S	40S
	24.31±0.065c	23.24±0.170b,c	22.53±0.370b,c	22.09±0.020a
	10P	20P	30P	40P
	23.92±0.180b	23.88±0.045b	22.84±0.025a	22.91±0.290a
	10MF	20MF	30MF	40MF
	23.61±0.395b	23.49±0.260a,b	23.12±0.730a,b	23.08±0.050a
	10M	20M	30M	40M
	23.30±0.310b,c	23.66±0.005c	22.23±0.275a	22.20±0.020a

^a Different superscript letters in the same row indicate a significant difference between the values at the $P < 0.05$ level

**10-4 % fat content, S: Sunflower oil, Ps: Palm stearin, MF: Milk fat and M: Mix oil Figure 2

Puree manufacturers recommend that the product should be served warm and consumed quickly. Since puree is semi-solid, its textural properties would alter significantly during consumption depending on temperature (Woolfe, 1992).

In this study, the firmness and work of shear values of the corn purees produced using 10-40% fat were determined at different temperatures (Table 4). As a result of the textural analysis, different properties were observed in the final

product depending on the amount and type of fat used in the formulation. As the fat content increased (40%), the corn puree became softer, except for the product containing palm stearin. Although the puree was soft with a low amount of palm stearin, it became harder as the amount of this fat was increased. As the temperature decreased, the firmness and work of shear values of the purees produced using 10-40% of oil increased. Both the 40MF and 40M purees exhibited similar viscoelastic properties ($P < 0.05$).

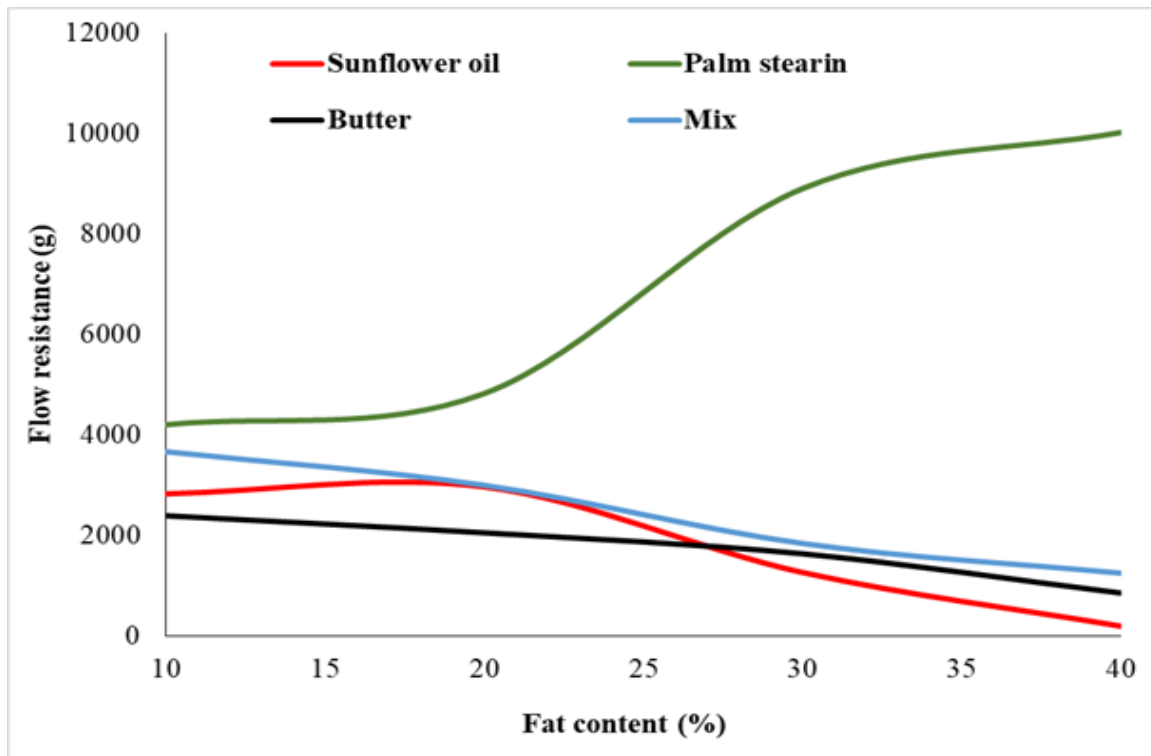


Figure 2. Flow resistance of corn puree samples

Table 4. The firmness and work of shear values of the corn puree samples

	Firmness (g)				Work of Shear (g.sec)			
	50°C	40°C	30°C	25°C	50°C	40°C	30°C	25°C
10S**	1255 ^{e,f,g}	1928 ^g	2695 ^{g,h}	4415 ^g	1958 ^f	2764 ^g	3478 ^{d,e}	3767 ^{c,d}
20S	1099 ^{e,f}	1816 ^g	1968 ^{e,f}	3267 ^f	1647 ^{e,f}	2238 ^f	2772 ^c	3536 ^{c,d}
30S	630 ^{b,c}	704 ^b	760 ^b	801 ^{a,b}	667 ^b	771 ^b	885 ^{a,b}	976 ^{a,b}
40S	140 ^a	198 ^a	229 ^a	354 ^a	251 ^a	310 ^a	489 ^a	505 ^a
10Ps	1314 ^{f,g}	1467 ^{e,f}	1710 ^e	2047 ^d	1476 ^{d,e}	1723 ^{d,e}	2530 ^c	2968 ^c
20Ps	1405 ^g	1779 ^{f,g}	2293 ^g	2574 ^e	1786 ^{e,f}	1999 ^{e,f}	2917 ^{c,d}	3632 ^{c,d}
30Ps	1794 ^h	2282 ^h	2521 ^{g,h}	2729 ^e	1873 ^f	2950 ^g	3753 ^e	4142 ^d
40Ps	2275 ⁱ	2566 ^h	2731 ^h	3365 ^f	3201 ^g	3852 ^h	4486 ^f	6731 ^e
10MF	707 ^{b,c}	864 ^{b,c,d}	1117 ^{b,c}	1319 ^{b,c}	868 ^{b,c}	1257 ^{b,c,d}	1351 ^b	1526 ^b
20MF	705 ^{b,c}	844 ^{b,c,d}	937 ^{b,c}	1084 ^{b,c}	851 ^{b,c}	1240 ^{b,c,d}	1351 ^b	1515 ^b
30MF	653 ^{b,c}	767 ^{b,c}	801 ^b	919 ^{a,b}	736 ^b	102 ^{b,c}	1267 ^b	1402 ^b
40MF	413 ^b	539 ^b	726 ^b	865 ^{a,b}	624 ^b	888 ^b	1001 ^{a,b}	1143 ^{a,b}
10M	1062 ^{e,f}	1147 ^{d,e}	1566 ^{d,e}	1889 ^d	1129 ^{c,d}	1414 ^{c,d}	2212 ^c	2704 ^c
20M	1001 ^{d,e}	1124 ^{c,d,e}	1543 ^{d,e}	1881 ^d	1126 ^{c,d}	1412 ^{c,d}	2162 ^c	2525 ^c
30M	764 ^{c,d}	844 ^{b,c,d}	1279 ^{c,d}	1517 ^{c,d}	906 ^{b,c}	1230 ^{b,c,d}	1514 ^b	1605 ^b
40M	460 ^b	553 ^b	756 ^b	901 ^{a,b}	657 ^b	950 ^{b,c}	1104 ^{a,b}	1200 ^{a,b}

* Different superscript letters in the same column indicate a significant difference between the values at the P < 0.05 level

**10-40 %fat content, S: Sunflower oil, Ps: Palm stearin, MF: Milk fat and M: Mix oil

The fat concentration was directly related to the fatty acid composition, and the physical properties of the oil (solid-liquid) affected the fluidity of the final product. Thus, the results of the current study indicate that sunflower oil produces a softer corn puree than palm stearin and milk fat. Another important finding was that purees produced with a mixture of suitable oils result in similar textural properties similar to those of milk fat puree.

In the literature, it has been reported that when the fat concentration in biscuit dough formula is reduced, the resultant dough samples become harder (Erinç, 2011). In another study conducted by Ertas and Karabaş (1996), sunflower oil was used in sausage production, and the sausages were found to be softer as the sunflower oil content increased. In a similar study by Jacob and Leelavathi (2007), who used different oils in biscuit formulas, biscuit dough produced with hydrogenated oil was harder than the dough prepared with sunflower oil. Babji et al. (1998) used different oils (palm stearin, commercial oils, and animal fat) in hamburger formulas and reported that with the increased fat content, the hamburger dough had a harder texture.

CONCLUSION

Different results were obtained from the final products depending on the amount and type of fat used in the corn puree formula. However, all corn purees exhibited viscoelastic behavior. The textural properties of the corn purees containing up to 20% fat were not greatly affected. In products with more than 20% fat content, the textural characteristics changed depending on the type of fat. When unsaturated fatty acid containing fats were used, softer corn puree production was achieved from all samples. On the other hand, as the fat content increased, the corn puree became softer, except for the palm stearin-containing product, which formed a rather rigid structure.

REFERENCES

Ahmed, J. and Ramaswamy, H. S. (2006). Viscoelastic and thermal characteristics of

vegetable puree-based baby foods. *J Food Process Eng*, 29: 219–233.

Álvarez, M. D., Fernández, C., Olivares, M. D., Canet, W. (2012). A rheological characterisation of mashed potatoes enriched with soy protein isolate. *Food Chem*, 133(4): 1274–1282.

Anon. (2000). *Approved Methods of American Association of Cereal Chemists (AACC)*. The Association: St. Paul, Mn.

Anon. (2002). *Standard Methods of International Association for Cereal Science and Technology (ICC)*. Vienna, Austria.

Anon. (2003). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*, Method Am 2-93, AOCS Press, Champaign, IL (USA).

Anon. (2018). *How to cook corn porridge for baby feeding: recipes for cooking on water and milk for a child under 1 year*, <http://childrensis.com/en/pages/798697> (last accessed 10.10.2018).

Babaoğlu, M. (2005). *Mısır ve Tarmı*, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Edirne, Turkey.

Babji, A. S., Alina, A. R., Seri Chempaka, M. Y., Sharmini, T., Basker, R., Yap, S. L. (1998). Replacement of animal fat with fractionated and partially hydrogenated palm oil in beef burgers. *Int J Food Sci Nutr*, 49(5): 327-332.

Conforti, P. A., Lupano, C. E., Yamul, D. K. (2013). Rheological, thermal and sensory properties of whey protein concentrate/pectin-fortified mashed potatoes made from dehydrated flakes. *Int J Food Sci Technol*, 48(5): 1035–1040.

Erinç, H. (2011). Bitkisel artıklardan farklı boyutlarda lif üretimi ve düşük yağlı ürünlerde kullanımı. PhD thesis, Ankara University, Turkey.

Ertas, A. H. and Karabaş, G. (1996). Ayçiçek Yağı ile Frankfurter Tipi Sosis Üretimi Üzerinde Araştırma. *Türk J Agric For*, 22: 235-240.

Giese, J. (1996). Fats, oils and fat replacers. *Food Technol*, 50: 48-83.

- Gunasekaran, S. and Ak, M. M. (2000). Dynamic oscillatory shear testing of foods-selected applications. *Trends in Food Sci Tech*, 11: 115–127.
- Hansen, L. P., Hosek, R., Callan, M., Jones, F. T. (1981). The development of high-protein rice flour for early childhood feeding. *Food Technol*, 35: 38–42.
- Jacob, J. and Leelavathi, K. (2007). Effect of fat-type on cookie dough and cookie quality. *J Food Eng*, 79: 299-305.
- Maleki, S. (2001). The big eight food allergens. *Dietitian's Edge*, 2: 57–60.
- Miao, W., Hatab, S., Gu, Y., Wang, L., Xu, X., Pan, S. (2018). Rheological, sensory, and microstructural properties of fresh and frozen/thawed mashed potatoes enriched with different proteins, *CyTA - J Food*, 16(1): 113-121.
- Mitzner, K., Scrimshav, N., Morgan, R. (Eds.) (1984). *Improving the nutritional status of children during the weaning period*. Cambridge, MA, USA: HOVIPREP (Home- and Village-Prepared Weaning Foods) Publications Massachusetts Institute of Technology.
- Özcan, S. (2009). Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretimine Katkısı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2(2): 01-34.
- Ravi, V., Aked, J., Balagopalan, C. (1996). Review on tropical root and tuber crops. I. Storage methods and quality changes. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 36: 661–709.
- Rose, D. J., Inglett, G. E., Liu, S. X. (2010). Utilisation of corn (*Zea mays*) bran and corn fiber in the production of food components. *J Sci Food Agric*, 90(6): 915-24.
- Sanni, A. I., Onilude, A. A., Ibidapo, T. (1999). Biochemical composition of infant weaning food fabricated from fermented blends of cereal and soybean. *Food Chem*, 65: 35–39.
- Seguchi, M. (1984). Oil-binding capacity of prime starch chlorinated wheat flour. *Cereal Chem*, 61: 241–243.
- White, P. J. and Johnsan, L. A. (2003). *Corn Chemistry and Technology*, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, US.
- Woolfe, J. A. (1992). *Sweet potato: An untapped food resource*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, p. 642.

FARKLI ŞEKER ORANLARININ SÜT REÇELİNİN KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ceren Akal**, İlkay Buran¹, Rabia Albayrak Delialioğlu², Atila Yetişemiyen¹

¹Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyometri ve Genetik Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 21.06.2018; Kabul / Accepted: 29.09.2018; Online baskı / Published online: 24.10.2018

Akal, C., Buran, İ., Albayrak Delialioğlu, R., Yetişemiyen, A. (2018). Farklı şeker oranlarının süt reçelinin kalite özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (5) 865-875 doi: 10.15237/gida.GD18067

Akal, C., Buran, İ., Albayrak Delialioğlu, R., Yetişemiyen, A. (2018). The effect of different sugar ratio on the quality properties of milk jam. GIDA (2018) 43 (5) 865-875 doi: 10.15237/gida.GD18067

ÖZ

Bu çalışmada inek sütüne farklı düzeyde (%10, %15 ve %20) şeker ilave edilerek üretilen süt reçelinin bazı nitelikleri araştırılmıştır. Süt reçeli üretimiyle sütün besleyici özelliği artırılmış ve bu ürünün özelliklerini ortaya koymak amaçlanmıştır. Süt reçeli örneklerinde depolamanın 1., 8. ve 15. günlerinde nem (%), kül içeriği (%), sakkaroz ve toplam şeker değerleri (%), HMF değeri (µg/L), yağ içeriği (%), titrasyon asitliği (°SH), pH değeri, protein içeriği (%), kıvam indeksi (Pa.s), akış davranış indeksi, renk değerleri ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. Alınan sonuçlara göre şeker oranı arttıkça nem (%), kül içeriği (%), HMF değeri (µg/L), yağ içeriği (%), titrasyon asitliği (°SH), protein içeriği (%), kıvam indeksi ile a ve b renk değerlerinin azaldığı; diğer taraftan sakkaroz ve toplam şeker değerlerinin (%) arttığı tespit edilmiştir. Duyuşal parametreler açısından bakıldığında ise %15 şeker içeren süt reçeli örneği en yüksek puanları almıştır.

Anahtar kelimeler: Süt reçeli, fizikokimyasal özellikler, reolojik özellikler, duyuşal analiz

THE EFFECT OF DIFFERENT SUGAR RATIO ON THE QUALITY PROPERTIES OF MILK JAM

ABSTRACT

In this study, milk jam was produced from cow milk by the addition of different levels of sugar (10%, 15% and 20%). By the production of milk jam the nutritional properties of milk has been increased and characteristics of this product is aimed to be determined. Water (%), ash (%), sucrose and total sugar (%), HMF(µg/L), fat (%), titratable acidity(°SH), protein contents(%), consistency index(Pa.s), flow behavior index, values of color and the sensory properties of the samples were determined on the 1st, 8th and 15th days of the storage period. According to the results; as the rate of sugar increased, water(%), ash(%), HMF(µg/L), fat(%), titratable acidity(°SH), protein(%), consistency index, and the values of a and b of color reduced. However, the value of sucrose and total sugar also increased. Regarding to the sensory evaluation; milk jam sample that contained sugar in a ratio of 15% had the highest results.

Keywords: Milk jam, physiochemical properties, rheological properties, sensory analyses

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ akal@ankara.edu.tr,

☎(+90) 312 596 1350

☎(+90) 312 318 2219

GİRİŞ

Süt, bir canlının hayatta kalması ve gelişmesi için ihtiyaç duyduğu besin maddelerinin çoğunu yeterli miktarlarda içeren bir gıda maddesidir. Özellikle çocuk ve bebek beslenmesinde yüksek protein ve kalsiyum içeriğinden dolayı önemli bir yere sahiptir. Sütün bu özelliklerini daha uzun süre kullanmak veya bazı özelliklerini geliştirmek için farklı teknikler kullanılarak yeni ürünler üretilmektedir.

Koyulaştırılarak besin değeri artırılmış bir süt ürünü olan süt reçeli İspanya, Meksika, Arjantin, Uruguay, Güney Amerika, Brezilya, Paraguay, Şili ve Bolivya başta olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak tüketilmektedir (Oliveria vd., 2009; Gaze vd., 2015a; Ramirez-Sucre ve Velez-Ruiz, 2011; Chacon-Villalobos vd., 2013; Zarpelon, 2016). Süt reçeli farklı ülkelerde “dulce de leche”, “duke de leche”, “arequipe”, “manjar blanco”, “doce de leite” ve “caramel jam” (karamel reçeli) gibi isimlerle de anılmaktadır (Ranalli vd., 2012).

Süt reçeli üretimi, sütün ısı uygulayarak suyunun uzaklaştırılması ve şeker (glukoz ve sakkaroz) ilave edilmesi esasına dayanmaktadır (Garitta vd., 2004). Elde edilen ürün, kremden kahverengiye değişebilen renklerde, homojen ve akıcı kıvamda tatlı bir süt ürünüdür. Standart bir üretim yöntemi olmadığı için süt reçeli kullanım amacına göre istenen renk ve kıvamda elde edilebilmektedir. Pastacılık, dondurma üretimi ve şekerleme sanayinde ara ürün olarak kullanılabilen süt reçeli, doğrudan da tüketilebilmektedir.

Standart bir üretim yöntemi olmamakla birlikte genel olarak süt reçeli; %20-30 oranında şeker ilave edilen sütün %50-80 kurumadde değerine kadar vakum altında evaporasyonu veya atmosfer basıncında kaynatılmasıyla üretilmektedir. Süt proteinleri ile indirgen şekerin ısı altında etkileşimi ile meydana gelen Maillard reaksiyonunun yoğunluğu ve karamelizasyon derecesi son ürünün rengini belirlemektedir. Bu reaksiyonu teşvik etmek amacıyla üretimde sodyum bikarbonat (NaHCO₃) kullanılabilir (Tuna ve Arslan, 2016). Aynı zamanda sodyum bikarbonat, asidik bileşen miktarının artması sonucunda oluşabilecek topaklaşmayı da engellemektedir (Gaze vd., 2015b; Rovedo vd., 1991).

Süt reçeli üzerine yapılan araştırmalarda ürün üretiminde kahve (Ferreira vd., 2012), hindistan cevizi (Barbaso vd., 2013), vanilya (Oliveira vd., 2009) gibi farklı aroma maddeleri, modifiye nişasta (Hough, 1990; da Silva vd., 2015) veya farklı şeker kaynakları kullanımının (Malec vd., 2005; Zimmermann vd., 2007) süt reçelinin özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir.

Bu çalışmada ise; süt reçeli üretiminde, 15 günlük depolama süresince şeker oranının ürün kalite özellikleri üzerine etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmada hammadde olarak kullanılan süt, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Eğitim-Araştırma ve Uygulama İşletmesi'nden temin edilmiştir.

Çalışma kapsamında kullanılan ticari olarak üretilen şeker (sakkaroz) ise yerel bir marketten temin edilmiştir.

Süt Reçeli Üretimi

İnek sütüne ilave edilecek şeker (sakkaroz) miktarını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen ön denemelerde; 10 litre süte 1 kg, 1.5 kg ve 2 kg şeker ilave edilerek süt reçeli üretilmesine karar verilmiştir.

Süt reçeli üretimi aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

Sıcaklığı 50°C getirilen çiğ inek sütü (%12.83 kurumadde, %3.45 protein, %3.65 yağ, 6.76 pH değeri, 7.95 °SH titrasyon asitliği) 3 ayrı kaba alınarak %10 (A örneği), %15 (B örneği) ve %20 (C örneği) oranlarında şeker ilave edilmiştir. Sıcaklığı 65°C'ye getirilen süt ve şeker 10000 devir/dk hızla 5 dk ultraturrax (T45, Janke & Kunkel GMBH Co., Germany) ile homojenize edilmiş olup daha sonrasında karıştırılarak yaklaşık 1 saat süreyle kaynatılmıştır. Literatür bilgilerine göre (Tuna ve Arslan, 2016; Navarro vd., 1999; Hough vd., 1990; Ranalli vd., 2017) süt reçelinin %30 nem içeriğinde olması gerekçesiyle her bir örneğin kurumadde içeriği yaklaşık %70

oranına ulaşınca kadar kaynatma işlemi uygulanmıştır. Kurumadde kontrolü Abbe refraktometresi (WYA-2W ABBE Refractometer) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra süt reçeli sıcakken kaplara dolumu yapılarak soğuk su içinde soğutulup oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Bu araştırma kapsamında üretilen süt reçeli örneklerinin 2 tekerrürlü olarak üretimleri yapılmış olup 15 gün süre ile oda sıcaklığında depolanmıştır. Depolamanın 1., 8. ve 15. günlerinde örneklere ait bazı kimyasal, fiziksel ve duyuşal özellikler ortaya konmuştur.

Yapılan Analizler

Çiğ sütte gravimetrik yöntem ile toplam kurumadde değerleri (Anonymous, 2002), Gerber yöntemiyle yağ içerikleri (Anonymous, 1990), titrasyon asitliği değerleri (Anonymous, 2002) ve Kjeldahl yöntemiyle toplam azot değerleri (Gripon vd., 1975) belirlenmiştir.

Süt reçeli örneklerinin toplam kurumadde değerleri gravimetrik yöntem ile (Anonymous, 2002), yağ içerikleri Modifiye Gerber yöntemiyle (Yetişemiyen vd., 1998), titrasyon asitliği değerleri (Anonymous, 2002), toplam azot değerleri Kjeldahl yöntemiyle (Gripon vd., 1975) ve kül değerleri gravimetrik yöntem ile (Kurt vd., 1993) belirlenmiştir. Örneklerin pH değerleri birleşik elektrotlu dijital pH-metre (Mettler Toledo MP 225) kullanılarak ölçülmüştür. HMF (hidroksimetilfurfural) tayininde, karbonhidratların ısıtılması ile oluşan hidroksimetilfurfural, paratoluidin ve barbitürik asit ile reaksiyona sokularak oluşan renkli çözeltinin absorbansı spektrofotometrik olarak ölçülerek buradan hidroksimetilfurfural miktarı belirlenmiştir. Karbonhidratların indirgen özelliğinden yararlanılarak toplam şeker ve sakkaroz tayini gerçekleştirilmiştir (Yetişemiyen vd., 1998).

Süt reçeli örneklerinin reolojik özellikleri, Kinexus Pro+ model reometre (Malvern, Worcestershire, UK) ile belirlenmiştir. Karıştırılarak homojen hale getirilen süt reçeli örneklerinin reolojik ölçümleri 5°C sıcaklıkta ve 0.10-300 s⁻¹ kayma hızı aralığında; 4° açılı konik prob ile

gerçekleştirilmiştir. Değişen 36 adet kayma hızında kayma gerilimi ve viskozite değerleri ölçülmüştür. Elde edilen veriler Power Law model akış davranışı modeli ile akış indeksi "n" fonksiyonuyla, kıvam indeksi ise "K" fonksiyonuyla tanımlanarak tespit edilmiştir.

Renk; CIE (Commission Internationale de l'Eclairage-Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) renk alanında Time TCR 200 marka renk ölçüm cihazı ile L (aydınlık değeri), a (kırmızı-yeşillik değeri), b (sarı-mavilik) değerleri şeklinde belirlenmiştir. Duyusal analizler ise, duyuşal değerlendirme konusunda yalnızca temel eğitim almış 7 yarı eğitilmiş panelistin katılımıyla tüketim sıcaklığı 22°C'de sunulan örnekler için puanlama testi kullanılarak yapılmıştır (Bodyfelt, 1988).

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde tesadüf blokları deneme planına göre varyans analizleri gerçekleştirilmiş, farklı grupların belirlenmesi için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çiğ süütün titrasyon asitliği, yağ, protein ve toplam kurumadde değerlerinin, Türk Gıda Kodeksi'nin 2000/6 numaralı "Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği"ne uygun olduğu belirlenmiştir.

Örneklerde pH değeri ve titrasyon asitliği değerleri standart hataları ile birlikte Çizelge 1'de verilmiştir.

Uygulanan ısıl işlem nedeniyle mikroorganizma yükü elimine edildiğinden depolama süresince asitlik gelişimi olmamıştır. İstatistiki değerlendirmede pH değerleri açısından örnek ve depolama günleri arasındaki interaksyonun önemli olduğu tespit edilmiş ($P < 0.05$) ve farklılıklar Çizelge 1'deki değerler üzerinde verilmiştir. Örneklerin depolama süresince pH değerlerinin arttığı gözlenmiştir. Bunun durumun, koyulaştırılmış ürünlerde pH değerinin artmasına neden olan, koloidal kalsiyum fosfatın çözünmesine bağlı olarak kalsiyum ve fosfatın doymamış hale gelmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Patel vd., 1996).

Çizelge 1. Süt reçeli örneklerinin pH-değeri ve titrasyon asitliği (°SH) değerleri (n=2)
 Table 1. pH and titratable acidity (°SH) values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹	pH değeri pH value				Titrasyon asitliği (°SH) Titratable acidity (°SH)			
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average
A	6.13±0.02 ^{Ab}	6.15±0.00 ^{Ab}	6.17±0.03 ^{Ab}	6.15±0.01	25.50±0.10	24.15±0.15	23.13±0.82	24.26±0.49 ^a
B	6.10±0.00 ^{Cb}	6.20±0.00 ^{Bab}	6.28±0.01 ^{Aa}	6.19±0.03	20.05±0.76	18.40±0.00	19.16±1.60	19.20±0.55 ^{ab}
C	6.18±0.01 ^{Ba}	6.22±0.01 ^{ABa}	6.23±0.01 ^{Aa}	6.21±0.01	17.12±0.45	14.60±0.20	15.05±0.71	15.59±0.54 ^b
Ortalama Average	6.14±0.02	6.19±0.01	6.22±0.02		20.89±1.57 ^A	19.05±1.76 ^B	19.12±1.56 ^B	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$)

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Süt reçeli örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde, pH değeri sonuçlarının aksine depolama süresince azalma gözlenmiştir. İlave edilen şeker miktarının iki katına çıkartılmasıyla asitlik değerleri azalmıştır. Yapılan istatistiki değerlendirmede titrasyon asitliği değerleri bakımından örnekler ve depolama günleri arasındaki interaksiyon önemli bulunmamış ($P > 0.05$) ancak örnekler ve depolama günleri arasındaki farklılık ayrı ayrı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Elde edilen sonuca göre A ve C örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Örneklerin depolamanın 8. gününde elde edilen titrasyon asitliği değerleri depolamanın 1. gününe göre önemli derecede azalma göstermiştir ($P < 0.05$). Depolamanın 8. ve 15. günlerinde tespit edilen titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$).

Süt reçeli örneklerinin nem ve kül değerleri standart hataları ile birlikte Çizelge 2'de verilmiştir. Su dışındaki tüm bileşenleri kapsayan

kurumadde değerinin artması; protein, kül, yağ ve toplam şeker miktarlarının dolayısıyla da besleyici özelliklerinin artması anlamına gelmektedir. En düşük şeker oranına sahip A örneklerinde nem değeri depolama süresince azalmıştır. Şeker oranı daha yüksek olan B ve C örneklerinde ise nem değeri depolamanın 8. gününde azalmış ve depolamanın 15. gününde artış göstermiştir (Çizelge 2). Bu durumun; belirli şeker konsantrasyonuna ulaşıldığında şeker-su arasında oluşan hidrojen bağları nedeniyle şekerin suyu bağlamasından (Giangiacomo, 2006) kaynaklandığı düşünülmektedir.

A ve B örnekleri ile B ve C örneklerinin nem içerikleri arasındaki farklılık önemli değil iken ($P > 0.05$) A ve C örneklerinin nem içerikleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Tüm örneklerin nem içerikleri depolamanın 8. gününde önemli bir azalma göstermiş ($P < 0.05$) 15. günde ise önemsiz miktarda azalmıştır ($P > 0.05$).

Çizelge 2. Süt reçeli örneklerinin nem ve kül (%) değerleri (n=2)
 Table 2. Water content and ash (%) values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹	Nem değeri (%) Water content value (%)				Kül değeri (%) Ash content (%)			
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average
A	34.68±1.55	24.77±0.35	23.37±0.84	27.61±2.30 ^a	1.97±0.04 ^{Ba}	2.58±0.01 ^{Aa}	2.03±0.02 ^{Ba}	2.19 ±0.12
B	27.27±1.16	20.09±2.68	20.60±1.37	22.65±1.68 ^{ab}	1.70±0.06 ^{Bb}	2.27±0.06 ^{Ab}	1.63±0.03 ^{Bb}	1.87±0.13
C	21.75±1.27	14.29±1.00	15.73±0.14	17.26±1.51 ^b	1.50±0.02 ^{Bb}	1.73±0.05 ^{Ac}	1.40±0.09 ^{Bc}	1.54±0.07
Ortalama Average	27.90±2.44 ^A	19.72±2.06 ^B	19.90±1.47 ^B		1.72±0.09	2.19±0.16	1.69±0.12	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği
 B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği
 C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk
 B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk
 C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$)

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Süt reçelinde kül miktarının yaklaşık %2 olduğu bilinmektedir (Tuna ve Arslan, 2016). Farklı şeker oranlarına sahip süt reçelinin üretildiği bu çalışmada da kül miktarlarının %1.40-2.58 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Süt reçeli üretiminde yüksek miktarda şeker ilavesinin kül miktarını nispi olarak azalttığı belirlenmiştir. Süt reçeli örneklerinin kül değerleri açısından depolama günleri ve örnekler arasındaki interaksiyon önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Süt reçeli örneklerinin yağ ve protein değerleri standart hataları ile birlikte Çizelge 3'te verilmiştir.

Süt reçeli örneklerinin protein değerlerinin istatistiki değerlendirmesinde depolama günleri ve örnekler arasındaki interaksiyon önemli bulunmuş ($P < 0.05$) ve farklılıklar Çizelge 3'te değerler üzerinde verilmiştir. Örneklerin protein değerleri, depolamanın 8. gününe kadar artmış, 15. günde ise azalmıştır. Elde edilen protein sonuçlarının kurumadde değerleriyle paralel olduğu gözlenmiştir.

Yağ değerleri açısından B ve C örnekleri birbirine yakın sonuç verirken ($P > 0.05$) A örneğinin yağ içeriği daha fazladır ($P < 0.05$). Örneklerin depolama süresince yağ içerikleri sadece

depolamanın 15. gününde önemli artış göstermiştir ($P < 0.05$).

Süt reçeli örneklerinin renk değerleri (L, a ve b) standart hataları ile birlikte Çizelge 4'te verilmiştir.

Örneklerin parlaklığını gösteren L değerleri arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$), ancak depolamanın 15. gününde L, a ve b değerleri depolamanın 8. gününe göre önemli derecede daha az bulunmuştur ($P < 0.05$). Kırmızı-yeşil renk özelliğini gösteren a değerleri açısından bakıldığında ise tüm örnekler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Renk değerlerinden a değerinin azalması kırmızılığın azaldığını göstermektedir. C örneğinin a değeri önemli derecede diğer örneklerden düşük bulunmuş, bir diğer ifadeyle C örneği diğer örneklerden daha az kırmızı bulunmuştur ($P < 0.05$). Örneklerin b değerleri de birbirinden farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Artışı sarılığın, azalışı maviliğin simgesi olan b değerinin A örneğinde en yüksek; C örneğinde ise en düşük olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen renk değerleri; ısı katalizörlüğündeki protein-şeker interaksiyonu sonucu oluşan HMF değerleriyle (Çizelge 6) paralellik göstermiştir. En yüksek

HMF değerine sahip olan A örneğinin yine en yüksek kırmızı (a) ve sarı (b) değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Süt reçeli örneklerinin protein ve yağ (%) değerleri (n=2)
Table 3. Protein and fat (%) values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹	Protein değeri (%) Protein value (%)				Yağ değeri (%) Fat value (%)			
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average
A	10.56±0.04 ^{Aa}	10.82±0.09 ^{Aa}	10.15±0.10 ^{Aa}	10.51±0.13	5.30±0.30	5.20±0.20	5.63±0.18	5.37±0.13 ^a
B	9.87±0.17 ^{Bb}	10.87±0.12 ^{Aa}	8.69±0.13 ^{Cb}	9.81±0.40	3.10±0.00	3.15±0.05	3.60±0.10	3.28±0.11 ^b
C	7.51±0.47 ^{Ac}	8.15±0.11 ^{Ab}	7.82±0.17 ^{Ac}	7.83±0.18	2.60±0.10	2.85±0.25	3.25±0.25	2.90±0.15 ^b
Ortalama Average	9.31±0.60	9.95±0.57	8.89±0.43		3.67±0.53 ^B	3.73±0.47 ^B	4.16±0.48 ^A	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Çizelge 4. Süt reçeli örneklerinin renk değerleri (n=2)
Table 4. Colour values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹	L				a				b			
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ort. Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average
A	86.3±0.8	87.9±2.0	84.5±1.0	86.2±0.9	5.4±0.10	5.6±0.26	5.9±0.07	5.6±0.12 ^a	27.0±0.37	31.0±1.49	34.2±2.61	30.8±1.54 ^a
B	88.7±0.6	90.5±0.0	89.2±0.6	89.5±0.4	4.0±0.37	4.2±0.30	4.8±0.16	4.3±0.20 ^b	19.6±0.35	25.0±0.80	26.4±0.51	23.7±1.33 ^b
C	89.2±0.8	90.2±0.8	88.8±0.5	89.4±0.4	2.4±0.23	2.8±0.13	3.5±0.39	2.9±0.24 ^c	15.5±0.40	17.9±1.02	24.4±1.28	19.3±1.73 ^b
Ort. Average	88.1±0.6 ^{AB}	89.5±0.8 ^A	87.5±1.0 ^B		3.9±0.56 ^B	4.2±0.53 ^B	4.7±0.45 ^A		20.7±2.13 ^B	24.6±02.45 ^{AB}	28.3±2.05 ^A	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Süt reçeli örneklerinin toplam şeker ve sakkaroz (%) değerleri standart hataları ile birlikte Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Süt reçeli örneklerinin sakkaroz ve toplam şeker (%) değerleri (n=2)
Table 5. Sucrose and total sugar values (%) of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹	Sakkaroz değeri (%) Sucrose value (%)				Toplam şeker değeri (%) Total sugar value (%)			
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average
A	35.79 ±0.41	46.86±1.50	46.29±1.20	42.98±2.33 ^c	45.36±1.81	56.65±0.65	56.65±0.65.	52.88±2.44 ^b
B	46.16±0.28	52.92±1.58	54.77±0.63	51.28±1.71 ^b	56.53±0.83	63.94±2.42	64.94±1.58	61.80±1.85 ^{ab}
C	55.69±2.96	62.01±1.05	62.10±0.78	59.93±1.58 ^a	66.00±2.30	72.34±0.80	72.34±0.80	70.23±1.49 ^a
Ortalama Average	45.88±3.72 ^B	53.93±2.85 ^A	54.39±2.92 ^A		55.96±3.85 ^B	64.31±2.95 ^A	64.64±2.91 ^A	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$)

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Uygulanan yöntemle, önce sakkaroz invert şekerle dönüştürülmüş, sonra elde edilen invert şekerin indirgen özelliğinden yararlanılarak toplam şeker miktarı hesaplanmıştır. Sakkaroz değeri örneklerin ilave edilen şeker miktarına bağlı olarak birbirinden farklı sonuçlar göstermiştir. Tüm örneklerin sakkaroz değerleri arasındaki farklılık doğal olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). %10 şeker ilave edilen A örneği ile %20 şeker ilave edilen C örneğinin toplam şeker değerleri arasındaki farklılık da önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Sakkaroz ve toplam şeker açısından depolama günleri arasındaki farklılık da nem içeriğine paralel olacak şekilde depolamanın 8. gününde önemli artış göstermiş ($P < 0.05$), ancak depolamanın 15. gününde daha az miktarda artış göstermiştir ($P > 0.05$).

Süt reçeli örneklerinin HMF değerleri ($\mu\text{g/L}$) standart hataları ile birlikte Çizelge 6'da verilmiştir.

Gıdalarda enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak bilinen Maillard reaksiyonu ısı ile protein ve şekerin interaksiyonu esasına dayanmaktadır (Burdurlu ve Karadeniz, 2002). İçme sütlerinde gerçekleşmesi istenmeyen Maillard reaksiyonu, süt reçelinde karakteristik renk ve aroma oluşumu için istenmektedir. HMF, Maillard reaksiyonu sırasında oluşan bir ara üründür ve uygulanan ısı işlemin yoğunluğunu göstermektedir (van Boekel, 1998). Süt reçeli örneklerinin HMF sonuçlarının istatistiki değerlendirmesinde depolama günleri ve örnekler arasındaki interaksiyon önemli bulunmuş ($P < 0.05$) ve farklılıklar Çizelge 6'da değerler üzerinde verilmiştir. Örneklerin HMF değerlerinin şeker miktarından bağımsız bir değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Tüm örneklerin HMF değerlerinin depolamanın 8. gününde önemsiz derecede azalma; 15. gününde önemli derecede artış gösterdiği ortaya konmuştur ($P < 0.05$). Gıdalarda su aktivitesinin ve dolayısıyla su miktarının artmasının HMF miktarını artırdığı

bilinmektedir. HMF değerinin depolamanın 8. gününde azalmasının hem nem miktarının azalmasından hem de HMF'nin parçalanarak

diasetil, asetik asit ve laktik asit gibi bileşenlere dönüşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Köksel, 2007).

Çizelge 6. Süt reçeli örneklerinin HMF ($\mu\text{g/L}$) değerleri ($n=2$)
Table 6. HMF values ($\mu\text{g/L}$) of milk jam samples ($n=2$)

Örnek ¹	HMF ($\mu\text{g/L}$)			Ortalama Average
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	
A	96.64 \pm 4.07 ^{Ba}	85.88 \pm 0.60 ^{Ba}	250.87 \pm 1.41 ^{Aa}	144.5 \pm 33.7
B	80.82 \pm 1.78 ^{Bb}	75.97 \pm 1.11 ^{Ba}	175.96 \pm 1.66 ^{Ab}	110.9 \pm 20.6
C	85.51 \pm 4.04 ^{Bb}	75.80 \pm 0.31 ^{Ba}	167.49 \pm 1.59 ^{Ab}	109.6 \pm 18.4
Ortalama Average	87.66 \pm 3.35	79.22 \pm 2.13	198.10 \pm 16.80	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$)

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Ayrıca örneklerin kırmızılık değerinin (a değeri) artmasıyla HMF değerinin de arttığı görülmüştür. UHT sütlerde HMF tayini yapılan bir çalışmada da benzer şekilde kırmızılık ve HMF değerleri arasında pozitif bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Urgu vd., 2017).

Süt reçeli örneklerinin kıvam indeksi ve akış davranış indeksi değerleri standart hataları ile birlikte Çizelge 7'de verilmiştir.

Newtonian akış göstermeyen akışkanlarda kayma hızının değişimine bağlı olarak kayma geriliminin değişmesinden dolayı viskozite değeri belirlenmemektedir. Bunun yerine kıvam indeksi değeri (K) örneklerin kayma hızı-kayma gerilimi ilişkisini ortaya koyması açısından kullanılabilir.

Hem kıvam indeksi hem de akış davranış indeksi açısından depolama günleri ve örnekler arasındaki interaksyon önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Kıvam indeksi değerlerine bakıldığında depolamanın 1. gününde şeker oranı arttıkça K değerinin azaldığı ancak depolamanın ilerlemesiyle şeker oranının etkisinin ortadan kalktığı belirlenmiştir. Depolamanın 15. gününde elde edilen K değerlerinin depolamanın 1. gününden daha yüksek olduğu görülmüştür. Depolama süresince süt reçeline benzer ürünlerde de, protein denaturasyonu ve proteinin diğer bileşenler ile interaksyonu sonucunda viskozite artışı gözlenmiştir (Felipe vd. 1991). Akış davranış indeksi değeri (n) ise, akışkanın Newtonian akışa ne kadar yakın olduğunu göstermektedir. Depolamanın tüm günlerinde B ve C örneklerinin yakın sonuçlar verdiği, A örneğinin ise önemli derecede bu örneklerden farklı akış davranış indeksi değerine sahip olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Buna göre şeker oranının %15'ten %20'ye çıkartılmasının örneğin akış davranışını değiştirmede ama %10 oranında ilave edilmesinin akış davranışında önemli bir farklılık meydana getirdiği söylenebilir. Ancak tüm

örneklerin akış tipinin Newtonian olmayan akışa uygun olduğu belirlenmiştir. Newtonian olmayan akışkanlar, kayma hızının değişimine bağlı olarak

viskozitesi değişiklik gösteren akışkanlar olarak bilinmektedir (Steffe, 1996; Collyer ve Clegg, 1998).

Çizelge 7. Süt reçeli örneklerinin kıvam (K), akış (n) ve korelasyon (güven) katsayısı (R²) değerleri (n=2)
Table 7. Consistency index (K), flow behaviour index (n) and coefficient of correlation (confidence) values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹	1. Gün Day 1			8. Gün Day 8			15. Gün Day 15		
	K (Pa.s)	n	R ²	K (Pa.s)	n	R ²	K (Pa.s)	n	R ²
A	33.15±0.75 ^{Ca}	0.170±0.03 ^{Cb}	0.96	69.70±2.20 ^{Bab}	0.559±0.04 ^{Ba}	0.95	142.8±13.3 ^{Aa}	0.855±0.03 ^{Aa}	0.98
B	19.69±1.63 ^{Aa}	0.411±0.01 ^{Aa}	0.99	40.94±1.63 ^{Ab}	0.380±0.03 ^{Ab}	0.99	37.44±1.16 ^{Ab}	0.311±0.01 ^{Ab}	0.99
C	18.090±0.50 ^{Ca}	0.413±0.06 ^{Aa}	0.97	94.5±12.3 ^{Aa}	0.356±0.01 ^{Ab}	0.99	53.67±1.15 ^{Bb}	0.319±0.00 ^{Ab}	0.96

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (P <0.05). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (P <0.05)

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days (P <0.05). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples (P <0.05).

Süt reçeli örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları standart hataları ile birlikte Çizelge 8'de verilmiştir.

Çizelge 8. Süt reçeli örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları (n=2x7)
Table 8. Sensory evaluation results of milk jam samples (n=2x7)

Örnek ¹	Görünüş Appearance				Yapı Structure				Lezzet Taste			
	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average	1. Gün Day 1	8. Gün Day 8	15. Gün Day 15	Ortalama Average
A	3.85±0.15	3.35±0.35	3.35±0.35	3.52±0.17 ^b	3.70±0.20	3.65±0.05	3.70±0.00	3.68±0.05	3.85±0.25	4.15±0.45	3.55±0.45	3.85±0.21
B	4.00±0.00	4.65±0.15	4.40±0.00	4.35±0.13 ^a	4.00±0.00	4.50±0.00	4.30±0.30	4.27±0.12	4.20±0.10	4.50±0.00	4.25±0.55	4.31±0.16
C	4.20±0.10	4.10±0.00	4.15±0.15	4.15±0.05 ^a	3.90±0.20	4.10±0.00	3.30±0.40	3.77±0.19	3.90±0.00	4.30±0.20	3.70±0.00	3.97±0.12
Ortalama Average	4.02±0.08	4.03±0.26	3.97±0.22		3.87±0.09	4.08±0.16	3.77±0.23		3.98±0.10	4.31±0.14	3.83±0.23	

¹:A: Süte %10 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

B: Süte %15 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

C: Süte %20 oranında şeker ilave edilerek üretilen süt reçeli örneği

¹:A: Milk jam sample that produced by adding 10% sugar to milk

B: Milk jam sample that produced by adding 15% sugar to milk

C: Milk jam sample that produced by adding 20% sugar to milk

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (P <0.05). Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (P <0.05)

Different capital letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days (P <0.05). Different small letters in the same column refers to statistically significant difference between samples (P <0.05).

Yapı ve lezzet açısından hem örnekler hem de depolama günleri arasındaki farklılık önemsiz bulunmuş ($P > 0.05$), görünüşte ise sadece A örneği diğer örneklerden farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Görünüş, yapı ve lezzet değerlerine bakıldığında şeker oranı en az olan A örneğinin en düşük değerleri aldığı; B örneğinin ise en yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Görünüş özelliği dışında istatistik açıdan önemli olmayan farklılıklar görülse de tüm örneklerin kabul edilebilir nitelikte olduğu ortaya konmuştur.

SONUÇ

Sunulan bu çalışma sonucunda koyulaştırılmış bir süt ürünü olan süt reçelinin depolama süresince kimyasal özelliklerinin çok fazla değişmediği ($P > 0.05$), ancak şeker oranı arttıkça sadece toplam şeker ve sakkaroz miktarının yükseldiği belirlenmiştir ($P < 0.05$). Depolama süresince şeker oranının artmasının; parlaklık göstergesi olan L renk değerini arttırdığı, kırmızı-yeşil rengi belirten a ve sarı-mavi rengi belirten b değerini ise azalttığı tespit edilmiştir. HMF değerinin A örneğinde tüm günlerde en yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Reolojik özellikler bakımından kıvam indeksinin tüm örneklerde önemli bir farklılık göstermediği, akış davranış indeksinin ise %10 şeker içeren A örneğinde en yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Duyusal analiz sonuçları değerlendirildiğinde görünüş, yapı ve lezzet olarak en çok beğeniyi %15 sakkaroz içeren B örneği almıştır. Elde edilen verilere göre, farklı oranlarda şeker içerecek şekilde üretilen tüm süt reçeli örneklerinin kabul edilebilir özelliklerde olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte bu çalışma ile farklı şeker düzeylerindeki süt reçeli kullanım olanağı ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

Anonymous (1990). TS 8189 Süt Yağ Tayini-Gerber Metodu, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous (2002). TS 1018 İnek Sütü-Çiğ, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Barbosa, V.C., Garcia-Rojas, E.E., Coimbra, J.S.R., Cipriano, P.A., Oliveira, E.B., Telis-Romero, J. (2013). Thermophysical and rheological properties of dulce de leche with and without

coconut flakes as a function of temperature. *Food Sci Technol (Campinas)* 33(1): 93-98.

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

Bodyfelt, F.W., Tobias, J., Trout, G.M. (1988). *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. Van Nostrve Reinhold, New York, 598 p.

Chacon-Villalobos, A., Pineda-Castro, M.L., Méndez-Rojas, S.G. (2013). Efecto de la Proporción de leche bovina caprina en las características del Dulce de Leche. *Agronomia Mesoamericana* 24(1): 149-167.

Collyer, A.A., Clegg, D.W. (1998). *Rheological Measurement*. 2nd edition. Chapman & Hall, 779, UK.

da Silva, F.L., Hiani, A.L.F., de Souza, A.B., Almedia, D.F., Stephani, R., Pirozi, M.R., de Carvalho, A.F., Perrone, Í.T. (2015). Production of dulce de leche: The effect of starch addition. *Food Sci Technol (Campinas)* 62: 417-423.

Felipe, A.I.A., Melcon, B., Zapico, J. (1991). Structural changes in sweetened condensed milk during storage: an electron microscopy study. *J Dairy Res* 58: 337-344.

Ferreira, L.O., Pimenta, C.J., Pinheiro, A.C.M., Pereira, P.A.P., Santos, G. (2012). Sensory evaluation of "dulce de leche" with coffee and whey using different affective data analysis methods. *Food Sci Technol (Campinas)* 31(4): 998-1005.

Garitta, L., Hough, G. Sa, R. (2004). Sensory shelf life of Dulce de Leche. *J Dairy Sci* 87: 1601-1607.

Gaze, L.V., Oliveira, B.R., Ferrao, L. L., Granato, D., Cavalcanti, R.N., Conte Júnior, C. A. , Cruz, A.G., Freitas, M.Q. (2015a). Preference mapping of dulce de leche commercialized in Brazilian markets. *J Dairy Sci* 98(3): 1443-1454.

Gaze, L.V., Costa, M.P., Monteiro, M.L.G., Lavorato, J.A.A., Conte Júnior, C.A., Raices, R.S.L., Cruz, A.G., Freitas, M.Q. (2015b). Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. *Food Chem* 169: 471-477.

Gripon, J.C., Desmazeaud, M.J., Bars, D. Le., Bergere, J.L. (1975). Etude du Role Des

- Microorganismes Et Des Enzymes Au Cours De La Maturation Des Fromages. *Le Lait* 548: 502-516.
- Giangiaco, R. (2006). Study of water–sugar interactions at increasing sugar concentration by NIR spectroscopy. *Food Chem* 96: 371-379.
- Hough, G., Martinez, E., Contarini, A. (1990). Sensory and objective measurement of sandiness in Dulce de Leche, a typical Argentine dairy product. *J Dairy Res* 73: 604-611.
- Hough, G. (1992). Sensory profiling of Dulce de Leche, a dairy based confectionary product. *Journal of Sensory Studies* 7: 157-178.
- Köksel, H. (2007). Karbonhidratlar. *Gıda Kimyası*, Saldamlı, İ. (ed.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, s. 49-132.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. 1993. *Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metodları* Rehberi. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum, No:252/d, 150.
- Malec, L.S., Llosa, R.A., Naranjo, G.B., Vigo, M.S. (2005). Loss of available lysine during processing of different dulce de leche formulations. *Int J Dairy Technol* 58(3): 164-168.
- Navarro, A.S., Ferrero, C., Zaritzky, N.E. (1999). Rheological characterization of “dulce de leche” by dynamic and steady shear measurements. *J Texture Stud* 30: 43-58.
- Oliveira, M.N., Penna, A.L.B., Nevarez Garcia, H. (2009). Production of evaporated milk, sweetened condensed milk and ‘dulce de leche’. *Dairy Powders and Concentrated Products. Dairy Science and Technology Consultant*, Tamime, Y. A. (chief ed.), Blackwell Publishing Ltd. 149-177.
- Patel, A.A., Gandhi, H., Singh, S. and Patil, G.R. (1996). Shelf-life modeling of sweetened condensed milk based on kinetics of maillard browning. *J Food Process Pres* 20: 431-451.
- Ranalli, N., Andres, S.C., Califano, A.N. (2012). Physicochemical and rheological characterization of “Dulce De Leche”. *J Texture Stud* 43: 115–123.
- Ranalli, N., Silvina, C.A., Califano, A.N. (2017). Rheological behavior of low-fat Dulce de Leche with added xanthan gum. *J Food Process Pres* 41: 1-8.
- Rez-Sucre, M.O.R., Lez-Rui, J.F. (2011). The physicochemical and rheological properties of a milk drink favoured with cajeta, a Mexican caramel jam. *Int J Dairy Technol* 64(2): 294-304.
- Rovedo, C.O., Viollaz, P.E., Suarez, C. (1991). The Effect of pH and temperature on the rheological behavior of Dulce De Leche, a typical dairy Argentine product. *J Dairy Res* 74(5): 1497-1502.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, 2nd edition. Freeman Press, 367, USA, 428 p.
- Tuna, C., Arslan, S. (2016). Süt Reçeli Üretim Yöntemleri ve Özellikleri. *Akademik Gıda* 14(2): 204-208.
- Urgu, M., Saatli, T.E., Türk, A., Koca, N. (2017). Hidroksimetilfurfural içeriğinin belirlenmesi. *Akademik Gıda* 15(3): 249-255.
- van Boekel, M.A.J.S. (1998). Effect of heating on maillard reactions in milk. *Food Chem* 62 (4): 403-414.
- Yetişemiyen, A., Gürsoy, A., Çimer, A. (1998). *Koyulaştırılmış ve Kurutulmuş Süt Ürünleri Teknolojisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay. No:1497, Ankara, Türkiye.
- Zarpelon, J., Luciano, M., Andressa, C.V., Ribeiro, D.H.B., Daguer, H. (2016). Validation of an automated method for the analysis of fat content of dulce de leche. *J Food Compos Anal* 48: 1-7.
- Zimmermann, J.V., Gris, E.F., Chaves, E.S., Prudêncio, E.S., Barreto, P.L.M., Amboni, R.D.M., Luiz, M.B. (2007). Physicochemical, sensorial and rheological properties of doce de leite with xanthan gum and whey protein concentrate. *Publ UEPG Ci Exatas Terra Ci Agr Eng Ponta Grossa* 13:53-59.

PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT, ANTIOXIDANT AND ANTIDIABETIC POTENTIALS OF SEVEN EDIBLE LEAVES

Betül Akyurt¹, Bülent Başıyigit^{2*}, Mustafa Çam¹

¹Food Engineering Department, Engineering Faculty, Erciyes University, Kayseri, Turkey

²Food Engineering Department, Engineering Faculty, Harran University, Şanlıurfa, Turkey

Received / Geliş: 19.07.2018; Accepted / Kabul: 30.09.2018; Published online / Online baskı: 24.10.2018

Akyurt, B., Başıyigit, B., Çam, M. (2018). Phenolic compounds content, antioxidant and antidiabetic potentials of seven edible leaves. *GIDA* (2018) 43 (5): 876-885 doi: 10.15237/gida.GD18076

Akyurt, B., Başıyigit, B., Çam, M. (2018). Yedi yenilebilir yaprağın fenolik bileşik içeriği, antioksidan ve antidiyabetik potansiyeli. *GIDA* (2018) 43 (5): 876-885 doi: 10.15237/gida.GD18076

ABSTRACT

The objectives of this study were to investigate antioxidant and enzyme inhibitory activity of ethanolic and aqueous extracts of seven leaves. The antioxidant activity of the leaves was determined by two different methods: DPPH and β -carotene-bleaching test (β C). The enzyme inhibitory activity was evaluated against α -glucosidase. Antioxidant (EC_{50}) and α -glucosidase (IC_{50}) activity were determined as 8.29-238.8 g of leaf/g of DPPH and 35.59-620.29 μ g/mL respectively. Among seven leaves studied, leaf of grape (*Vitis vinifera*), quince (*Cydonia oblonga*) and nettle (*Urtica dioica*) exhibited higher antioxidant and α -glucosidase inhibition activity than the rest of the leaves. Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and total hydrolyzable tannin content (TTC) of the leaves were between 0.22-16.37 mg gallic acid equivalents (GAE), 0.07-9.32 mg catechin equivalents (CE) and 0.49-16.38 tannic acid equivalent (TAE) per g of leaf, respectively.

Keywords: Antioxidant activity, edible leaves, enzyme inhibitory activity, α -glucosidase activity

YEDİ YENİLEBİLİR YAPRAĞIN FENOLİK BİLEŞİK İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİDİYABETİK POTANSİYELİ

ÖZ

Bu çalışmanın amacı seçilmiş yedi tane yenilebilir yaprağın etanolik ve sulu ekstraktlarının antioksidan ve enzim inhibitör aktivitelerinin belirlenmesidir. Yaprakların antioksidan kapasiteleri DPPH ve β -Karoten ağartma yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Enzim inhibitör aktivite analizinde ise yaprakların α -glukozidaz enzimini inhibe etme özelliği tespit edilmiştir. Yaprakların antioksidan (EC_{50}) ve α -glukozidaz (IC_{50}) aktiviteleri sırasıyla 8.29-238.8 g örnek/g DPPH ve 35.59-620.29 μ g/mL arasında bulunmuştur. İncelenen yapraklar arasında, üzüm yaprağı (*Vitis vinifera*), ayva (*Cydonia oblonga*) yaprağı ve ısırgan otunun (*Urtica dioica*) diğer yapraklardan daha yüksek antioksidan ve α -glukozidaz inhibisyon aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yaprakların toplam fenolik madde miktarı (TPC), toplam flavonoid madde miktarı (TFC) ve toplam hidrolize edilebilir tanin miktarı (TTC) sırasıyla 0.22-16.37 mg gallik asit eşdeğeri (GAE), 0.07-9.32 mg kateşin eşdeğeri (CE) ve 0.49-16.38 tannik asit eşdeğeri (TAE)/g örnek arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma, seçilmiş yedi tane yenilebilir yaprağın biyoaktif bileşenleri ile ilgili doğrudan karşılaştırmalı veriler sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, yenilebilir yapraklar, enzim inhibitör aktivitesi, α -glukozidaz aktivitesi

* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ bulentbasyigit@harran.edu.tr

☎ (+90) 414 318 1583

☎ (+90) 414 318 3799

INTRODUCTION

Diabetes mellitus which is defined by metabolic disorders is seen commonly all over the world (Kitabchi et al., 2009). It is important to balance the glucose level after meal in diabetic patients. α -glucosidase secreted from intestinal chorionic epithelium plays an important role in the conversion of carbohydrates into glucose. By inhibiting α -glucosidase, glucose levels in the blood can be balanced. α -glucosidase inhibitors such as acarbose, miglitol, and voglibose are used as therapeutic agents for the treatment of diabetes mellitus because they help to control blood glucose levels after food uptake in diabetic patients for long time (Kumar et al., 2011). However, these drugs can also cause some problems such as diarrhoea, abdominal cramping, and flatulence (Ma et al., 2015).

Antioxidants have been commonly used to provide protection against oxidative degradation of foods by free radicals. Free radicals are known as Reactive Oxygen Species and play an important role in human body as they cause oxidative damage to the human body, eventually leading to cancer, aging, atherosclerosis, hypertension, heart attacks and other chronic diseases (Ani et al., 2006; Basma et al., 2011; Meziti et al., 2012). Human body copes with free radicals because of its antioxidant defense system. However, the balance between antioxidant defense system and free radicals could be changed in time. Therefore, intake of antioxidants is important issue to reduce oxidative damage in human body (Meziti et al., 2012). Synthetic antioxidants such as butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole gave rise to health problems are used more than natural antioxidants in food industry (Turkoglu et al., 2007).

There is also an important relationship between diabetes mellitus and Reactive Oxygen Species as oxidation caused by Reactive Oxygen Species are a harmful factor contributing to diabetes mellitus (Ceriello and Motz, 2004). Furthermore, previous studies indicated that Reactive Oxygen Species are increased under diabetic conditions (Noh and Ha, 2011).

Numerous studies suggests that consumption of natural sources decreases the risks of metabolic disorders such as diabetes mellitus and helps to cope with free radicals. Therefore, with rising consciousness level and research opportunities led the science to deeper study on usage of natural sources for the treatment of various human diseases. Edible leaves which are one of the important natural sources have also become a prominence issue and numerous researches have been made regarding their effect on human health and food quality in recent years as they are a valuable source of different bioactive compounds including secondary metabolites and macromolecules (Ju et al., 2013; Jain et al., 2017). However, to the best of our knowledge, no studies have been conducted direct comparative data on antioxidant and α -glucosidase inhibition activities of seven edible leaves investigated in our study.

Due to all these reasons, reliable and natural resources have gained attention all over the world in these days (Braithwaite et al., 2014; Klaus et al., 2015). In this sense, spices, plants and their parts, especially leaves are the potential reliable and natural sources of bioactive compounds (Yanishlieva et al., 2006). Therefore, we have studied some analytical properties of seven edible leaves, namely grape (*Vitis vinifera*), quince (*Cydonia oblonga*), mulberry (*Morus*), beans (*Phaseolus vulgaris*), cherry (*Prunus avium*), nettle (*Urtica dioica*), chard (*Beta vulgaris vulgaris*) which are important parts of Turkish cuisine in the present study. The leaves were investigated for their antioxidant, α -glucosidase inhibition activity, total phenolic, total flavonoid and total hydrolyzable tannin contents.

MATERIAL AND METHOD

Plant materials and chemicals

Leaf of grape (*V. vinifera*), quince (*C. oblonga*), mulberry (*Morus*), bean (*P. vulgaris*) and cherry (*P. avium*) was collected from the plants in August in Kayseri city (Turkey). Leaf of chard (*B. vulgaris vulgaris*) and nettle (*U. dioica*) was supplied from markets in January. All leaves were stored at -25°C until analysis. Chemicals were obtained

either from Sigma or Merck unless otherwise stated.

Optimization of solvent composition

Simplex-Lattice design was used to determine the optimum solvent concentrations. Total phenolic content in the extracts was used as response. The ratio of ethanol to water was selected as independent variable. Experiments were conducted based on following conditions: 10 g of milled leaf was weighed into a vial, and 150 mL of

ethanol-water combination was added into the vial. This mixture was kept in a shaking water bath (Heat Tech 26 L, Thermo Scientific) at 40 °C for 30 min and then centrifuged (Model NF800R, Nüve, Ankara, Turkey) at 4000 rpm for 5 min. The resulting supernatant was collected and stored at -18 °C until analyzed. Simplex-Lattice design points, the ratio of ethanol to water, were given in Table 1. All the leaves were subjected to extraction experiments as indicated in Table 1.

Table 1. Simplex-Lattice design points for solvent optimization

Experiment number	Water (%)	Ethanol (%)
1	50	50
2	0	100
3	100	0
4	100	0
5	25	75
6	0	100
7	75	25
8	50	50

Total phenolic content

Total phenolic content (TPC) of leaves was determined using Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965) with some modification using gallic acid as a standard. 0.4 mL of diluted extract solution was mixed with 2 mL of Folin-Ciocalteu reagent (the reagent was pre-diluted, 10 times, with distilled water) and 1.6 mL of sodium carbonate (7.5% w/v). After 60 min of incubation at room temperature, absorbance was measured at 765 nm using UV-Vis spectrophotometer (Agilent 8453, USA) versus prepared blank.

Total flavonoid content

Total flavonoid content (TFC) was determined by the method of Zhishen et al. (1999). At time zero, 1 mL of extract was mixed with 4 mL of water and 0.3 mL of 5% NaNO₂ into a 10 mL volumetric flask. After 5 min, 0.3 mL of 10% AlCl₃ was added into the flask. At 6th min, 2 mL of 1 M NaOH was added to the mixture. Immediately, 2.4 mL of distilled water was added to the mixture in order to reach a final volume and thoroughly mixed. The absorbance of the resulting pink colored solution was read at 510 nm

versus the prepared blank. The results were expressed as mg catechin equivalents per g of leaf.

Total hydrolysable tannin content

Total hydrolyzable tannin content (HTC) of leaves was determined by the method of Willis and Allen (1998). 1 mL of diluted extract solution was mixed with 5 mL of 2.5% KIO₃. The absorbance of the resulting red colored solution was measurement at 550 nm versus the prepared blank. Final results were expressed as mg tannic acid equivalents per g of leaf.

Antioxidant activity

Two different antioxidant activity methods (Beta-carotene bleaching and DPPH assays) were used to determine antioxidant activities of the leaves.

DPPH assay was determined according to method of Singh et al. (2002). Briefly, 0.1 mL of diluted extract solution was mixed with 3.9 mL of a 25 mg/L methanolic solution of DPPH and this mixture was vortexed for 10 s. After 30 min of incubation at room temperature, absorbance was measured at 515 nm using UV-Vis spectrophotometer (Agilent 8453, USA) versus

prepared blank. Final results were expressed as EC₅₀ value which is defined as amount of sample necessary to decrease initial DPPH concentration by 50%. EC₅₀ was expressed as gram of leaf to gram of DPPH.

β-carotene bleaching assay (βC) was determined according to method of Singh et al. (2002). 0.2 mg of β-carotene, 20 mg of linoleic acid and 200 mg of tween-40 were dissolved in 0.2 mL chloroform. After removing chloroform under nitrogen flush for 5 min, 10 mL demineralized water was added with vigorous stirring to form an emulsion. Four milliliter of this solution was added to each tube containing 0.2 mL of diluted samples. The control samples were prepared by adding 0.2 mL of distilled water instead of samples. Absorbance was measured at 470 nm using UV-Vis spectrophotometer (Agilent 8453, USA) versus prepared blank which was prepared as b-carotene emulsion but without adding b-carotene. Mixtures were incubated at 50 °C in a water bath until the control sample was bleached (90 min). Tubes were cooled to room temperature and absorbance was re-measured. Final results were expressed as percent inhibition in B-carotene

assay. β-carotene- bleaching assay (βC) was using the following equation:

$$\beta C (\%) = \left[1 - \left(\frac{A_{s:0} - A_{s:90}}{A_{c:0} - A_{c:90}} \right) \right] * 100$$

Where $A_{s:0}$ is the absorbance of sample at 0th min, $A_{s:90}$ is the absorbance of sample at 90th min, $A_{c:0}$ is the absorbance of control at 0th min, $A_{c:90}$ is the absorbance of control at 90th min.

α-glucosidase inhibition activity

Alpha glucosidase inhibition activity of leaves was determined by employing the methods given in the literature (Mcdougall et al., 2005). Briefly, 50 μL of diluted extract was mixed with 1250 μL phosphate buffer (pH: 6.8) and then, 50 μL of glutathione, 50 μL of α-glycosidase enzyme and 125 μL of substrate were added respectively to the mixture and incubated at 37 °C for 20 min. The reaction was stopped by adding 2 mL sodium carbonate. The absorbance of the reaction mixture was measured at 400 nm. Resulting α-glucosidase inhibitory activities were calculated as inhibition (%) by following equation:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of extract})}{\text{Absorbance of control}} * 100$$

The concentration of the extract required to inhibit 50% of α-glucosidase activity under the assay conditions was defined as the IC₅₀ value. IC₅₀ was expressed as microgram ratio of leaf to milliliter.

Statistical analysis

A statistical software (Design Expert 7.0.0, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN) was used for designing and randomizing the experimental points in Simplex-Lattice design. Quadratic models were constructed from the experimental results for each leaves. Analysis of variance, and fitting of quadratic models, and Tukey's multiple comparison tests were performed using the SPSS 22.0 statistical package for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS AND DISCUSSION

Optimization of solvent concentration

Response surface methodology is commonly used in analyzing experimental data and the optimization of different parameters (Madamba, 1997). Simplex-Lattice design was used to determine the optimum ratio of ethanol to water for the extraction of bioactive components from the leaves. The results obtained from Simplex-Lattice design were presented in Table 2. The best equations (Linear or quadratic) giving the highest TPC of the leaves were constructed for each leaves. The leaves were subjected to extraction at optimum solvent concentrations, and then analyzed for the determination of bioactive properties.

Table 2. Optimum solvent concentrations and regression equations for each leaves

Leaves	Water-Ethanol (%,%)	Regression equation for TPC (mg/g)
Grape	44-56	TPC=13.47A+16.16B+17.54AB
Quince	78-22	TPC=8.46A+4.44B+22.89AB
Mulberry	100-0	TPC=2.58A+1.11B
Bean	100-0	TPC=1.79+0.52B
Nettle	75-25	TPC=10.04A+0.69B+21.08AB
Cherry	76-24	TPC=3.76A+2.60B
Chard	100-0	TPC=0.67A+0.51B

A and B for water and ethanol concentrations, respectively

Total phenolic content

TPC of all leaves are expressed in Table 3. The TPC of the leaves ranged from 1.17 to 16.37 mg GAE/g. There was a significant difference ($P < 0.05$) between the TPC of some leaves. Among seven leaves, the highest TPC was found in grape (*V. vinifera*) leaf. On the other hand, chard (*B. vulgaris vulgaris*) showed the lowest TPC which was ~14 fold lower than grape (*V. vinifera*) leaf. Different phenolic contents are evaluated for different and the same leaves in the literature (Kubola and Siriamornpun, 2008; Uysal et al., 2016; Lima et al., 2016). TPC of seven leaves were more than those of other leaves such as coriander leaf (ranged from 0.36 to 5.45 mg GAE/100g) (Wangensteen et al., 2004). TPC of seven leaves were less than those of other leaves such as carob leaf (130 mg GAE/g) (Hsouna et al., 2011), *Pimpinella affinis* leaf (ranged from 31.0 to 155.5 mg GAE/g), *Parrotia persica* leaf (ranged from 37.7 to 506.5 mg GAE/g), *Smilax excelsa* leaf (ranged from 19.3 to 239 mg GAE/g) (Dehghan et al., 2016).

Total flavonoid content

TFC of the leaves ranged from 0.43 to 9.32 mg CE/g. The changes in flavonoid content of some leaves were statistically significant ($P < 0.05$). Grape (*V. vinifera*) leaf had the highest flavonoid content while the lowest was in chard (*B. vulgaris vulgaris*) (Table 3). Quince (*C. oblonga*) leaf and nettle (*U. dioica*) also had high levels of TFC compared to other leaves. As shown in Table 3, linear relations were evaluated between TFC and TPC of leaves. The TFC and TPC of grape (*V. vinifera*), nettle (*U. dioica*) and quince (*C. oblonga*) were 9.32, 6.90, 3.27 mg CE/g, 16.37, 10.95, 8.75

mg GAE/g respectively. This trend is not a surprise because of the fact that flavonoids are one of the major phenolic compounds. However, TFC of grape (*V. vinifera*) leaf determined in our study was lower than those reported by Uysal et al. (2016) who reported that TFC of methanol and aqueous extracts of grape (*V. vinifera*) leaf was 19.61 and 44.92 mg rutin equivalent/g respectively. TFC of the leaves were less than those of other leaves such as *Mellilotus arvensis* (57.0 mg quercetin equivalent/g) and *Epilobium hirsutum* leaves (58.45 mg quercetin equivalent/g) (Ebrahimzadeh et al., 2008). The differences between the results might be the reference materials that were catechin in our study to express the final flavonoid concentrations.

Total hydrolyzable tannin content

TTC of leaves are given in Table 3. The TTC of leaves in our study contained from 1.17 to 16.19 mg TAE/g. The richest source of these compounds was found by mulberry (*Morus*) leaf (16.18 mg TAE/g) followed by nettle (*U. dioica*) (9.61 mg TAE/g), chard (*B. vulgaris vulgaris*) (5.69 mg TAE/g), quince (*C. oblonga*) leaf (3.93 mg TAE/g), cherry (*P. avium*) leaf (3.64 mg TAE/g), bean (*P. vulgaris*) leaf (2.30 mg TAE/g) and grape (*V. vinifera*) leaf (1.17 mg TAE/g). Previous data regarding the tannin content of leaves such as aqueous extract of pomegranate leaf (64.40 mg TAE/g), methanol extract of pomegranate leaf (128.02 mg TAE/g) (Elfalleh et al., 2012), aqueous extract of grape leaf (33.27 mg rutin equivalent/g) and methanol extract of grape leaf (36.37 mg rutin equivalent/g) (Devi and Singh, 2017) were reported.

Antioxidant activity

The results of antioxidant activity of leaves were expressed using the term EC_{50} (Table 3). The lower the EC_{50} the higher the antioxidant activity. Statistically significant differences ($P < 0.05$) were observed among some leaves in terms of antioxidant activity. Among seven edible leaves studied, nettle (*U. dioica*) leaf (8.29 g of leaf/g of DPPH), grape (*V. vinifera*) leaf (8.34 g of leaf/g of DPPH) and quince (*C. oblonga*) leaf (25.43 g of leaf/g of DPPH) exhibited the highest values of antioxidant activity while the lowest was observed in cherry (*P. avium*), mulberry (*Morus*) and bean (*P. vulgaris*) leaf (190.40, 238.80 and 288.90 g of leaf/g of DPPH respectively). As seen in Table 3, β -carotene bleaching method (βC), ranking of the samples with respect to their antioxidant activity was the same as that observed in DPPH assay. The βC of the leaves ranged from 18.96 to 78.36%. The grape leaf (*V. vinifera*) performed the best in this assay with 78.36%, followed nettle (*U. dioica*) leaf > quince (*C. oblonga*) leaf > bean (*P. vulgaris*) leaf > chard (*B. vulgaris vulgaris*). Previous studies on antioxidant activity of leaf such as red cabbage (38.6 $\mu\text{g/mL}$) (Hassimotto et al., 2005), white grape (0.175 mg/mL) and red grape leaf (0.213 mg/mL) (Lima et al., 2016) were also reported. Antioxidant activities of the leaves determined in our study were different than those reported by these authors. The differences are due to different parameters such as cultivars, agricultural practices. Furthermore, the extraction solvents affect strongly antioxidant activity (Jang et al., 2007). For example, Elfalleh et al. (2012) indicated that antioxidant activities of aqueous and methanol extracts of pomegranate leaf were 26.65 and 11.44 $\mu\text{g/mL}$ respectively.

α -glucosidase inhibition activity

Activities and properties of α -glucosidase inhibitors is very important because α -glucosidase can release glucose as a results of some reactions such as hydrolysis of linear and branched isomaltose oligosaccharides, resulting in postprandial hyperglycemia (Casirola et al., 2006; Zhang et al., 2011). As mentioned above, commercial α -glucosidase inhibitors have been used to treat diabetes. However, they have side effects. Therefore, consumers have turned to

alternative and reliable sources possessed biological activities for treatment of diabetes mellitus, recently. We also investigated the enzyme inhibitory activity against α -glucosidase of edible leaves as alternative and reliable sources in this study. The α -glucosidase inhibition activities of the leaves are shown in Table 3. Five out of seven leaves exhibited the enzyme inhibitory activity against α -glucosidase. The antidiabetic activity of leaves as IC_{50} was between 35.59 and 620.29 $\mu\text{g/mL}$. The lower IC_{50} has higher antidiabetic activity. Grape (*V. vinifera*) leaf (35.59 $\mu\text{g/mL}$) exhibited the highest values of α -glucosidase inhibition activity, followed by quince (*C. oblonga*) leaf (71.75 $\mu\text{g/mL}$) > nettle (*U. dioica*) (97.09 $\mu\text{g/mL}$) > bean (*P. vulgaris*) leaf (313.72 $\mu\text{g/mL}$) > cherry (*P. avium*) leaf (620.29 $\mu\text{g/mL}$) (Table 3). These results show that plants and their parts are so important source to threat metabolic diseases including diabetes (Mukherjee et al., 2006). Five leaves, especially grape (*V. vinifera*), quince (*C. oblonga*) and nettle (*U. dioica*) leaf are potential sources for α -glucosidase inhibitor active compounds. Previous data regarding the antidiabetic activity of vine leaf (Sendogdu et al., 2006), guince leaf (Aslan et al., 2010), mulberry leaf (Kim et al., 2013) was reported by in vivo studies. Different studies also evaluated different plants or their leaves such as spinach (6.03 $\mu\text{g/mL}$) (Vyas, 2017) *Asystasia gangetica* (325 $\mu\text{g/mL}$) (Reddy et al., 2010), *Parrotia persica* leaf (6.9 $\mu\text{g/mL}$), *Primula heterochroma* leaf (8.1 $\mu\text{g/mL}$), *Pyrus boissieriana* leaf (4.7 $\mu\text{g/mL}$) (Dehghan, 2016) *Neptuniaoleracea* leaf (19.09 $\mu\text{g/mL}$) (Lee et al., 2014). The results show that the α -glucosidase inhibition varied significantly from one leaf to another.

Correlation

Pearson's correlation coefficients between the means of each variable were computed. Statistically significant ($p < 0.01$) correlation coefficient were observed among several bioactive compounds obtained in our study (Table 4). As expected, the highest correlation coefficient were found between the phenolic and flavonoid contents values, for which $R^2 = 0.978$. The correlation coefficient between phenolic compounds and antioxidant (EC_{50}) and α -

glucosidase inhibition (IC_{50}) activity was found to be $R^2 = -0.903$ and -0.765 respectively. This means that the phenolic compounds of the leaves extracts contributed by 90.3% and 76.5% to their antioxidant and α -glucosidase inhibition activities respectively. The positive correlations between phenolic compounds and antioxidant activities in our study are similar to that demonstrated in previous studies (Barreira et al., 2008; Zhang et al., 2010). Moreover, correlation coefficients between total phenolic content and β -carotene-bleaching

activity ($R^2 = 0.969$) determined in our study is similar to that reported by Leontowicz et al. (2003) who indicated that correlation coefficients, $R^2 = 0.935$. Strong correlations were also observed between antioxidant activity and flavonoid compounds ($R^2 = -0.849$) and α -glucosidase inhibition activity ($R^2 = 0.82$). Due to the low correlation coefficients of TTC with EC_{50} and IC_{50} , we could say that TTC did not play an important role on antioxidant and α -glucosidase inhibition activities.

Table 3. Some analytical properties of leaves

Leaves	Analytical Properties					
	Total Phenolic (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg CE/g)	β -carotene bleaching assay (%)	Hydrolysable tannin (mg TAE/g)	Antioxidant Activity (g leaf/g DPPH)	α -glucosidase inhibition (μ g/mL)
Grape	16.37 \pm 1.08 ^a	9.32 \pm 0.57 ^a	78.36 \pm 0.33 ^a	1.17 \pm 0.13 ^c	8.34 \pm 0.71 ^c	35.96 \pm 13.1 ^c
Quince	8.75 \pm 0.36 ^c	3.27 \pm 0.16 ^c	30.72 \pm 0.70 ^c	3.93 \pm 0.55 ^d	25.43 \pm 1.12 ^c	71.70 \pm 26.55 ^c
Mulberry	3.12 \pm 0.53 ^{cd}	1.36 \pm 0.10 ^c	n.d	16.18 \pm 0.88 ^a	238.80 \pm 6.86 ^{ab}	n.d
Bean	2.12 \pm 0.13 ^{cd}	0.89 \pm 0.04 ^{cd}	21.09 \pm 0.38 ^d	2.30 \pm 0.70 ^{de}	288.90 \pm 26.02 ^a	313.70 \pm 26.50 ^b
Nettle	10.95 \pm 0.22 ^b	6.90 \pm 0.03 ^b	48.27 \pm 1.88 ^b	9.61 \pm 0.29 ^b	8.29 \pm 0.07 ^c	97.10 \pm 10.05 ^c
Cherry	3.59 \pm 0.19 ^d	1.29 \pm 0.08 ^{cd}	n.d	3.64 \pm 0.24 ^d	190.40 \pm 9.19 ^b	620.30 \pm 30.52 ^a
Chard	1.17 \pm 0.13 ^d	0.43 \pm 0.03 ^d	18.96 \pm 1.67 ^d	5.69 \pm 0.50 ^c	n.d	n.d

n.d: not determined

Values are means of duplicate analysis. Data expressed as means \pm standard deviation. Means within each column with different letters (a–e) differ significantly ($P < 0.05$).

Table 4. Correlation coefficient among the levels of analyzed parameters

	TPC	TFC	β C	TTC	EC_{50}	IC_{50}
TPC	1					
TFC	0.978 ^a	1				
β C	0.947 ^a	0.969 ^a	1			
TTC	-0.259	-0.195	-0.193	1		
EC_{50}	-0.903 ^a	-0.849 ^a	-0.664	0.298	1	
IC_{50}	-0.765 ^a	-0.726 ^b	-0.713 ^b	-0.143	0.821 ^a	1

a,b = correlation is significant at the 0.01 and 0.05 level respectively

TPC= total phenolic content; TFC= total flavonoid content; β C= β - carotene bleaching assay;

TTC= Total hydrolysable tannin; EC_{50} = antioxidant activity; IC_{50} = α -glucosidase inhibition

CONCLUSION

From the observed results, leaves of the present study were rich sources of some components such as flavonoids, tannins and phenolics. Furthermore, we indicated that some of them not only possess these components but also exhibited antioxidant activity and inhibitory potential against α -glucosidase in vitro.

Therefore, they could be consumed as alternative to synthetic materials and drugs for treatment some disease because of their high biological activity. On the other hand, in vitro studies are not enough for clinical studies. Further in vivo and in vitro studies are necessary to provide better knowledge about both these leaves and other plants' leaves.

ACKNOWLEDGMENTS

Scientific Research Project Unit Erciyes University financially supported this project (Project No: FYL-2013-4245).

REFERENCES

- Ani, V., Varadaraj, M.C., Naidu, K.A. (2006). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cummin (*Cuminum nigrum* L.). *Eur Food Res Technol.* 224(1): 109-115.
- Aslan, M., Orhan, N., Deliorman, O.D., Ergun, F. (2010). Hypoglycemic activity and antioxidant potential of some medicinal plants traditionally used in Turkey for diabetes. *J Ethnopharmacol*, 128: 384-389.
- Barreira, J.C., Ferreira, I.C., Oliveira, M.B.P., Pereira, J.A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chem*, 107(3): 1106-1113.
- Basma, A.A., Zakaria, Z., Latha, L.Y., Sasidharan, S. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(5): 386-390.
- Bösenberg, L.H. and Van Zyl D.G. (2008). The mechanism of action of oral antidiabetic drugs: a review of recent literature. *JEMDSA*, 13(3):80-88.
- Braithwaite, M.C., Tyagi, C., Tomar, L.K., Kumar, P., Choonara, Y.E., Pillay, V. (2014). Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine: An overview. *J Funct Foods*, 6: 82-99.
- Casirola, D. M. and Ferraris, R. P. (2006). Alpha-Glucosidase inhibitors prevent diet-induced increases in intestinal sugar transport in diabetic mice. *Metabolism*, 2006(55): 832-841.
- Ceriello, A. and Motz, E. (2004). Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol*, 24(5): 816-823.
- Dehghan, H., Sarrafi, Y., Salehi, P. (2016). Antioxidant and antidiabetic activities of 11 herbal plants from Hyrcania region, Iran. *J. Food Drug Anal*, 24(1): 179-188.
- Devi, S. and Singh, R. (2017). Evaluation of antioxidant and anti-hypercholesterolemic potential of *Vitis vinifera* leaves. *J. Adv. Nutr. Hum*, 6(3): 131-136.
- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., Bekhradnia, A.R. (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *Afr. J. Biotechnol*, 7(18).
- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., Ferchichi, A. (2012). Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *J. Med. Plants Res*, 6(32): 4724-4730.
- Hassimotto, N.A., Genovese, M.S., Lajolo, F.M. (2005). Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *J. Agric. Food Chem*, 53: 2928-2935.
- Hsouna, A.B., Saoudi, M., Trigui, M., Jamoussi, K., Boudawara, T., Jaoua, S., El Feki A. (2011). Characterization of bioactive compounds and ameliorative effects of *Ceratonia siliqua* leaf extract against CCl₄ induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Food Chem. Toxicol*, 49(12): 3183-3191.
- Jain, A., Mohapatra, A.K., Yunus, G.Y., Tiwari, R., Parakh, A., Verma, S. (2017). Estimating concentration of fluoride in edible leaves locally grown around Raipur, Chhattisgarh. *J. Public. Health Dent*, 15(2): 177.
- Jang, H.D., Chang, K.S., Huang, Y.S., Hsu, C.L., Lee, S.H., Su, M.S. (2007). Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chem*, 103(3): 749-756.
- Ju, Y., Zhuo, J., Liu, B., Long, C. (2013). Eating from the wild: diversity of wild edible plants used by Tibetans in Shangri-la region, Yunnan, China. *J. Ethnobiol Ethnomed*, 9(1): 28.
- Kim, J.Y., Chung, H.I., Jung, K.O., Wee, J.H., Kwon, O. (2013). Chemical profiles and hypoglycemic activities of mulberry leaf extracts vary with ethanol concentration. *Food Sci. Biotechnol*, 22(5): 1-5.

- Kitabchi, A.E., Umpierrez, G.E., Miles, J.M., Fisher, J.N. (2009). Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care*, 32(7): 1335-1343.
- Klaus, A., Kozarski, M., Vunduk, J., Todorovic, N., Jakovljevic, D., Zizak, Z., Van Griensven, L.J. (2015). Biological potential of extracts of the wild edible Basidiomycete mushroom *Grifola frondosa*. *Food Res. Int*, 2015; 67: 272-283.
- Kubola, J. and Siriamornpun, S. (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chem*, 110(4): 881-890.
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., Prakash, O. (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn Rev*, 5(9): 19.
- Lee, S.Y., Mediani, A., Nur Ashikin, A.H., Azliana, A.B.S., Abas, F. (2014). Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of the leaf and stem of selected traditional medicinal plants. *Int. Food Res. J*, 21(1).
- Leontowicz, M., Gorinstein, S., Leontowicz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E., Trakhtenberg, S. (2003). Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *J. Agric. Food Chem*, 51(19): 5780-5785.
- Lima, A., Bento, A., Baraldi, I., Malheiro, R. (2016). Selection of grapevine leaf varieties for culinary process based on phytochemical composition and antioxidant properties. *Food Chem*, 212: 291-295.
- Ma, Y.Y., Zhao, D.G., Zhou, A.Y., Zhang, Y., Du, Z., Zhang, K. (2015). α -Glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of phenolics from the flowers of *Edgeworthia gardneri*. *J. Agric. Food Chem*, 63: 8162-8169.
- Madamba, P.S. (1997). Optimization of the drying process: An application to the drying of garlic. *Drying Technol*, 5(1): 117-136.
- Mcdougall, G.J., Shpiro, F., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., Stewart, D. (2005). Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase. *J. Agric. Food Chem*, 53(7): 2760-2766.
- Meziti, A., Meziti, H., Boudiaf, K., Mustapha, B., Bouriche, H. (2012). Polyphenolic profile and antioxidant activities of *Nigella sativa* seed extracts in vitro and in vivo. *World Acad. Sci. Eng. Technol*, 64(6): 24-32.
- Mukherjee, P. K., Maiti, K., Mukherjee, K., & Houghton, P. J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *J Ethnopharmacol*, 106(1): 1-28.
- Noh, H. and Ha, H. (2011). Reactive oxygen species and oxidative stress. In *Diabetes and the Kidney*. Karger Publishers. 170: pp. 102-112.
- Reddy, N.V.L.S., Anarthe, S.J., Raghavendra, N.M. (2010). In vitro antioxidant and antidiabetic activity of *Asystasia gangetica* (Chinese Violet) Linn. (*Acanthaceae*). *J. Innov. Pharm. Biol. Sci*, 1(2): 72-75.
- Sendogdu, N., Aslan, M., Orhan, D.D., Ergun, F., Yesilada, E. (2006). Antidiabetic and antioxidant effects of *Vitis vinifera* L. leaves in streptozotocin-diabetic rats. *J. Pharm. Sci. Exp. Pharmacol*, 3(1): 7-18.
- Singh, R.P., Murthy, K.N.C., Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J. Agric. Food Chem*, 50: 81-86.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*, 16(3): 144-158.
- Turkoglu, A., Duru, M.E., Mercan, N. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of *Russula delica* Fr: An Edible wild mushroom. *Eurasip J. Bioinf*, 2(1): 54-67.
- Uysal, S., Zengin, G., Aktumsek, A., Karatas, S. (2016). Chemical and biological approaches on nine fruit tree leaves collected from the Mediterranean region of Turkey. *J. Funct. Foods*, 22: 518-532.

- Vyas, M. (2017). Nutritional profile of spinach and its antioxidant & antidiabetic evaluation. *Int. J. Clin. Pharm*, 11(03).
- Wangensteen, H., Samuelsen, A.B., Malterud, K.E. (2004). Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chem*, 88(2): 293-297.
- Willis, R.B. and Allen, P.R. (1998). Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. *Analyst*, 123: 435-439.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E., Pokorný, J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 108(9): 776-793.
- Zhang, L., Hogan, S., Li, J.R., Sun, S., Canning, C., Zheng, S. J. (2011) Grape skin extract inhibits mammalian intestinal α -glucosidase activity and suppresses postprandial glycemic response in streptozocin-treated mice. *Food Chem*, 2011(126): 466–471.
- Zhang, Y., Li, X., Wang, Z. (2010). Antioxidant activities of leaf extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and related phenolic constituents. *Food Chem. Toxicol*, 48(10): 2656-2662.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64(4): 555-559.

RAFİNE BİTKİSEL YAĞLARDA 3-MCPD VE GE RİSKİ: YAPISI, OLUŞUM MEKANİZMASI, YASAL DÜZENLEMELERİ VE AZALTILMA YÖNTEMLERİ

Gizem Sevindirici*, Onur Özdiciciler, Fahri Yemişçioğlu

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

Geliş / Received: 14.05.2018; Kabul / Accepted: 15.09.2018; Online baskı / Published online: 26.10.2018

Sevindirici, G., Özdiciciler, O., Yemişçioğlu, F. (2018). Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve GE riski: yapısı, oluşum mekanizması, yasal düzenlemeleri ve azaltılma yöntemleri. *GIDA* (2018) 43 (5): 886-895 doi: 10.15237/gida.GD18053

Sevindirici, G., Özdiciciler, O., Yemişçioğlu, F. (2018). 3-MCPD and GE risk in refined vegetable oils: structure, formation mechanism, legal regulations and mitigation techniques. GIDA (2018) 43 (5): 886-895 doi: 10.15237/gida.GD18053

ÖZ

3-monokloropropan 1,2-diol (3-MCPD) ve glisidil bileşenleri proses esnasında oluşan gıda kaynaklı kontaminantlardır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından 3-MCPD karsinojen (grup 2B); glisidil ise genotoksik karsinojen (grup 2A) olarak tanımlanmaktadır. 3-MCPD ve glisidil bileşenleri; asitle hidrolize edilmiş sebze proteinleri, soya sosları, bebek mamaları, kızarmış patates ve benzeri atıştırılabilir gıdalar, kahve gibi çeşitli gıda gruplarında bulunmaktadır. Rafine bitkisel yağlar birçok farklı gıda grubunun önemli bir bileşeni olmalarından dolayı 3-MCPD ve GE varlığı açısından en riskli ürün gruplarından biridir. Rafinasyon işlemi sırasında yüksek sıcaklıkta işlem gören yağlarda 3-MCPD ve GE oluşabilmektedir. Sağlık üzerine etkileri düşünüldüğünde, 3-MCPD ve GE'nin azaltılması önemli bir çalışma konusu haline gelmiştir. Bu çalışmada kontaminantların kimyasal yapısı, oluşum mekanizması, sağlık üzerine etkileri, yasal düzenlemeler ve azaltılmasına yönelik yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar Kelime: 3-MCPD, glisidil esteri (GE), monogliserit, digliserit, rafine yağ

3-MCPD AND GE RISK IN REFINED VEGETABLE OILS: STRUCTURE, FORMATION MECHANISM, LEGAL REGULATIONS AND MITIGATION TECHNIQUES

ABSTRACT

3-monochloropropane 1,2-diol (3-MCPD) and glycidyl are food-based contaminants that occur during process. 3-MCPD was classified as possibly carcinogenic to humans (group 2B) and glycidyl was classified as genotoxically carcinogenic to humans (group 2A) by International Agency for Research on Cancer (IARC). 3-MCPD and glycidyl components were detected in various food groups such as acid-hydrolyzed vegetable proteins, soy sauces, infant formulas, snack foods like chips, coffee. One of the most susceptible food group is refined edible oils for 3-MCPD and GE presence since, oils are widely used for various purposes in many food products. 3-MCPD and GE may be formed in oils that are processed at high temperatures during oil refining. Mitigation of 3-MCPD and GE is a crucial issue in terms of food safety. This study focused on chemical structure, formation mechanism, effects of process contaminants on human health, legal regulations and mitigation strategies.

Key words: 3-MCPD, glycidyl esters (GE), monoglyceride, diglyceride, refined oil

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ gizemsevindirici@gmail.com,

☎(+90) 232 311 3004

☎(+90) 232 311 4831

GİRİŞ

3-MCPD ve glisidil bileşenleri karsinojenik proses kontaminantlarıdır. İlk olarak hidrolize sebze proteinlerinde ve soya soslarında tespit edilmiştir (Velisek vd., 1980). Yapılan çalışmalar sonucunda; ekmek ve diğer tahıl kökenli ürünler, bebek mamaları, kızarmış patates ve patates cipsleri, tütsülenmiş et ürünleri ve balık, patates ve tahıl kökenli atıştırmalık gıdalar, kahve gibi farklı gıda gruplarında da bu kontaminantlara rastlanmıştır (Zelinkova vd., 2006; Wöhrlin vd., 2015; Li vd., 2016b; Leigh ve MacMahon, 2017). 3-MCPD bileşeni Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından “insan üzerinde olası kanser etkileri olan madde” (grup 2B) olarak, GE ise “insan üzerinde muhtemel kanser etkileri olan madde” (grup 2A) olarak tanımlanmaktadır (IARC, 2000; IARC, 2012). Yapılan toksikolojik araştırmalar sonucu, Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından 3-MCPD kontaminantı için tolere edilebilir günlük alım miktarının 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmesi tavsiye edilmektedir (EFSA, 2018).

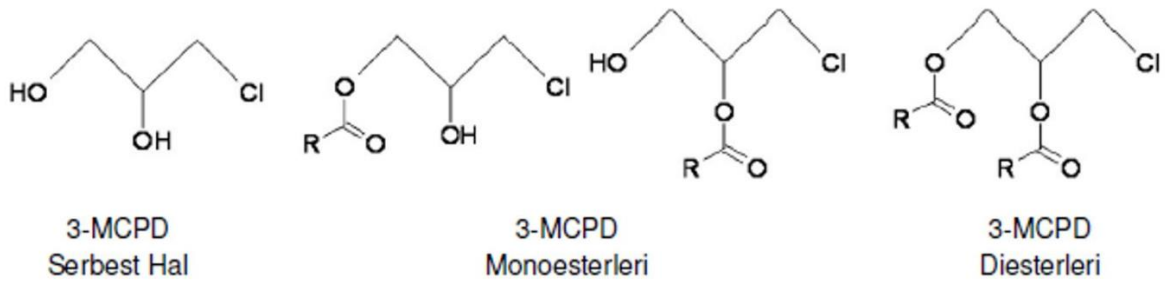
Bitkisel yağlarda, 3-MCPD ve glisidil kontaminantı yağ asitleri ile esterleşmiş halde bulunmaktadır (Özdikicierler, 2016b; Li vd., 2016b). 3-MCPD ve GE'nin oluşum mekanizması incelendiğinde; trigliseritlerin parçalanma ürünü olan mono ve digliseritlerin yüksek sıcaklık koşullarında GE'ye dönüştüğü; ortamda klor iyonu kaynağı bulunması halinde ise 3-MCPD oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca işlem sıcaklığı ve süresi de oluşan kontaminant miktarı üzerinde etkili olmaktadır (Bakhiya vd., 2011; Hamlet vd., 2011; Rahn ve Yaylayan, 2011; Craft vd., 2013).

Ham yağların tüketilebilir hale gelmesi için rafinasyon işlemine tabi tutulmaları gerekmektedir (Gümüşkesen ve Yemişçioğlu, 2010). Rafinasyon işlemi sırasında yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen deodorizasyon kademesinde 3-MCPD ve GE oluşabilmektedir (Özdikicierler, 2016b). Bitkisel yağların birçok gıda grubunun yapısında bulunması ve kızartma gibi gıda hazırlama tekniklerinde pişirme ortamı olarak kullanılması sonucu yağlarda bulunan kontaminantlar gıdaya geçmektedir (Arisseto vd., 2017b). Kontaminantların azaltılmasına yönelik yapılan çalışmalar; kontaminant oluşumuna neden olan monogliseritler, digliseritler ve klor iyonunun ham yağ üretimi sırasında miktarının azaltılması, proses parametrelerinin kontaminant oluşumunu önleyecek şekilde optimizasyonu ya da oluşan kontaminantın son üründe uygun adsorbant maddelerle miktarının azaltılması gibi yaklaşımları içermektedir (Strijowski vd., 2011; Matthaus ve Pudol, 2013; Li vd., 2016a; Pudol vd., 2016).

Bu çalışmada, 3-MCPD ve GE'nin yapısı, oluşum mekanizması, sağlık üzerine etkileri, bu kontaminantlar ile ilgili yasal düzenlemeler, gıdalarda miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri ve azaltılmasına yönelik yapılan çalışmalar incelenmiştir.

3-MCPD Maddesinin Kimyasal Yapısı

3-MCPD gıdalarda serbest halde ve yağ asitleri ile esterleşmiş olarak iki farklı formda bulunabilmektedir (Ergönül ve Gödeli, 2013). Bitkisel yağlarda ise daha çok 3-MCPD'nin yağ asitleri ile esterleşmiş halde bulunduğu belirtilmektedir (Özdikicierler, 2016b; Li vd., 2016b). Şekil 1.'de 3-MCPD bileşeninin kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 1. Serbest 3-MCPD ve 3-MCPD esterlerinin kimyasal yapısı (Özdikicierler, 2016b).

3-MCPD ve GE'nin Sağlık Üzerine Etkileri

3-MCPD ve GE sindirim sisteminde lipaz enzimi tarafından parçalanarak serbest hale geçmektedir. 3-MCPD'nin serbest veya ester formda olması toksikolojik etkilerinde bir fark yaratmamaktadır (Abraham vd., 2013). Toksikolojik çalışmalar, 3-MCPD ve GE'nin insan vücudunda tamamen emilebildiği varsayılarak yapılmaktadır (EFSA, 2014; Li vd., 2015; Arisseto vd., 2017a).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), 3-MCPD bileşenini "insan üzerinde olası kanser etkileri olan madde" (grup 2B) olarak, GE'yi ise "insan üzerinde muhtemel kanser etkileri olan madde" (grup 2A) olarak tanımlamaktadır (IARC, 2000; IARC, 2012).

Ulusal ve uluslararası mevzuatlarda 3-MCPD kontaminantı için günlük alım limiti 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Yapılan toksikolojik çalışmalar sonucunda deney farelerinde 3-MCPD içeren gıdalarla uzun süreli beslenme ile renal ve testiküler tümör oluşumu gözlenmiştir (JECFA, 2016).

3-MCPD ve GE İle İlgili Yasal Düzenlemeler

Avrupa Birliği komisyonlarının 3-MCPD ile ilgili ilk değerlendirme raporu 1994 yılında yayınlanmıştır. 2001 yılında güncellenen yeni raporda; karsinogen olarak tanımlanan 3-MCPD bileşeninin soya sosları ve asitle hidrolize edilmiş sebze proteinlerinde iz miktarda bulunduğu, ancak bazı gıda gruplarında bu bileşenin konsantrasyonunun artış gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca raporda *in vivo* çalışmaların devam ettiği vurgulanarak, günlük tolere edilebilir alım miktarının 2 µg/kg vücut ağırlığı olması gerektiği beyan edilmiştir (EFSA, 2001).

Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından 2004 yılında 10 ülkenin katılımıyla gerçekleştirilen ve soya sosları, hidrolize sebze proteinleri, süt ve süt ürünleri, bitkisel yağlar ve emülsiyonları, tahıl ve tahıl ürünleri, pastacılık ve fırıncılık ürünleri, et ve et ürünleri gibi farklı gıda gruplarında 3-MCPD düzeylerinin yer aldığı kapsamlı bir rapor yayınlanmıştır. Rapora göre soya sosları 3-MCPD açısından en çok risk taşıyan grup (yaklaşık 15 mg/kg) olarak belirlenmiştir.

Ham yağlardaki 3-MCPD düzeyinin ise 1.5 mg/kg'ı geçmediği belirtilmiştir (EFSA, 2004).

2009 yılında EFSA tarafından yayınlanan raporda 3-MCPD kontaminantının toksisitesi hakkında bilgi verilerek; riskli ürün grupları için güncellenmiş 3-MCPD düzeylerine yer verilmiştir (EFSA, 2009). 2013 yılında yayınlanan raporda ise 3-MCPD alımının en fazla 1.5 µg/kg vücut ağırlığı olduğu ve tolere edilebilir günlük alım limiti olan 2 µg/kg vücut ağırlığını geçmediği tespit edilmiştir (EFSA, 2013).

EFSA tarafından 2016 yılında, 3-MCPD ve GE'nin kimyasal yapılarının, oluşum mekanizmalarının, farklı gıda gruplarında bulunma düzeylerinin ve toksikolojik çalışmaların yer aldığı kapsamlı bir rapor yayınlanmıştır. Raporda 3-MCPD'nin yağların rafinasyonu sırasında deodorizasyon aşamasında olduğu vurgulanmıştır. Triglisitlerden hidroliz reaksiyonu sonucu oluşan mono ve diglisitlerin yüksek sıcaklıkta açiloksonyum iyonlarına dönüştüğü, ortamdaki klor iyonu varlığı ile 3-MCPD'nin olduğu belirtilmiştir. GE'nin ise 200°C'nin üzerindeki sıcaklık uygulamalarında açiloksonyum iyonlarından olduğu vurgulanırken; monoglisitlerin dehidrasyonu ile de oluşabileceği belirtilmiştir. Raporda, gıdalarda 3-MCPD düzeylerinin saptanabilmesi için kullanılacak direkt ve indirekt analiz metodlarına yer verilmiş, kararlı bir yapıya sahip olmayan serbest glisidilin miktarının belirlenebilmesi için uygun bir metodun olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca raporda, 13 farklı ülkeden elde edilen verilere göre en riskli grup hidrolize sebze proteinleri (yaklaşık 25 µg/kg 3-MCPD) olurken; bitkisel yağlar arasında 3-MCPD ve GE açısından en riskli ürün grubunun palm yağı (yaklaşık 2912 µg/kg 3-MCPD, 3955 µg/kg GE) olduğu tespit edilmiştir. Toksikolojik çalışmalar sonucu 3-MCPD için belirlenen tolere edilebilir günlük alım miktarının 2 µg/kg vücut ağırlığından 0.8 µg/kg vücut ağırlığına düşürülmesi gerektiği belirtilmiştir (EFSA, 2016). Ancak, 2018 yılında yayınlanan son ve güncel raporda, tolere edilebilir günlük alım miktarı yeniden 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak önerilmiştir (EFSA, 2018). Öneriler doğrultusunda Avrupa Birliği mevzuatı

güncellenerek son ürün olarak satışa sunulan bitkisel yağlarda maksimum GE limitinin 1 mg/kg, bebek mamaları ve ilaç yapımında kullanılacak yağlarda ise bu limitin 0.5 mg/kg olmasına karar verilmiştir. Bu limitlerin yürürlüğe girmesi için verilen tarih 19.03.2018 olarak belirlenmiş ve uygulamanın hayata geçirilmesi ve üreticilerin üretim sistemlerini yeni mevzuat limitlerine göre tekrar düzenlemesi için 19.09.2018'e kadar adaptasyon süresi öngörülmüştür (EU, 2018).

3-MCPD ve GE Analiz Yöntemleri

Ürünlerdeki 3-MCPD ester seviyelerinin belirlenmesi amacıyla direkt ve indirekt olmak üzere iki analitik yaklaşım bulunmaktadır (Yıldırım ve Yorulmaz, 2017). Direkt analiz yönteminin prensibi; mono ve diglisitlerin yapısını oluşturan her bir yağ asidinin tek tek incelenerek 3-MCPD ve GE'nin sıvı kromatografisi-kütle spektrofotometrisi (LC/MS) aracılığıyla kantitatif olarak miktarının belirlenmesine dayanır. GE, katı faz ekstraksiyonu (SPE) ve jel geçirim kromatografisi (GPC) yardımıyla saflaştırılarak analiz edilmektedir. Yağlarda GE'nin belirlenmesi amacıyla direkt analitik yöntem Amerikan Yağ Kimyası Topluluğu (AOCS) tarafından standardize edilmiştir (AOCS, 2013). Ancak, 3-MCPD miktarının belirlenmesi için direkt metodun uygulanması oldukça zor olmasının yanı sıra herhangi bir gıda için tam olarak geçerliliği onaylanmamıştır. İndirekt analiz yönteminin prensibi ise yağ asidi ile ester halde bulunan 3-MCPD ve glisidil bileşenlerinin asidik ya da alkali koşullar altında transesterifikasyon işlemine tabi tutularak serbest hale geçmelerini sağlayıp gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC/MS) ile kantitatif analizinin gerçekleştirilmesine dayanmaktadır (Ermacora ve Hrciric, 2013). İndirekt analiz yöntemi için pek çok metod geliştirilmiş olmasına rağmen tüm metotlarda saflaştırma, türevlendirme ve GC/MS prosedürleri benzerlik göstermektedir (EFSA, 2015; Jedrkiewicz vd., 2016; Garballo-Rubio vd., 2017; Zelinkova vd., 2017).

3-MCPD ve GE Oluşum Mekanizması

3-monokloropropan 1,2 diol (3-MCPD) bileşeni proses esnasında oluşan, karsinojenik gıda kaynaklı kontaminantlardandır (Ermacora ve Hrciric, 2014; Li vd., 2016b). İlk olarak Velisek ve arkadaşları (1980) tarafından asitle hidrolize edilmiş sebze proteinlerinde ve soya soslarında tespit edilen bu kontaminant, daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda ekmek ve diğer tahıl kökenli ürünler, bebek mamaları, kızarmış patates ve patates cipsleri, tütsülenmiş et ürünleri ve balık, patates ve tahıl kökenli atıştırılabilir gıdalar, kahve gibi çeşitli işlenmiş gıdalarda da farklı konsantrasyonlarda tespit edilmiştir (Zelinkova vd., 2006; Wöhrlin vd., 2015; Li vd., 2016b; Leigh ve MacMahon, 2017).

3-MCPD'nin oluşabilmesi için öncelikle triglisitlerin hidroliz reaksiyonu sonucu mono ve diglisitlere parçalanması gerektiğini belirten araştırmacılar; monoglisit ve diglisitlerden yüksek sıcaklıkta siklik açiloksonyum iyonlarının ve GE'nin oluştuğunu; ortamdaki klor iyonu varlığı ile bu bileşiklerin 3-MCPD'ye dönüştüğünü tespit etmişlerdir (Bakhiya vd., 2011; Hamlet vd., 2011). Monoglisitler, diglisitler ve klor iyonu 3-MCPD oluşumuna sebep oldukları için öncü maddeler olarak adlandırılmaktadır. Öncü maddelerin yanı sıra işlem sıcaklığı ve süresi gibi parametrelerin de 3-MCPD oluşumunda rol oynadıkları belirtilmiştir (Rahn ve Yaylayan, 2011; Craft vd., 2013; Zhang vd., 2013).

3-MCPD ve GE'nin kızartma gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen gıda hazırlama aşamalarında oluştuğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (Hammouda vd., 2017; Wong vd., 2017a; Belkova vd., 2018). Ayrıca ham yağların rafinasyonu sırasında özellikle yüksek sıcaklıkların uygulandığı (230-250°C) deodorizasyon kademesinde 3-MCPD ve GE oluşabilmektedir (Gümüşkesen ve Yemişçiöglü, 2010; Özdikicierler, 2016b).

Franke vd. (2009) tarafından 3-MCPD oluşumunun incelendiği bir çalışmada; rafinasyon aşamasının yüksek sıcaklıkta gerçekleşen deodorizasyon kademesinde 3-MCPD esterlerinin oluştuğu tespit edilmiştir. Ortamda monoglisit, diglisit ve klor iyonu konsantrasyonunun

artması ile kontaminant oluşumunun da hızlandığı belirtilmiştir. Kolza yağı ve palm yağının aynı işlem koşullarına tabi tutularak 3-MCPD ve GE oluşumu bakımından karşılaştırıldığı çalışmada; palm yağında yüksek digliserit içeriği nedeniyle kolza yağına oranla daha fazla kontaminant oluştuğu tespit edilmiştir.

Palm yağı ve zeytinyağı gibi meyve yağlarının tohumlara kıyasla yüksek su içeriği nedeniyle hidrolize daha eğilimli oldukları bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda, hidroliz reaksiyonu ile trigliseritlerin parçalanarak mono ve digliseritleri oluşturması ve meyvelerin yapısında bulunan klor iyonunun yağa geçmesi nedeniyle bu yağların rafinasyonu sırasında 3-MCPD oluşum riskinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Destailats vd., 2012; Matthaus ve Pudel, 2013; Smidrkal vd., 2016; Zhao vd., 2016).

3-MCPD ve GE Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Deodorizasyon koşullarında 3-MCPD ve GE oluşumuna öncü maddelerden digliseritlerin monogliseritlere kıyasla daha güçlü bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Aynı miktardaki mono ve digliseritler kıyaslandığında digliseritlerden yaklaşık iki kat daha fazla 3-MCPD oluştuğu tespit edilmiştir (Freudenstein vd. 2013; Ermacora ve Hrciricik 2014).

Yağ çeşidi, ham yağ elde etme yöntemi ve yağın yapısında bulundurduğu klor miktarı 3-MCPD ve GE oluşumunu etkilemektedir. İşlenecek yağın su içeriği tohumlara kıyasla daha yüksek olan meyvelerden elde edilmesi ve ekstraksiyon işlemi sırasında sıcaklık uygulamaları kontaminant oluşumunu arttırmaktadır (Aniolowska ve Kita 2015; Cheng vd., 2016). Ayrıca önemli bir öncü madde olan klorun kaynağının kontaminant oluşumunda bir fark yaratmadığı ancak miktarındaki artışa paralel olarak 3-MCPD oluşumunu etkilediği tespit edilmiştir (Destailats vd., 2012; Zhao vd., 2016; Tiong vd., 2018).

Bitkisel yağlarda, sıcaklık ve süre parametrelerine bağlı olarak rafinasyon işleminin deodorizasyon kademesinde ya da kızartma gibi yüksek sıcaklıkta gerçekleşen işlemlerde 3-MCPD ve GE

oluşabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, 200°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda kontaminant miktarında önce keskin bir artış gözlemlendiği, işlem süresi uzadıkça oluşum ve yıkım arasında bir denge sağlandığı belirtilmiştir. (Aniolowska ve Kita 2015; Cheng vd., 2016; Özdikicierler vd., 2016a; Zhao vd., 2016; Wong vd., 2017b).

Gıdalarda 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerine klor, mono ve digliseritlerin etkilerinin yanı sıra işlem sıcaklığı ve süresi de mekanizmayı etkileyen diğer faktörlerdir (Bakhiya vd., 2011; Hamlet vd., 2011; Craft vd., 2013). Klor iyonu kaynağı, proses esnasında gıdaya eklenen tuz olabileceği gibi, yağ elde edilen bitkinin yapısındaki organik ya da inorganik klor bileşikleri ve ağartma toprağından gelen serbest hidrojen klorür de olabilmektedir (Andres vd., 2013; Ermacora ve Hrciricik, 2014; Vicente vd., 2015; Smidrkal vd., 2016; Merkle vd., 2018; Tiong vd., 2018)

3-MCPD ve GE Miktarının Azaltılmasına Yönelik Çözümler

3-MCPD ve GE'nin yukarıda bahsedilen toksikolojik etkileri, kontaminantların azaltılmasına yönelik çalışmaların gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu konuda yapılan bazı çalışmaların sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde 3-MCPD ve GE miktarının azaltılmasının üç farklı yaklaşımla mümkün olabileceği öngörülmektedir (Matthaus ve Pudel, 2013). İlk yaklaşım, son üründe kontaminantların adsorbantlar ile gıdadan uzaklaştırılarak limit değerlerin altına düşürülmesini ya da tamamen ortadan kaldırılmasını sağlamaktır. İkinci yaklaşım uygulanacak işlemin sıcaklığı ve süresi gibi proses parametrelerinin optimize edilmesini; son yaklaşım ise 3-MCPD ve GE oluşumuna sebep olacak deodorizasyon gibi yüksek sıcaklık uygulamalarının yer aldığı işlemlerden önce ham yağın üretimi sırasında öncü bileşenlerin ortadan kaldırılmasını kapsamaktadır (Strijowski vd., 2011; Li vd., 2016a; Pudel vd., 2016).

3-MCPD ve GE oluşumunun azaltılmasına yönelik stratejilerden biri; rafine edilmiş yağa zeolit, magnezyum silikat gibi adsorbant madde veya kontaminantları parçalayan enzim ilavesi ile son üründe miktarının azaltılması ya da yüksek

sıcaklık uygulamasından önce yağa antioksidan eklenerek 3-MCPD ve GE oluşumunun engellenmesidir (Strijowski vd., 2011; Zhang vd., 2016). Ancak adsorbant, enzim ve antioksidan ilavesinin prosese ek işlemler gerektirmesinin yanı sıra kontaminant miktarındaki azalmanın düşük seviyelerde gerçekleşmesinden dolayı pratik bir yaklaşım olmadığı görülmektedir (Matthaus ve Pudél, 2013; Cheng vd., 2017).

3-MCPD ve GE'nin yağdaki miktarını azaltma tekniklerinden bir diğeri ise uygulanan işlem parametrelerinin kontaminant oluşumunu azaltacak şekilde optimize edilmesi ya da proseste bazı modifikasyonların gerçekleştirilmesidir. Palm, zeytinyağı ve pirina yağı gibi yüksek asitli yağlar, serbest yağ asitlerinin deodorizasyon aşamasında yağdan uzaklaştırıldığı fiziksel rafinasyon işlemine tabi tutulmaktadır. Fiziksel rafinasyon yerine serbest yağ asitlerinin deodorize edilmeden önce yağdan uzaklaştırıldığı kimyasal rafinasyon işleminin uygulanması ile kontaminant oluşumunun azalacağı bilinmektedir. Ancak kimyasal rafinasyon işleminde nötr yağ kaybı fiziksel rafinasyona kıyasla daha fazla olacaktır. Bunun yanı sıra, geleneksel deodorizasyon işlemi yerine daha ılımlı işlem parametrelerine sahip olan kısa yol distilasyonu ya da düşük sıcaklıkta uzun süre ve yüksek sıcaklıkta kısa süre kademelerini içeren ikili deodorizasyon uygulaması ile son ürünlerdeki kontaminant miktarı büyük ölçüde azaltılabilir (Matthaus ve Pudél, 2013; Pudél vd., 2016). Kısa yol distilasyon metodu, ikili deodorizasyon sistemi ve kimyasal rafinasyon uygulamasının amacına ulaşmasına karşın nötr yağ kaybını arttırmamasından ve mevcut proses akışına zorunlu ilaveler getirdiğinden maliyet artışına sebep olmakta bu nedenle endüstri tarafından tercih edilmemektedir.

Kontaminantların azaltılmasına yönelik önerilen son strateji ise monogliseritler, digliseritler, klor iyonu gibi 3-MCPD ve GE oluşumuna neden olan öncü maddelerin miktarının ham yağ elde edilme sürecinde azaltılarak kontaminant oluşumunun engellenmesidir. Asidik ortamda kontaminant oluşumunun arttığı bilinmektedir. Tohum ve meyveler dalından koptukları an yapısında bulunan yağ hidrolize olmaya başlar. Hidroliz

sonucu asitliği, mono ve digliserit miktarı artan yağ kontaminant oluşumu açısından risk altındadır. Bu nedenle, yağa işlenecek meyvelerin dikkatli seçilmesi, lipaz enziminin inaktif hale getirilmesi için meyvelerin hızlıca toplanıp sterilize edilmesi, asidik toprakta yetişen palm ağaçlarının meyveleri toplanırken yere düşen meyvelerin ham yağa işlenmeden önce yıkanması asitliğin artmasına engel olarak kontaminant oluşumunda azalma sağlayacaktır (Ramli vd., 2015). Öncü maddelerden biri olan klorun yağdan uzaklaştırılması için ham palm yağının yüksek sıcaklık uygulaması gerektiren herhangi bir işlem kademesinden önce su/alkol karışımı gibi polar özellikteki maddeler ile yıkanması ya da diyasetin ilavesi gerekmektedir (Matthaus ve Pudél, 2013; Li vd., 2016a).

3-MCPD ve GE kontaminantlarının azaltılma yöntemleri incelendiğinde proses koşullarının modifiye edilmesi ve son üründe uygun adsorbant maddelerle yağdan kontaminantların uzaklaştırılması var olan sisteme ilaveler gerektirmektedir. Ancak kontaminantların oluşumuna neden olan öncü maddelerin azaltılmasını içeren yaklaşımın işletme şartlarına uygulanabilirliği, ekonomik açıdan ek maliyet gerektirmemesinden dolayı endüstriye daha uygun olduğu görülmekte ve endüstri tarafından da desteklenmektedir.

SONUÇ

3-MCPD ve GE, proses esnasında oluşan gıda kaynaklı kontaminantlardır. Karsinojenik 3-MCPD ve genotoksik karsinojenik GE'ye, yapısında yağ bulunan gıda gruplarında farklı konsantrasyonlarda rastlanmıştır. Trigliseritlerin hidroliz reaksiyonu sonucu oluşan mono ve digliseritler yüksek sıcaklıkta GE'ye; klor iyonu varlığında ise 3-MCPD'ye dönüşmektedir. 3-MCPD ve GE'nin oluşumu üzerine; mono ve digliseritler ile klor iyonu varlığının yanı sıra işlem sıcaklığı ve süresi de etkili olmaktadır. EFSA tarafından 2018 yılında yayınlanan son ve güncel rapora göre 3-MCPD için günlük tolere edilebilir alım miktarı 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Bu kontaminantların azaltılmasına yönelik çalışmalarda; proses koşullarının düzenlenmesi ve son üründe kontaminantların

adsorbant maddelerle azaltılması genellikle yer alan yaklaşımlardır. Ancak, bitkisel yağlara uygulanan yüksek sıcaklıktaki işlemler öncesinde monogliseric ve digliseric gibi öncü maddelerin miktarının azaltılarak 3-MCPD ve GE oluşumunun sınırlandırılması ile ilgili çalışmaların, endüstrideki ihtiyacı karşılamak üzere çok daha etkili olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abraham, K., Appel, K.E., Berger-Preiss, E., Apel, E., Gerling, S., Mielke, H., Creutzenberg, O., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. *Arch Toxicol*, 87: 649-659.
- Andres, S., Appel, K.E., Lampen, A. (2013). Toxicology, occurrence and risk characterisation of the chloropropanols in food: 2-monochloro-1,3-propanediol, 1,3-dichloro-2-propanol and 2,3-dichloro-1-propanol. *Food Chem Toxicol*, 58: 467-478.
- Aniolowska, M., Kita, A. (2015). The effect of type of oil and degree of degradation on glycidyl esters content during the frying of french fries. *J Am Chem Soc*, 92: 1621-1631.
- AOCS (2013). Official Method Cd 29a-13: 2- and 3-MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils and fats by acid transesterification. 7th Edition, Washington DC, USA.
- Arisseto, A.P., Marcolino, P.F.C., Augusti, A.C., Scaranelo, G.R., Berbari, S.A.G., Miguel, A.M.R.O., Morgano, M.A., Vicente, E. (2017b). Contamination of fried foods by 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters during frying. *J Am Chem Soc*, 94: 449-455.
- Arisseto, A.P., Willian, C.S., Scaranelo, G.R., Vicente, E. (2017a). 3-MCPD and glycidyl esters in infant formulas from the Brazilian market: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 77: 76-81.
- Bakhiya, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K.E., Lampen, A. (2011). Toxicological assessment of 3-chloropropane-1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Mol Nutr Food Res*, 55: 509-521.
- Belkova, B., Hradecky, J., Hurkova, Forstova, V., Vaclavik, L., Hajslova, J. (2018). Impact of vacuum frying on quality of potato crisps and frying oil. *Food Chem*, 241: 51-59.
- Cheng, W., Liu, G., Liu, X. (2016). Formation of glycidyl fatty acid esters both in real edible oils during laboratory-scale refining and chemical model during high temperature exposure. *J Agric Food Chem*, 64: 5919-5927.
- Cheng, W., Liu, G., Liu, X. (2017). Effects of Fe⁺³ and antioxidants on glycidyl ester formation in plant oil at high temperature and their influencing mechanism, *J Agric Food Chem*, 65: 4167-4176.
- Craft, B.D., Chiodini, A., Garst, J., Granvogl, M. (2013). Fatty acid esters of monochloropropanediol (MCPD) and glycidol in refined edible oils. *Food Addit Contam: Part A*, 30(1): 46-51.
- Destallats, F., Craft, B.D., Sandoz, L., Nagy, K. (2012). Formation mechanism of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. *Food Addit Contam*, 29(1): 29-37.
- EFSA (2001). Opinion of the scientific Committee on food 3-monochloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) updating the SCF opinion of 1994. European Food Security Agency, *Directorate-General Health and Consumer Protection*, 1-5.
- EFSA (2004). Collection and collation of data on levels of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) and related substances in foodstuffs. European Food Security Agency, *Directorate-General Health and Consumer Protection*, 1-56.
- EFSA (2009). 3-MCPD esters in food products. European Food Security Agency, *Summary Report of a Workshop held in February 2009 in Brussels, Belgium*, 1-36.
- EFSA (2013) Analysis of occurrence of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food in Europe in the years 2009-2011 and preliminary exposure assessment. *EFSA Journal*, 11(9): 3381-3426.
- EFSA (2014). Commission recommendation of 10 September 2014 on the monitoring of the presence of 2 and 3-monochloropropane-1,2-diol

- (2 and 3-MCPD), 2- and 3-MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in food. *Off J Eur Union*, L 271/93: 1-3.
- EFSA (2015). Opinion of the scientific committee on food on 3-monochloropropan 1,2-diol (3-MCPD). European Food Security Agency, *Scientific Committee on Food*, 1-5.
- EFSA (2016). Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), *EFSA Journal*, 14(5): 4426.
- EFSA (2018). Revised safe intake for 3-MCPD in vegetable oils and food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/180110> (Accessed: 03 March 2018).
- Ergönül, P. G., Göldeli, T. (2013). Gıdalarda 3-monokloropropan-1, 2-diol (3-MCPD) ve esterlerinin varlığı, oluşum mekanizmaları ve tespit yöntemleri. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 11(2): 102-109.
- Ermacora, A., Hrcirik, K. (2013). A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats. *J Am Chem Soc*, 90: 1-8.
- Ermacora, A., Hrcirik, K. (2014). Influence of oil composition on the formation of fatty acid esters of 2-chloropropane-1,3-diol (2-MCPD) and 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) under conditions simulating oil refining. *Food Chem*, 161: 383-389.
- EU. (2018). Amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of glycidyl fatty acid esters in vegetable oils and fats, infant formula, follow-on formula and foods for special medical purposes intended for infants and young children. *Off J Eur Union*, L 55: 27-29
- Franke, K., Strijowski, U., Fleck, G., Pudiel, F. (2009). Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil. *LWT-Food Sci Technol*, 42: 1751-1754.
- Freudenstein, A., Weking, J., Matthaus, B. (2013). Influence of precursors on the formation of 3-MCPD and glycidyl esters in a model oil under simulated deodorization conditions. *Eur J Lipid Sci Technol*, 115: 286-294.
- Garbalo-Rubia, A., Soto-Chinchilla, J., Moreno, A., Zafra-Gomez, A. (2017). A novel method for the determination of glycidyl and 3-monochloropropanediol esters in fish oil by gas chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta*, 165: 267-273.
- Gümüşkesen A.S., Yemişçioğlu F. (2010). *Bitkisel Sıvı ve Yağ Üretim Teknolojisi*. Meta Basım, İzmir, Türkiye, s. 215.
- Hamlet, C.G., Asuncion, L., Velisek, J., Dolezal, M., Zelinkova, Z., Crews, C. (2011). Formation and occurrence of esters of 3-chloropropane-1,2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume. *Eur J Lipid Sci Technol*, 113: 279-303.
- Hammouda, I.B., Zribi, A., Mansour, A.B., Matthaus, B., Bouaziz, M. (2017). Effect of deep-frying on 3-MCPD esters and glycidyl esters contents and quality control of refined olive pomace oil blended with refined palm oil. *Eur Food Res Technol*, 243: 1219-1227.
- IARC (2000). Glycidol. www.monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol77/mono77-19.pdf (Accessed: 03 March 2018).
- IARC (2012). 1,3-Monochloro-1,2-propanediol. www.monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol101/mono101-010.pdf (Accessed: 03 March 2018).
- JECFA (2016). Evaluations of contaminants. *Summary report of the eighty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*, 83: 5-7.
- Jedrkiewicz, R., Glowacz, A., Gromadzka, J., Namiesnik, J. (2016). Determination of 3-MCPD and 2-MCPD esters in edible oils, fish oils and lipid fractions of margarines available on Polish market. *Food Control*, 59: 487-492.
- Leigh, J., MacMahon, S. (2017). Occurrence of 3-monochloropropanediol esters and glycidyl esters in commercial infant formulas in the United States. *Food Addit Contam: Part A*, 34(3): 356-370.

- Li, C., Li, L., Jia, H., Wang, Y., Shen, M., Nie, S., Xie, M. (2016a). Formation and reduction of 3-monochloropropane-1,2-diol esters in peanut oil during physical refining. *Food Chem*, 199: 605–611.
- Li, C., Nie, S., Zhou, Y., Xie, M. (2015). Exposure assessment of 3-monochloropropane-1,2-diol esters from edible oils and fats in China. *Food Chem Toxicol*, 75: 8-13.
- Li, C., Zhou, Y., Zhu, J., Wang, S., Nie, S., Xie, M. (2016b). Formation of 3-chloropropane-1,2-diol esters in model systems simulating thermal processing of edible oil. *LWT-Food Sci Technol*, 69: 586-592.
- Matthaus, B., Pudel, F. (2013). Mitigation of 3-MCPD and glycidyl esters within the production chain of vegetable oils especially palm oil. *Lipid Technol*, 25(7): 151-155.
- Merkle, S., Ostermeyer, U., Rohn, S., Karl, H., Fritsche, J. (2018). Mitigation strategies for ester bound 2-/3-MCPD and esterified glycidol in pre-fried breaded and frozen fish products. *Food Chem*, 245: 196-204.
- Özdikicierler, O. (2016b). Zeytinyağı ve pirina yağında 3-MCPD oluşumu üzerine su buharı distilasyon koşullarının etkisi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 110 s.
- Özdikicierler, O., Yemişçiöglü, F., Saygın Gümüskesen, A. (2016a). Effects of process parameters on 3-MCPD and glycidyl ester formation during steam distillation of olive oil and olive pomace oil. *Eur Food Res Technol*, 242: 805-813.
- Pudel, F., Benecke, P., Vosmann, K., Matthaus, B. (2016). 3-MCPD- and glycidyl esters can be mitigated in vegetable oils by use of short path distillation. *Eur J Lipid Sci Technol*, 118: 396-405.
- Rahn, A.K.K., Yaylayan, V.A. (2011). What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD ester formation? *Eur J Sci Technol*, 113: 323-329.
- Ramli, M.R., Siew, W.L., Ibrahim, N.A., Kuntom, A., Razak, R.A.A. (2015). Other factors to consider in the formation of chloropropanediol fatty esters in oil processes. *Food Addit Contam: Part A*, 32(6): 817-824.
- Smidrkal, J., Tesarova, M., Hradkova, I., Bercikova, M., Adamcikova, A., Filip, V. (2016). Mechanism of formation of 3-chloropropan-1,2-diol (3-MCPD) esters under conditions of the vegetable oil refining. *Food Chem*, 211: 124–129.
- Strijowski, U., Heinz, V., Franke, K. (2011). Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material. *Eur J Lipid Sci Technol*, 113: 387-392.
- Tiong, S.H., Saparin, N., Teh, H.F., Ng, T.L.M., Zain, M.Z.M., Neoh, B.K., Noor, A.M., Tan, C.P., Lai, O.M., Appleton, D.R. (2018). Natural organochlorines as precursors of 3-monochloropropanediol esters in vegetable oil. *J Agric Food Chem*, 66: 999-1007.
- Velisek, J., Davidek, J., Kubelka, V., Janicek, G., Svobodova, Z., Simicova, Z. (1980). New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates. *J Agric Food Chem*, 28: 1142-1144.
- Vicente, E., Ariseto, A.P., Furlani, R.P.Z., Monteiro, V., Gonçalves, L.M., Pereira, A.L.D., Toledo, M.C.F. (2015). Levels of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in selected processed foods from the Brazilian market. *Food Res Int*, 77: 310–314.
- Wong, Y.H., Lai, O.M., Abas, F., Nyam, K.L., Nehdi, I.A., Muhamad, H., Tan, C.P. (2017a). Factors impacting the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters during deep fat frying of chicken breast meat. *J Am Oil Chem Soc*, 94: 759-765
- Wong, Y.H., Muhamad, H., Abas, F., Lai, O.M., Nyam, K.L., Tan, C.P. (2017b). Effects of temperature and NaCl on the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters in refined, bleached and deodorized palm olein during deep-fat frying of potato chips. *Food Chem*, 219: 126–130.
- Wöhrlin, F., Fry, H., Lahrssen-Wiederholt, M., Preiß-Weigert, A. (2015). Occurrence of fatty acid esters of 3-MCPD, 2-MCPD and glycidol in

infant formula. *Food Addit Contam: Part A*, 32(11): 1810-1822.

Yıldırım, A., Yorulmaz, A. (2017). Gıdalarda bulunan 3-monokloropropan-1,2-diol ve glisidil esterlerinin analiz yöntemleri, azaltılmasına yönelik çalışmalar ve sağlık üzerine etkilerine ilişkin güncel gelişmeler. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(12): 1497-1507.

Zelinkova, Z., Giri, A., Wenzl, T. (2017). Assessment of critical steps of a GC/MS based indirect analytical method for the determination of fatty acid esters of monochloropropanediols (MCPDEs) and of glycidol (GEs). *Food Control*, 77: 65-75.

Zelinkova, Z., Svejkovska, B., Velisek, J., Dolezal, M. (2006). Fatty acid esters of 3-chloropropane

1,2-diol in edible oils. *Food Addit Contam*, 23(12): 1290-1298.

Zhang, X., Gao, B., Qin, F., Shi, H., Jiang, Y., Xu, X., (Lucy) Yu, L. (2013). Free radical mediated formation of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) fatty acid diesters. *J Agric Food Chem*, 61: 2548-2555.

Zhao, Y., Zhang, Y., Zhang, Z., Liu, J., Wang, Y., Gao, B., Niu, Y., Sun, X., Yu, L. (2016). Formation of 3-MCPD fatty acid esters from monostearoyl glycerol and the thermal stability of 3-MCPD monoesters. *J Agric Food Chem*, 64: 8918-8926

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Tamer, C. E. *A research on the production of green coffee beverage fortified with apricot pulp* / Kayısı pulpu ile zenginleştirilmiş yeşil kahve içeceği üretimi üzerine bir araştırma.....800-811
- Erinç, H. *Effects of fat type on the textural properties of corn puree* / Yağ çeşidinin mısır püresinin tekstürel özellikleri üzerine etkileri...856-864
- Akyurt, B. Başyigit, B., Çam, M. *Phenolic compounds content, antioxidant and antidiabetic potentials of seven edible leaves* / Yedi yenilebilir yaprağın fenolik bileşik içeriği, antioksidan ve antidiyabetik potansiyeli.....876-885

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Karakaş, M., Coşkun, H. *UHT ve pastörize sütlerde organik klorlu pestisitlerin tayini* / *Determination of organochlorine pesticides in UHT and pasteurized milk*733-744
- Öztürk, F., Gündüz, H. *Tüketime hazır midye dolmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi* / *Determination of microbiological quality of ready-to-eat stuffed mussels*.....745-750
- Eyiler, E. Vural, H. *Karragenanlar ve et proteinleri arasındaki etkileşimlerin differansiyel taramalı kalorimetre ile incelenmesi* / *Determination of interactions between meat proteins and carrageenans with differential scanning calorimetry*..... 776-786
- Demir, H. Kılınç, A. *Termosonikasyon uygulamasının bal kabağı suyunun biyoaktif bileşen ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi* / *Effect of thermosonication on the bioactive components and antioxidant capacity of pumpkin juice*787-799
- Kılıç Büyükkurt, Ö., Nur Durak, A., Mustafa Erbaş, M. *Fenilketonüri hastaları için fenilalanin içeriği azaltılmış bir un geliştirilmesi* / *Development of a new of flour with reduced phenylalanine content for phenylketonuria patients*812-825
- Erinç, H., Yorulmaz, A., Tekin, A. *Malaksiyon sıcaklık ve süresinin zeytinyağının bazı özellikleri üzerine etkisi* / *The effect of malaxation time and temperature on some properties of olive oil*826-834
- Demirtaş, M., Coşkun, H. *Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen Tulum peynirlerinin olgunlaştırılması esnasında meydana gelen değişimler* / *The changes during ripening of Tulum cheeses produced by different coagulation methods from goat milk*.....835-845
- Alifakı, Y. Ö., Şakıyan, Ö., İşçi, A. *Gilaburu (Viburnum opulus L.) meyvesinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu* / *Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cranberry bush (Viburnum opulus L.) fruit*846-855
- Akal, C., Buran, İ., Albayrak Delialioğlu, R., Yetişemiyen, A. *Farklı şeker oranlarının süt reçelinin kalite özellikleri üzerine etkisi* / *The effect of different sugar ratio on the quality properties of milk jam*.....865-875

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Vahapoğlu, B., Altan, E. N., Gülseren, İ. *Karayemiş meyvesinin biyoaktif özellikleri ve fonksiyonel gıdalarda kullanım potansiyeli* / *A review on bioactive properties of cherry laurel and its potential utilization in functional foods*751-764
- Özer, P., Görgüç, A., Yılmaz, F. M. *Mikrodalga teknolojisinin bitkisel dokulardan makro ve mikro bileşenlerin özütlenmesinde kullanımı* / *The use of microwave technology on the extraction of macro and micro components from plant tissues*765-775
- Sevindirici, G., Özdikiciler, O. *Yemişçiöğlü, F. Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve GE riski: yapısı, oluşum mekanizması, yasal düzenlemeleri ve azaltılma yöntemleri* / *3-MCPD and GE risk in refined vegetable oils: structure, formation mechanism, legal regulations and mitigation techniques*.....886-895