

GIDA



THE JOURNAL OF FOOD

E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 44

SAYI / NUMBER : 5

YIL / YEAR : 2019

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

GIDA (Gıda Teknolojisi Derneği Yayını)
THE JOURNAL OF FOOD (Published by the Association of Food Technology; Turkey)
Cilt / Volume: 44 • Sayı / Number: 5 • 2019
İki ayda bir yayımlanır / Published bimonthly
E-ISSN 1309-6273, ISSN 1300-3070

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 DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz 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 Sim Ajans 58. Sokak No: 20/1 Bahçelievler / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 10 2019</p>	<p>Danışma Kurulu / Advisory Board Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, 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 (Sciindex), Scientific Indexing Services (SIS), CABI (CAB Direct), Academic Resource Index, IJIF, Food Science and Technology Abstracts (FSTA) ve Google Scholar veri tabanları kapsamındadır.

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Ekşi Karaağaç, H., Özgül Uçurum, H. *Investigation of phenolic composition of organically-grown strawberry and blueberry* / Organik olarak yetiştirilen çilek ve yabanmersini meyvelerinin fenolik bileşiminin incelenmesi . . . **794-801**
- Göğüş, N., Tari, C. *Effect of substrate concentration and scale up on the polygalacturonase production* / Substrat konsantrasyonu ve ölçek büyütmenin poligalakturonaz üretimine etkisi **802-809**
- Unal Turhan, E., Erginkaya, Z., Benli, H., Buket Akın, M., Agcam, E. *The effects of microencapsulated L. rhamnosus and storage on biogenic amine amount of sucuk* / Sucuğun biyojen amin miktarı üzerine depolamanın ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un etkisi **819-825**
- Mercan Yücel, U., Atasoy, N. *Determination of Fe, Cu and Zn content in some spices sold without packaging in Van / Van ilinde ambalajsız olarak satışa sunulan bazı baharat çeşitlerinde Fe, Cu ve Zn düzeylerinin belirlenmesi* . **889-897**
- Çalışkan Koç, G., Erbakan, T., Arıcı, E., Dirim, S. N. *Sensory and quality attributes of cake supplemented with spinach powder* / Ispanak tozu ile zenginleştirilmiş keklerin kalite parametreleri ile duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. **907-918**
- Duraklı Velioğlu, S. *Determination of the foaming and emulsifying properties of lyophilized whole quail egg, egg yolk and egg white* / Liyofilize bıldırcın yumurtası, yumurta beyazı ve yumurta sarısının köpük oluşturma ve emülsifikasyon özelliklerinin belirlenmesi **919-931**
- Levent, H. *Performance of einkorn (Triticum monococcum L.) flour in the manufacture of traditional Turkish noodle* / Geleneksel Türk eriştesi üretiminde siyez ununun (*Triticum monococcum* L.) performansı **932-942**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Demircan, A., Palabıyık, İ., Demirci, A. Ş. *İnulin içerikli jelly tipi yumuşak şekerleme üretimi ve bileşen optimizasyonu / Production of inulin containing jelly type soft confectionery and optimization of ingredients* **759-769**
- Mutlu, C., Arslan Tontul, S., Candal, C., Erbaş, M. *Bazı tahıl benzeri ürünlerin glutensiz kek üretiminde kullanımı / Usage of some pseudocereals in the gluten-free cake production* **770-780**
- Hendek Ertop, M., Atasoy, R. *Farklı tahıl ve bakliyat unları ile üretilen tarhanaların fizikokimyasal, reolojik ve duyuşal nitelikleri / Physicochemical, rheological and sensory properties of tarhana samples produced by different cereal and pulse flours* **781-793**
- Dudak, F. C. *Resveratrol yüklü selüloz asetat liflerinin karakterizasyonu / Characterization of resveratrol loaded cellulose acetate fibers* **810-818**
- Aydın, F., Ardiç, M. *Farklı illerden toplanan sıkma peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri / Determination of microbiological and chemical properties of sıkma cheeses collected from different provinces* **826-836**
- Atalar, İ. *Agglomerasyon işleminin yoğurt tozunun nem sorpsiyon izotermleri ve termodinamik özellikleri üzerine etkisi / Effect of agglomeration process on the moisture sorption isotherms and thermodynamics properties of yogurt powder* **837-848**
- Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. *Ezine eski kaşar peynirinin karakteristik bazı özellikleri / Some characteristic properties of Ezine aged kasar cheese* **849-860**
- Özenirler, Ç., Mayda, N., Gençay Çelemlı, Ö., Özkök, A., Sorkun, K. *Paketli balların botanik orijin tespiti ve mikroskopik analizleri: Etiket bilgileri ile içerik uyumluluğunun karşılaştırılması / Botanic origin detection and microscopic analysis of packaged honeys: Comparison of content with label information* **861-865**
- Kasap, M., Tuncer, Y. *Fermente sucuktan izole edilen mundtisin KS üreticisi Enterococcus mundtii YB6.30 suşunun teknolojik özellikleri ve güvenlik değerlendirmesi / Technological properties and safety evaluation of mundtisin KS producer Enterococcus mundtii YB6.30 strain isolated from fermented sucuk* **866-880**
- Oraloğlu, Z., İşcan, G. *Karabaşotu çaylarında kâfur miktar tayini / Camphor quantification in topped lavender herbal teas* **881-888**
- Arslan Tontul, S. *Çetin Babaoğlu, H. Un partikül boyutunun ekmeğın fiziksel özellikleri ve raf ömrü üzerine etkisi / Effect of flour particle size on physical properties and shelf life of bread* **898-906**

İNÜLİN İÇERİKLİ JELLY TİPİ YUMUŞAK ŞEKERLEME ÜRETİMİ VE BİLEŞEN OPTİMİZASYONU

Ahmet Demircan¹, İbrahim Palabıyık^{2*}, Ahmet Şükrü Demirci²

¹Continental Confectionery Company Ar-Ge Merkezi, Tekirdağ, Türkiye

²Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş / *Received*: 20.03.2019; Kabul / *Accepted*: 28.07.2019; Online baskı / *Published online*: 11.08.2019

Demircan, A., Palabıyık, İ., Demirci, A.Ş. (2019). İnülin içerikli jelly tipi yumuşak şekerleme üretimi ve bileşen optimizasyonu. *GIDA* (2019) 44 (5): 759-769 doi: 10.15237/gida.GD19061

Demircan, A., Palabıyık, İ., Demirci, A.Ş. (2019). Production of inulin containing jelly type soft confectionery and optimization of ingredients. GIDA (2019) 44 (5): 759-769 doi: 10.15237/gida.GD19061

ÖZ

Tüketicilerin daha kaliteli bir yaşam için sağlıklı ürünlere yöneliminin artması ile birlikte fonksiyonel gıdalara olan talep de artış göstermiştir. Bu sebeple, gıda sektöründe çeşitli ürünlerin formülasyonlarında yenilik çalışmaları yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Bu çalışmada, jelly tipi yumuşak şeker ürününe inülin ilave edilerek formülasyona giren hammaddelerden jelatin, şeker ve inülin oranlarının ürünün tekstürel ve duyuşal özelliklerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Örnekler üzerinde yapılan tekstür analizi sonucunda jelatin miktarının artmasının sertliği arttıran, adeziv yapışkanlığı ise azaltan en önemli parametre olduğu anlaşılmıştır. Örneklerle uygulanan tekstür analizi sonuçları değerlendirildiğinde inülin miktarının adeziv yapışkanlığı arttırdığı sonucuna varılmıştır. İnülin analizleri sonuçlarının teorik beklenen inülin miktarıyla uyumlu bulunması üretim şartlarında inülin kaybının yaşanmadığını göstermiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda duyuşal sertlik beğenisinin genel beğeniyi doğrudan etkilediği anlaşılmıştır. Araştırmada elde edilen sonuçlar, tatlılık optimizasyonu yapıldığında jelly tipi şekerleme ürünlerinde şeker yerine inülin kullanımının, tüketiciler tarafından sevilerek tüketilen, fonksiyonel özellik kazandırılmış alternatif bir şekerleme ürününün üretilebileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Şekerleme, inülin, jelatin, tekstür, duyuşal özellikler

PRODUCTION OF INULIN CONTAINING JELLY TYPE SOFT CONFECTIONERY AND OPTIMIZATION OF INGREDIENTS

ABSTRACT

Demand for functional foods has increased with the increasing consumer orientation towards healthy products for a better quality of life. For this reason, innovation studies are being made intensively in the formulation of various products in the food sector. In this study, it was aimed to investigate the effect of gelatin, sugar and inulin ratios on the textural and sensory properties of jelly type soft candy. As a result of the texture analysis, it was understood that increasing the amount of gelatin is the most important parameter which increases the hardness and reduces adhesive adhesion. When the results of texture analysis were evaluated, it was concluded that the amount of inulin increased adhesiveness. Inulin analyses have shown that the results are compatible with the theoretical expected amount of inulin and there is no loss of inulin in the production conditions. According to the results, it was understood that the appreciation of sensory hardness directly affects the general appreciation. The results of this research show that if sweetness optimization is done, an alternative and delightfully consumed jelly type soft confectionery product with functional properties can be produced by using inulin instead of sugar in the formulation.

Keywords: Confectionery, inulin, gelatin, texture, sensory properties

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding Author*

✉ ipalabiyik@nku.edu.tr,

☎ (+90) 282 250 2117

☎ (+90) 282 250 9929

GİRİŞ

İnülin, fruktoz ünitelerinin β -2-1 bağları ile bağlanmasıyla oluşan bir oligosakkarittir. İnülin, endüstriyel boyutta hindiba kökü ve yer elmasından ekstrakte edilerek üretilmektedir (Murphy, 2001; Abbasi ve Farznmehr, 2009). Fiziksel olarak renksiz, kokusuz ve düşük tatlılıkta olan inülin, gıdalarda yağ ve şeker ikamesi, düşük kalorili dolgu maddesi veya tekstür geliştirici bir bileşen olarak çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Karimi vd., 2015). Şeker ikamesi olarak kullanıldığında özellikle yüksek yoğunluklu tatlandırıcılar ile kombinasyonu tercih edilmektedir (Aidoo vd., 2013). Eşsiz bir molekül yapısıyla diğer liflere kıyasla çözünür bir diyet lifi olan inülin, sürekli fazda (su) kıvam verici olarak stabiliteyi artırır (Miremadi ve Shah, 2012; Zabot vd., 2016). Sudaki konsantrasyonu %15'i aştığında, moleküler yapıdaki hidroksil gruplarına bağlı olarak, yağ benzeri bir tekstür gösteren stabil yapıda jel oluşturma yeteneğine sahiptir (Barclay vd., 2010; Gilbowski ve Bukowska, 2011). Ayrıca düşük pH (<5) ve yüksek sıcaklığın (90-100°C) yer aldığı işlemlere karşı dayanıklıdır (Gilbowski ve Bukowska, 2011).

İnülin, teknolojik ve fonksiyonel özellikleri, düşük kalori değeri, besinsel lif ve prebiyotik etkilerinden dolayı gıda endüstrisinde geniş çapta kullanılmaktadır (Saeed vd., 2015). Süt ürünleri, dondurulmuş tatlılar, soslar, çorbalar, çeşitli aperiatifler ve içecekler, unlu mamuller ve şekerleme ürünlerinde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (Miremadi ve Shah, 2012).

Jelly tipi yumuşak şekerlemelere yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında Delgado ve Bañón (2018), diyet lifi ile zenginleştirilmiş daha az kalori içeren jelatin bazlı yumuşak şeker üretiminde jel oluşumuna yardımcı madde olarak mısır nişastası yerine inülini kullanıp, ürün kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Nihai üründe inülin miktarı %9 seviyesinde tutulmuştur. İnülin içeren şekerlemelerin sertlik, yapışkanlık, çiğneme, esneklik ve jelleşme özelliklerinin inülin içermeyenler ile benzer olduğu tespit edilmiştir. İnülinin proses koşullarına dayanım göstererek (80°C, 3,2 pH) serbest şekerlere indirgenmediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara dayanılarak inülinin

diyet lif içeren şekerlemelerin üretiminde kullanılabilmesi belirlenmiştir.

Prakash ve Priya (2016) yaptıkları çalışmada, pektin bazlı jelly tipi şekerlemelerin duyusal ve tekstürel özelliklerini etkilemeden şeker seviyesini azaltmak için FOS (%6, 12, 18) ve antioksidan özelliğini arttırmak için de yaban mersini pulpunu (%5-10) kullanmıştır. Yapılan duyusal analiz sonucunda, %18 FOS ve %10 yabanmersini pulpu içeren şekerlemeler en yüksek beğeniyi almıştır. Üretim prosesi antioksidan aktivite kaybına neden olsa da, araştırma sonuçları üretilen şekerlemelerin antioksidan potansiyele sahip olduğunu göstermiş ve FOS konsantrasyonunun duyusal kaliteyi etkilemeden artırılabilmesi belirtilmiştir.

Tekstür ve duyusal özelliklere ilişkin olarak, şekeri azaltılmış ve şekersiz agar bazlı jelly tipi meyveli şekerlemelerin formülasyonlarının geliştirildiği bir çalışmada ise, kısmen veya tamamen sukroz ve glikoz şurubuna uygun bir ikame kombinasyonu olarak oligofruktoz, polidekstroz, sukraloz ve eritritol kullanılmıştır. Elma aromalı kontrol grubunda, 14°C'de 2-4 hafta depolama sonrasında nem oranının önemli ölçüde azalması, bu ürünlerde sinerezisin daha belirgin olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, kontrol gruplarında depolama sırasında önemli bir sertleşme olduğu gözlenmiştir. Şekersiz örneklerin asitliğinin ise, formülasyondaki yüksek agar içeriğinden dolayı diğer ürünlerden daha düşük olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda şekeri azaltılmış örneklerde yapışkanlık değeri genellikle daha düşük çıkmıştır. Söz konusu çalışmada, Just-about-right (JAR) tekniği kullanılarak yapılan tüketici değerlendirmesi ile şekersiz ürünlerin tatmin edici bir kabul edilebilirliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Riedel vd., 2015).

Delgado ve Bañón (2018), diyet lifi ile zenginleştirilmiş daha az kalori içeren jelatin bazlı yumuşak şeker üretiminde jel oluşumuna yardımcı madde olarak mısır nişastası yerine inülini kullanıp, ürün kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Nihai üründe inülin miktarı %9 seviyesinde tutulmuştur. İnülin içeren şekerlemelerin sertlik, yapışkanlık, çiğneme,

esneklik ve jelleşme özelliklerinin inülin içermeyenler ile benzer olduğu tespit edilmiştir. İnülinin proses koşullarına dayanım göstererek (80°C, 3,2 pH) serbest şekerlere indirgenmediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara dayanılarak inülinin diyet lif içeren şekerlemelerin üretiminde kullanılabilceği belirlenmiştir.

Literatürde, inülinin özellikle yumuşak şekerlerde fonksiyonel ve tekstür geliştirici bir bileşen olarak kullanımı ve optimizasyon çalışmaları hakkında sınırlı sayıda bilgi ve araştırma mevcuttur. Bu bakımdan, yapılan çalışmada jelly tipi şekerleme bileşiminde yer alan geleneksel şekerin kısmen veya tamamen inülin ile ikame edilerek alternatif bir şekerleme ürününün üretimi hedeflenmiştir. Optimizasyon çalışması ile formülasyondaki değişkenlerin (inülin, şeker ve jelatin oranı) ürünün tekstürel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Glikoz şurubu (PNS Pendik Nişasta Sanayi A.Ş. / Türkiye), sakkaroz (Migros Ticaret A.Ş. / Türkiye), 240 bloom değerine sahip jelatin (Halavet Gıda San. ve Tic. A.Ş. / Türkiye), sitrik asit monohidrat (Jungbunzlauer / İsviçre), aroma (Aromsa Besin Aroma ve Katkı Maddeleri San. Tic. A.Ş. / Türkiye), kalıp nişastası (mineral yağları ile modifiye edilmiş mısır nişastası) (Roquette Freres/ Fransa), parlatma/yağlama ajanı (Capol GmbH / Almanya) jelly tipi yumuşak şekerleme üretimi için temin edilmiştir. Çalışmada inülin olarak polimerleşme derecesi 10'dan küçük olan yüksek çözünürlüklü İnülin Orafiti HSI kullanılmıştır (Beneo, Palatinit GmbH / Almanya).

İnülinli jelly tipi şekerleme üretimi

Kütlice %33'lük jelatin solüsyonu, ayrı bir kaptaki jelatinin 70°C'deki suda çözündürülmesi suretiyle hazırlanmıştır. Pişirme öncesi bileşen oranları olarak glikoz şurubu (%55) ve su (%5) sabit tutulmuş olup, karışım dizaynı deney noktalarına göre belirlenen miktarlarda sakkaroz, inülin ve jelatin solüsyonu tartılarak (w/w) oluşturulan ön şurup 115°C'ye ulaşana kadar pişirilmiştir. Pişirme süresi sıcaklık takibi ile yapılmış olup, sıcaklık

115°C'ye ulaştığında işlem sonlandırılmıştır. Pişirilen şurup içerisine şurubun sıcaklığı düşmeden ayrı bir yerde 70°C'deki suda çözündürülen %33'lük jelatin solüsyonu köpürmeyi önlemek amacıyla yavaş yavaş karıştırılarak ilave edilmiştir. Elde edilen şurup karışımına son olarak aroma, renklendirici ve asit dozajı yapılmış, sonrasında 90°C sıcaklıktaki nihai jelly şurubu fazla nemin atılması ve jelleşme sürecinin tamamlanması amacıyla nem değeri %6-%6,5 arasında kalıp nişastası içeren kalıplara dökülmüştür. İstenen nem değerine ulaşılması için nişasta kalıbında, şartlandırılmış koşullarda (23°C, %40 bağıl nem) 1,5 gün bekletilmiştir. İstenen nem değerine ulaşan (%18-21) ve jelleşmesi tamamlanan numuneler nişastadan arındırılıp, bitkisel yağ (palm çekirdeği) ve parlatıcı ajanlardan (karnauba mumu ve bal mumu) oluşan karışım ile yağlanmıştır. Belirtilen yöntemle hazırlanan jelly örneklerine aroma (%0,12), renklendirici (%0,15) ve asit (%1,6) oranlarında katılmıştır.

İnülin içerikli jelly tipi yumuşak şekerleme üretiminde inülin, jelatin ve sakkarozun, ürünün tekstürel ve duyuşal özelliklerine etkisini incelemek ve formülasyon optimizasyonu yapabilmek amacıyla Design Expert programı kullanılarak (Stat-Ease, ABD) Karışım Dizaynı oluşturulmuştur. Buna göre glikoz şurubu %55 ve su %5 oranlarında sabit tutularak geriye kalan kısım üzerinden inülin oranı (%0-%65), jelatin solüsyonu oranı (%35-%70) ve şeker (sakkaroz) oranı (%0-%65) farklı oranlarda ilave edilmiş ve deney noktaları Çizelge 1'de gösterilmiştir. Sakkaroz ve jelatin düzeylerinin alt ve üst sınırı, Hartel vd. (2018)'nin rapor ettiği jelly ürünlerinde kullanılan genel oranlardan alınmıştır. İnülin miktarı ise ön denemeler sonucu tespit edilmiştir. Optimizasyon, duyuşal analizlerin genel beğeni parametresi temel alınarak design expert programı yardımıyla yapılmıştır. Elde edilen optimum reçete ile örnek numune hazırlanarak genel beğeni anlamında kontrol örnek ile kıyaslamalı duyuşal analizi yapılmıştır.

Çizelge 1. İnülinli jelly şekerleme üretimi denemelerinde inülin, şeker ve jelatin oranının Karışım Dizayn Yöntemi ile elde edilen deney dizaynı ve yanıtları
 Table 1. Experimental design and responses of the inulin, sugar and gelatin ratio in the experiments of inulin added jelly confectionery production obtained by Mixture Design Method

Deneme Sample	İnülin, Şeker ve Jelatin Oranları			Tekstür Analizleri (Texture Analyses)		Duyusal Analizler (Sensory Analyses)		Genel Beğeni General Acceptance
	İnülin % Inulin	Şeker % Sugar	Jelatin % Gelatin	Sertlik (g) Hardness	Yapışkanlık (g.sn) Adhesiveness	Sertlik Hardness	Yapışkanlık Adhesiveness	
1	0.0	47.50	52.50	28658	13.255	6	6.5	6.09
2	14.596	15.404	70.0	55788	6.319	4	5.2	3.82
3	0.0	30.0	70.0	68655	24.797	2.6	3.9	2.91
4	21.377	22.17	65.454	50346	39.512	4	4.6	4.36
5	65.0	0.0	35.0	20768	81.304	5.5	5.7	5.73
6	0.0	65.0	35.0	13957	74.78	6,9	6.7	7.82
7	43.850	0.0	56.15	38121	18.87	3.7	4.7	4.36
8	42.875	11.818	45.307	23590	36.504	5.2	5.4	5.55
9	31.169	33.831	35.0	18915	32.541	5.1	4.8	5.36
10	32.50	0.0	67.50	25066	10.671	5.1	5.4	5.55
11	15.151	48.934	35.915	8578	65.199	5	4.8	5.91
12	65.0	0.0	35.0	20154	64.593	4.9	4	5.55
13	0.0	65.0	35.0	13540	85.158	6.5	6.4	7.45

Jelly tipi şekerlemelerin tekstürel özelliklerinin belirlenmesi

Numunelerin tekstürel özellikleri, 5 kg yük hücresi ile donatılmış tekstür analiz cihazı (TA. HD Plus, Stable Micro sistemleri, Surrey, İngiltere) kullanılarak tespit edilmiştir. Analiz için P/12 probu (5 cm çap) kullanılmıştır. Ön test, test ve son test hızları sırasıyla 1mm/s, 5mm/s ve 5mm/s olarak ayarlanmış, algılama kuvveti 0.1 g olarak seçilmiş ve numunelere tekstür profil analizi (TPA) uygulanmıştır.

Jelly tipi şekerlemelerin duyu özelliklerinin belirlenmesi

Numunelerin duyu parametreleri (aroma yoğunluğu, tatlılık, sertlik, yapışkanlık, görünüş/reng ve genel beğeni/kabul edilebilirlik) şekerleme sanayinde tecrübeli 20 eğitimli panelist tarafından değerlendirilmiştir. Panelistler farklı konsantrasyonlarda inülin eklenmesiyle oluşan örnekleri tadım arasında su ve galeta tüketerek değerlendirmiş ve faktörlerin duyu özellikleri üzerindeki etkilerini yorumlamıştır.

Değerlendirmede hedonik skala (1-9) kullanılmıştır. Kullanılan hedonik skalada 1 değeri duyu anlamda en düşük beğeni, 9 ise en yüksek beğeni ifade etmektedir.

Tekstür Parametreleri İçin Hızlandırılmış Depolama Analizi

Tekstür parametrelerindeki değişimi depolama süresince gözlemlemek için örnekler 30°C ve %60 bağıl nemde iklimlendirme kabini hızlandırılmış olarak muhafaza edilmiştir. Kabinde 1 aylık periyotlarla toplamda 3 ay bekletilen örnekler tekstür analizi uygulanmıştır. Bu sayede üretilen ürünlerde en önemli kalite parametresi olan tekstürün raf ömrü boyunca değişimi hakkında bilgi edinilip inülin eklenmesinin farklı değişikliklere yol açıp açmadığı tespit edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Formülasyonda; inülin, şeker ve jelatin oranları değiştirilerek yapılan denemelerde üretilen jelly tipi şekerlemelerin tekstürel ve duyu

analizlerine ait sonuçların değerlendirilmesi alt başlıklar şeklinde aşağıda verilmiştir.

İnülinli jelly tipi şekerlemelerin tekstürel özellikleri

Karışım dizaynı yöntemi ile elde edilen şekerleme örneklerinin bileşenlerinden inülin, sakkaroz ve jelatin solüsyonunun sertlik değerine etkisi aylara göre incelenmiştir. Örnekler üzerinde aylara göre yapılan ANOVA analizi sonuçları çizelge 2’de verilmiştir. ANOVA analizleri Çizelge 2’de verilen p değerleri (p<0.05) ile genel olarak etkili bulunmuştur. Yine çizelge 2’de Duyusal ve tekstür analizlerine ait regresyon katsayıları ve karışım modelinde ayarlanmış model ile deneysel veriler arasındaki korelasyon verilmiştir. Karışım dizaynı ile elde edilen şekerleme örneklerinin sertlik değerine bileşenlerin etkisi Şekil 1’de verilmiştir. Buna göre, ürün formülasyonunda inülin miktarının artması ile tekstür cihazında ölçülen sertlik değerlerinde azalma görülmektedir (Şekil 1). Literatürde, çeşitli ürün gruplarında inülin kullanımıyla sertlik değerlerinde azalmanın tespit edildiği araştırmalar mevcuttur (Méndez-Zamora vd., 2015; Delgado ve Bañón, 2018). Shourideh vd. (2012), D-tagatoz ve inülinin farklı oranlarda

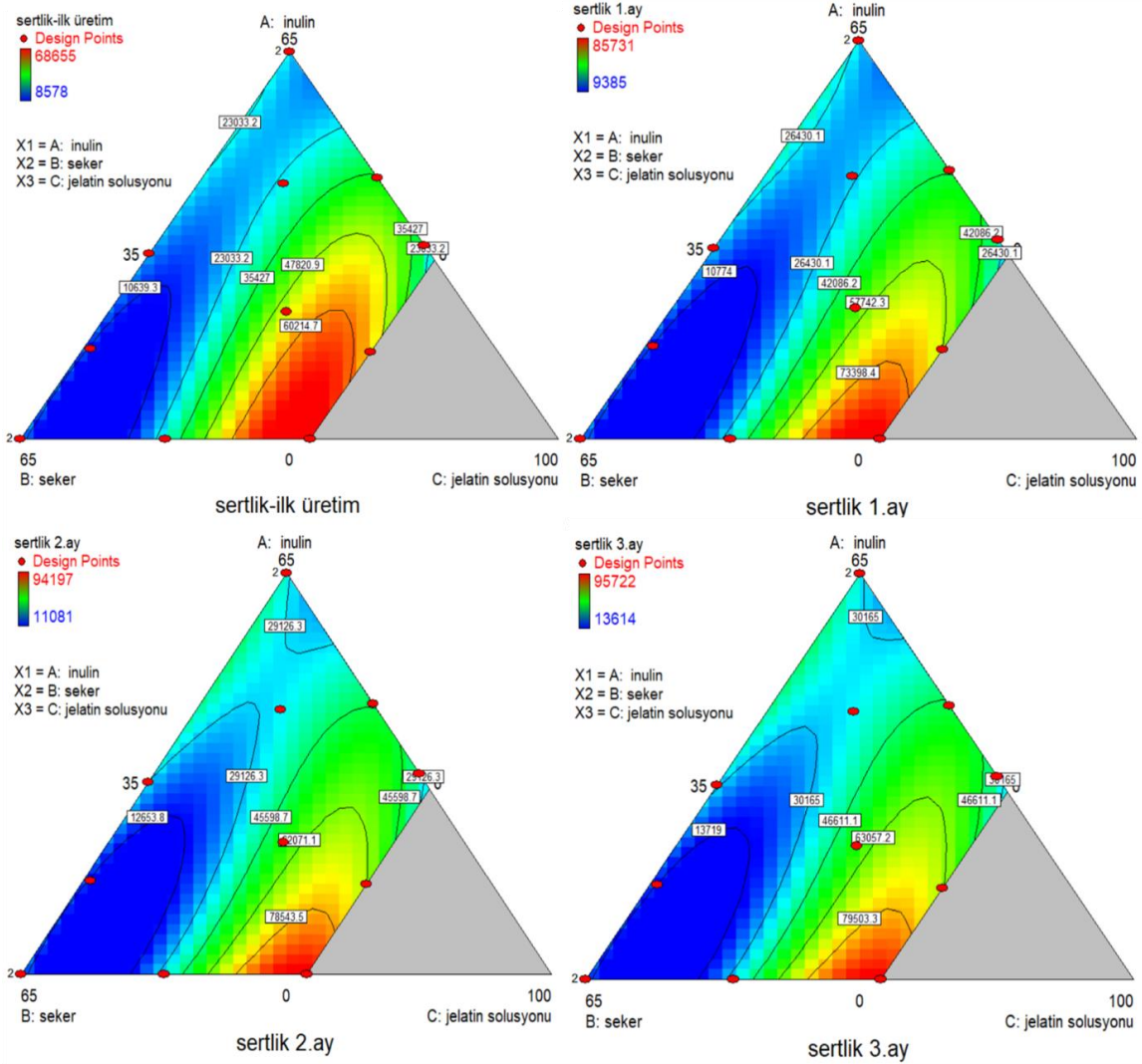
karışımını içeren bitter çikolata formülasyonlarında inülin konsantrasyonundaki artışın örneklerin sertliğini azalttığını ve şeker yerine tamamen inülin kullanıldığında çikolataların en düşük sertliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu durumun, inülinde bulunan hidrofilik gruplara bağlı olarak nemi absorbe etmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Diğer yandan, yaptığımız araştırmada üretilen jelly tipi şekerlemelerde şeker oranının %0 dan %65’e çıkması da örneklerin sertlik değerlerinde azalmaya sebep olmuş ve şeker oranı en yüksek olan örneklerin sertlik değeri en düşük çıkmıştır. İnülin ve şeker ilavesinin aksine örneklerle katılan jelatin solüsyonu, beklenildiği gibi jelly tipi şekerlemelerin sertliğini ciddi oranda arttırmıştır. Buna yönelik olarak, Mutlu vd. (2018) yaptıkları araştırmada jelatin dozundaki artışın (%15-20-25) ürettikleri şekerlemelerin sertliğini arttırdığını belirlemişlerdir. Jiamjariyatam (2017), jelly tipi çignenebilir şekerlemelerde jelatin ve izomaltulozun kalite üzerine etkisini incelediği çalışmada, jelatin seviyesindeki artışın, jelatin molekülleri arasında oluşan hidrojen bağlarını artırarak şekerlemelerde sertliği arttırdığını tespit etmiştir.

Çizelge 2. Duyusal ve tekstür analizlerine ait regresyon katsayıları ve karışım modelinde ayarlanmış model ile deneysel veriler arasındaki korelasyon

Table 2. Regression coefficients of the sensorial and textural analysis and correlation for the adjusted model to experimental data in mixtures design

Değişken Variable	Ay Month	Katsayı Coefficient										R ²	p değeri value
		X ₁	X ₂	X ₃	X ₁₂	X ₁₃	X ₂₃	X ₁₂₃	X ₁₂ X ₁₂	X ₁₃ X ₁₃	X ₂₃ X ₂₃		
	0	6411	11670	-5796	-36.86	-1.56	-110.5	-5.95	0.15	-2.78	-4.26	0.9935	0.0040
Teks. sertlik (Text. hardness)	1	8101	14756	-7088	-11.39	-8.21	-146	-8.33	0.26	-3.45	-5.32	0.9983	0.0005
	2	7584	14513	-6541	-2.6	-6.83	-151.4	-8.11	0.37	-3.19	-5.17	0.9996	0.0001
	3	7422	14524	-6520	0.08	-2.88	-151.7	-8.11	0.37	-3.16	-5.17	0.9983	0.0005
Teks. yapışkanlık (Text. adhesiveness)	0	1.16	1.253	-0.406								0.6916	0.0028
	1	3.17	3.175	0.9044	-0.118	-0.067	-0.068	0.003				0.9840	0.0001
	2	2.49	2.505	-0.879								0.7815	0.0005
	3	1	1.096	0.106								0.3905	0.0841
Duyusal sertlik (Sensorial hardness)	-	-0	-0.6	0.3331	-8E-04	-0.004	0.008	3E-04	3.99E-05	8.51E-05	0.000231	0.9843	0.0147
Duyusal yapışkanlık (Sensorial adhesiveness)	-	0.05	0.069	0.044								0.2973	0.1713
Duyusal beğeni (General acceptance)	-	-0.1	-0.47	0.3031	-9E-04	-0.002	0.006	3E-04	2.49E-05	9.04E-05	0.000203	0.9894	0.0083

X₁: İnülin (inulin), X₂: Şeker (sugar), X₃: Jelatin Solüsyonu (gelatin solution)

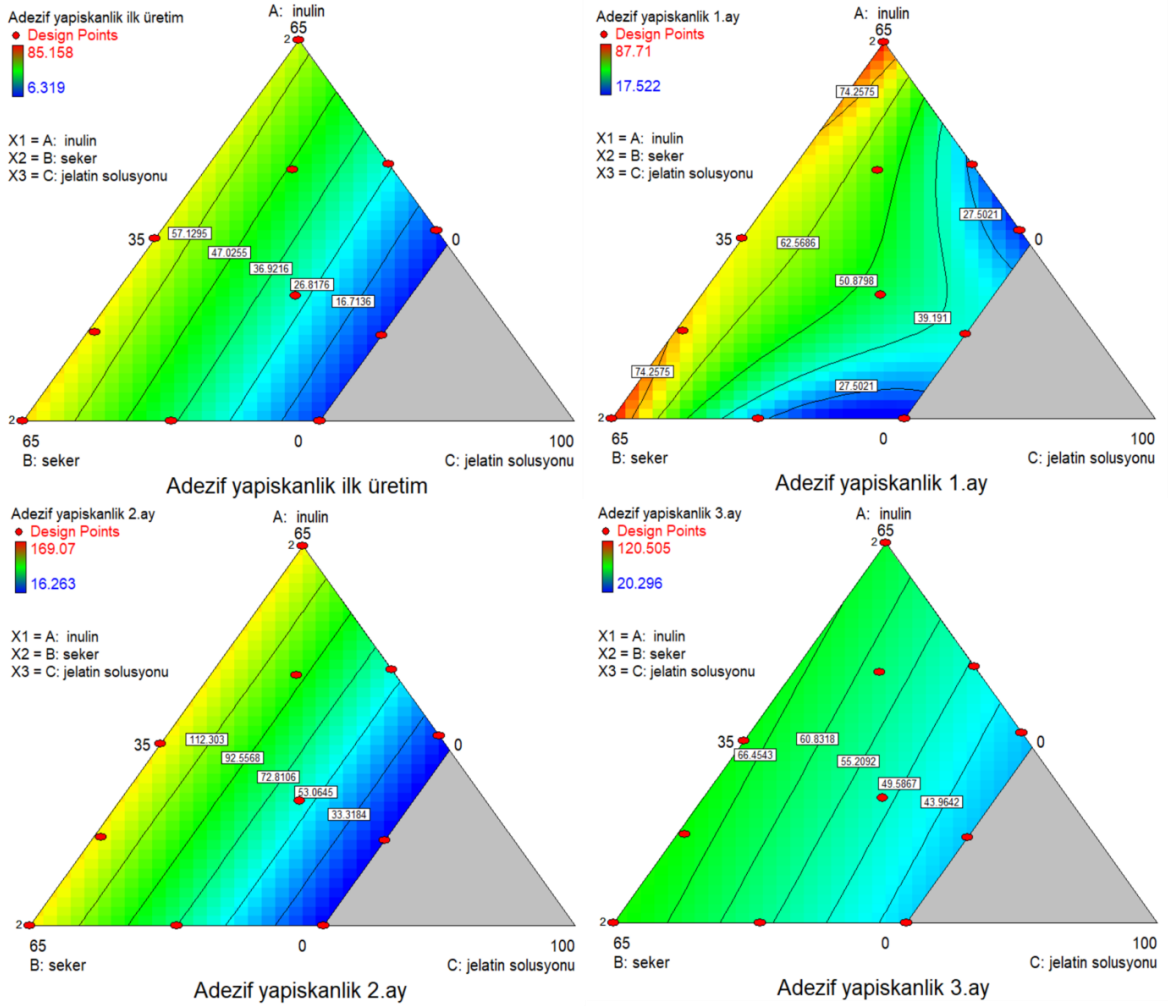


Şekil 1. Karışım dizaynı ile elde edilen şekerleme örneklerinin tekstürel sertlik değerine jelly bileşenlerinin etkisi

Figure 1. Effect of jelly components on textural hardness value of samples obtained by Mixture Design

Farklı oranlarda inülin, şeker ve jelatin solüsyonu katılmış jelly tipi şekerlemelerin tekstür analiz cihazı ile tespit edilen yapışkanlık özelliklerindeki değişim Şekil 2.'te gösterilmiştir. Formülasyona ilave edilen inülin oranının artması ile yapışkanlık değeri de artış göstermiştir. Böylece inülinin sebep olduğu bu durum, nişastanın geleneksel bir ürün olan lokuma kazandırdığı yapıya benzerlik gösterdiği tecrübe edilmiştir. Bunun durum, inülinin su tutma kapasitesine bağlı olarak yapışkanlığı arttırması ile ilişkilendirilmiştir. Serin ve Sayar (2017), fırıncılık ürünlerinde hamurdaki yağ oranının çeşitli karbonhidrat bazlı yağ ikame

maddeleri ile azaltılması amacıyla yaptıkları çalışmada, hamurlara ait yapışkanlık değerlerinin kullanılan yağ ikame maddesi miktarındaki artışa bağlı olarak artış gösterdiğini tespit etmişler ve bu duruma inülin, maltodekstrin veya polidekstrozun yüksek su tutma kapasitesinin neden olduğunu açıklamışlardır. Muzammil vd. (2017), probiyotik takviyeli dondurulmuş yoğurtlarda inülin ve gliserolün fizikokimyasal özelliklere etkisini inceledikleri araştırmada, dondurulmuş yoğurtların yapışkanlığının inülin konsantrasyonu ile önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir.



Şekil 2. Karışım dizaynı ile elde edilen şekerleme örneklerinin tekstürel yapışkanlık değerine jelly bileşenlerinin etkisi

Figure 2. Effect of jelly components on textural adhesiveness value of samples obtained by Mixture Design

Çalışmamızda, örneklerin şeker miktarındaki artış yapışkanlığın artmasına sebep olmuş ve bu artışın etkisi inülinin yapışkanlığa etkisi ile yakın bulunmuştur (Şekil 2). Ürün formülasyonunda kullanılan jelatin solüsyon oranının %35'ten %70'e çıkması ise diğer değişkenlerin aksine yapışkanlıkta azalmaya sebep olmuştur. Bu durum literatüre uygun bulunmuştur. Rahman ve Al-Mahrouqi (2009), artan sığır jelatini konsantrasyonu ile jellerin yapışkanlığında azalma olduğunu belirlemiştir. Protein dışındaki su ve yağ gibi girdilerin bunu arttırdığı düşünülmektedir. Dolayısıyla jelly tipi şekerlemelerde jelatin miktarı arttıkça daha sıkı ve kompakt yapı oluşmakta,

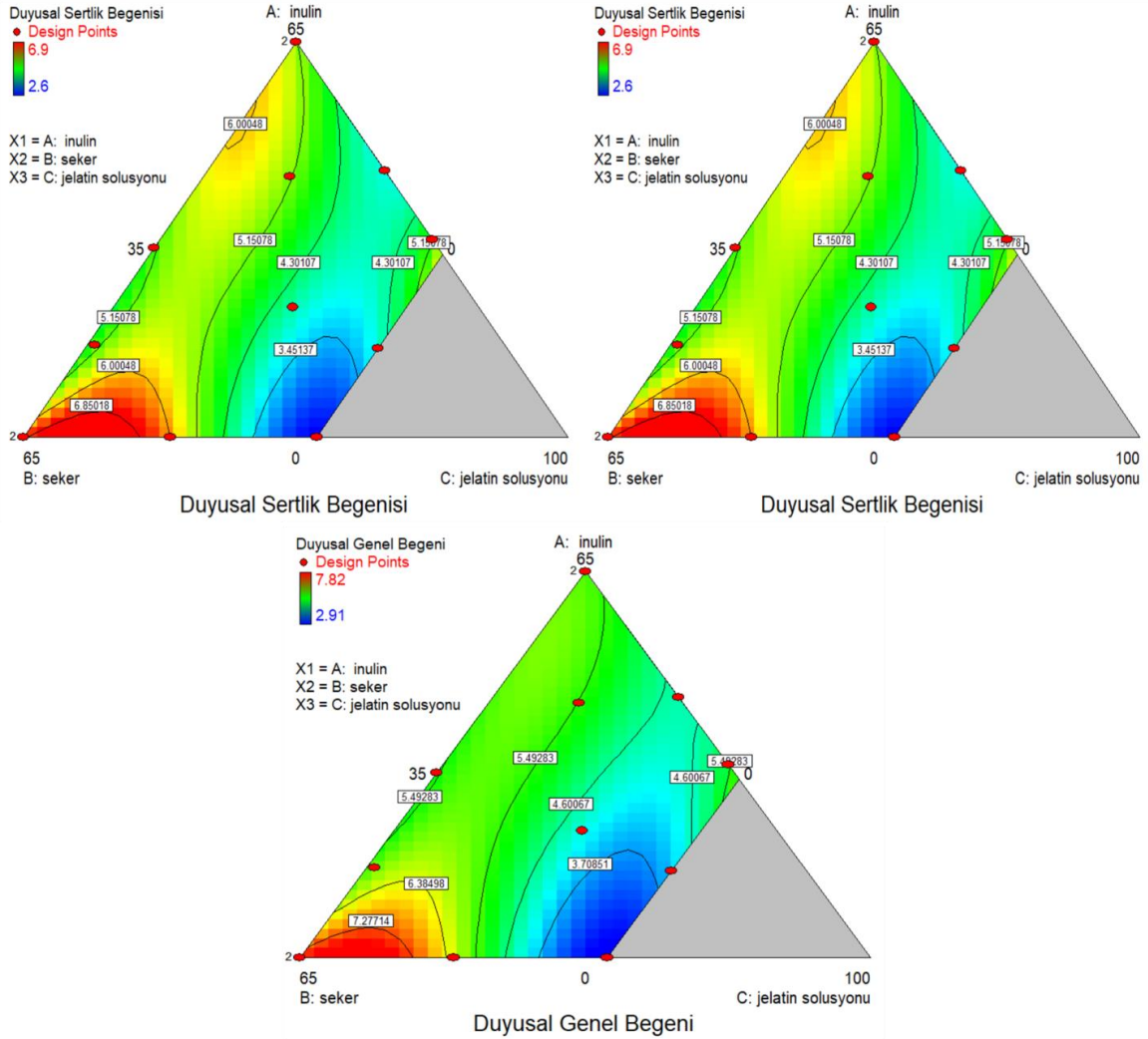
çiğnenebilirlik azalmakta ve yapışkanlık değeri düşmektedir.

İnülinli jelly tipi şekerlemelerin duyuşal özellikleri

Karışım dizaynı ile elde edilen şekerleme örneklerinin bileşenlerinin adezif yapışkanlık üzerine etkisi aylara göre incelenmiş ve yapılan ANOVA analizi sonuçları çizelge 2'de verilen p değerleri ($p < 0.05$) ile genel olarak etkili bulunmuştur. İnülinli jelly tipi şekerlemelerin duyuşal yapışkanlık ve sertlik beğenileri Şekil 3'te verilmiştir. Şekil 2'de tekstür analizi sertlik sonuçları ANOVA analiz model grafiğinde jelatin

solüsyonu arttıkça sertliğin arttığı görülmektedir. Şekil 3'te ise jelatin solüsyonu oranının en yüksek olduğu örneklerde duyusal sertlik beğenisi puanının en düşük olduğu görülmüştür. Bu bağlamda Şekil 2 ve Şekil 3 birlikte ele alındığında sertlik arttıkça duyusal beğeninin düştüğü sonucuna varılmıştır.

Duyusal yapışkanlık beğenisi incelendiğinde model yetersiz bulunmakla beraber, şeker miktarındaki artışın duyusal yapışkanlık beğenisini nispeten arttırdığı görülmüştür (Şekil 3).



Şekil 3. Karışım dizaynı ile elde edilen şekerleme örneklerinin duyusal yapışkanlık beğenisi, duyusal sertlik beğenisi ve duyusal genel beğeni değerlerine jelly bileşenlerinin etkisi
 Figure 3. Effect of jelly components on sensorial hardness, sensorial adhesiveness and sensorial overall acceptability values of samples obtained by Mixture Design

Jelly tipi şekerlemelerin genel beğenilirlik durumu incelendiğinde (Şekil 3), örneklerde inülin ve jelatini miktarı az, şeker miktarı yüksek düzeyde olduğunda en yüksek beğeniyi aldığı görülmüştür.

Bu durumun oluşmasına iki önemli faktörün neden olduğu belirlenmiştir. Bunlardan birincisi; inülinin tatlılığı düşürücü etkisinin olmasıdır. İnülin suda çözündüğünde hafif tatlı özelliğe ve

sakkarozun %10'u kadar bir tatlılık oluşturmaktadır (Franck, 2002). Nötr tadı sayesinde ilave edildiği üründe herhangi bir kötü tat veya aromaya neden olmamakta, yapıyı ve ağız dolgunluğunu etkilemektedir (Boeckner vd., 2001; Nair vd., 2010). Fonksiyonel ürün geliştirmede tatlılıktan ödün vermemek adına inülinin kullanıldığı durumlarda farklı tatlandırıcıların ilavesi veya bunların uygun kombinasyonlarının kullanımı göz önünde bulundurulmalıdır. Buna yönelik olarak, Azevedo vd. (2017) bitter çikolata üretiminde, prebiyotik olarak inülini (%15-20), tatlandırıcı olarak farklı konsantrasyonlarda steviol glikoziti (rebaudioside A.) içeren stevia (*Stevia rebaudiana*) ekstraktını (%0.16) ve maltitolü (%32.34) kullanmışlardır. Araştırmada elde edilen verilere göre, inülin ve stevia ekstraktının ideal bir sakkaroz ikamesi olduğu vurgulanmıştır.

İkinci ve daha önemli faktör ise Şekil 3'teki duyusal sertlik beğeni ile duyusal genel beğeni değerlerinin ürün formülasyonunda yer alan bileşen miktarlarına göre gösterdiği değişikliğin birbirine çok yakın olmasıdır. Diğer bir ifadeyle, jelly tipi şekerleme ürünlerinin sertlik beğeni genel beğeniye etkilemiş ve sert olan ürünlerin genel beğenide en düşük skoru almasına neden olmuştur. Dolayısıyla bu durum, jelly tipi çiğnenebilir şekerleme ürünlerinde tekstürel özelliklerin genel kabul edilebilirliğe doğrudan etki ettiğini ve ürün formülasyonu geliştirme çalışmalarında doku sağlayıcı kıvam arttırıcıların optimum şekilde kullanımının önemini göstermektedir.

SONUÇ

Yapılan inülin tayini sonuçları teorik beklenen miktarlar ile uyumlu bulunup üretimde inülin kaybının yaşanmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliğine göre yüksek lif içerir beyanı verebilmek için 100 gr gıdanın en az 6 gr lif içermesi gerekmektedir. Buna göre üretilen tüm örnekler 20 kişilik eğitimli panelistlerin duyusal değerlendirmesine sunulmuş ve çıkan genel beğeni sonuçları karışım dizaynı programının optimizasyon seçeneği kullanılarak yüksek lif içerir beyanına uygun optimum reçete elde edilmiştir. Elde edilen optimum reçetede glikoz

şurubu (%55) ve su (%5) sabit tutulmuş olup, geriye kalan kısım için formülasyona giren inülin oranı %15, jelatin solüsyonu oranı %49 ve şeker oranı %36 olarak hesaplanmıştır. Yüksek lif içerikli optimum reçete ile üretim yapılmış ve karşılaştırma yapmak üzere standart jelatinli jelly şekerleme ile birlikte 20 kişilik eğitimli panelistlerin duyusal değerlendirmesine sunulmuştur. Duyusal değerlendirme sonuçlarında elde edilen yüksek lif içerikli optimum reçete ile üretilen örnek, kontrol örnek ile kıyas edildiğinde kabul edilir seviyede bulunmuştur (kontrol örnek duyusal genel beğeni puanı: 6,75; inülinli örnek duyusal genel beğeni puanı: 6,6).

Yapılan çalışmalar neticesinde inülinin miktarındaki artışın adezif yapışkanlığı arttırdığı, jelatin miktarındaki artışın ise sertliği arttırdığı anlaşılmıştır. Yapışan duyusal analizler sonucunda duyusal sertlik beğenisinin genel beğeniye doğrudan etkilediği görülmüştür. Bu durum jelly şekerlemelerde tekstürün genel beğeni üzerinde en önemli parametre olduğunu teyit etmektedir.

Sonuç olarak; jelly tipi şekerleme ürününde şeker yerine inülinin dolgu maddesi olarak kullanımı, ürünün tatlılığı dışında tekstüründe olumsuz bir durum yaratmadığı ve üründe istenmeyen kristalizasyona neden olmayarak gayet başarılı olduğu görülmüştür. Tatlılık olarak bileşenler optimize edildiğinde inülinin şeker yerine kullanımıyla alternatif yeni bir şekerleme ürününün üretilebileceği ve bunun yüksek lif içerikli yeni fonksiyonel ürünler için bir temel oluşturacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: NKUBAP.03.GA.18.149

KAYNAKLAR

Abbasi, S., Farzanmehr, H. (2009). Optimization of extracting conditions of inulin from Iranian artichoke with/without ultrasound using response surface methodology. *J Sci Technol Agric Nat Resour Water Soil Sci*, 13(47): 423–435.

- Aidoo, R.P., Depypere, F., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2013). Industrial manufacture of sugarfree chocolates-applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends Food Sci Technol*, 32: 84–96.
- Azevedo, B.M., Morais-Ferreira, J.M., Luccas, V., Bolini, H.M.A. (2017). Bittersweet chocolates containing prebiotic and sweetened with stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) with different Rebaudioside A contents: multiple time–intensity analysis and physicochemical characteristics. *Int J Food Sci Technol*, 52: 1731–1738.
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., Petrovsky, N. (2010). Inulin: A versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *J Excip Food Chem*, 1: 27–50.
- Boeckner, L., Schnepf, M., I., Tunglund, B.C. (2001). Inulin: A review of nutritional and health implications. *Adv Food Nutr Res*, 43: 1–63.
- Bryant, A., Ustunol, Z., Steffe, J. (1995). Texture of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. *J Food Sci*, 60: 1216–1219.
- Delgado, P., Banon, S. (2018). Effects of replacing starch by inulin on the physicochemical, texture and sensory characteristics of gummy jellies. *CYTA-J FOOD*, 16: 1–10.
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *Br J Nutr*, 87(2): 287–291.
- Gilbowski, P., Bukowska A. (2011). The effect of pH, temperature and heating time on inulin chemical stability. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 10(2): 189–196.
- Hartel, R.W., Von Elbe, J.H., Hofberger, R. (2018). *Confectionery Science and Technology*. Springer International Publishing, Switzerland, 536p.
- Jiamjariyatam, R. (2017). Influence of gelatin and isomaltulose on gummy jelly properties. *Int Food Res J*, 25(2): 776–783.
- Karimi, R., Azizi, M.H., Ghasemlou, M., Vaziri, M. (2015). Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydr Polym*, 119: 85–100.
- Méndez-Zamora, G., García-Macías, J.A., Santellano-Estrada, E., Chávez-Martínez, A., Durán-Meléndez, L.A., Silva-Vázquez, R., Quintero-Ramos, A. (2015). Fat reduction in the formulation of frankfurter sausages using inulin and pectin. *Food Sci Technol (Campinas)*, 35: 25–31.
- Miremadi, F., Shah, N.P. (2012). Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. *Int Food Res J*, 19(4): 1337–1350.
- Murphy, O. (2001). Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *Br J Nutr*, 85: 47–53.
- Mutlu, C., Tontul, S.A., Erbaş, M. (2018). Production of a minimally processed jelly candy for children using honey instead of sugar. *LWT-Food Sci Technol*, 93: 499–505.
- Muzammil, H.S., Rasco, B., Sablani, S. (2017). Effect of inulin and glycerol supplementation on physicochemical properties of probiotic frozen yogurt. *Food Nutr Res*, 61(1): 1–7.
- Nair, K.K., Kharb, S., Thompkinson, D.K. (2010). Inulin dietary fiber with functional and health attributes. A review. *Food Rev Int*, 26: 189–203.
- Prakash, N., Priya, S. (2016). Development of novel functional confectionery using low reduced sugar. *Indian J Drugs*, 4(4): 141–148.
- Rahman, M.S., Al-Mahrouqi, A.I. (2009). Instrumental texture profile analysis of gelatin gel extracted from grouper skin and commercial (bovine and porcine) gelatin gels. *Int J Food Sci Nutr*, 60: 229–242.
- Riedel, R., Birgit, B., Harald, R. (2015). Development of formulations for reduced-sugar and sugar-free agar based fruit jellies. *Int J Food Sci Technol*, 50(6): 1338–1344.
- Royer, G., Madieta, R., Symoneaux, R., Jourjon, F. (2006). Preliminary study of the production of apple pomace and quince jelly. *LWT-Food Sci Technol*, 29: 1022–1025.
- Saeed, M., Yasmin, I., Pasha, I., Randhawa, M.A., Khan, M.I., Shabbir, M.A., Khan, W.A. (2015). Potential application of inulin in food industry; a review. *Pakistan J Food Sci*, 25(3): 110–116.

Serin, S., Sayar, S. (2017). The effect of the replacement of fat with carbohydrate-based fat replacers on the dough properties and quality of the baked pogaca: a traditional high-fat bakery product. *Food Sci Technol*, 37: 25–32.

Shourideh, M., Taslimi, A., Azizi, M.H., Mohammadifar, M.A. (2012). Effects of D-Tagatose and inulin on some physicochemical, rheological and sensory properties of dark

chocolate. *Int J Biosci Biochem Bioinforma*, 2(5): 314–319.

Zabot, G., Silva, E.K., Azevedo, V.M., Meireles, M.A.A. (2016). Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. *Food Res Int*, 85: 26–35.

BAZI TAHIL BENZERİ ÜRÜNLERİN GLUTENSİZ KEK ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Ceren Mutlu^{1,2*}, Sultan Arslan Tontul³, Cihadiye Candal^{1,4}, Mustafa Erbaş¹

¹Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

²Balıkesir Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir, Türkiye

³Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

⁴Artvin Çoruh Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Artvin, Türkiye

Geliş / *Received*: 20.03.2019; Kabul / *Accepted*: 28.07.2019; Online baskı / *Published online*: 11.08.2019

Mutlu, C., Arslan Tontul, S., Candal, C., Erbaş, M. (2019). Bazı tahıl benzeri ürünlerin glutensiz kek üretiminde kullanımı. *GIDA* (2019) 44 (5): 770-780 doi: 10.15237/gida.GD19073

Mutlu, C., Arslan Tontul, S., Candal, C., Erbaş, M. (2019). Bazı tahıl benzeri ürünlerin glutensiz kek üretiminde kullanımı. GIDA (2019) 44 (5): 770-780 doi: 10.15237/gida.GD19073

ÖZ

Araştırmada bazı tahıl benzeri ürünlerin (çiya, amarant, kinoa ve karabuğday) glutensiz kek üretiminde kullanılabilirliğinin ve bu ürünlerin keklerin bazı özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla dört farklı kek unu karışımı; mısır (%45) ve pirinç (%45) nişastası ve tam tane olarak öğütülmüş tahıl benzeri ürünler (%10) kullanılarak hazırlanmıştır. Bu karışımlar ile üretilen kek örnekleri ve kontrol kek örneklerine; bazı fiziksel (renk, spesifik hacim ve tekstür), kimyasal (nem, su aktivitesi, dirençli nişasta, glisemik indeks ve antioksidan aktivite) ve duyu analizler yapılmıştır. Kek örneklerinin sertlik ve çignenebilirlik değerlerinin 1234.21-1709.50g ve 668.09-996.27 aralıklarında değiştiği belirlenmiştir. Tahıl benzeri ürün ilavesiyle hazırlanan keklerin dirençli nişasta içeriklerinin %0.17-0.22 arasında olduğu ve tahmini glisemik indekslerinin ise 55 değerinden düşük olmaları sebebiyle düşük glisemik indeksli gıda sınıfı içerisinde yer alabileceği tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler neticesinde glutensiz keklerin çeşitlendirilmesinde tahıl benzeri ürünlerin kullanılabilmesi ve bunların arasında ise çiyanın yumuşaklık, yüksek antioksidan aktivite ve duyu özellikleri itibarıyla öne çıktığı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Çiya, amarant, kinoa, karabuğday, glutensiz kek, çölyak

USAGE OF SOME PSEUDOCEREALS IN THE GLUTEN-FREE CAKE PRODUCTION

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the usability of pseudocereals (chia, amaranth, quinoa, and buckwheat) in cake production and their effect on some properties of cake. For that purpose, four different cake flour mixtures were prepared by using corn and rice starches (45:45%) and whole-grain milled pseudocereals (10%). Some physical (color, specific volume, and texture), chemical (moisture, water activity, resistant starch, glycemic index, and antioxidant activity) and sensory analyses were performed to both samples produced with these mixtures and the control samples. The hardness and chewiness values of the samples varied between 1234.21-1709.50g and 668.09-996.27, respectively. The resistant starch content of the samples with pseudocereals was between 0.17-0.22% and they could be classified as low glycemic index food because their glycemic index values were lower than 55. As a result, pseudocereals could be used to vary gluten-free cake and chia containing cake samples distinguished in terms of softness, high antioxidant activity and sensorial properties among other cake samples with pseudocereals.

Keywords: Chia, amaranth, quinoa, buckwheat, gluten-free cake, celiac

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding Author*

✉ cerenmutlu@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 4317

☎ (+90) 242 310 6306

GİRİŞ

Gluten; ekmek, kek, makarna ve erişte gibi tahıl ürünlerinin üretimi açısından önemli bir proteindir. Gliadin ve glutenin olmak üzere iki farklı fraksiyonun birleşiminden oluşmakta olup, buğdayın toplam protein içeriğinin yaklaşık %80 kadarı glutendir (Rosell vd., 2014). Gluten proteini hamurun yapışmasını engellemekte ve mayalama işlemi sırasında oluşan gazların tutulmasını sağlayarak; ürünün hacmini, elastikiyetini ve kabuk yapısını etkilemektedir (Delcour vd., 2012).

Tahıl ürünlerinin teknolojik özellikleri üzerine birçok olumlu etkiye sahip olan gluten, alerjiler ve intoleranslarla ilgili olarak insan sağlığı üzerinde bazı olumsuz etkilere de sahiptir. Gluten tüketimi ile gıda alerjisi, çölyak hastalığı ve gluten hassasiyeti olmak üzere üç farklı patolojik durum meydana gelebilmektedir (Rosell vd., 2014). Glutene bağlı gıda alerjisi, toplumun yaklaşık %0.2-0.5 kadarını etkileyen ve önemli klinik etkileri olan bir hastalıktır (Zuidmeer vd., 2008). Çölyak hastalığı otoimmün bir rahatsızlıktır ve toplumun yaklaşık %0.1-1.6 kadarının bu rahatsızlığa sahip olduğu bildirilmiştir. Bu hastalığa sahip kişiler tarafından buğday, çavdar, arpa ve bazı yulaf çeşitleri tüketildiğinde çeşitli sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir (Abadie vd., 2011). Gluten hassasiyeti ise buğday alerjisi ve çölyaktan farklı olan ve son yıllarda keşfedilen patolojik bir durumdur. Bu hastalıkla ilgili olan gıda bileşenleri ve metabolizmadaki mekanizma tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, gluten proteininin yanı sıra ekmekte bulunan diğer bileşenlerin de bu tür bir hassasiyet üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Rosell vd., 2014; Bernardo ve Peña, 2012).

Günümüze kadar belirtilen gluten kaynaklı alerji ve intoleransları taşıyan bireylerde bu etkilerin önlenmesi ve/veya azaltılmasında en etkili tedavi yöntemi, gluten içermeyen güvenli ve besleyici olarak dengeli gıdalar tüketilmesidir (Bernardo ve Peña, 2012). Bu amaçla un ve unlu mamuller, soslar, pizzalar, şeker şurupları ve şekerlemeler olmak üzere birçok glutensiz gıda geliştirilmiştir (Arendt ve Dal Bello, 2011; Gutiérrez, 2018; Linares-García vd., 2019). Glutensiz gıdaların

zenginleştirilmesi ve gluten proteininin sağladığı teknolojik özelliklerin bu ürünlerde de sağlanabilmesi için ise bu ürünlere baklagiller ve baklagil unları (mercimek, bakla, bezelye, nohut vb.), süt ve süt ürünleri, tahıl benzeri ürünler (çiya, amarant, kinoa, karabuğday vb.), besinsel lifler ve hidrokoloidler (agar, aljinat, gamlar vb.) gibi bileşenler ilave edilmiştir (Arendt ve Dal Bello, 2011; Pellegrini ve Agostoni, 2015).

Doğal olarak gluten içermeyen ve bu nedenle gluteni içeren tahıllara sağlıklı alternatifler olarak glutensiz diyetle kullanılabilen çiya, amarant, kinoa ve karabuğday gibi tahıl benzeri ürünler, glutene bağlı alerji ve intoleransları olan bireyler ve bunun dışındaki bireysel tüketim tercihleri sebebiyle diğer tüketiciler tarafından son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Bu ilgi tahıl benzeri ürünlerin sahip oldukları zengin besin bileşimlerinden kaynaklanmaktadır. Tahıl benzeri ürünler nişasta içerikleri nedeniyle önemli enerji kaynakları olmalarının yanı sıra; kaliteli protein, besinsel lif ve doymamış yağ asitleri bakımından zengin lipitleri de içermektedirler. Ayrıca tahıl benzeri ürünlerin yapılarında vitamin, mineral, esansiyel yağ asitleri, fitosteroller ve polifenoller gibi diğer biyoaktif bileşenler de bulunmaktadır (Alvarez-Jubete vd., 2010).

Bu çalışmada; çiya, amarant, kinoa ve karabuğday ilavesi ile besinsel açıdan zenginleştirilmiş glutensiz karışımlardan üretilen kek örneklerinin bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal niteliklerinin, gluten içeren normal unla ve gluten içermeyen ticari karışım ile hazırlanan kek örneklerinin ilgili özellikleriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Böylece bu araştırma ile normal un ile hazırlanan kek örneklerinin özelliklerine en yakın özellikleri taşıyan ve tahıl benzeri ürün ilavesi ile besinsel açıdan daha zengin olan glutensiz karışım belirlenmiş olacaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Kek örneklerinin üretimi için kullanılan malzemeler (un, yumurta, ayçiçek yağı, şeker, kabartma tozu ve vanilya) ve tahıl benzeri ürünler (çiya, amarant, kinoa ve karabuğday) piyasada iyi bilinen firmalardan ambalajlı ticari ürünler olarak

satın alınıp kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler ise analitik saflıkta temin edilerek kullanılmıştır.

Kek Üretim Metodu

Kek ununun hazırlanması

Glutensiz kek üretimi için; eşit miktarda mısır (%45) ve pirinç (%45) nişastası karıştırılmış ve bu karışıma tam tane olarak yaklaşık un partikül boyutunda öğütülmüş (Bosch, MKM6000, Slovenya) olan çiya, amarant, kinoa veya karabuğday unları son karışımda %10 olacak şekilde ayrı ayrı katkılanarak dört farklı un karışımı hazırlanmıştır. Normal un ve ticari glutensiz kek karışımı ise iki farklı kontrol örneği üretmek için kullanılmıştır. Böylelikle araştırma, altı farklı kek üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Kek karışımının hazırlanması

Kek karışımının hazırlanmasında standardize kek formülasyonu kullanılmıştır. Bu amaçla eşit miktarda; kek unu karışımı (125 g), tam yumurta (125 g), yağ (125 g) ve şeker (125 g) plastik bir kaba tartılmış ve bir karıştırıcı yardımı ile karıştırılmıştır. Homejenize edilen kek karışımı içerisine toplam miktarın %1.2'si oranında kabartma tozu (3 g) ve vanilya (3 g) ilave edilmiş ve bu karışım yeniden karıştırılmıştır (Wilderjans vd., 2013). Hazırlanan kek karışımından yuvarlak kek kalıbının bölmelerine her bir kek örneği için 40 g tartılmıştır. Kalıba tartılan kek hamurları 225°C sıcaklıkta 30 dakika süre ile pişirilmiştir. Pişirme işleminden sonra kekler soğutulmuş ve kalıplardan çıkarılmıştır. Kek örneklerine uygulanan fiziksel ve duyu analizler üretimden 1 saat sonra 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Kimyasal analizler ise öğütülen ve -18°C'de plastik polietilen poşetler içerisinde saklanan örneklerde set halinde gerçekleştirilmiştir.

Analiz Metotları

Renk analizi

Kek örneklerinin renk analizleri, renk ölçüm cihazı (Chroma Meter CR-400, Konica-Minolta Sensing Inc., Osaka, Japonya) kullanılarak tespit edilmiştir. Renk ölçüm sonuçları, Hunter L^* [(0) siyah - (100) beyaz], a^* [(+) kırmızı - (-) yeşil] ve b^* [(+) sarı - (-) mavi] değerleri olarak belirlenmiştir.

Spesifik hacim analizi

Kek örneklerinin hacimleri kolza tohumu ile yer değiştirme prensibine göre belirlenmiş ve sonuçlar mL/g olarak verilmiştir (Román vd., 2017).

Tekstür analizi

Kek örneklerinin tekstür profil analizi, tekstür ölçüm cihazı (TA.TX plus, İngiltere) ile gerçekleştirilmiştir. Kek örnekleri bütün halde ve oda sıcaklığında analiz edilmiştir. Ölçüm sırasında SMS/100 silindirik prop kullanılmış ve analiz 5 kg'lık yük hücresi ile gerçekleştirilmiştir. Analizde test hızı 3 mm/s, gerilme oranı %30 ve gerilme kuvveti 3 g olarak ayarlanmıştır.

Nem içeriği ve su aktivitesi analizi

Kek örneklerinin nem içeriğinin belirlenmesi amacıyla, 2 g örnek tartılarak 105°C sıcaklığındaki etüv içerisine yerleştirilmiştir. Nem içeriği sonuçları ağırlık değişimi farkından hesaplanarak yüzde nem içeriği (%) olarak verilmiştir. Kek örneklerinin su aktivitesi (a_w) değerleri, su aktivitesi tayin cihazı (Aqua Lab 4TE, Decagon Divices, USA) kullanılarak belirlenmiştir.

Dirençli nişasta analizi

Kek örneklerinin enzime dirençli nişasta (EDN) miktarı, standart metoda (AACC, 2011) göre dirençli nişasta enzim kiti (K-RSTAR, Megazyme Int. Wicklow, İrlanda) kullanılarak tespit edilmiştir. Bu amaçla öncelikle öğütülmüş kek örneklerinin n-hekzan ile yağı uzaklaştırılmıştır. Yağı uzaklaştırılmış örneklerden 100 mg tartılmış ve üzerlerine pankreatik α -amilaz (3 Ceralpha Unit/mg) ve seyreltilmiş amiloglukozidaz (300 U/mL) enzimlerini içeren çözeltilerden 4 mL ilave edilmiştir. Karışımlar çalkalamalı su banyosunda (WSB-30, WiseBath, Kore) 37°C sıcaklıkta 100 rpm çalkalama hızıyla karıştırılarak 16 saat süreyle bekletilmiş ve bu işlem ile enzime dirençli olmayan nişastanın hidrolize olup kendisini oluşturan glukoza dönüşmesi sağlanmıştır. Süre sonunda karışım üzerine 4 mL etil alkol (%99 v/v) ilave edilerek enzimatik reaksiyon durdurulmuş ve örnekler 4500xg hızla 5 dakika santrifüj edilmiştir. Çökeltideki glukozun tamamen uzaklaştırılabilmesi için pelletler 8 mL etil alkol-su çözeltilisi (%50 v/v) ile 2 kez yıkanmış ve 4500xg hızla 5 dakika daha santrifüjlenerek sıvı kısımlar

yeniden ayrılmıştır. Elde edilen pelletler 40°C sıcaklığındaki vakumlu etüvde (VO200, Memmert, Almanya) 30 dakika bekletilerek kurutulmuş ve daha sonra üzerlerine örnekte bulunan EDN'nin çözünmesi için; 2 mL, 2M KOH çözeltisi ilave edilmiştir. Elde edilen karışım buz banyosu içerisine alınmış ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak 20 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda örneklerin üzerine 8 mL, 1.2 M sodyum asetat tampon çözeltisi (pH:3.8) ve 0.1 mL amiloglukozidaz enzimi ilave edilmiş ve örnekler 50°C su banyosunda 30 dakika süreyle 5 dakikada bir karıştırılarak bekletilmiştir. Böylelikle çözünmüş olan EDN glukozu kadar hidroliz edilmiştir. Hidroliz edilen örnekler 4500xg'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan berrak sıvı kısmından 0.1 mL alınıp üzerine 3 mL glukoz oksidaz-peroksidaz ayırıcı (GOPOD) ilave edilerek 50°C sıcaklıkta 20 dakika su banyosunda bekletilmiştir. Hidroliz sonunda oluşan glukoz miktarı, spektrofotometre kullanılarak (UV-1800, Shimadzu, Japonya) 510 nm'de kör örneğe (0.1 mL, 100 mM sodyum asetat tampon çözeltisi (pH:4.5) + 3 mL GOPOD) karşı ölçüm yapılmasıyla belirlenmiştir. EDN içeriği aşağıda verilen denklem (1) yardımıyla hesaplanmış ve sonuçlar g/100 g örnek olarak verilmiştir.

$$EDN \text{ içeriği} = \Delta E * \frac{F}{W} * 9.27 \quad (1)$$

Denklemden belirtilen ΔE , F ve W sırasıyla örneğin absorbansını, absorbanstan mikrogram dönüşümünü (100/D-glukoz standart absorbansı) ve kurumadde bazında örnek ağırlığını ifade etmektedir (AACC, 2011).

Glisemik indeks analizi

Kek örneklerinin glisemik indeks değeri, nişasta hidroliz hızının ölçülmesi ile *in vitro* olarak belirlenmiştir (Goñi vd., 1997). Bu amaçla; 50 mg örnek üzerine 10 mL HCl-KCl tampon çözeltisi (pH:1.5) ilave edilmiş ve karışım homojenize edilmiştir. Homojenizat üzerine pepsin (200 U/mL) içeren HCl-KCl tampon çözeltisinden 0.2 mL eklenmiştir. Örnekler 40°C sıcaklığındaki etüv içerisinde bulunan bir yatay çalkalama cihazına (Rocker 2D Basic, IKA, Staufen, Almanya) yerleştirilmiş ve 50 rpm hızla karıştırılarak 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda

örnek hacimleri tris-maleat tampon çözeltisi (pH:6.9) kullanılarak 25 mL ve pH değerleri ise 1 M NaOH kullanılarak 6.9 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine α -amilaz (2.6 U/mL) içeren tris-maleat tampon çözeltisinden (pH:6.9) 5 mL eklenmiş ve örnekler 37°C sıcaklıkta 50 rpm yatay çalkalama hızında 180 dakika boyunca enzimatik hidrolize tabi tutulmuştur.

Enzimatik hidrolizin 30, 60, 90, 120 ve 180. dakikalarında boş tüpler içerisine 1 mL örnek aktarılmıştır. Aktarılan örneklerin 100°C sıcaklıkta 5 dakika bekletilip, 1 dakika girdap karıştırıcı ile karıştırılmasıyla enzim inaktivasyonu sağlanmıştır. Enzim inaktivasyonu sonrasında örnekler 180 dakikalık süre sonuna kadar +4°C sıcaklıkta saklanmıştır. Süre sonunda örnekler 3 mL 0.4 M sodyum asetat tampon çözeltisi (pH:4.5) ve 60 μ L amiloglukozidaz enzimi (3300 U/mL) ilave edilmiştir. 60°C sıcaklıkta 45 dakika boyunca 5 dakikada bir karıştırılarak inkübe edilen örneklerden cam tüplere 0.1 mL aktarılmış ve üzerlerine 3 mL GOPOD ayırıcı ilave edilmiştir. Örnekler 45°C sıcaklıkta 20 dakika daha inkübe edilmiş ve örneklerin glukoz içerikleri 510 nm'de spektrofotometre ile okuma yapılarak aşağıda verilen denklem (2) yardımıyla belirlenmiştir (Simsek, 2011).

$$Glukoz (\%) = \frac{\Delta E * V * C * D}{\Delta S * W} * 100 \quad (2)$$

Formülde belirtilen ΔE , V, C, ΔS , D ve W sırasıyla örneğin absorbansını, test çözeltisinin toplam hacmini, kullanılan standardın konsantrasyonunu ve absorbansını, seyreltme faktörünü ve örnek miktarını ifade etmektedir.

Hesaplanan glukoz miktarı, monosakkaritlerin polisakkaritlere dönüşümünü sağlayan 0.9 katsayısı ile çarpılmış ve örneklerde hidroliz olan nişasta içeriği tespit edilmiştir. Hidroliz olan nişasta içeriğinin süreye karşı grafik edilmesiyle oluşturulan nişasta-hidroliz eğrileri Goñi vd. (1997) tarafından non-lineer olarak modellenmiş olup, bu eğriler aşağıda verilen denkleme göre (3) SigmaPlot Systat 12 (Erkrath, Almanya) programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

$$C = C_{\infty} * (1 - e^{-kt}) \quad (3)$$

Formülde belirtilen C, C_∞, k ve t sırasıyla t anındaki konsantrasyonu, denge anındaki konsantrasyonu, kinetik sabiti ve seçilen süreyi ifade etmektedir.

Nişasta hidroliz eğrisi altında kalan alanın referans örneğin hidroliz eğrisi altında kalan alana oranı hidroliz indeksi (HI) olarak tanımlanmaktadır. Eğri altında kalan alan (EAA) ise aşağıda verilen denklem (4) yardımıyla hesaplanmıştır.

$$EAA = C_{\infty} (t_f - t_0) - \frac{C_{\infty}}{k} (1 - e^{-k(t_f - t_0)}) \quad (4)$$

Formülde belirtilen C_∞, t_f, t₀ ve k sırasıyla denge anındaki konsantrasyonu (t₁₈₀), analizin bitiş süresini (180. dakika), analizin başlangıç zamanını (0. dakika) ve kinetik sabitini ifade etmektedir.

Elde edilen nişasta hidroliz indeks değerleri ise aşağıda verilen denklemde (5) kullanılarak örneklerin tahmini glisemik indeks (tGI) değerleri beyaz ekmek üzerinden hesaplanmıştır. Beyaz ekmek referans alınarak hesaplanan tGI değeri ise 1.43 değerine bölünerek glukoz referansına dönüştürülmüş (Schakel vd., 2008) ve sonuçlar glukoz referansına göre verilmiştir.

$$tGI = 39.71 + 0.549 (HI) \quad (5)$$

Antioksidan aktivite analizi

Kek örneklerinin antioksidan aktiviteleri Fernández-León vd. (2013) tarafından bildirilen DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) yöntemine göre yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla; 1 g örnek tartılmış ve üzerine 9 mL %80 metanol çözeltisi eklenerek 2 saat süreyle 40°C sıcaklığındaki çalkalamalı su banyosunda 150 rpm hızla karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonunda örnekler 5°C sıcaklıkta 9000 rpm hızla 5 dakika santrifüj (Sigma 3K18, Almanya) edilmiş ve üstte toplanan berrak kısım ayrılmıştır. Ayrılan berrak kısımdan alınan 0.95 mL ekstrakt üzerine 50 µL DPPH çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım karanlık ortamda 30 dakika bekletilmiş ve süre sonunda örneklerin

absorbans değerleri 515 nm dalga boyunda spektrofotometre ile belirlenmiştir. Örneklerin antioksidan aktivite değerleri troloks kurvesi kullanılarak mg TE/kg olarak hesaplanmıştır (Fernández-León vd., 2013).

Duyusal analiz

Kek örneklerinin duyu özellikleri; renk, görünüm, tekstür, gözenek yapısı, koku, tat ve genel beğeni parametrelerinin 5 puanlık hedonik skala (1: çok kötü, 5: çok iyi) kullanılarak 10 kişilik eğitimli panelist grubu tarafından puanlanmasıyla ile belirlenmiştir.

İstatistiksel analiz

Araştırmada kek örneklerinin üretimleri iki tekerrürlü, örneklere yapılan analizler ise paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar SAS istatistik programı (Cary, NC, ABD) kullanılarak yapılmış ve sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde düzenlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kek örneklerinin fiziksel özellikleri

Kek örneklerinin iç ve dış yüzeylerine ait L*, a* ve b* renk değerleri sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Farklı kek formülasyonlarının, örneklerin iç ve dış yüzeylerindeki renk özellikleri üzerine önemli (P < 0.01) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Kek örneklerinin iç yüzeylerine ait en yüksek ve en düşük L* renk değerlerinin sırasıyla normal un ve ticari glutensiz un karışımı içeren örnekler olduğu tespit edilmiştir. Öğütülmüş çiya veya karabuğday tohumu içeren kek örneklerinin dış yüzeylerine ait L* renk değerlerinin ise diğer kek örneklerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kek örneklerinin iç ve dış yüzeylerindeki renk farklılıklarının bileşimlerinde bulunan tohumların renk özelliklerinden, üretim formülasyonlarındaki farklılıklardan ve bu farklılıkların enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları üzerine etkilerinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Kek yüzeylerindeki renk koyulaşmasının ısıl işlem etkisi ile meydana gelen Maillard reaksiyonu ve şekerlerin karamelizasyonu nedenleriyle gerçekleştiği bildirilmiştir (Shevkani ve Singh,

2014). Maillard reaksiyonunun gerçekleşme düzeyi ve hızı örnekte bulunan şeker ve aminoasit bileşim ve miktarına bağlı olarak değişmekte ve

böylece örnek yüzeylerinde renk farklılıkları oluşabilmektedir (Fennema vd., 2007).

Çizelge 1. Kek örneklerinin renk özellikleri
Table 1. Color properties of cake samples

Örnek/Sample	L*	İç/Crumb	
		a*	b*
Normal un/Normal flour	73.38 ^a ± 0.25	-5.17 ^c ± 0.00	33.82 ^b ± 0.09
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten free flour	59.28 ^c ± 0.29	-3.24 ^a ± 0.08	33.89 ^b ± 0.00
Çiya/Chia	61.77 ^d ± 0.38	-3.78 ^b ± 0.15	27.39 ^d ± 0.22
Amarant/Amaranth	70.51 ^{cb} ± 0.47	-5.32 ^c ± 0.23	34.82 ^b ± 0.95
Kinoa/Quinoa	71.59 ^b ± 0.37	-6.39 ^d ± 0.02	39.76 ^a ± 0.06
Karabuğday/Buckwheat	69.39 ^c ± 0.53	-4.26 ^b ± 0.23	30.58 ^c ± 0.57
Önem/Sign.	**	**	**
Dış/Crust			
Normal un/Normal flour	59.51 ^c ± 1.54	10.70 ^a ± 0.15	38.67 ^c ± 0.12
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten free flour	59.74 ^c ± 0.43	8.12 ^{cb} ± 0.20	39.38 ^c ± 1.15
Çiya/Chia	67.77 ^a ± 0.47	2.27 ^c ± 0.09	33.11 ^d ± 0.68
Amarant/Amaranth	64.98 ^{ba} ± 0.12	7.68 ^c ± 0.29	41.97 ^a ± 0.26
Kinoa/Quinoa	63.20 ^b ± 0.34	8.66 ^b ± 0.22	41.14 ^{ba} ± 0.01
Karabuğday/Buckwheat	67.43 ^a ± 1.00	5.19 ^d ± 0.23	34.66 ^d ± 0.00
Önem/Sign.	**	**	**

Ortalama ± standart hata / Mean ± standard error

Kek örneklerinin fiziksel özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Farklı kek formülasyonlarının örneklerin spesifik hacim özellikleri üzerine önemli ($P > 0.05$) bir etkisinin bulunmadığı; ancak sertlik, esneklik, yapışkanlık, çignenebilirlik ve sakızimsılık gibi tekstürel özellikleri üzerine önemli ($P < 0.01$; $P < 0.05$) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Kek örneklerinin ortalama spesifik hacim değerinin 3.41 mL/g olduğu tespit edilmiştir. Spesifik hacim değerleri arasında örnekler arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamasına rağmen, normal un (3.73 mL/g) ve öğütülmüş çiya tohumu içeren (3.65 mL/g) örneklerin spesifik hacim değerlerinin, diğer örnekler göre deskriptif olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buğday ununda bulunan glutenin gaz tutma özelliği ve çiya tohumunun ise içerdiği gam nedeniyle su bulunan ortamlarda jelleşerek oluşturduğu kıvamlı yapı sayesinde kek örneklerinin hacmini artırdığı değerlendirilmiştir.

Öğütülmüş kinoa tohumu içeren kek örneklerinin sertlik, çignenebilirlik ve sakızimsılık değerlerinin diğer kek örneklerine göre daha yüksek olduğu, öğütülmüş çiya ve amarant tohumu içeren kek örneklerinin ise daha yumuşak bir yapıya sahip olduğu ve daha kolay çignenebilirlik özelliği gösterdiği belirlenmiştir.

Kek örneklerinin kimyasal özellikleri

Kek örneklerinin kimyasal özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. Farklı kek formülasyonlarının örneklerin nem içeriği, su aktivitesi, dirençli nişasta, glisemik indeks ve antioksidan aktivite değerleri üzerine önemli ($P < 0.01$; $P < 0.05$) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Kek örneklerinin nem içeriği değerlerinin %11.36-13.08 arasında değiştiği ve en yüksek nem içeriği değerinin öğütülmüş amarant tohumu içeren kek örneklerine, en düşük nem içeriği değerinin ise normal ticari un içeren kek örneklerine ait olduğu

belirlenmiştir. Kek örneklerinin su aktivitesi değerlerinin 0.72-0.77 arasında değiştiği ve en yüksek su aktivitesi değerinin öğütülmüş amarant tohumu içeren kek örneklerine, en düşük su aktivitesi değerinin ise ticari glutensiz un karışımı içeren kek örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda glutensiz kek örneklerinin nem içeriklerinin 24.50–30.51 g/100 g (Gularte vd., 2012; Levent ve Bilgiçli, 2011) ve

su aktivitesi değerlerinin ise 0.82-0.94 (Shevkani ve Singh, 2014; Rothschild vd., 2015) arasında değiştiği rapor edilmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçların literatürde bildirilen değerlerden düşük olduğu ve bu durumun formülasyonlardaki ve pişirme koşullarındaki (sıcaklık, süre, ürün miktarı vb.) farklılıklardan kaynaklandığı değerlendirilmiştir.

Çizelge 2. Kek örneklerinin fiziksel özellikleri
Table 2. Physical properties of cake samples

Örnek/ Sample	Spesifik hacim/ Specific volume (mL/g)	Sertlik/Hardness (g)	Esneklik/ Springiness
Normal un/Normal flour	3.73 ± 0.36	1608.22 ^{ba} ± 12.85	0.81 ^b ± 0.01
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten free flour	3.34 ± 0.19	1486.80 ^b ± 43.00	0.83 ^{ba} ± 0.01
Çiya/Chia	3.65 ± 0.09	1234.21 ^c ± 42.79	0.82 ^b ± 0.00
Amarant/Amaranth	3.09 ± 0.23	1338.31 ^c ± 49.00	0.85 ^a ± 0.01
Kinoa/Quinoa	3.29 ± 0.01	1709.50 ^a ± 33.20	0.83 ^{ba} ± 0.01
Karabuğday/Buckwheat	3.36 ± 0.15	1559.47 ^a ± 40.74	0.81 ^b ± 0.00
Önem/Sign.	–	**	*

Örnek/ Sample	Yapışkanlık/ Adhesiveness	Çiğnenebilirlik/ Chewiness	Sakızımsılık/ Gumminess
Normal un/Normal flour	0.65 ^c ± 0.01	842.06 ^b ± 3.30	1041.88 ^b ± 17.05
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten free flour	0.66 ^{bc} ± 0.01	808.38 ^{cb} ± 32.09	979.89 ^b ± 35.51
Çiya/Chia	0.67 ^{bc} ± 0.01	668.09 ^c ± 21.41	819.40 ^c ± 22.82
Amarant/Amaranth	0.72 ^a ± 0.01	807.93 ^{cb} ± 32.38	954.86 ^{cb} ± 33.05
Kinoa/Quinoa	0.70 ^{ba} ± 0.03	996.27 ^a ± 91.79	1199.18 ^a ± 80.34
Karabuğday/Buckwheat	0.63 ^c ± 0.00	797.71 ^{cb} ± 14.32	984.14 ^b ± 22.19
Önem/Sign.	*	*	**

Ortalama ± standart hata / Mean ± standard error

Çizelge 3. Kek örneklerinin kimyasal özellikleri
Table 3. Chemical properties of cake samples

Örnek/ Sample	Nem/ Moisture (%)	Su aktivitesi/ Water activity	Dirençli nişasta/ Resistant starch (%)	Glisemik indeks/ Glycemic index	Antioksidan aktivite/ Antioxidant activity (mg TE/kg)
Normal un/Normal flour	11.36 ^b ± 0.31	0.73 ^d ± 0.00	0.28 ^b ± 0.01	44.20 ^{ba} ± 0.44	176.11 ^c ± 5.02
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten-free flour	12.06 ^{ba} ± 0.47	0.72 ^c ± 0.00	0.36 ^a ± 0.02	42.71 ^b ± 0.47	395.48 ^a ± 0.85
Çiya/Chia	12.17 ^{ba} ± 0.11	0.75 ^c ± 0.01	0.17 ^c ± 0.02	44.27 ^{ba} ± 0.52	225.17 ^b ± 8.57
Amarant/Amaranth	13.08 ^a ± 0.67	0.77 ^a ± 0.00	0.21 ^{cb} ± 0.04	45.93 ^a ± 0.32	74.76 ^d ± 2.62
Kinoa/Quinoa	11.39 ^b ± 0.02	0.76 ^b ± 0.00	0.22 ^{cb} ± 0.02	45.60 ^a ± 1.33	82.76 ^d ± 7.54
Karabuğday/Buckwheat	11.62 ^b ± 0.00	0.75 ^c ± 0.00	0.19 ^c ± 0.03	45.42 ^{ba} ± 1.30	172.86 ^c ± 6.92
Önem/Sign.	*	**	**	*	**

Ortalama ± standart hata / Mean ± standard error

Kek örneklerinin dirençli nişasta değerlerinin %0.17-0.36 arasında değiştiği ve en yüksek dirençli nişasta değerinin ticari glutensiz un karışımı içeren kek örneklerine, en düşük dirençli nişasta değerinin ise öğütülmüş çiya tohumu içeren kek örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir. Dirençli nişasta, tüketildikten sonra ince bağırsakta 120 dakika içerisinde D-glukoza hidrolize edilemeyen ve ancak kolon mikroflorası tarafından fermente edilebilen nişasta fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır (Fuentes-Zaragoza vd., 2010). Genellikle gluten içeren eşdeğerlerine göre glutensiz ürünlerin dirençli nişasta içerikleri düşük, glisemik indeks değerleri ise yüksektir. Bu ürünlerdeki yüksek nişasta sindirilebilirliği; nişastanın tipi ve kaynağı, besinsel lif miktarı ve çeşidi, protein ve lipid matriksinin varlığı ve işleme yöntemi sonucunda gıdada oluşan makroskobik yapıya bağlı olarak değişmektedir (Giuberti ve Gallo, 2018). Yapılan bir çalışmada karabuğday ve amarant unları, kullanılan unun yaklaşık %30'u oranında bisküvi hamuruna eklenmiş ve elde edilen bisküvilerin dirençli nişasta içerikleri yaklaşık %6 olarak belirlenmiştir (Vujić vd., 2014). Mevcut çalışmada tahıl benzeri ürünlerinin oldukça düşük miktarda formülasyona eklenmesi ve nihai ürünün dirençli nişasta içeriğinin belirlenmesinde sorunlara neden olan protein ve lipidler bakımından zengin bir ürün olması nedenleriyle kek örneklerinin dirençli nişasta içeriklerinin düşük olarak tespit edildiği değerlendirilmiştir.

Kek örneklerinin glisemik indeks değerlerinin 42.71-45.93 arasında değiştiği ve en yüksek glisemik indeks değerinin öğütülmüş amarant tohumu içeren kek örneklerine, en düşük glisemik indeks değerinin ise ticari glutensiz un karışımı içeren kek örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir. Glukoz referans alındığında tGI değeri ≥ 70 olan gıdalar yüksek, $56 \leq tGI \leq 69$ arasında olan gıdalar orta ve $tGI \leq 55$ olan gıdalar ise düşük glisemik indeksli gıdalar olarak sınıflandırılmaktadır (Schakel vd., 2008). Bu sınıflandırmaya göre, çalışma kapsamında üretilen keklerin düşük glisemik indeksli gıda sınıfında yer aldığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada üretilen glutensiz kek örneklerinin glisemik indeks değerinin

ortalama 42.20 olduğu bildirilmiştir (Scazzina vd., 2015).

Kek örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin 74.76-395.48 mg TE/kg değerleri arasında değiştiği ve en yüksek antioksidan aktivite değerinin ticari glutensiz un karışımı içeren kek örneklerine, en düşük antioksidan aktivite değerinin ise öğütülmüş amarant ve kinoa tohumu içeren kek örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir. Normal un ve ticari glutensiz un karışımları ile üretilen keklerin antioksidan aktivitesinin yüksek olmasının bu unların üretimi sırasında ilave edilen askorbik asit gibi antioksidan etkili katkılardan kaynaklanmış olabileceği değerlendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada amarant ve kinoa unu içeren ekmek örneklerinin antioksidan aktivitelerinin karabuğday içeren ekmeklere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Chlopicka vd., 2012). Bir diğer çalışmada ise karabuğday ve kinoa tanelerinin amarant tanelerine göre sırasıyla yaklaşık 22 ve 2 kat daha yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir (Alvarez-Jubete vd., 2010).

Kek örneklerinin duyuusal özellikleri

Kek örneklerinin duyuusal özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir. Farklı kek formülasyonlarının örneklerin renk, görünüm, tekstür, gözenek yapısı, koku, tat ve genel beğeni duyuusal özellikleri üzerine önemli ($P < 0.01$; $P < 0.05$) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Gluten içermeyen formülasyonlar kendi aralarında kıyaslandığında ise tahıl benzeri ürün tohumları ile hazırlanan kek örneklerinin, ticari glutensiz un karışımı ile hazırlanan kek örneklerine göre panelistler tarafından daha çok beğenildiği ve bu örneklerin 5 puanlık hedonik skala üzerinden 3.50 ve üzerinde puanlar almaları nedeniyle duyuusal açıdan kabul edilebilir olduğu değerlendirilmiştir. Tahıl benzeri ürünler içeren kek örnekleri arasından ise; tekstür, koku, tat ve genel beğeni parametreleri bakımından öğütülmüş çiya tohumu içeren örneklerin daha yüksek puanlar aldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. Kek örneklerinin duyuşal özellikleri
Table 4. Sensorial properties of cake samples

Örnek/ Sample	Renk/Color	Görünüm/Appearance	Tekstür/Texture
Normal un/Normal flour	4.35 ^a ±0.05	4.35 ^a ±0.15	3.80 ^{ba} ±0.30
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten free flour	3.35 ^c ±0.05	3.35 ^c ±0.05	3.25 ^{ba} ±0.25
Çiya/Chia	2.80 ^d ±0.10	2.80 ^d ±0.10	4.05 ^a ±0.15
Amarant/Amaranth	3.80 ^b ±0.10	3.80 ^{cb} ±0.20	3.35 ^{ba} ±0.35
Kinoa/Quinoa	3.85 ^b ±0.15	3.85 ^b ±0.15	3.20 ^b ±0.10
Karabuğday/Buckwheat	3.75 ^b ±0.05	3.75 ^{cb} ±0.05	3.30 ^{ba} ±0.10
Önem/Sign.	**	**	*

Örnek/ Sample	Gözenek yapısı/ Pore structure	Koku/Odor	Tat/Taste	Genel beğeni/ Overall
Normal un/Normal flour	3.90 ^a ±0.20	4.40 ^a ±0.00	4.30 ^a ±0.20	4.35 ^a ±0.15
Ticari glutensiz un/ Commercial gluten free flour	3.35 ^b ±0.05	2.65 ^c ±0.25	2.35 ^d ±0.35	2.90 ^c ±0.40
Çiya/Chia	3.60 ^{ba} ±0.10	4.00 ^{ba} ±0.10	4.25 ^{ba} ±0.15	4.00 ^{ba} ±0.10
Amarant/Amaranth	3.55 ^{ba} ±0.05	3.85 ^{ba} ±0.05	3.50 ^{bc} ±0.00	3.50 ^{bc} ±0.00
Kinoa/Quinoa	3.75 ^a ±0.05	3.40 ^b ±0.40	3.60 ^{bac} ±0.30	3.60 ^{bc} ±0.20
Karabuğday/Buckwheat	3.80 ^a ±0.10	3.35 ^{bc} ±0.15	3.35 ^c ±0.05	3.60 ^{bc} ±0.00
Önem/Sign.	*	*	**	*

Ortalama ± standart hata / Mean ± standard error

SONUÇ

Kek örneklerinin spesifik hacimlerinin benzer olduğu, tekstür değerlerinin ise farklılık gösterdiği ve çiya tohumu katkısıyla üretilen keklerin diğer keklerden daha yumuşak nitelikte olduğu tespit edilmiştir. Farklı tahıl benzeri ürün ilavesi ile üretilen kek örneklerinin dirençli nişasta ve glisemik indeks değerleri birbirine yakın bulunurken; çiya tohumu ilavesi ile üretilen kek örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin, amarant ve kinoa ilavesi ile üretilen kek örneklerinin antioksidan aktivitelerinden yaklaşık 3 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre ise; çiya tohumu ilavesi ile üretilen kek örneklerinin genel beğeni puanının, gluten içermeyen karışımlarla hazırlanan kek örneklerinden daha yüksek ve normal un ile hazırlanan kek örneklerine en yakın duyuşal değerlendirmeye sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak; glutensiz keklerin çeşitlendirilmesinde tahıl benzeri ürünlerin kullanılabilmesi ve bunların arasında ise çiyanın belirtilen özellikleri itibarıyla öne çıktığı sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- AACC. (2011). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (Method 32-40). American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Abadie, V., Sollid, L.M., Barreiro, L.B., Jabri, B. (2011). Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol*, 29: 493-525.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E., Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem*, 119(2): 770-778.
- Arendt, E., Dal Bello, F. (2011). Gluten-free cereal products and beverages. *Academic Press*, Elsevier, San Diego, ABD, 443 s.
- Bernardo, D., Peña, A. (2012). Developing strategies to improve the quality of life of patients with gluten intolerance in patients with and without coeliac disease. *Eur J Intern Med*, 23(1): 6-8.

- Chlopicka, J., Pasko, P., Gorinstein, S., Jedryas, A., Zagrodzki, P. (2012). Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT - Food Sci Technol*, 46(2): 548-555
- Delcour, J.A., Joye, I.J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annu Rev Food Sci Technol*, 3: 469-492.
- Fennema, O.R., Damodaran, S., Parkin, K.L. (2007). Fennema's food chemistry. *CRC Press*, 1107 s.
- Fernández-León, M., Fernández-León, A., Lozano, M., Ayuso, M., Amodio, M., Colelli, G., González-Gómez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli 'Parthenon' stored in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 31(2): 302-313.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M.J., Sánchez-Zapata, E., Pérez-Álvarez, J.A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Res Int*, 43(4): 931-942.
- Giuberti, G., Gallo, A. (2018). Reducing the glycaemic index and increasing the slowly digestible starch content in gluten-free cereal-based foods: a review. *Int J Food Sci & Technol*, 53(1): 50-60.
- Goñi, I., Garcia-Alonso, A., Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr Res*, 17(3): 427-437.
- Gularte, M.A., de la Hera, E., Gómez, M., Rosell, C.M. (2012). Effect of different fibers on batter and gluten-free layer cake properties. *LWT-Food Sci Technol*, 48(2): 209-214.
- Gutiérrez, T.J. (2018). Plantain flours as potential raw materials for the development of gluten-free functional foods. *Carbohydr Polym*, 202: 265-279.
- Levent, H., Bilgiçli, N. (2011). Enrichment of gluten-free cakes with lupin (*Lupinus albus* L.) or buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) flours. *Int J Food Sci Nutr*, 62(7): 725-728.
- Linares-García, L., Repo-Carrasco-Valencia, R., Paulet, P.G., Schoenlechner, R. (2019). Development of gluten-free and egg-free pasta based on quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) with addition of lupine flour, vegetable proteins and the oxidizing enzyme POx. *Eur Food Res Technol*, 1-10.
- Pellegrini, N., Agostoni, C. (2015). Nutritional aspects of gluten-free products. *J Sci Food Agric*, 95(12): 2380-2385.
- Román, L., González, A., Espina, T., Gómez, M. (2017). Degree of roasting of carob flour affecting the properties of gluten-free cakes and cookies. *J Food Sci Technol*, 54(7): 2094-2103.
- Rosell, C.M., Barro, F., Sousa, C., Mena, M.C. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *J Cereal Sci*, 59(3): 354-364.
- Rothschild, J., Rosentrater, K.A., Onwulata, C., Singh, M., Menutti, L., Jambazian, P., Omary, M.B. (2015). Influence of quinoa roasting on sensory and physicochemical properties of allergen-free, gluten-free cakes. *Int J Food Sci & Technol*, 50(8): 1873-1881.
- Scazzina, F., Dall'Asta, M., Pellegrini, N., Brighenti, F. (2015). Glycaemic index of some commercial gluten-free foods. *Eur J Nutr*, 54(6): 1021-1026.
- Schakel, S., Schauer, R., Himes, J., Harnack, L., Van Heel, N. (2008). Development of a glycemic index database for dietary assessment. *J Food Compos Anal*, 21: S50-S55.
- Shevkani, K., Singh, N. (2014). Influence of kidney bean, field pea and amaranth protein isolates on the characteristics of starch-based gluten-free muffins. *Int J Food Sci & Technol*, 49(10): 2237-2244.
- Simsek, S. (2011). Gölevez (*Colocasia esculenta* L. Schott) yumrusundan dirençli nişasta elde edilmesi ve sağlık üzerine etkilerinin in vitro yöntemlerle saptanması. Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Doktora Tezi, İzmir, 89 s.

Vujić, L., Vitali Čepo, D., Šebečić, B., Dragojević, I.V. (2014). Effects of pseudocereals, legumes and inulin addition on selected nutritional properties and glycemic index of whole grain wheat-based biscuits. *J Food Nutr Res*, 53(2): 152-161.

Wilderjans, E., Luyts, A., Brijs, K., Delcour, J.A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends Food Sci Technol*, 30(1): 6-15.

Zuidmeer, L., Goldhahn, K., Rona, R.J., Gislason, D., Madsen, C., Summers, C., Sodergren, E., Dahlstrom, J., Lindner, T., Sigurdardottir, S.T. (2008). The prevalence of plant food allergies: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol*, 121(5): 1210-1218.e1214.

FARKLI TAHIL VE BAKLIYAT UNLARI İLE ÜRETİLEN TARHANALARIN FİZİKOKİMYASAL, REOLOJİK VE DUYUSAL NİTELİKLERİ

Müge Hendek Ertop^{1*}, Rabia Atasoy²

¹Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu, Türkiye

²Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu, Türkiye

Geliş / Received: 07.01.2019; Kabul / Accepted: 19.07.2019; Online baskı / Published online: 11.08.2019

Hendek Ertop, M., Atasoy, R. (2019). Farklı tahıl ve bakliyat unları ile üretilen tarhanaların fizikokimyasal, reolojik ve duyuşsal nitelikleri. *GIDA* (2019) 44 (5): 781-793 doi: 10.15237/gida.GD19018

Hendek Ertop, M., Atasoy, R. (2019). *Physicochemical, rheological and sensory properties of tarhana samples produced by different cereal and pulse flours*. *GIDA* (2019) 44 (5): 781-793 doi: 10.15237/gida.GD19018

ÖZ

Bu çalışmada, geleneksel fermente bir gıda olan tarhananın yapımında buğday unu yerine, nohut, fasulye, mısır, pirinç, karabuğday ve mercimek unu kullanımının fizikokimyasal, reolojik ve duyuşsal nitelikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tarhana ve unların renk, su ve yağ tutma kapasitesi, viskozite, rutubet, pH, toplam asitlik, protein, yağ, kül, karbonhidrat, mikrobiyolojik ve duyuşsal analizleri yapılarak özellikleri belirlenmiştir. Formülasyon ve diğer hammaddeler sabit tutulduğunda tarhana nitelikleri kullanılan unun özelliklerinden önemli düzeyde etkilenmiştir. Tarhanalarda en yüksek kül miktarı fasulye tarhanasında (5.18 ± 0.01), protein miktarı kırmızı mercimek tarhanasında (28.19 ± 0.74) ve yağ oranı mısır tarhanasında (9.55 ± 0.56) bulunmuştur. Aynı süre ve koşullarda fermentasyona tabi tutulan tarhanaların pH değerleri arasındaki fark mısır hariç istatistiksel olarak önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. Tarhana kurutma prosesinin maya, toplam aerobik ve toplam anaerobik mikroorganizma sayılarında azalmaya neden olduğu ancak kuru tarhanalarda mikrobiyel canlılığın devam ettiği belirlenmiştir. Tarhanaların, kullanılan tahıl ve baklagil ununa göre teknolojik ve reolojik niteliklerinin değiştiği tespit edilmiştir. Tarhanaların duyuşsal nitelikleri değerlendirildiğinde örneklerin genel kabul edilebilirliği arasında istatistiksel fark olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tarhana, fermente gıdalar, laktik asit bakterisi, duyuşsal özellikler

PHYSICOCHEMICAL, RHEOLOGICAL AND SENSORY PROPERTIES OF TARHANA SAMPLES PRODUCED BY DIFFERENT CEREAL AND PULSE FLOURS

ABSTRACT

In this study, the use of chickpea, bean, corn, whole rice, buckwheat and lentil flours instead of wheat flour has been evaluated in terms of physicochemical, rheological and sensory properties for the tarhana. The color, water and oil binding capacity, viscosity, moisture, pH, total acidity, protein, fat, ash, carbohydrate, microbiological and sensory properties of the tarhana samples were examined. When the formulation and other raw material qualities were kept constant, the properties of tarhana were significantly affected by the type of flour. The highest ash content in the bean tarhana ($5.18 \pm 0.01\%$), the highest protein content in the red lentil tarhana ($28.19 \pm 0.74\%$) and the highest oil content in the corn tarhana ($9.55 \pm 0.56\%$) were determined. pH value of the tarhana samples, which were fermented under the same conditions, were found to be statistically insignificant ($P > 0.05$) except the corn tarhana. Although the drying process caused a decrease in the number of yeast, total aerobic and anaerobic microorganisms, the microbial viability still remained in dry tarhana samples. The technological and rheological qualities of the tarhana samples changed according to flour types. However, there wasn't a significant difference among the overall acceptability of the samples according to sensory evaluation.

Keywords: Tarhana, fermented foods, lactic acid bacteria, sensory properties

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉ muge_ertop@hotmail.com,

☎ (+90) 532 667 8240

☎ (+90) 366 280 2968

GİRİŞ

Tarhana TSE 2282'de, buğday unu, buğday kırması, ırmık veya bunların karışımı ile yoğurt, yeşil veya kırmızıbiber, tuz, kuru soğan, domates, tat ve koku verici, sağlığa zararsız bitkisel maddelerin karıştırılıp fermente edildikten sonra kurutulması, öğütülmesi ve elenmesiyle elde edilen bir gıda maddesi olarak tanımlanmıştır (Anonim, 2004; Duran, 2017).

Ülkemizin en önemli geleneksel fermente ürünlerinden olan tarhana, yüksek besinsel kaliteye sahip bir gıdadır. Kolay sindirebilir ve besinsel (mineral, protein, vitamin ve organik asitler) maddeler açısından zengin olduğu için insan sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir (Özcelik vd., 1997; Özdemir vd., 2007). Geleneksel tarhana yapımı, bileşiminde kullanılan maddelerin karışımı ve fermentasyon süresi ile birlikte toplam 5-7 gün sürmektedir. Türkiye'nin farklı bölgelerine göre tarhana üretimi ve isimleri değişiklik göstermektedir. Tarhana formülasyonlarına yöresel olarak farklı tahıl ve ürünleri eklenebilmektedir. Tarhana un ve yoğurt ana hammaddeleri sayesinde temel aminoasitler yönünden birbirini tamamlarken, iyi bir protein ve vitamin kaynağı olmaktadır. Mineraller açısından zengin ve beslenme açısından büyük öneme sahiptir. Tarhana zenginleştirilmeye açık bir gıdadır (Bilgiçli ve İbanoglu, 2007). Kuru formuyla cips şeklinde veya sulandırılmış kuru tozun kaynatılmasıyla çorba şeklinde tüketilmektedir (Tamer vd., 2007; Kumral, 2015).

Bu çalışma ile tahıl ve bakliyat unlarının hammadde olarak kullanımıyla günümüz tüketicisinin fonksiyonel, doğal alternatif ürün beklentisine hitap edecek, geleneksel fermente tarhanaya alternatif bir ürün grubu kazandırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla tarhana yapımında buğday unu yerine zengin protein ve besinsel içeriğe sahip nohut, fasulye, mısır, kepekli pirinç, karabuğday ve kırmızı mercimek unlarının kullanım olanaklarını araştırılmış, ürünlerinin fizikokimyasal, teknolojik, reolojik ve duyuşal özelliklerini tespit edilerek karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada kullanılan nohut, fasulye, kırmızı mercimek, kavuzlu pirinç, karabuğday ve mısır Kastamonu'da yerel bir firmadan sağlanmış ve Kastamonu İhsangazi ilçesinde taş değirmende öğütülerek unları elde edilmiştir. Üretimde kullanılan diğer hammaddeler ve sebzeler (yoğurt, soğan, biber, domates, dereotu ve tuz) yerel bir marketten temin edilmiştir.

Tarhana Örneklerinin Hazırlanması

Tarhana üretiminde spontan kademeli fermentasyon yöntemine dayanan geleneksel tarhana yapım metodu uygulanmıştır. Formülasyonda yoğurt (400g), taze nane (20g), kırmızı (50g) ve yeşil (50g) biber, tuz (30g) ve dereotu (5g) karıştırılarak 24 saat 30°C'de fermente edilmiş, parçalanmış domates (150g) ve soğan (100g) ilave edilerek 30°C'de 24 saat daha fermentasyona bırakılmıştır. Un (400g) ilave edilerek karıştırılmış, ağzı hava alacak ancak kurumayacak şekilde kapatılarak ve her 12 saatte karıştırılarak 2 gün süreyle fermentasyona devam edilmiştir. pH 4.0±0.5 düzeyine gelmesi ve yapıda CO₂ oluşması ile fermentasyona son verilmiştir. Daha sonra kurutma (50°C), parçalama (1-2 cm), öğütme ve eleme prosesleri uygulanmıştır.

Fizikokimyasal Özellikler

Un ve tarhana numunelerinde rutubet, protein, kül ve yağ analizleri AACC (2000) standart metotlara göre yapılmıştır (Rutubet No:44-15A, Kül No:08-01, Yağ No:30-25). Örneklerin serbest azot miktarı analizinde Kjeldahl metodu (AACC No:46-12) kullanılmış, protein miktarlarının hesaplanmasında ise kırmızı mercimek, nohut ve fasulye ununda 6.25, kepekli pirinç ve mısır unları için 5.95 ve karabuğday için 5.70 faktörü kullanılmıştır. Toplam miktarın 100'den çıkartılması ile toplam karbonhidrat oranı (%) hesaplanmıştır.

pH ve Toplam Titrasyon Asitliği (TTA)

Tarhana örneklerinden 10 g alınarak 90 ml distile su ile tamamlanarak 3 dak boyunca karıştırıcı ile karıştırılmış ve çözelti filtre kağıdından (Whatman 30) süzümüştür. Çözeltinin pH'ı daha sonra bir dijital pH metre (Heidolph, Germany) kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen çözelti 0.1 M NaOH ile

titre edilerek TTA belirlenmiş, laktik asit (%) olarak ifade edilmiştir (Nes vd., 1996).

Laktik Asit Bakterileri (LAB)ve Maya Sayımı
Tarhana hamurlarında ve toz tarhanalarda LAB ve maya sayımı yapılmış, bu amaçla 10 g örnek 90 mL steril fizyolojik tuzlu suda (SFS) homojenize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan 10⁻¹lik seyreltiden 1'er mL 9 mL'lik SFS'lere aktarılarak diğer seyrelteler yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0.1mL alınarak, MRS Agara, M17 Agar ve YGC agara (yeast ekstrakt glucose chloromfenicol agar)yayma kültür yöntemiyle ekim yapılmış ve 2 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petri kutularındaki koloniler sayılmıştır (Erkan, 2004; Hendek Ertop, 2017).

Renk (L^*,a^*,b^*)

Bakliyat, tahıl unları ve tarhana numunelerinin kolorimetrik (Minolta, Co.,Ltd, Osaka, Japan) olarak renk ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler 3 noktadan yapılarak değerlerin ortalaması alınmış ve renk parametreleri (L^*,a^*,b^*) belirlenmiştir. Ölçüm verilerinin Eşitlik (1)'in kullanımı ile elde edilen renk farklılığı (dE_{ab}) değerleri de hesaplanmıştır (Bilgiçli, 2009a).

$$dE_{ab}^* = \sqrt{(dL)^2 + (da)^2 + (db)^2} \quad (1)$$

Su tutma (STK) ve Yağ tutma kapasitesi (YTK)

Su ve yağ tutma kapasitesi tarhanada gram başına emilen su veya yağ gramı olarak ifade edilmiş, hesaplama için aşağıdaki eşitlikler kullanılmıştır (Hayta vd., 2002; Bilgiçli, 2009a). Tüm analizler 3 paralel yapılmıştır.

$$STK\left(\frac{ml}{g}\right) = \frac{\text{Ağırlık}_{\text{sediment}} - \text{Ağırlık}_{\text{örnek}}}{\text{Ağırlık}_{\text{örnek}}} \quad (2)$$

$$YTK\left(\frac{ml}{g}\right) = \frac{\text{Ağırlık}_{\text{sediment}} - \text{Ağırlık}_{\text{örnek}}}{\text{Ağırlık}_{\text{örnek}}} \quad (3)$$

Viskozite

20 g toz tarhana 200 ml 20°C'de saf suyla 10 dak karıştırılmış, sürekli karıştırılarak orta ateşte 10 dak süreyle kaynatılmış ve nişasta jelatinizasyonu tamamlanmıştır. Çorba durumundaki tarhananın viskozitesi 60°C'de rotasyonel viskozimetre (Fungilab Expert L viscometer, ABD-spindel

no:3) kullanılarak 5, 20, 30, 60 ve 100 rpm'de İbanoglu vd. (1995) ve Hayta vd. (2002)'ye göre ölçülmüştür.

Duyusal Analiz

Tarhana örneklerinden hazırlanan çorbalar duyusal analize tabi tutulmuştur. Tarhana, ekşi hamur gibi asidik fermente ürünleri tüketen 10 panelist belirlenmiştir. Tarhana çorbalarını renk, tat, koku, genel yeme hissi ve kıvam açısından değerlendirerek 9 puanlı hedonik skala ile puanlamaları istenmiştir. Tarhana çorbası 40 g tarhana ve 500 ml su karışımının sabit karıştırma ile 10 dak kaynatılmasıyla hazırlanmış (Erkan vd., 2006) ve 25-38 yaş aralıklarında dört bayan, altı erkek paneliste rastgele düzende, 60°C'de sunulmuştur

İstatistiksel analiz

Deneylerden elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 20.0.1 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US) kullanılarak yapılmıştır. Veriler çoklu varyans analizine (ANOVA) tabi tutularak örneklerin veri ortalamaları arasındaki fark $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde *Tukey* çoklu karşılaştırma testi yapılarak belirlenmiştir. Aynı örnek için kurutma prosesinin tarhana mikrobiyel canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek, hammadde ve tarhana örneklerine ait verilerin ikili karşılaştırılması amacıyla da bağımsız Student-t testi kullanılmış, veriler %5 önem düzeyinde değerlendirilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi kullanılmış ve her bir duyusal nitelik açısından örnekler arasındaki fark %5 önem düzeyinde test edilmiştir.

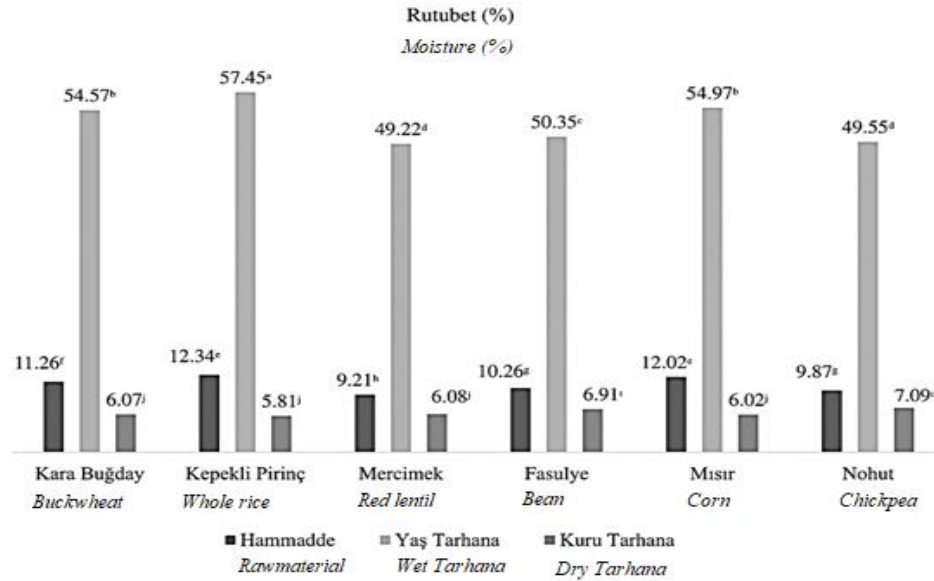
ARAŞTIRMA BULGULARI

Fizikokimyasal özellikler

Kurutulmuş toz tarhana TS 2282 standardına göre en çok %10 nem içeriğine sahip olmalıdır (Anonim, 2004; Şimşek vd., 2012). Unların, yaş tarhanaların ve kurutulmuş toz tarhanaların rutubet değerleri Şekil 1'de verilmiştir. Hammadde olarak kullanılan unlardan en yüksek rutubet içeriği kepekli pirinç (%12.34) ve mısır ununda (%12.02), en düşük rutubet değeri kırmızı mercimek (%9.21) ununda olduğu tespit edilmiştir. Yaş tarhanalarda rutubet miktarı

ortalama %52.30 iken, kurutulmuş toz tarhanalar da ortalama %6.33 düzeyinde bulunmuştur. Tahıl ve baklagil unlarıyla yapılan çalışmalarda kırmızı mercimek ununun %7.97 (Kohajdová vd., 2013),

kepekli pirinç ununun %12.30, nohut ununun %9.14 (Özmen, 2011) rutubet içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir.



*Birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli fark ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir

*Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between the samples

Şekil 1. Un, yaş ve kuru tarhana örneklerinin rutubet değerleri
Figure 1. Moisture values of wet and dry tarhana, and flour samples

Tahıl ve baklagil unu katkı tarhanaların ve unlarının bazı fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiş, aralarındaki farklılıklar istatistiki önem ($P < 0.05$) düzeyinde incelenmiştir. TS 2282 tarhana standardına göre, tarhanada kuru madde üzerinden en az %12 protein bulunmalıdır. Tarhana içeriğindeki protein tahıl ve baklagil unlarının yanı sıra yoğurttan da gelmektedir. Unlarda en yüksek protein kırmızı mercimek (%26.53) ve fasulye ununda (%19.53), tarhana numunelerinde ise paralel olarak kırmızı mercimek tarhanası (%28.19) ve fasulye tarhanasında (%21.63) tespit edilmiştir. Erkan vd. (2006), tarafından yapılan çalışmada, buğday unu ile tarhana numunelerinde ortalama %15.10, arpa tarhanasında ortalama %10.10, buğday ve arpa unları karışımı tarhana numunelerinde %13.60 protein oranı tespit edilmiştir. Tamer vd. (2007) yaptıkları çalışmada farklı tarhana örneklerinin protein oranının %6.77-28.55 arasında değiştiğini ve ortalama %14.93 olduğunu belirtmişlerdir.

Farklı içeriklere sahip tarhana numunelerinde yapılan çeşitli çalışmalarda numunelerin protein miktarları farklı düzeylerde bulunmuştur (Köse ve Çağındı, 2002; Göçmen vd., 2003; Erkan, 2004; Erkan vd., 2006; Özdemir vd., 2007; Bilgiçli, 2009a). Yapılan çalışmalarda bu farklılığın esas olarak tarhana formülasyonundaki yoğurt tipi ve miktarından (Yücecan vd., 1988; Temiz ve Pirkul, 1991) ve kullanılan un çeşidi ve miktarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Öner vd., 1993; Köse ve Çağındı, 2002). Bu çalışmada ise tüm formülasyonlarda yoğurt tipi ve miktarı değişmemiş ve protein değerlerindeki değişimin kullanılan tahıl ve baklagil unlarından kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Hammadde olarak kullanılan unlar arasında en yüksek yağ miktarı mısır ununda (%6.33), en düşük kepekli pirinç ununda (%1.63) olduğu belirlenmiştir. Tarhana formülasyonunda un haricindeki bütün bileşenler aynı miktarda

kullanıldığından, tarhana örneklerindeki yağ miktarı farklılığının kullanılan unlardan kaynaklandığı söylenebilir. Unlara paralel olarak, tarhana örneklerinde de en yüksek yağ içeriği mısır unlu tarhanada (%9.55), en düşük yağ miktarı ise kepekli pirinç unlu tarhanada (%6.39) olduğu tespit edilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda, buğday unu içeren tarhanada %3.40, arpa unlu tarhana numunelerinde %3.39 (Erkan vd., 2006), kinoa unu içeren örneklerde %8.04 ve farklı tarhana örneklerinde ortalama %5.4 yağ içeriğinin olduğu belirtilmiştir (Kıtan, 2017). Dağlıoğlu (2000) tarafından yapılmış tarhana çalışmasında, yağ içeriğinin tarhana bileşenlerine bağlı olarak %1.6-18.2 arasında değişebileceğini belirtilmiştir.

Tarhana örneklerinin karbonhidrat miktarları (Çizelge 1) arasında da istatistiksel olarak önemli fark olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Unlar arasında en yüksek mısır (%73.75) ve karabuğday ununda (%72.84); tarhanalarda en yüksek mısır (%70.80) tarhanasında ve kepekli pirinç tarhanasında (%70.24) tespit edilmiştir. Karbonhidrat miktarları doğrudan proteinle ilişkili olduğundan protein miktarı yüksek unlarda ve tarhanalarda karbonhidrat değerleri düşük olarak bulunmuştur. Siyamoğlu (1961) Türkiye'nin değişik bölgelerinden tarhana numuneleri toplayarak aralarındaki farklılıkları belirlemiş, tarhananın ortalama %60'nın karbonhidrat olduğunu tespit etmiştir. Yörükoğlu (2012), Maraş tarhanası üzerinde yapmış olduğu çalışmada ise tarhananın karbonhidrat içeriğini %72.67-78.59 aralığında saptamıştır.

Tarhanaların aynı formülasyon ve hammaddeler ile hazırlandığı, ayrıca kullanılan un ve tarhanaların yağ, protein ve karbonhidrat bileşenleri göz önünde bulundurulduğunda, tarhana temel bileşiminin kullanılan undan kaynaklandığı söylenebilir.

Tahıl ve baklagil unlu tarhanaların ve unlarının pH ve asitlik dereceleri Çizelge1'de verilmiştir. Fermente bir ürün olan tarhanaların, unlara göre pH değerlerinin daha düşük, TTA'nin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Aynı süre ve koşulda fermentasyona tabi tutulan tarhanaların pH

değerleri genel olarak birbirine yakın olduğu tespit edilmiş mısır haricinde diğer örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P > 0.05$) bulunmamıştır.

Tarhana TS 2282 standardına göre pH ile ilgili herhangi bir sınırlama bulunmamaktadır. Ancak farklı çalışmalarda kabul edilebilir tarhana pH değerlerinin 3.8-4.2 aralığında olduğu belirtilmektedir (Dağlıoğlu, 2000; Tamer vd, 2007). Yapılan birçok araştırmada buğday unu ile yapılan tarhananın pH değeri 4.59, asitlik değeri %1.4, buğday ve arpa unlu tarhana örneklerinin pH değerinin ortalama 4.81 asitlik değerinin 1.2 (Erkan vd., 2006), karayemiş içeren tarhana örneklerinin ise pH değerlerinin ortalama 3.63 asitlik değerinin ise %0.85 (Tarakçı vd., 2013) olduğu belirlenmiştir. Tarhanalardaki asitlik değişiminin uygulanan proses ve fermentasyon koşulları kadar kullanılan hammaddelerden ve bu hammaddelerin mikrobiyota tarafından fermente olabilirliğinden de etkilendiği düşünülmektedir.

Tarhanaların Mikrobiyolojik Nitelikleri

Kurutma prosesinin tarhana mikrobiyotası üzerindeki etkisini tespit etmek amacıyla YGC agarda maya, MRS agarda anaerobik LAB, M17 agarda ise aerobik LAB sayımları gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon süresi sonunda yaş tarhanalarda ve kurutma işlemi sonunda da kuru tarhana örneklerinde yapılan mikrobiyolojik sayımlarda elde edilen maya, toplam aerobik ve toplam anaerobik LAB sayıları Çizelge 2'de verilmiştir. Tarhana örneklerinin kurutma öncesi ve sonrası toplam aerobik, anaerobik LAB ile maya sayım sonuçları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Toplam aerobik LAB yaş örneklerde en yüksek mısır tarhanasında 89.10^5 kob/g, kuru örneklerde ise fasulye tarhanasında 67.10^3 kob/g tespit edilmiştir. Toplam anaerobik LAB ise en yüksek, yaş ve kuru kırmızı mercimek tarhanalarında 69.10^5 kob/g- 34.10^4 kob/g tespit edilmiştir. Maya ise en yüksek yaş ve kuru mercimek tarhanalarında (87.10^4 - 43.10^3 kob/g), en düşük ise yaş ve kuru nohut tarhanalarında (39.10^4 - 39.10^2 kob/g) tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Un ve kuru tarhana örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri
 Table1. Physicochemical properties of flour and dry tarhana samples

		Protein (g/100 g) <i>Protein</i> (g/100 g)	Kül (g/100 g) <i>Asb</i> (g/100 g)	Yağ (g/100 g) <i>Fat</i> (g/100 g)	Karbonhidrat (g/100 g) <i>Carbohydrate</i> (g/100 g)	pH <i>pH</i>	TTA (%) <i>TTA</i> (%)	
Hammadde (Un) <i>Raw material (Flour)</i>	Karabuğday <i>Buckwheat</i>	10.54±0.45 ^d	2.22±0.03 ^d	3.13±0.32 ^{bc}	72.84±0.68 ^b	6.28±0.03 ^a	1.11±0.04 ^{bc}	
	Kepekli pirinç <i>Whole rice</i>	7.66±0.47 ^c	1.94±0.01 ^c	1.63±0.45 ^c	76.42±0.39 ^a	6.03±0.20 ^a	0.55±0.02 ^d	
	Mercimek <i>Red lentil</i>	26.53±0.37 ^a	2.52±0.01 ^b	2.45±0.03 ^c	59.29±0.46 ^d	6.32±0.01 ^a	1.41±0.11 ^{ab}	
	Fasulye <i>Bean</i>	19.53±0.12 ^b	3.45±0.01 ^a	6.05±0.78 ^a	60.72±0.08 ^d	6.11±0.06 ^a	1.64±0.09 ^a	
	Mısır <i>Corn</i>	6.75±0.35 ^c	1.16±0.05 ^f	6.33±0.62 ^a	73.75±0.49 ^b	5.89±0.08 ^a	0.83±0.04 ^{cd}	
	Nohut <i>Chickpea</i>	16.63±0.49 ^c	2.61±0.02 ^b	5.46±0.47 ^{ab}	65.44±0.50 ^c	6.11±0.05 ^a	1.25±0.02 ^b	
	(a)							
	Kuru Tarhana <i>Dry tarhana</i>	Karabuğday <i>Buckwheat</i>	13.97±0.10 ^c	4.59±0.01 ^c	7.40±0.54 ^a	67.97±0.01 ^b	4.32±0.06 ^{ab}	5.48±0.11 ^a
Kepekli pirinç <i>Whole rice</i>		12.99±0.58 ^c	4.56±0.03 ^c	6.39±0.23 ^a	70.24±0.38 ^{ab}	4.25±0.13 ^{ab}	5.65±0.13 ^a	
Mercimek <i>Red lentil</i>		28.19±0.74 ^a	4.93±0.01 ^b	7.29±0.65 ^a	53.50±0.95 ^c	4.33±0.01 ^{ab}	5.60±0.04 ^a	
Fasulye <i>Bean</i>		21.63±0.12 ^b	5.18±0.01 ^a	8.17±0.98 ^a	58.11±0.02 ^d	4.45±0.04 ^a	4.76±0.20 ^a	
Mısır <i>Corn</i>		9.59±0.35 ^d	4.04±0.01 ^d	9.55±0.56 ^a	70.80±0.23 ^a	4.03±0.06 ^b	4.66±0.35 ^a	
Nohut <i>Chickpea</i>		19.28±0.25 ^b	4.04±0.02 ^d	8.92±0.87 ^a	63.67±0.09 ^c	4.49±0.01 ^a	4.72±0.41 ^a	
(b)								
P değeri*** <i>P value***</i>		Karabuğday <i>Buckwheat</i>	0.019	0.027	0.080	0.001	0.020	0.016
	Kepekli pirinç <i>Whole rice</i>	0.069	0.007	0.031	0.039	0.046	0.016	
	Mercimek <i>Red lentil</i>	0.267	0.003	0.085	0.104	0.003	0.006	
	Fasulye <i>Bean</i>	0.036	0.004	0.276	0.005	0.015	0.041	
	Mısır <i>Corn</i>	0.078	0.002	0.110	0.050	0.021	0.058	
	Nohut <i>Chickpea</i>	0.060	0.009	0.157	0.032	0.004	0.075	
	(c)							

*Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli fark ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir. *Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$) between the samples

**TTA (%):Toplam titrasyon asitliği; *TTA (%)*:Total titration acidity

***Unlar ve tarhanaları arasındaki istatistiki ilişkiyi ifade eden p değerleri; *** P values which represents the relationship between flour types and their tarhana samples

Çizelge 2. Kurutma öncesi ve sonrası tarhana örneklerinde maya ve LAB sayıları (kob/g)
Table 2. LAB and yeast count results of the tarhana samples before and after drying (log CFU/g)

	Toplam aerobik LAB* (kob/g)			Toplam anaerobik LAB* (kob/g)			Maya (kob/g)		
	Total aerobic LAB** (cfu/g)			Total anaerobic LAB (cfu/g)			Yeast (cfu/g)		
	Yaş	Kuru	P değeri	Yaş	Kuru	P değeri	Yaş	Kuru	P değeri
Karabuğday <i>Buckwheat</i>	76.10 ^{4c}	38.10 ^{2b}	0.001	26.10 ^{5ab}	86.10 ^{3b}	0.003	79.10 ^{4b}	39.10 ^{3ab}	0.008
Kepekli pirinç <i>Whole rice</i>	35.10 ^{4c}	75.10 ^{2b}	0.002	19.10 ^{4b}	79.10 ^{3b}	0.042	69.10 ^{4c}	34.10 ^{3bc}	0.010
Mercimek <i>Red lentil</i>	52.10 ^{5b}	47.10 ^{3a}	0.001	69.10 ^{5a}	34.10 ^{4a}	0.010	87.10 ^{4a}	43.10 ^{3a}	0.008
Fasulye <i>Bean</i>	14.10 ^{5bc}	67.10 ^{3a}	0.005	22.10 ^{5b}	66.10 ^{3b}	0.003	78.10 ^{4b}	36.10 ^{3bc}	0.009
Mısır <i>Corn</i>	89.10 ^{5a}	45.10 ^{2b}	0.000	93.10 ^{4b}	87.10 ^{2b}	0.001	66.10 ^{4c}	32.10 ^{3c}	0.010
Nohut <i>Chickpea</i>	30.10 ^{3c}	43.10 ^{1b}	0.002	22.10 ^{5b}	58.10 ^{3b}	0.003	39.10 ^{4d}	39.10 ^{2d}	0.002

*Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli fark ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir,

*Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$) between the samples

**LAB: Laktik asit bakterisi; **LAB: Lactic acid bacteria

Genel anlamda yaş tarhanalarda mikrobiyel canlılık fazla iken kurutma işlemine tabi tutulmasına rağmen kuru tarhanalarda da mikrobiyel canlılığın devam ettiği görülmektedir. Dayısoylu vd. (2003) tarafından Maraş tarhanasında yapılan çalışmada $<10^4$ kob/g maya, $<10^4$ kob/g aerobik LAB tespit edilmiştir. Güney Funda (2009), sanayi tipi ve ev yapımı tarhana örnekleri üzerinde yaptığı çalışmada, sanayi tipi tarhana örneklerinde LAB $<10^2$ kob/g, maya $<10^2$ kob/g, ev tipi tarhana örneklerinde ise LAB $<10^2$ kob/g, maya $<10^2$ kob/g arasında olduğunu bildirmiştir. Kastamonu'nun dokuz farklı yöresinden toplanan geleneksel yaş tarhana örneklerinde ise, 10^3 - 10^6 kob/g düzeyinde maya, aynı düzeyde aerobik LAB, 10^5 - 10^6 kob/g düzeyinde ise anaerobik LAB sayısı tespit edilmiştir (Hendek Ertop vd., 2019). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da literatür bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Tarhana ve Unlarının Bazı Teknolojik Nitelikleri

Un, yaş tarhana ve kuru tarhana numunelerin de yapılan renk analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir. Tablodan görüldüğü üzere unlarda

parlaklık (L^*) değerleri yüksekken kuru tarhana örneklerinde parlaklık (L^*) değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Kırmızı mercimek hariç diğer tüm hammaddelerin tarhanaya işlenmesi sonucu a^* kırmızılık değerinin arttığı, kırmızı mercimek ununun mevcut kırmızılık değerinin ise düştüğü belirlenmiştir. Mısır ve nohut hariç a^* değerindeki artışlar istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Tüm hammaddelerin tarhanaya işlendikten sonra b^* değerlerinde ise artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu artış özellikle kırmızı mercimek, mısır ve nohut örneklerinde istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur.

Buğday unu ile yapılan bir çalışmada tarhana numunelerinde ortalama L^* , a^* , b^* sırasıyla 75.06; 6.46 ve 20.12 bulunmuşlardır (Erkan vd., 2006). Bu çalışmada elde edilen tarhanaların temel renk nitelikleri gerek geleneksel buğday unu tarhanasından gerekse birbirlerinden önemli düzeyde ($P < 0.05$) farklı bulunmuştur. Bu durum tarhana yapımında temel hammadde olan unun temel renk karakteristiğinin nihai ürünün rengini de belirlediğini göstermektedir.

Çizelge 3. Un ve kuru tarhanaörneklerinin renk özellikleri, yağ ve su tutma kapasiteleri
 Table 3. Color properties, oil and water binding capacity of flour and dry tarhana samples

		Renk Color				STK** (ml/g) WBC (ml/g)	YTK** (ml/g) OBC (ml/g)	
		L*	a*	b*	dE _{ab} *			
Hammedde (Un) Raw material (Flour)	Karabuğday Buckwheat	87.06±0.34 ^d	0.67±0.09 ^b	8.57±0.23 ^c	87.48±0.33 ^b	2.54±0.01 ^b	3.10±0.02 ^a	
	Kepekli pirinç Whole rice	86.38±0.24 ^d	- 0.50±0.10 ^c	9.91±0.15 ^c	86.95±0.22 ^b	3.16±0.04 ^a	2.96±0.05 ^a	
	Mercimek Red lentil	89.89±0.17 ^c	8.21±0.34 ^a	25.65±0.76 ^a	93.84±0.12 ^a	2.83±0.12 ^{ab}	3.01±0.08 ^a	
	Fasulye Bean	94.84±0.20 ^a	- 0.99±0.07 ^c	10.64±0.55 ^c	95.44±0.14 ^a	2.97±0.18 ^{ab}	2.98±0.03 ^a	
	Mısır Corn	94.97±2.43 ^a	- 2.95±0.05 ^d	22.58±0.47 ^b	97.66±2.38 ^a	2.71±0.10 ^{ab}	2.97±0.06 ^a	
	Nohut Chickpea	93.06±0.27 ^b	- 2.53±0.06 ^d	22.35±0.42 ^b	95.74±0.21 ^a	3.02±0.10 ^{ab}	3.09±0.16 ^a	
	(a)							
	Kuru Tarhana Dry tarhana	Karabuğday Buckwheat	79.24±0.37 ^c	1.89±0.12 ^b	19.54±0.40 ^c	81.63±0.34 ^c	3.13±0.01 ^a	2.84±0.01 ^a
		Kepekli pirinç Whole rice	81.79±0.45 ^{bc}	0.09±0.36 ^b	21.93±0.50 ^c	84.68±0.47 ^{bc}	3.15±0.16 ^a	2.94±0.05 ^a
Mercimek Red lentil		79.20±1.17 ^c	6.66±0.89 ^a	29.62±0.89 ^a	84.83±0.97 ^b	2.90±0.10 ^a	2.82±0.11 ^a	
Fasulye Bean		79.85±0.69 ^c	1.52±0.22 ^b	27.25±0.74 ^{ab}	84.39±0.63 ^{bc}	2.94±0.01 ^a	3.03±0.16 ^a	
Mısır Corn		86.07±0.26 ^a	0.10±0.19 ^b	25.93±0.75 ^b	89.90±0.13 ^a	2.71±0.22 ^a	2.69±0.06 ^a	
Nohut Chickpea		84.94±0.55 ^{ab}	-0.01±0.10 ^b	26.79±0.50 ^{ab}	89.07±0.38 ^a	2.59±0.01 ^a	2.93±0.06 ^a	
(b)								
P değeri*** P value***		Karabuğday Buckwheat	0.030	0.062	0.023	0.037	0.011	0.024
		Kepekli pirinç Whole rice	0.062	0.349	0.026	0.130	0.960	0.758
	Mercimek Red lentil	0.069	0.332	0.140	0.068	0.611	0.334	
	Fasulye Bean	0.029	0.056	0.028	0.036	0.205	0.807	
	Mısır Corn	0.019	0.040	0.140	0.011	1.000	0.134	
	Nohut Chickpea	0.043	0.025	0.071	0.036	0.015	0.228	
	(c)							

*Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli fark ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir.

*Different letters in the same column indicates significant differences ($P < 0.05$) between the samples

**STK: Su tutma kapasitesi, YTK: Yağ tutma kapasitesi

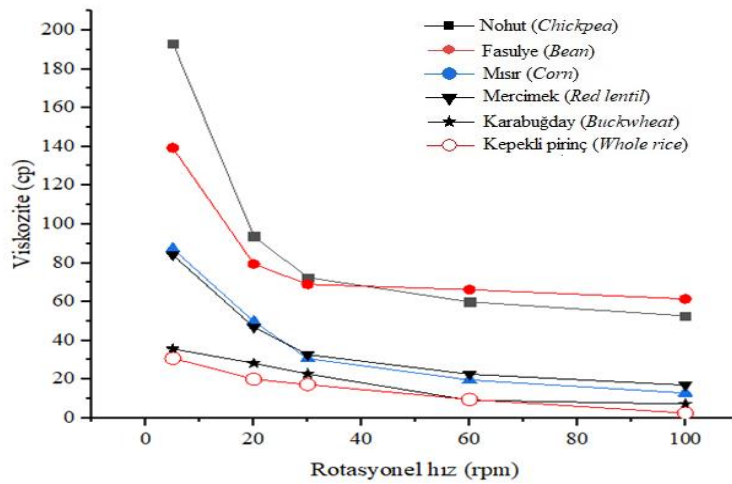
** WBC: Water binding capacity, OBC: Oil binding capacity

Su ve yağ tutma kapasiteleri viskoz özelliği bulunan gıdalarda önemli bir fonksiyonel özelliktir. Çizelge 3’ de tahıl ve bakliyat unlarının ve tarhanalarının su tutma kapasitesi (STK ml/g) ve yağ tutma kapasitesi (YTK ml/g) değerleri verilmiştir. Unlarda su tutma kapasitesi 2.54 ile 3.16 ml/g arasında olup en yüksek kepekli pirinç unudur. Yağ tutma kapasiteleri de 2.96 ile 3.01 ml/g arasında değişmiş olup karabuğday ununun en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Tarhana örneklerinde ise STK’nin 2.59 ile 3.15 ml/g aralığında, YTK’nin 2.82 ile 3.03 ml/g arasında olduğu tespit edilmiştir. Tarhanalarda da, unlara paralel olarak en yüksek STK kepekli pirinç unu tarhanasında belirlenmiştir ki bu durumun kepek içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı tarhana numunelerinde yapılan analizlerinde su tutma kapasitelerinin 0.45 ile 1.45 ml/g aralığında olduğu bildirilmiştir (Hayta vd., 2002). Karabuğday unu ile zenginleştirilerek yapılan tarhanada su tutma kapasitesinin 0.50-0.63 ml/g, yağ tutma kapasitesinin 3.54-4.59 ml/g arasında değiştiği belirtilmiş ve karabuğday unu oranı arttıkça su tutma ve yağ tutma kapasitelerinin arttığı tespit edilmiştir (Bilgiçli, 2009b).

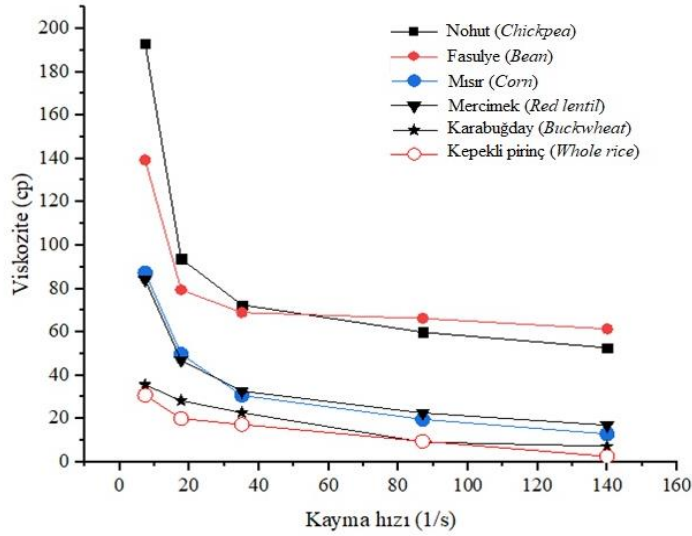
Viskozite, reolojik bir nitelik olup çorba tarzında akışkan gıdaların en önemli ayırt edici özelliklerindedir. Çalışmada farklı tahıl ve baklagil unları ile tarhana üretimi gerçekleştirilmiştir. Tahıl ve baklagillerde yüksek miktarda nişasta

bulunmakta ve bu da kullanıldığı gıdaların viskozite niteliğini önemli ölçüde etkilemektedir. Nişasta granülleri su ile çözünmediği halde sıcaklık ile muamelesinde çirşlenerek jel yapı oluştururlar. Fermente bir ürün olan tarhana, nişasta bazlı bir gıda olduğundan kalite niteliğini belirlemede viskozite önemli bir yere sahiptir. Tarhananın diğer bileşenlerini oluşturan yağ ve proteinlerin de viskoz yapıyı etkilediği bildirilmiştir (Kıtan, 2017). Şekil 2’de elde edilen sonuçlara göre özellikle yüksek nişasta içeriğine sahip örneklerin viskozite değerlerinin diğer tarhana örneklerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. En yüksek viskozite değerinin nohut tarhanasında ve fasulye tarhanasında olduğu belirlenmiştir.

Tarhana numunelerinde genel olarak rotasyonel hıza ve kayma hızına (Şekil 2) karşılık viskozitenin düştüğü belirlenmiştir. Sıvı gıda numunelerinde genel olarak kayma kuvveti arttıkça viskozitesinde değişim gözlenmektedir. Akış davranışlarının değişimleri sıvı gıdaların içeriğine göre değişmekte ve bu tür akışkanlara ‘Non-Newtonian’ veya ‘ideal olmayan’ akışkanlar denilmektedir. Bu çalışmada tüm tarhana numunelerine uygulanan kayma hızına karşın viskozitelerinin düştüğü görülmektedir ve bu da tarhana numunelerinin hepsinin Non-Newtonian akış karakterine sahip olduğunu göstermektedir (Geankoplis, 1983; Erbaş vd., 2005).



(a)



(b)

Şekil 2. Tarhana çorba örneklerinin rotasyonel hızına karşılık viskozitelerindeki değişim (a), kayma hızına karşılık viskozitelerindeki değişim (b)

Figure 2. Viscosity of tarhana soup samples versus to rotational speed (a), Viscosity of tarhana soup samples versus to shear rate

Gıdalara fonksiyonellik kazandırmak veya gıdayı zenginleştirme amacıyla katılan maddeler gıdanın tüketilebilirliğini olumsuz yönde etkilememeli, duyuşal özelliklerini tüketici açısından bozmamalıdır (Eyidemiir, 2006). Bu çalışmada duyuşal analiz yapılmasının sebebi, geleneksel bir üründe daha önce kullanılmayan tahıl ve baklagil unlarının ilavesi sonucu ortaya çıkan yeni tarhana numunelerinin tüketiciler tarafından kabulünü belirlemektir. Kuru tarhana örneklerinden hazırlanan çorbaların duyuşal değerlendirme sonuçları Çizelge 4.'de verilmiştir.

Çizelge 4'de görüldüğü üzere test edilen koku, renk ve tat kriterleri bakımından örnekler arasında önemli farklılıklar tespit edilmezken ($P>0.05$), kıvam ve ekşilik kriterleri açısından önemli fark ($P<0.05$) elde edilmiştir. Genel beğeni puanları açısından karabuğday diğer örneklerden yüksek iken, kepekli pirinç daha düşük bulunmuş. Ancak tarhana örneklerinin genel kabul edilebilirlik

puanları arasındaki fark istatistiki açıdan önemsiz olarak değerlendirilmiştir ($P>0.05$). Hiçbir tarhana örneğinin 6'nın altında puan almamış olması, farklı un kullanımının tüketici beğenisini olumsuz yönde etkilemediği şeklinde yorumlanmıştır. Tarhanada kullanılan tahıl ve baklagil unları, tarhana formülasyonunda yer alan yoğurt, sebze ve baharatlar gibi malzemelere göre daha nötr tada sahip hammaddelerdir. Aynı zamanda tarhana, tuz içeriğine sahip ve fermentasyona tabi tutularak pH değeri 4.0-4.5 düzeyine kadar düşürülen asidik bir gıdadır. Dolayısıyla tarhana örneklerinin ana tat profilini, fermentasyonu sonucu oluşan organik asitler, tat ve aroma maddeleri ile formülasyona katılan baharatlar, sebzeler ve yoğurt belirlemekte, un tadı ise geri planda kalmaktadır. Dolayısıyla duyuşal analiz sonucu, panelistlerin tarhanalar arasında istatistiki önem düzeyinde fark tespit edememesinin ($P>0.05$) nedeninin, un tat ve kokusunun, tarhana lezzet profilinde geri planda kalmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Çizelge 4. Tarhana çorbalarının duyuşal özellikleri
Table 4. Sensory properties of tarhana soup samples

Tarhana Tarhana	Koku Flavor	Renk Color	Kıvam Consistency	Tat Taste	Ekşilik Sourness	Genel Overall
Karabuğday Buckwheat	8.29±0.76	7.43±1.27	7.14±1.21	7.57±1.27	6.43±1.62	8.00±1.00
Kepekli pirinç Whole rice	6.43±2.23	5.71±1.60	6.29±0.76	6.71±1.98	5.29±0.95	6.43±1.40
Mercimek Red lentil	6.57±1.51	7.00±1.00	6.29±1.25	6.29±1.11	7.29±0.95	7.00±1.15
Fasulye Bean	7.29±0.95	6.14±2.04	6.57±0.79	8.00±1.15	7.43±1.62	6.57±1.62
Mısır Corn	7.71±1.11	7.14±1.21	8.29±0.76	6.57±1.72	8.00±1.00	7.00±1.15
Nohut Chickpea	8.29±0.76	7.71±1.11	7.14±0.90	7.71±1.11	8.29±1.11	7.43±1.27
<i>P değeri*</i> <i>P value*</i>	0.072	0.091	0.007	0.171	0.004	0.215

*P <0.05;örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğunu göstermektedir.

*P <0.05; indicates that there is a significant difference between the samples.

TARTIŞMA

Bu çalışmada günlük diyetimizin %70'lik bölümünü oluşturan baklagil ve tahıllardan elde edilen unların, geleneksel bir gıdamız olan tarhana üretiminde buğday unu yerine kullanımı değerlendirilmiş ve elde edilen ürünlerin bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal nitelikleri belirlenerek karşılaştırılmıştır. Tarhana numunelerinin incelenen nitelikler açısından, kullanılan un çeşitliliğinden önemli ölçüde etkilendikleri, un çeşidinin tarhana özellikleri üzerinde belirleyici olduğu tespit edilmiştir. Kullanılan unlar ve bunlardan elde edilen tarhana örnekleri karşılaştırıldığında ise formülasyonuna katılan yoğurt, baharat ve sebzelerin etkisiyle fizikokimyasal nitelikler açısından tarhanaların yağ, protein ve karbonhidrat değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Un çeşitliliğine bağlı olarak yaş tarhana ve toz tarhana örneklerinin renk değerlerinde farklılık gözlenmiştir. Tarhana örneklerinde uygulanan kurutma prosesinin ise toplam mikrobiyotanın canlılığında azalmaya neden olduğu ancak toz tarhanalarda canlılığın devam ettiği belirlenmiştir. Elde edilen ürünlerin en önemli niteliği tüketici kabulüdür ki, yapılan duyuşal değerlendirme sonucu tüm numunelerin panelistler tarafından yeterli puanı alması farklı un kullanımının tüketici beğenisini olumsuz yönde etkilemediğini göstermiştir.

Bu çalışma ile geleneksel fermente gıda ürünümüz tarhana, günlük diyetimizde yer alan kırmızı mercimek, pirinç, mısır, nohut, fasulye ve karabuğday gibi alternatif unlarla üretilerek alternatif bir gıda ürünü haline getirilmiştir. Kullanılan mercimek, nohut, pirinç, fasulye ve mısır unlarında gluten olmaması bu ürünlerin çölyak hastaları tarafından da kullanılabilir bir alternatif olmasını sağlamıştır. Pirinç ununun ise kepekli olarak öğütülmüş olması lif içeriğinin zenginliği açısından farklı bir fonksiyonellik oluşturmaktadır. Bu çalışma ile elde edilen ürünlerin günümüz tüketicisinin fonksiyonel, doğal ve besinsel niteliği yüksek ürün arayışına alternatif olacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No:KÜBAP-01/2018-40). Yazarlar desteklerinden dolayı Kastamonu Üniversitesi BAP Koordinatörlüğüne teşekkür ederler.

KAYNAKLAR

AACC, (2000). American Association of Cereal Chemists: Approved Methods of the AACC (8th ed.), The Association: St. Paul, MN.

- Anonim, (2004). TSE 2282 Tarhana Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Bilgiçli, N., İbanoglu, Ş. (2007). Effect of wheat germ and wheat bran on the fermentation activity, phytic acid content and colour of tarhana, a wheat flour-yoghurt mixture. *J.Food Eng.*, 78: 681-686.
- Bilgiçli, N. (2009a). Enrichment of gluten-free tarhana with buckwheat flour. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 60(4):1-8.
- Bilgiçli, N. (2009b). Effect of buckwheat flour on chemical and functional properties of tarhana. *LWT-Food Sci.Technol.*, 42(2):514-518.
- Dağlıoğlu, O. (2000). Tarhana as a traditional Turkish fermented cereal food, its recipe, production and composition. *Nahrung*, 44(2):85-88.
- Dağlıoğlu, O., Arıcı, M., Konyalı, M., Gümüş, T. (2002). Effects of tarhana fermentation and drying methods on the fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*. *Eur.Food Res.Technol.*, 215:515-519.
- Dayısoy, K.S., Gezginç, Y., İnanç, A.L. (2003). Kahramanmaraş tarhanasına besin fonksiyonelliği açısından bir bakış. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 511-523, Ankara.
- Duran, T. (2017). Buğday kepeği ve şeker pancarı lifinin tarhana kalitesine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Erbaş, M., Certel, M., Uslu M. K. (2005). Microbiological and chemical properties of Tarhana during fermentation and storage as wet-sensorial properties of Tarhana soup. *LWT, Food Sci.Technol.*, 38:409-416.
- Erkan, H. (2004). Farklı tahıl unları kullanılarak üretilen tarhana örneklerinin kimyasal, fonksiyonel ve duyu özelliklerinin araştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Erkan, H., Celik, S., Bilgi, B., and Koxsel, H. (2006). A new approach for the utilization of barley in food products: Barley tarhana. *Food Chem.*, 97(1):12-18.
- Eyidemiir, E., (2006). Kayısı çekirdeği ilavesinin eriştenin bazı kalite kriterlerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Geankopolis, C.J. (1983). *Transport Processes and Unit Operation* (3rd ed.). New Jersey: PTR Prentice-Hall, 923p.
- Göçmen, D., Gürbüz, O., Şahin, İ. (2003). Hazır tarhana çorbaları üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 28:13-18.
- Güney Funda, E., (2009). Ülkemizde tüketilen tarhanaların mikrobiyolojik ve bazı kimyasal özelliklerinin analizi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Hayta, M., Alpaslan, M., Baysar, A. (2002). Effect of drying methods on functional properties of tarhana. A Wheat Flour-Yoghurt Mixture. *J.Food Sci.*, 67(2):740-744.
- Hendek Ertop, M. (2017). Farklı fermantasyon ve kurutma yöntemleriyle üretilmiş toz ekşi hamurun bazı mikrobiyolojik nitelikleri ve ekmekteki küf gelişimi üzerine etkileri. *GIDA*, 42(5):609-619.
- Hendek Ertop, M., Cerit, Z.G., Atasoy, R. (2019). Evaluation of physicochemical, nutritional and sensory properties of the wet tarhana. *Food Sci. Qual. Manag.*, 83:61-67.
- İbanoglu, Ş., Ainsworth, P., Wilson, G., Hayes, G.D. (1995). The effect of fermentation conditions on the nutrients and acceptability of tarhana. *Food Chem.*, 53(2):143-147.
- Kıtan, S. (2017). Glutensiz tarhana üretiminde kinoa (*Cenopodium quinoa*) kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- Kohajdová, Z., Karovičová, J., Magala, M. (2013). Effect of lentil and bean flours on rheological and baking properties of wheat dough. *Chem. Pap.*, 67(4):398-407.
- Köse, E., Çağındı, Ö.S. (2002). An investigation into the use of different flours in tarhana. *International J. Food Sci. Technol.*, 37:219-222.
- Kumral, A. (2015). Nutritional, chemical and microbiological changes during fermentation of

- tarhana formulated with different flours. *Chem. Cent J.*, 9:16. doi:10.1186/s13065-015-0093-4.
- Nes, I.F., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Brurberg, M.B., Eijsink, V., Holo, H. (1996). Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie Leeuwenhoek*, 70:113-128.
- Özçelik, F., Cakıroğlu, P., Surucuoglu, M. S. (1997). Çocukların anne sütü ile beslenme suresi ve ek besinlere başlama durumları. *Gıda*, 22:123-127.
- Özdemir S., Gocmen D., Yildirim Kumral A. (2007). A traditional Turkish fermented cereal food: Tarhana. *Food Rev. Int.*, 23:107-121.
- Öner, M.Ö., Tekin, A.R., Erdem, T. (1993). The use of soybeans in the traditional fermented food-tarhana. *LWT-Food Sci. Technol.*, 26(4):371-372.
- Özmen, F.H. (2011). Çölyak hastaları için baklagil unları ile zenginleştirilmiş pirinç tarhanası. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Siyamoğlu, B. (1961). Türk Tarhanalarının Yapılışı ve Terkibi Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, 77s.
- Şimşek, Ö., Özel, S., Çon, A.H. (2012). Ev ve işletme tipi uşak tarhanası hamurlarında fermantasyon sürecine ait mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerin karşılaştırılması. *Gıda*, 37(6):341-348.
- Tamer, C.E., Kumral, A., Asan, M., Sahin I. (2007). Chemical compositions of traditional tarhana having different formulations. *J. Food Process. Preserv.*, 31:116-26.
- Tarakçı, Z., Anıl, M., Koca, I., İslam, A. (2013). Effects of adding cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) on some physicochemical and functional properties and sensorial quality of tarhana. *Qual. Assur. Saf. Crop. Foods*, 5(4):347-355.
- Temiz A., Pirkul T. (1991). Chemical and sensorial properties of tarhana samples produced with different components. *GIDA*, 16(1):7-13.
- Yörükoğlu, T. (2012). Maraş tarhanasının bazı özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş.
- Yücecian, S., Kayakırlmaz, K., Başoğlu, S., Tayfur, M. (1988). Tarhananın besin değeri üzerine bir araştırma. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 45(1):47-51.

INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOSITION OF ORGANICALLY-GROWN STRAWBERRY AND BLUEBERRY

Hacer Ekşi Karaağaç, H. Özgül Uçurum*

¹Central Research Institute of Food and Feed Control, Bursa, Turkey

Received / Geliş: 12.0.02.2019; Accepted / Kabul: 17.07.2019; Published online / Online baskı: 18.08.2019

Ekşi Karaağaç, H., Uçurum, H.Ö. (2019). Investigation of phenolic composition of organically-grown strawberry and blueberry. GIDA (2019) 44 (5): 794-801 doi: 10.15237/gida.GD19049

Ekşi Karaağaç, H., Uçurum, H.Ö. (2019). Organik olarak yetiştirilen çilek ve yabanmersini meyvelerinin fenolik bileşiminin incelenmesi. GIDA (2019) 44 (5): 794-801 doi: 10.15237/gida.GD19049

ABSTRACT

The present study aimed to investigate phenolic compounds of strawberry which is organically-grown in Bursa region and blueberry in Trabzon region. The phenolic acids and flavonoids were detected by RP-HPLC according to their retention times with the help of diode array detector at 280 nm, 320 nm and 360 nm. Investigated compounds were gallic acid, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallate, 2 coumaric acid, 3 coumaric acid, 4 coumaric acid, chlorogenic acid, caffeic acid, neochlorogenic acid, trans resveratrol, ferulic acid, quercetin, kaempferol and myricetin. According to results it was determined that blueberry fruit contains high amounts of chlorogenic acid (644.25 mg/kg) and among the phenolic acids in strawberries, 4 coumaric acid is regarded as major phenolic compound (3.76 mg/kg). The highest level of myricetin compounds was measured in blueberry (14.41 mg/kg), on the contrary, myricetin was not identified in strawberry fruits but this fruit is especially rich in catechins (58.34 mg/kg).

Keywords: Phenolics, bioactivity, antioxidant, strawberry, blueberry, organic

ORGANİK OLARAK YETİŞTİRİLEN ÇİLEK VE YABANMERSİNİ MEYVELERİNİN FENOLİK BİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ

ÖZ

Bu çalışmada, Bursa yöresinde organik olarak yetişen çilek ve Trabzon yöresinde organik olarak yetişen yaban mersini meyvelerinin fenolik bileşenlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Fenolik asitler ve flavonoidler, RP-HPLC tarafından tutma sürelerine göre 280 nm, 320 nm ve 360 nm'de DAD detektörü yardımıyla tespit edilmiştir. İncelenen bileşikler, gallik asit, epigallokateşin, kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, 2 kumarik asit, 3 kumarik asit, 4 kumarik asit, klorojenik asit, kafeik asit, neoklorojenik asit, trans resveratrol, ferulik asit, kuarsetin, kamferol ve mirisetin'dir. Elde edilen sonuçlara göre, yaban mersini meyvesinin yüksek miktarda klorojenik asit (644.25 mg/kg) içerdiği ve çileklerde fenolik asitler arasında 4 kumarik asidin başlıca fenolik bileşik (3.76 mg/kg) olduğu belirlenmiştir. En yüksek mirisetin miktarı yaban mersini meyvesinde (14.41 mg/kg) olarak ölçülmüş, tam aksine çilek meyvelerinde mirisetin saptanmamıştır, ancak bu meyve özellikle kateşinler bakımından zengindir (58.34 mg / kg).

Anahtar kelimeler: Fenolikler, biyoaktivite, antioksidant, çilek, yaban mersini, organik

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ ozgulucurum@gmail.com,

☎ (+90) 224 246 4721

☎ (+90) 224 246 2629

INTRODUCTION

In recent years, the increasing interest for human health, nutrition and the prevention from illness has driven the demand of the consumer to foods and quality raw material with high nutraceutical value (Cecilia *et al.*, 2013). As a part of a diet, consumption of certain fruits may have noticeable long-term physiological effects. Among different fruit species, berries have attracted a great attention for their bioactivity and they are part of human diet all over the world (Amakura, Umino, Tsuji, & Tonogai, 2000). Especially strawberry and blueberry, belong to the best dietary sources of bioactive compounds (BAC) such as anthocyanins, flavons and other phenolic compounds. They have received increasing attention because of their remarkable antioxidant capacity. BAC compounds are responsible for various health benefits of berries, such as prevention of inflammation disorders, cardiovascular diseases or protective effects to lower the risk of various cancers. (Bomser *et al.*, 1996; Heinonen *et al.*, 1998).

Organic cultivation methods are gaining popularity because of the concerns over environmental contamination and health benefits (Bourn & Prescott, 2002). Researches have reported that organic fruits and vegetables have higher levels of flavonoids. (Asami, Hong, Barrett & Mitchell, 2005; Mitchell *et al.*, 2007). In addition, higher levels of anthocyanins and phenolic compounds, and higher antioxidant capacities were found in organically cultivated blueberries (Wang, Chen, Sciarappa, Wang & Camp, 2008). Moreover, a higher antiproliferative activity towards cancer cells was found in extracts from organically grown strawberries than conventionally grown (Olsson, Andersson, Oredsson, Berglund & Gustavsson, 2006). Turkey ranks third in the world the production of strawberry (FAO, 2017). The strawberry is considered a functional food that offers multiple health benefits, including antioxidant, cardiovascular, antihypertensive, and antiproliferative effects (Basu, Nguyen, Betts & Lyons, 2014). The main polyphenol compounds described in strawberries are anthocyanins, flavan-3-ols, ellagitannins, glycosides of quercetin

and kaempferol (Aaby, Mazur, Nes & Skrede, 2012; Määttä, Kamal-Eldin, Kaisu & Törrönen, 2004).

It is well documented that blueberries are rich in phenolics, particularly hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acids and their derivatives such as chlorogenic, caffeic, gallic, p-coumaric, ferulic, ellagic, syringic, vanillic acids (Hakkinen & Torronen, 2000; Mattila, Hellstrom & Torronen, 2006; Rodriguez-Mateos, Cifuentes-Gomez, Tabatabaee, Lecras & Spencer, 2012). On the other hand, recent studies indicated that the contents of anthocyanins, chlorogenic acid and quercetin were highly dependent upon blueberry cultivar, while seasonal variations had a comparatively minor effect (Brambilla, Lo Scalzo, Bertolo & Torreggiani, 2008; Scalzo *et al.*, 2013). Chlorogenic acid is a colorless phenolic of blueberries formed by esterification of quinic acid with caffeic acids (Clifford, 1999) and also is the major phenolic acid in blueberries previously reported by Correa-Betanzo *et al.*, 2014. Catechin is another major phytochemical belonging to flavonoids found in berries. The most common dietary catechins are catechin, gallicocatechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin 3-gallate, and epigallocatechin 3-gallate (Arts *et al.*, 2000; Cieslik *et al.*, 2006).

The objective of this research was to determine the phenolic composition of strawberry and blueberry fruit species organically grown in Turkey (Bursa and Trabzon provinces) to provide information useful for planning effective antioxidant dietary consumption using local products.

MATERIALS AND METHODS

Fruit samples

Strawberry (*Fragaria×ananassa Duch.*) were harvested from Bursa province and blueberry (*Vaccinium corymbosum L.*) was harvested from Trabzon province. Berries at the full maturity stage were harvested from the beginning of August to the middle of September 2015. Samples were maintained fresh in an icebox during transport to the laboratory and subsequently stored in a refrigerated room at 4 °C; only

undamaged fruits were selected and they were extracted and analysed within 24 h. Fruit extracts were used for the HPLC analysis of the phenolic composition.

Standards and chemicals

The following standards were used to determine phenolic compounds in analyzed fruits: caffeic acid trans resveratrol, chlorogenic acid from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany); epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallat, 2 coumaric acid, 3 coumaric acid, 4 coumaric acid, ferulic acid, kaempferol, myricetin from Extrasynthese (Genay Cedex, France).

The chemicals for mobile phases and sample preparation were methanol and acetic acid from Sigma-Aldrich. The water used in sample, standards and mobile phase preparation was double distilled and purified with a Purelab Option-Q water purification system by Elga (UK).

Extraction of phenolic compounds

The extraction of fruit samples was performed as described (Mulero *et al.*, 2010) with some modifications. Fresh berry samples were mechanically homogenised. A weighed quantity of homogenised sample (approximately 5 g) was mixed with 50 ml extraction solution (50% methanol/water) (v/v) during 16 hours and cooled ultrasonic bath for 30 min. After extraction, the fruit extracts were centrifuged for 25 min at 5400 rpm for 2 times. The supernatant was filtered through a 0.45 µm PVDF filter and transferred to a amber coloured vial prior to injection into the HPLC system.

Determination of phenolic acids and flavonoids

The HPLC analysis was performed an HPLC system with a PDA detector (Shimadzu, Japan). The column was an Inertsil ODS-3 (250 x 4.6 mm, 5 µm; GL Sciences Inc., Japan) operated at 40 °C. The elution solvents were methanol (A) and bi-distilled water containing 2% acetic acid (B). Samples were eluted according to the gradient described by Velioğlu (2007) with some modifications, with an injection amount of 20 µL

and a flow rate of 1 mL/ min. Phenolic compounds of samples were eluted according to a linear gradient from 100% to 95% B in the first 3 min, followed by a linear gradient from 95% to 80% B for 15 min, then holding at 80% B an isocratic flow for 7 min, followed by a linear gradient from 80% to 75% B for 5 min, followed by a linear gradient from 75% to 60% B for 5 min, followed by a linear gradient from 60% to 50% B for 15 min, followed by a linear gradient from 50% to 40% B for 10 min, followed by a linear gradient from 40% to 100% B for 2 min, then an isocratic flow for 5 min before returning to the initial conditions. The gallic acid, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallat, 2 coumaric acid, 3 coumaric acid, 4 coumaric acid were detected at 280 nm, chlorogenic acid, caffeic acid, neochlorogenic acid, trans resveratrol, ferulic acid were detected at 320 nm and quercetin, kaempferol, myricetin were detected at 360 nm according to their retention times. The retention times and wavelengths of phenolic compounds are presented in Table 1.

Statistical evaluation

The results were analyzed using Microsoft Excel program. Means and standard errors of the phenolic content were calculated from three replicates (n=3) for each individual berry species.

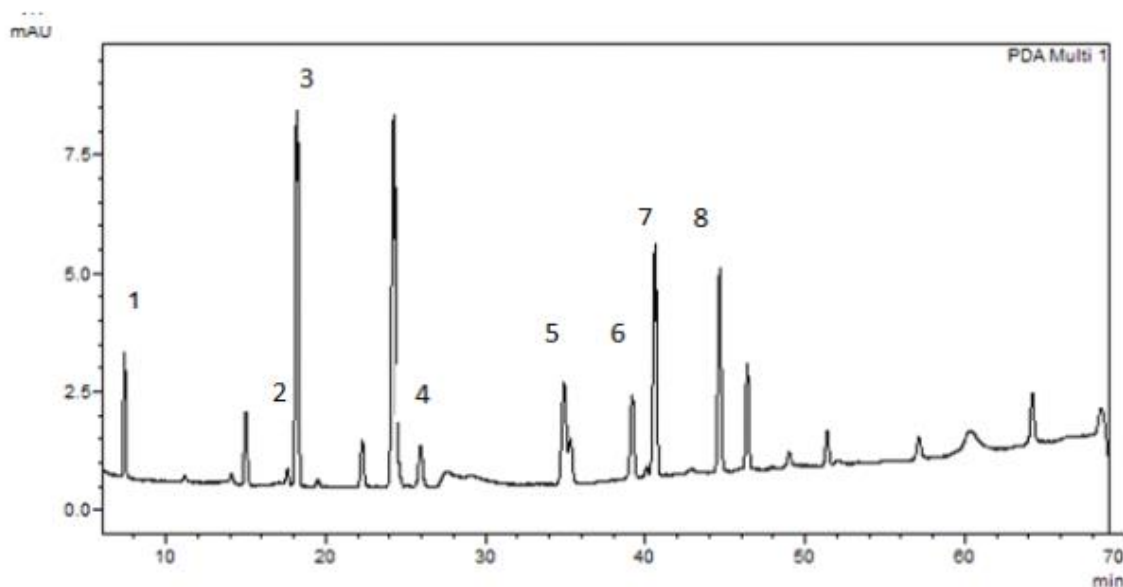
RESULTS AND DISCUSSION

The phenolic compounds detected in strawberry and blueberry samples studied were classified into flavonoids and phenolic acids. Typical chromatograms of phenolic acid and flavonoid standards are given Fig. 1. Table 2. shows the phenolic acid content of strawberries and blueberries. According to results it was determined that blueberry fruit contains high amounts of chlorogenic acid (644.25 mg/kg fw) and among the phenolic acids in strawberries, 4 coumaric acid is regarded as major phenolic compound (3.76 mg/kg). Table 3. shows quantities of flavonoids determined in strawberry and blueberry. The highest level of myricetin compounds was measured in blueberry (14.41 mg/kg), on the contrary myricetin was not identified strawberry fruits but this fruit is especially rich in catechins (58.34 mg/kg).

Phenolic composition of strawberry and blueberry

Table 1. Retention time and wavelength of phenolic acids and flavonoids.

	Retention time (min.)	Wavelength (nm)	Abbreviation
Flavonoids			
Epigallocatechin	17.62	280	Epig
Catechin	18.20	280	Cat
Epicatechin	25.95	280	Epicat
Epicatechin gallat	35.33	280	Epic gal
Trans resveratrol	46.39	320	Trans res.
Myricetin	49.02	360	Myr
Quercetin	57.12	360	Quer
Kaempferol	64.22	360	Kaem
Phenolic acids			
Gallic acid	7.41	280	Gallic a
4 coumaric acid	34.92	280	4 coum. a
3 coumaric acid	40.61	280	3 coum. a
2 coumaric acid	44.65	280	2 coum. a
Neochlorogenic acid	15.00	320	Neochl. a
Chlorogenic acid	22.29	320	Chl. a
Cafeic acid	24.25	320	Caf. a
Ferulic acid	39.18	320	Fer. a



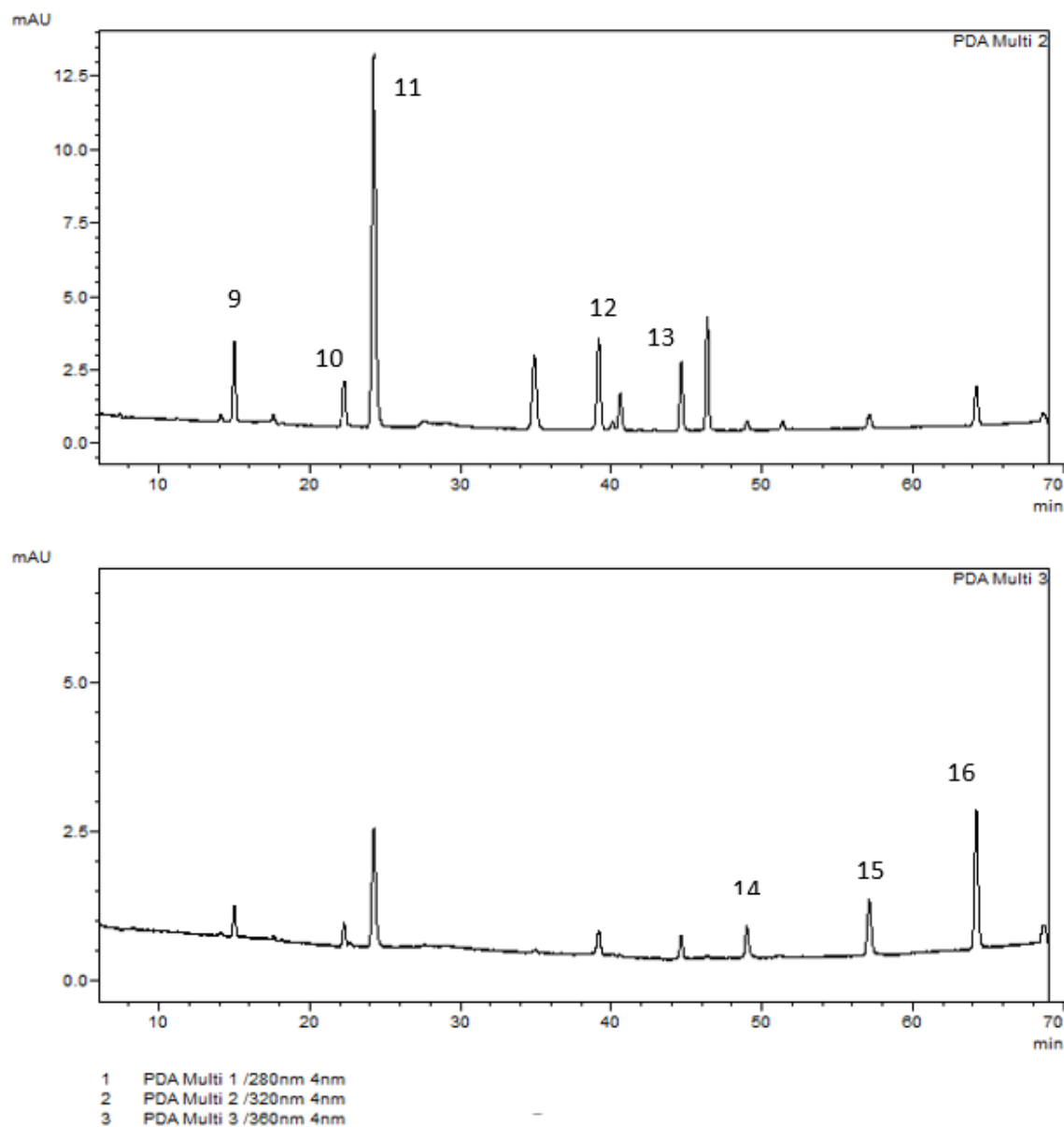


Fig. 1. Chromatograms of phenolic acid and flavonoid standards. Peak identification, 1:gallic a.; 2:epig.; 3:cat.; 4:epicat.; 5:4 coum. a.; 6:epic. gal.; 7:3 coum. a.; 8:2 coum. a.; 9:neochl. a.; 10:chl. a.; 11:cafeic a.; 12: ferulic a.; 13:trans res.; 14:myr.; 15: quer.; 16: kaem.

According to research of Grace *et al.* (2019), sixteen phenolic compounds in organically grown blueberry samples were successfully separated, identified and quantified, including flavonols, phenolic acids and trans resveratrol. Chlorogenic acid represented the primary phenolic acid in all blueberry varieties and this compound showed the highest level (1492-4150 mg/kg dw) and gallic

acid amount was detected 0.05-5.4 mg/kg dw, these results were in line with our results. In our study, chlorogenic acid was detected as the major phenolic compound (3796.41 mg/kg dw) and gallic acid was determined 3.83 mg/kg dw (Table 2). For the other investigated phenolic components catechin was detected 117.5-259.9 mg/kg dw, epicatechin 26.0-109.9 mg/kg dw,

Phenolic composition of strawberry and blueberry

quercetin 5.6-15.4 mg/kg dw and caffeic acid 23.7-35.8 mg/kg dw (Grace *et al.*, 2019). Their results are not accordance with our study. Cardenosa *et al.* (2016) one of the researchers who studied on this subject found the chlorogenic acid values between 4890 and 7730 mg/kg dw. However, Kraujalyte *et al.* (2015) determined this value as 20-346.8 mg/kg fw in fresh berries. The values obtained in our study were 644.25 mg/kg fw (Table 2). Yıldız *et al.* (2015) found that gallic acid content between nd-8.6 mg/kg fw, caffeic acid 2.0-121.6 mg/kg fw, coumaric acid 0.9-2.0

mg/kg fw, catechin 11-29.9 mg/kg fw, epicatechin 11.5-161.4 mg/kg fw, resveratrol 2.9-164.0 mg/kg fw, myricetin 7.6-212.3 mg/kg fw, quercetin 0.6-28.7 mg/kg fw and kaempferol 0.6-11.4 mg/kg fw. The results of gallic acid, caffeic acid, myricetin, and quercetin were parallel with our findings.

These differences may be originate from cultivar, growing techniques, time of harvest, composition of the fertilizers.

Table 2. Quantities (mg/kg fw) of phenolic acids determined in strawberry and blueberry

	Phenolic acids							
	Gallic a.	2 coum. a.	3 coum. a.	4 coum. a.	Chl. a.	Caff.a.	Neochl. a.	Fer. a.
Strawberry *	1.85±0.29	0.35±0.06	ND	3.76 ±0.33	0.22±0	ND	0.09±0.05	0.12±0.06
Blueberry**	0.65±0.09	ND	ND	ND	644.25±3.96	4.16±0.16	4.66±0.15	0.63±0.08

Abbreviations and the full names for phenolic compounds are presented in Table 1. Means and standard errors of the phenolic content were calculated from tree replicates (n=3) for each individual berry species.

*Dry matter : 11.05 (%)

**Dry matter:16.97 (%)

Table 3. Quantities (mg/kg fw) of flavonoids determined in strawberry and blueberry

	Flavonoids							
	Trans res.	Quer.	Myr.	Kaem.	Cat.	Epicat.	Epic. gal.	Epig.
Strawberry *	1.95±0.19	0.65±0.27	ND	0.27±0.12	58.34±0.07	6.99±1.27	ND	5.92±0.74
Blueberry**	ND	0.58±0.07	14.41±0.34	0.33±0.04	ND	0.66±0.07	ND	ND

Abbreviations and the full names for phenolic compounds are presented in Table 1. Means and standard errors of the phenolic content were calculated from tree replicates (n=3) for each individual berry species.

*Dry matter : 11.05 (%)

**Dry matter:16.97 (%)

Fernández *et al.*, (2014) found remarkably high flavanol content in strawberries, especially for (+) catechin (123.7–211.8 mg/ kg fw and 40.1–227.4 mg/ kg fw), in 2011 and 2012 seasons, respectively. And also they detected gallic acid amount as 15.6-24.2 mg/kg fw, ferulic acid 1.5-5.1 mg/kg fw, caffeic acid nd-48.2 mg/kg fw, coumaric acid 0.9-2.7 mg/kg fw, kaempferol 0.53-1.04 mg/kg fw and trans resveratrol nd-1.23 mg/kg fw. In our study Caffeic acid (nd), ferulic

acid 0.12 mg/kg fw , gallic acid 1.85 mg/kg fw and coumaric acid (0.35-3.76 mg/kg fw) was detected in strawberry fruits (Table 2). A just compound coumaric acid were higher than from the researcher results but other coponents lower than in our study. The predominant flavonols in our samples was catechin (58.34 mg/kg fw) in contrast to data reported by other authors (Aaby, Ekeberg *et al.*, 2007; Buendia *et al.*, 2010; Määttä *et al.*, 2004; Da Silva Pinto, Lajolo, Genovese, 2008;

Del Bubba *et al.*, 2012), who found quercetin derivatives to be the main flavonol in strawberries. Our results were similar to those obtained by this research compared with reported values: 25–81 mg/kg fw (Aaby *et al.*, 2007, Arts *et al.*, 2000).

As a result, these differences of composition and amount of phenolic compounds might be explained by cultivation techniques, variety, harvest season, agroclimatic conditions and fertilization programme and organically grown fresh blueberry fruits phenolic compounds content were higher than organically grown fresh strawberry fruits in terms of the inspected sixteen components.

REFERENCES

- Aaby, K., Ekeberg, D., Skrede, G. (2007). Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*, 55(11), 4395–4406.
- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y. (2000). Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J Agric Food Chem*, 48, 6292–6297.
- Arts, I. C.W, Putte B., Hollman, P.C.H. (2000). Catechin Contents of Foods Commonly Consumed in The Netherlands. 1. Fruits, Vegetables, Staple Foods, and Processed Foods. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1746–1751.
- Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., Mitchell, A. E. (2005). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic and sustainable agricultural practices. *J Agric Food Chem*, 51, 1237–1241.
- Basu, A., Nguyen, A., Betts, N. M., Lyons, T. J. (2014). Strawberry as a functional food: An evidence-based review. *Critical Reviews in Food Sci Nutr*, 54, 790–806.
- Bomser, J., Madhavi, D. L., Singletary, K., Smith, M. A. L. (1996). In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. *Planta Medica*, 62, 212–216.
- Bourn, D., Prescott, J. A. (2002). Comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. *Critical Reviews in Food Sci Nutr*, 42, 1–34.
- Brambilla, A., Lo Scalzo, R., Bertolo, G., Torreggiani, D. (2008). Steam-bleached highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) juice: Phenolic profile and antioxidant capacity in relation to cultivar selection. *J Agric Food Chem*, 56, 2643–2648.
- Buendia, B., Gil, M. I., Tudela, J. A., Gady, A. L., Medina, J. J., Soria, C., et al. (2010). HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in strawberry cultivars. *J Agric Food Chem*, 58, 3916–3926.
- Clifford, M. N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates—Nature, occurrence and dietary burden. *J Sci of Food and Agric*, 79, 362–372.
- Correa-Betanzo, J., Allen-Vercoe, E., McDonald, J., Schroeter, K., Corredig, M., Paliyath, G. (2014). Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem*, 165, 522–531.
- Da Silva Pinto, M., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chem*, 107, 1629–1635.
- Del Bubba, M., Checchini, L., Chiuminatto, U., Doumet, S., Fibbi, D., Giordani, E. (2012). Liquid chromatographic/ electrospray ionization tandem mass spectrometric study of polyphenolic composition of four cultivars of *Fragaria vesca* L. berries and their comparative evaluation. *J of Mass Spectrometry*, 47, 1207–1220.
- FAO (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Hakkinen, S. H., Torronen, A. R. (2000). Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: Influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, 33, 517–524 p.

- Heinonen, I. M., Meyer, A. S., Frankel, E. N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J of Agric Food Chem*, 46, 4107–4112 p.
- Kraujalyte, V., Venskutonis, P. R., Pukalskas, A., Cesoniene, L., Daubaras, R. (2015). Antioxidant properties, phenolic composition and potentiometric sensor array evaluation of commercial and new blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and bog blueberry (*Vaccinium uliginosum*) genotypes *Food Chem* 188 (2015) 583–590 p.
- Määtta, R., Kamal-Eldin, R., Kaisu, A., Törrönen, A. R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of fragaria and rubus species (Family Rosacea). *J Agric Food Chem*, 52, 6178–6187.
- Mattila, P., Hellstrom, J., Torronen, R. (2006). Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J Agric Food Chem*, 54, 7193–7199.
- Mitchell, A. E., Hong, Y. J., Koh, E., Barrett, D. M., Bryant, D. E., Denison, R. F., et al. (2007). Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *J Agric Food Chem*, 55, 6154–6159.
- Mulero, J., Pardo, F., Zafrilla, P. (2010). Antioxidant activity and phenolic composition of organic and conventional grapes and wines. *J Food Composition and Analysis*, 23:569-574.
- Olsson, M. E., Andersson, C. S., Oredsson, S., Berglund, R. H., Gustavsson, K. (2006). Antioxidant levels and inhibition of cancer cell proliferation in vitro by extracts from organically and conventionally cultivated strawberries. *J Agric Food Chem*, 54, 1248–1255.
- Rodriguez-Mateos, A., Cifuentes-Gomez, T., Tabatabaee, S., Lecras, C., Spencer, J. P. E. (2012). Procyanidin, anthocyanin, and chlorogenic acid contents of highbush and lowbush blueberries. *J Agric Food Chem*, 60, 5772–5778.
- Scalzo, J., Stevenson, D., Hedderley, D. (2013). Blueberry estimated harvest from seven new cultivars: Fruit and anthocyanins. *Food Chem*, 139, 44–50.
- Velioglu, S. (2007). Farklı çay ekstraktlarının antioksidan, antibakteriyel etkileri ve Fenolik madde dağılımının HPLC ile belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, 2006-07-45-016 HPD nolu BAP kesin raporu. Ankara (acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/2109/2780.pdf)
- Cardenosa V., Vilaplana A. G., Muriel J. L., Moreno D. A., Rojas J. M. M. (2016). Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chem* 202 (2016) 276–283 p.
- Wang, S. Y., Chen, C. T., Sciarappa, W., Wang, C. Y., Camp, M. J. (2008). Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *J Agric Food Chem*, 56, 5788–5794.



EFFECT OF SUBSTRATE CONCENTRATION AND SCALE UP ON THE POLYGALACTURONASE PRODUCTION

Nihan Göğüş^{a}, Canan Tari^b**

^aEfes Vocational School, Dokuz Eylül University, Selçuk, Izmir, Turkey

^bDepartment of Food Engineering, Izmir Institute of Technology, Gulbahce Campus, Urla, Izmir, Turkey

Received / Geliş: 11.03.2019; Accepted / Kabul: 07.07.2019; Published online / Online baskı: 23.09.2019

Göğüş, N., Tari, C., (2019). Effect of substrate concentration and scale up on the polygalacturonase production. GIDA (2019) 44 (5): 802-809 doi: 10.15237/gida.GD19054

Göğüş, N., Tari, C., (2019). Substrat konsantrasyonu ve ölçek büyütmenin poligalakturonaz üretimine etkisi. GIDA (2019) 44 (5): 802-809 doi: 10.15237/gida.GD19054

ABSTRACT

Pectinases have been used for many industrial applications since long time ago. The largest industrial application of these enzymes is in fruit juice and wine production for the extraction, filtration and clarification and for the maceration of fruits and vegetables. They work by enzymatic breaking down of the cell wall. In this study it was aimed to use the previously optimized shake flask media formulation in batch mode 1 L scale serial bioreactor system and 5 L scale in order to investigate the effects of substrate concentration and scale on PG activity and biomass production. In conclusion it was observed that average PG activity (101.29 U/ml) obtained in 5L scale bioreactor experiments was higher than the maximum PG activity (88.55 U/ml) at 40 g/L orange peel (OP) concentration obtained in the 1 L scale substrate concentration experiment. Furthermore, PG activity increased with an increase in substrate concentration except for 60 g/L orange peel concentration.

Keywords: Scale-up, polygalacturonase, *Aspergillus sojae*, bioreactor, orange peel

SUBSTRAT KONSANTRASYONU VE ÖLÇEK BÜYÜTMENİN POLİGALAKTURONAZ ÜRETİMİNE ETKİSİ

ÖZ

Pektinazlar, uzun zaman önceden beri bir çok endüstriyel uygulama için kullanılmıştır. Bu enzimlerin en büyük endüstriyel uygulaması meyve suyu ve şarap üretiminde ekstraksiyon, berraklaştırma ve filtrasyon ayrıca meyve ve sebzelerin maserasyonudur. Hücre duvarının enzimatik parçalanması yoluyla etki ederler. Bu çalışmada, substrat konsantrasyonunun ve ölçek büyütmenin PG aktivitesi ve biyokütle üretimi üzerindeki etkilerini araştırmak için daha önce erlenlerde optimize edilmiş medya formülasyonunun kesikli tip 1 L ölçekli seri biyoreaktör sistemi ve 5 L ölçekte kullanılması amaçlanmıştır. Sonuç olarak, 5 L ölçekli biyoreaktör deneylerinde elde edilen ortalama PG aktivitesinin (101,29 U/ml), 1 L ölçekli substrat konsantrasyonu deneyinden elde edilen 40 g/L portakal kabuğu konsantrasyonundaki maksimum PG aktivitesinden (88,55 U/ml) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 60 g/L portakal kabuğu konsantrasyonu hariç substrat konsantrasyonu arttıkça PG aktivitesi de artmıştır.

Anahtar kelimeler: Ölçek büyütme, poligalakturonaz, *Aspergillus sojae*, biyoreaktör, portakal kabuğu

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉nihan.gogus@deu.edu.tr,

☎(+90) 232 892 8776-77-82

☎ (+90) 232 892 8784

INTRODUCTION

In industry the most extensively used pectinases are the polygalacturonases (PG). (Jayani et al, 2005; Gummadi et al, 2007). As the pectinases are induced enzymes it is necessary to supplement the culture medium with pectin or with raw materials rich in pectin, like orange peel (Malvessi and Silveira, 2004). PGs can be industrially produced by submerged (SmF) and solid-state fermentations (SSF). It is known that about 90% of all industrial enzymes are produced by SmF using genetically modified microorganisms due to several process advantages over SSF. The drawbacks of SSF can be summarized as the difficulties in scale-up and control of process parameters such as pH, temperature, oxygen transfer and moisture. Additionally, low mixing efficiency and higher product impurities increases the product recovery costs of SSF (Nakkeeran et al., 2012). However Biz et al, 2016 show the potential use of solid-state fermentation to produce pectinases in pilot scale. Submerged fermentation (SmF) is generally used for the production of industrially important enzymes, employing mostly genetically modified strains (Pandey et al, 2000). In the investigation of Songulashvili et al, (2015) laccase was produced in a 120-L volume by SmF of *Cerrena unicolor* C-139 growing on wheat bran. It is known that different from the shake flask studies, bioreactors are a better controlled environment where the effect of common factors such as pH, agitation and dissolved oxygen tension can be observed and controlled. They also provide information required in scale up processes (Oncu et al, 2007).

Once a fungus has been decided to be used in the fermentation process, research starts under laboratory-scale conditions using 1-10 L fermenters for the examination of media formulation and feeding strategies (batch, fed-batch, continuous, etc.) and the selection of fermentation system (stirred tank, airlift, packed bed, solid state, hollow fibre, etc.). Additionally, reactor configuration, pH control, dissolved oxygen, foam and temperature should be considered. After the optimization of product yield, process scale-up is usually performed; primarily to pilot scale of 10-100 L and finally to

industrial scale of 1000- 100 000 L or more. The conditions in the large-scale fermenters are not the same with the smaller scale or laboratory systems. Therefore during scale up, product yields decreases (Waites et al, 2001). Yield is affected by the following factors during scale up process; Choice of medium, cheaper nutrient sources are mostly used for large scale applications for a cost effective production, Inoculum type, quality, quantity and the inoculum propagation procedures, Degradation of heat-labile compounds in the industrial-scale sterilization protocols, which affects the final quality of the medium, Profiles of nutrient, temperature, pH and oxygen gradients are needed in larger scale fermenters although they are not experienced in smaller, well mixed fermenters, Foam generation, shear forces and carbon dioxide removal rate can be altered during scale up (Waites et al, 2001).

In our preliminary studies we have optimized the fermentation conditions and developed a low cost industrial media formulation for the production of polygalacturonase enzyme by using *Aspergillus sojae* mutant strain in shake flasks (Gogus et al, 2014). This study was performed in order to evaluate the performance of optimized media formulation in larger scales (1 L serial bioreactor system and 5 L bioreactor) in terms of maximum PG production by using submerged fermentation technique. Moreover effect of orange peel concentration in 1 L serial bioreactor system on PG activity and biomass was investigated.

MATERIALS AND METHODS

Materials

All chemicals were supplied by Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com), AppliChem (www.applichem.com), Merck (www.merck.com), or Riedel-de Haën (www.riedeldehaen.com). Orange peel was supplied by Jacobs University gGmbH, Bremen from local markets in Germany.

Microorganism

Aspergillus sojae ATCC 20235 was purchased from LGC Promochem Inc. (Teddington, Great Britain) an international distributor of ATCC (American Type of Culture Collection) in Europe. This wild type culture was randomly mutated

using ultraviolet light exposure by Jacobs University gGmbH, Bremen according to a modified procedure of De Nicolás-Santiago et al, (2006). The propagation of the cultures was done on YME agar plate medium containing malt extract (10 g/L), yeast extract (4 g/L), glucose (4 g/L) and agar (20 g/L) at 30°C until well sporulated, according to the procedure given by Goguset al, (2006).

Preparation of Inoculum

The inoculum for either shake flasks or bioreactor was obtained on molasses agar slants optimized by Goguset al, (2006) after the pre-activation step performed on YME agar using the stock cultures. The spore suspension was counted using Thoma bright line hemocytometer (Marienfeld, Germany) and the suspensions were stored at 4°C until the inoculation. Inoculation rate was 2.8×10^3 spore/mL.

Enzyme Activity, Total Protein and Total Carbohydrate Assays

Polygalacturonase (PG) activity analysis were performed according to the modified procedure given by Panda et al, (1999) using 2.4 g/L of polygalacturonic acid as substrate at pH 4.8 and 40°C. The amount of substrate and enzymes used were 0.4 and 0.086 mL, respectively. Galacturonic acid was used as standard. One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme that catalyses the release of 1 micromole of galacturonic acid per unit volume of culture filtrate per unit time at standard assay conditions. The phenol-sulfuric acid method was used to determine the total carbohydrate content in fermentation broth where glucose was used as standard (DuBois et al, 1956). The total protein contents of the samples were determined according to the method described by Bradford, 1976 with BSA as a standard.

Biomass Determination

The biomass expressed as dry cell weight (mg/mL) was determined by means of gravimetric method. The fermentation broth was filtered through the dried and pre-weight Sartorius whatman filter discs grade: 389,

followed by drying to constant weight at 95°C, overnight.

Effect of Substrate Concentration on PG Activity and Growth

Orange peel concentrations were decided according to our media optimization study in which optimum OP concentration was 33.98 g/L for maximum PG activity (Gogus et al, 2014). With this perspective six different orange peel concentrations were specified as followings; 60 g/L, 40 g/L, 20 g/L, 15 g/L, 10 g/L, 5 g/L. In order to have a cost effective media formulation additionally only 2.75 g/L ammonium sulphate was used as a nitrogen source. The other fermentation conditions were the optimized conditions in our previous study, as uncontrolled pH, 600 rpm agitation speed, 30°C temperature, 2.8×10^6 spore/L inoculation rate and 1 vvm aeration rate. Sartorius BIostat Qplus-6 MO serial bioreactor was used for this experiment.

Effect of Scale up to 5L on Polygalacturonase Activity

The aim was to investigate the effect of scale up to 5L scale with a working volume of 4 L on the PG activity using the OP concentration which gave the maximum PG activity in 1 L scale serial bioreactor experiment which is explained in the previous section. Orange peel concentration at 40 g/L and ammonium sulphate 2.75 g/L was used. Experiments were performed with fully automated Biostat B plus, Sartorius, Gottingen, Germany bioreactor. The other fermentation conditions were as 600 rpm agitation speed, uncontrolled pH, 30°C temperature, 2.8×10^6 spore/L inoculation rate and 1 vvm aeration rate.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of Substrate Concentration on PG Activity and Growth

Performance of the bio-reaction system in submerged fermentation 1 L scale (750 mL working volume) on PG production and biomass was evaluated under batch mode. The aim of this study was to investigate the effect of different substrate concentrations on PG activity and biomass formation. Biomass was increased in first 24 h. for all substrate concentrations except for 5

g/L. It may be explained by the limited substrate concentration which is used for PG production instead of biomass production (Figure 1b). Additionally the use of particulated substrate such as OP may have caused some difficulties in biomass determination by dry weight method. However it is clear from the figure 1b that higher concentrations of substrate resulted higher biomass concentrations. Highest PG activity (88.55U/mL) was obtained at 95.h. with 40 g/L orange peel concentration (Figure 1a). It was clear from Figure 1a that PG activity increased with an increase in substrate concentration except for 60 g/L orange peel concentration. This case could be

explained by catabolite repression. Maldonado and Saad, (1998) indicated that high sugar concentration stimulated pectinase production in solid state fermentation, whereas in submerged fermentation this production was inhibited, probably by catabolite repression. As the orange peel concentration increased, DO level decrease became faster after 24.h. as it can be observed from Figure 1c. At the 60, 40, 20 and 15 g/L orange peel concentrations the DO level dropped below 40% saturation level at the end of 48.h. (Figure 1c). At the beginning of fermentation pH started around 4.50 and decreased to 2.93 at the end of 95.h. (Figure 1d).

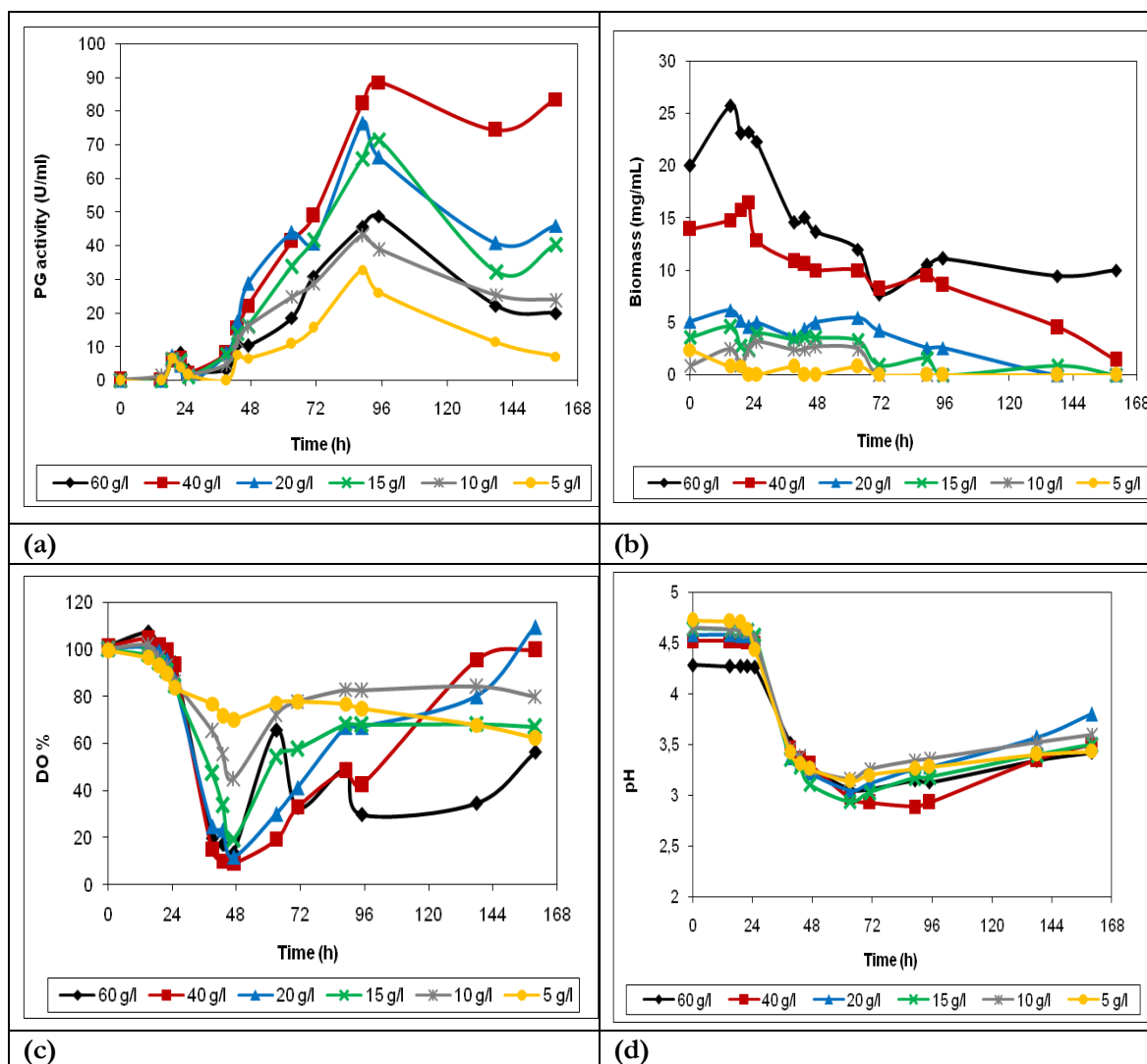


Figure 1. Profiles of substrate concentration experiment performed at 600 rpm, 30°C temperature, 1 vvm and uncontrolled pH conditions (a) PG activity, (b) biomass, (c) DO (%) and (d) pH.

Effect of Scale Up to 5 L on PG Activity

For a fermentation process development scale-up is an important issue to be considered. In order to expand a process from lab-scale to commercial scale, it must be characterized and validated by some controls to evaluate its reliability and reproducibility. Generally it is known that large-scale fermentation processes give lower yield than laboratory scale due to the factors affecting the process yield.

As shown in Figure 2a, PG activity showed rapid increase after 24.h. and reached its maximum value at the end of 48.h. (101.38 U/mL). Furthermore biomass concentration reached to 13.42 mg/mL value at the end of 72.h. (Figure 2b). However biomass concentration dropped to 11.8 mg/mL level at 90.h and increased again to 13.7 mg/mL at the end of fermentation (96.h) which is the maximum biomass amount (Figure 2b). Same profile was also valid for PG activity profile where a decrease was observed after 48.h to 90.h and then activity

increased to the end of fermentation (96.h). This will be due to the growth related PG activity production of the batch fermentation system. The maximum activity value was higher than the activity values obtained in the previous 1 L scale bioreactor experiments.

Specific PG activity similar to PG activity reached its maximum value at 48.h. with a value of 1103.09 U/mg protein as seen in Figure 2c. When the change in protein concentration over time was examined, it can be said that protein concentration profile was mostly constant between the 24.h and 64.h of the fermentation where rapid increase was observed in the PG activity between these hours. In addition, the stable protein concentration between 24-64.h, might be explained by the rapid increase in the enzyme production at this range which led dissolved oxygen level (DO) and pH fall quickly (Figure 2a,c). This decrease also stabilizes the biomass concentration between these hours as seen in Figure 2b.

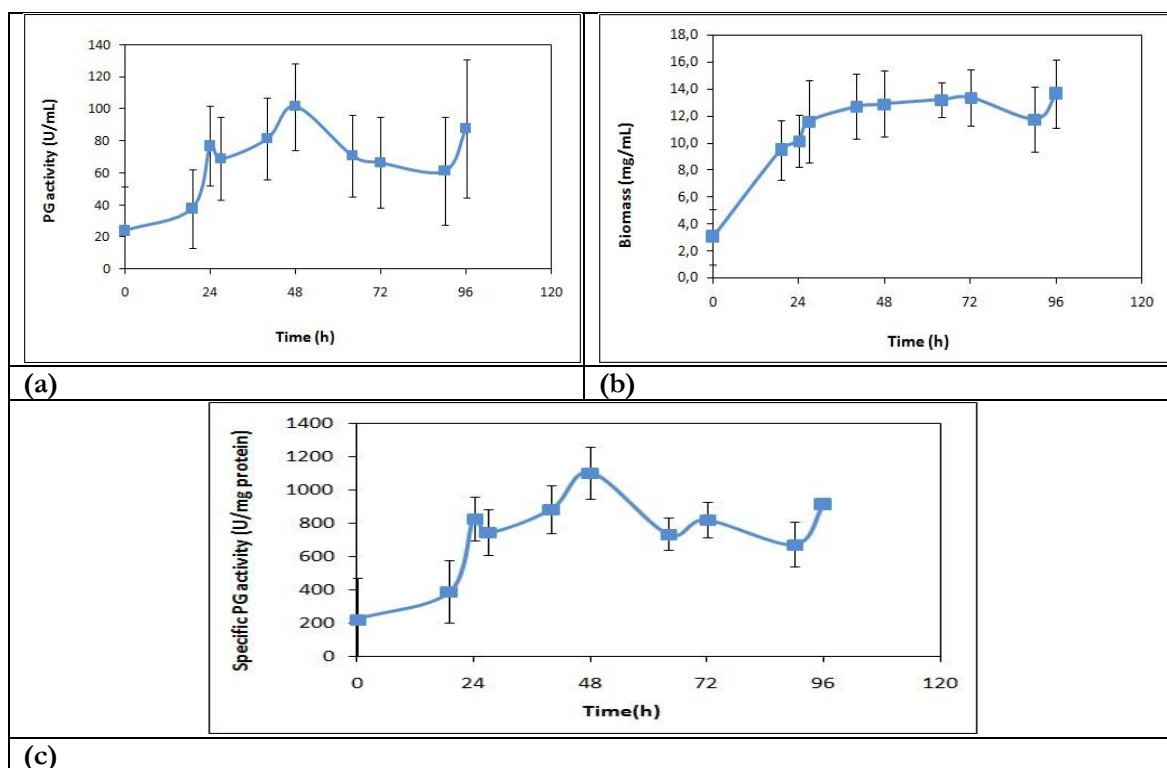


Figure 2. Profiles of first 5L scale bioreactor experiment performed at 600 rpm, 30°C temperature, 1 vvm and uncontrolled pH conditions (a) PG activity (U/mL), (b) Biomass (mg/mL), (c) Specific PG activity (U/mg protein).

In the study performed by Pollard et al, (2006) the scale up, from pilot scale to (0.07, 0.8, and 19 m³) production scale (57 m³) for the intracellular production of the pharmaceutically important secondary metabolite, pneumocandin from *Glarea lozoyensis* was described. They claimed that a scale up process requires the establishment of oxygen delivery and mixing efficiency in the bioreactor, coupled with process sensitivity and characterization studies that together define the process-limiting and critical scale-up parameters.

Junker et al, (2004) summarized the parameters to be considered for a successful initial pilot plant scale-up as followings, based on experiences during model cultivations: Minimization of culture pelleting; The use of media suitable for the large scale, (without solid particles, possessing a reasonable viscosity); Optimizing process parameters for pilot scale from laboratory scale; Establishment of reproducibility for similar fermentation vessels; Evaluation of data to determine the key parameters for improved process performance.

Junker et al, (2009) have developed pilot-scale fermentation for an antifungal compound produced by a filamentous fungus. The process was scaled up to the 15,000 L working volume based on constant aeration rate (vvm) and peak impeller tip speed. In that study they concluded that although process scale up resulted with high productivity, high broth viscosity was a problem during fermentation which was also an important problem in our study.

Table 1 shows the effect of scale on maximum PG activity, and biomass values with 40 g/L OP concentration. It is clear that scale up improved PG activity. As a result, maximum PG activity (101.29 U/mL) obtained at 48.h of 5L scale bioreactor experiment was higher than the maximum PG activity (88.55 U/mL) obtained at 96.h conducted in the previous section at 1 L scale. Higher scale caused PG activity to increase faster with a reasonably high activity value.

Meneghel et al, (2014) explained that unlimited oxygen availability in *A. niger* cultivation directed

nutrient consumption to activities rather than biomass synthesis. According to the authors, fungi first adapt to the environment, and then start proteolysis and the oxidative stress produced in the cell leads to the release of hydrolytic enzymes to obtain substrate. The substrate consumption leads to either biomass or product formation. If consumption is fast, culturing time decreases at the without oxygen restriction condition. In the current study scale up improved PG activity production while limiting the biomass synthesis which might be explained with a better oxygen transfer in larger scales.

Table 1. Comparison of PG activity and biomass.

Scale	PG activity (U/mL)	Biomass (mg/mL)
*250 mL (shake flask)	110.93	-
1 L scale	88.55	25.71
5 L scale	101.29	13.42

*From shake flask experiments of our optimization study at 33.98 g/L (Gogus et al., 2014).

Similarly Fontana et al, 2009 tested *Aspergillus oryzae* polygalacturonase with a soluble medium in STR and concluded that after 96 h, maximum enzymatic activity values achieved for exo- and endo-PG were 65.2 U/mL and 91.3 U/mL, in the STR, with similar activity values of 60.6 U/mL and 86.2 U/mL, respectively, being in the airlift bioreactor. Our study achieved similar activities again after 96. h. Pectinase production by *Aspergillus oryzae* performed in bioreactor resulted in 43 U/mL activity according to Meneghel et al, 2014. Study performed by Wolf-Marquez et al, 2017 revealed that the scaling-up of the process at a 5 L-bioreactor improved endo- and exopectinase production 10 and 40 times, respectively, when compared to the values recorded at the 1 L-stirred tank. Similarly current study achieved improved polygalacturonase production with scaling-up of the process from 1 L to 5 L scale. However maximum activity (110.93 U/mL) was produced in shake flask experiment as given in Table 1 which may be explained with high hydro mechanical stress generated in stirred

tanks. In a study performed by Rocha-Valadez et al, (2006) it was reported that shake flasks generate lower levels of hydro mechanical stress than stirred tanks where that higher shear rates triggered an earlier synthesis of 6-pentyl-a-pyrone in the stirred tank cultures.

CONCLUSION

Consequently, scale up to 5 L improved PG production rather than biomass which is explained with the unlimited oxygen transfer in larger scales that leads enzyme production. However, higher pectinase activity obtained in batch fermentation than bioreactor experiments may be explained with high hydro mechanical stress generated in stirred tanks which limits PG production. Additionally in 1 L scale due to the oxygen limitation PG activity started to increase after 48.h where in 5 L scale PG activity started to increase after 24.h which was earlier than 1 L scale. Furthermore in 1 L scale maximum PG activity was achieved at 40g/L OP concentration, similar with the 5 L scale OP concentration.

In general conclusion, the present study underlines the need to develop a correct and consistent scaling-up process for a high production of polygalacturonase using cheap substrates in order to obtain enough data for the studies about the contribution of the enzyme in different industrial food applications.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Izmir Institute of Technology, Biotechnology and Bioengineering Research and Application Center for the Sartorius BIOSTAT Qplus-6 MO serial bioreactor system. The authors also acknowledge Prof. Dr. Marcello Fernandez LAHORE from Jacobs University gGmbH, Bremen, Germany for sharing their mutant fungal strains.

REFERENCES

Jayani, R.S., Saxena, S., Gupta R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochem*,40(9):2931-2944, doi: 10.1016/j.procbio.2005.03.026.

Gummadi, S.N., Manoj, N., Kumar, D.S. (2007). Structural and Biochemical Properties of

Pectinases. In *Industrial Enzymes*, Polaina, J., MacCabe, A.P., Eds.; Springer: Heidelberg, pp. 99-115.

Malvessi, M.,Ve Da Silveira, M.M. (2004). Influence of medium composition and pH on the production of polygalacturonases by *Aspergillus oryzae*. *Braz Arch Biol Technol*, 47(5):693-702.

Nakkeeran, E., Gowthaman, M.K., Umesh-Kumar, S., Subramanian, R. (2012). Techno-economic Analysis of Processes for *Aspergillus carbonarius* Polygalacturonase Production. *J Biosci Bioeng*, 113(5):634–640.

Biz,A., Finkler,A.T.J., Pitol, L.O., Medina,B.S., Nadia K., Mitchell,D.A.(2016). Production of pectinases by solid-state fermentation of a mixture of citrus waste and sugarcane bagasse in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochem Eng J*, 111:54–62.

Pandey, A., Soccol, C.R., Mitchell, D.(2000). New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process Biochem*, 35(10):1153-1169, [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00152-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00152-7).

Songulashvili,G., Spindler,D., Jimene'z-Tobo'n,G.A., Jaspers,C., Kerns,G., Penninckx,M.J. (2015).Production of a high level of laccase by submerged fermentation at 120-L scale of *Cerrena unicolor* C-139 grown on wheat bran. *C R Biologies*, 338:121–125, <http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2014.12.001>.

Oncu, S., Tari, C., Unluturk, S. (2007). Effect of various process parameters on morphology, rheology, and polygalacturonase production by *Aspergillus sojae* in a batch bioreactor. *Biotechnol Prog*, 23:836-845.

Waites, M.J., Morgan, N.L., Rockey J.S., Gary H. (2001). *Industrial Microbiology: An Introduction*, Blackwell Science Ltd, pp. 107-108.

Göğüş,N., Hakgüder Taze,B., Demir,H., Tari,C., Ünlütürk,S., Lahore,M.F. (2014). Evaluation of orange peel, an industrial waste, for the production of *Aspergillus sojae* polygalacturonase considering both morphology and rheology effects. *Turk J Biol*, 38:537-548, doi:10.3906/biy-1308-47

- Panda, T., Naidu, G.S.N., Sinha, J. (1999). Multiresponse analysis of microbiological parameters affecting the production of pectolytic enzymes by *Aspergillus niger*: A statistical view. *Process Biochem*, 35, 187-195.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal Chem*, 28(3):350-356.
- Bradford, M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Anal Biochem*, 72:248-254.
- Maldonado, M.C., Strasser de Saad A.M.(1998). Production of pectinesterase and polygalacturonase by *Aspergillus niger* in submerged and solid state systems. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 20(1):34–38,doi: 10.1038/sj.jim.2900470.
- Pollard, D.J., Kirschner, T.F., Hunt, G.R., Tong, I-T., Stieber, R., Salmon, P.M. (2006). Scale Up of a Viscous Fungal Fermentation: Application of Scale-Up Criteria with Regime Analysis and Operating Boundary Conditions. *Biotechnol Bioeng*, 96(2):307-317,doi:10.1002/bit.21112.
- Rocha-Valadez, J.A., Estrada, M., Galindo, E., Serrano-Carreón, L. (2006). From shake flasks to stirred fermentors: Scale-up of an Extractive Fermentation Process for 6-pentyl-a-pyrone Production by *Trichoderma harzianum* using Volumetric Power Input. *Process Biochem*, 41(6):1347–1352,doi:10.1016/j.procbio.2006.01.013.
- Junker, B.H., Hesse, M., Burgess, B., Masurekar, P., Connors, N., Seeley, A. (2004). Early Phase Process Scale-Up Challenges for Fungal and Filamentous Bacterial Cultures. *Appl Biochem Biotechnol*, 119(3):241-277,doi: 10.1007/s12010-004-0005-x.
- Junker, B., Walker, A., Hesse, M., Lester, M., Vesey, D., Christensen, J., Burgess, B., Connors, N. (2009). Pilot-scale process development and scale up for antifungal production. *Bioprocess Biosyst Eng*, 32(4):443–458,doi: 10.1007/s00449-008-0264-y.
- Fontana, R.C., Polidoro, T.A., da Silveira, M.M.(2009). Comparison of stirred tank and airlift bioreactors in the production of polygalacturonases by *Aspergillus oryzae*. *Bioresour Technol*, 100(19):4493–4498, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.062>.
- Meneghel, L., Reis, Guilherme, P., Reginatto, C., Malvessi, E., da Silveira, M.M. (2014). Assessment of pectinase production by *Aspergillus oryzae* In growth-limiting liquid medium under limited and non-limited oxygen supply. *Process Biochem*, 49:1800–1807, <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.021>.



RESVERATROL YÜKLÜ SELÜLOZ ASETAT LİFLERİNİN KARAKTERİZASYONU

Fahriye Ceyda Dudak*

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

Geliş / Received: 01.07.2019; Kabul / Accepted: 23.07.2019; Online baskı / Published online: 23.08.2019

Dudak, F. C. (2019). Resveratrol yüklü selüloz asetat liflerinin karakterizasyonu. GIDA (2019) 44 (5): 810-818 doi: 10.15237/gida.GD19098

Dudak, F. C. (2019). Characterization of resveratrol loaded cellulose acetate fibers. GIDA (2019) 44 (5): 810-818 doi: 10.15237/gida.GD19098

ÖZ

Bu çalışmada, selüloz asetat çözeltisinden elektroğirme prosesi ile enkapsülasyon matrisleri üretilmiş ve bu matrislerin resveratrolün enkapsülasyonundaki performansları incelenmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelendiğinde, selüloz asetat liflerinin düzgün yüzeyli olduğu ve damlacık içermediği görülmüştür. Resveratrol yüklü liflerin ve yüksüz liflerin ortalama çapları sırasıyla 493 nm ve 478 nm olarak belirlenmiştir. Resveratrolün enkapsülasyon etkinliği %94.5 olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivite analizi, depolama sırasında elektroğirilmiş liflere enkapsülasyon ile biyoaktif bileşiğin bozunmasının azaldığını ortaya koymuştur. *In vitro* salınım çalışması, 20 saat içerisinde başlangıçtaki resveratrolün %11'inin tampon ortamına salındığını ve sonrasında salınımın durduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, elektroğirilmiş selüloz asetat liflerinin resveratrol için etkin enkapsülasyon matrisleri olarak kullanılma potansiyeli olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Resveratrol, selüloz asetat, elektroğirme, lif, enkapsülasyon

CHARACTERIZATION OF RESVERATROL LOADED CELLULOSE ACETATE FIBERS

ABSTRACT

In this work, encapsulation matrices were fabricated by electrospinning of cellulose acetate solution and their performance for the encapsulation of resveratrol was evaluated. Scanning electron microscopy (SEM) results showed that cellulose acetate fibers were bead-free and smooth. The mean diameters of resveratrol loaded and unloaded fibers were found to be 493 nm and 478 nm, respectively. Encapsulation efficiency of resveratrol was 95%. Antioxidant activity assay confirmed that the encapsulation via electrospun fibers reduced the degradation of bioactive compounds during storage. *In-vitro* release study showed that 11% of the resveratrol in cellulose acetate fibers was released into buffer medium within 20 h and after that, the release reached plateau. Therefore, electrospun cellulose acetate fibers are promising to be used as an efficient encapsulating matrices for resveratrol.

Keywords: Resveratrol, cellulose acetate, electrospinning, fiber, encapsulation

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ceyda@hacettepe.edu.tr,

☎ (+90) 312 297 7103

☎ (+90) 312 299 2123

GİRİŞ

Biyoaktif gıda bileşenlerinin bazı hastalıkların önlenmesi veya tedavi edilmesinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Bunlar arasında, resveratrol (3,5,4'-trihidroksi-trans-stilben) antioksidan, antikanserojen, antiinflatuar ve antiviral etkilerinden dolayı oldukça ilgi görmektedir (Rauf vd., 2017). Resveratrol yer fıstığı, üzüm, erik ve kırmızı şarap gibi birçok gıdada bulunan doğal bir polifenolik bileşiktir (Penalva vd., 2015). Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda resveratrolün düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) peroksidasyonunu engellediği, ventriküler aritmiyi azalttığı, kan basıncını düşürdüğü, trombosit agregasyonunu ve çözünür adhezyon moleküllerinin oluşumunu engelleyerek kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde yardımcı olabileceği ortaya konmuştur (Orallo vd., 2002). Buna ek olarak, resveratrolün diyabete karşı koruyucu etkisi ve obezitenin tedavisinde etkili bir rol alabileceği gösterilmiştir (Palsamy ve Subramanian, 2011; Alves vd., 2012; Timmers vd., 2011). Sağlık üzerindeki tüm bu olumlu etkilerin sonucu olarak resveratrolün gıdalara katılması gündeme gelmiştir. Ancak, bu koşullarda düşük çözünürlüğü, kimyasal kararsızlığı ve hızlı metabolize olması nedeniyle resveratrolün *in-vivo* etkinliği azalmaktadır (Ricciello vd., 2018). Bu nedenle, resveratrolün *in-vitro* koşullarda stabilitesinin artırılması ve oral tüketimi sonrasında biyoyararlılığının iyileştirilmesi amacıyla enkapsülasyon sistemlerinin geliştirilmesi önemlidir.

Bu çalışmada, resveratrolün elektroğirme yöntemi ile liflerin içerisine enkapsülasyonu amaçlanmıştır. Elektroğirme yöntemi farklı polimerlerin kullanılabilirdiği, mikrometre ve nanometre ölçekte liflerin üretiminde etkin bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır (Ghorani ve Tucker, 2015). Son yıllarda, bu teknik biyoaktif bileşiklerin liflere enkapsülasyonunda da sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Aceituno-Medina vd., 2015). Elektroğirilmiş liflerin yüksek yüzey-hacim oranına sahip olması, porlu yapıda olmaları, düşük sıcaklıkta üretimlerinin mümkün olması ve farklı polimer karışımlarının kullanımına imkan tanınması sayesinde her geçen gün kullanım alanı artmaktadır (Aytac vd., 2017). Birçok farklı

biyoaktif bileşikte olduğu gibi, elektroğirme yöntemi resveratrolün enkapsülasyonu için başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Resveratrol yüklü polikaprolakton ve polilaktik asit polimerlerinden elde edilen lifler ile resveratrolün kontrollü salınımı gerçekleştirilmiş ve osteoblast üzerine etkileri incelenmiştir (Ricciello vd., 2018). Resveratrol içeren polikaprolakton liflerin periyodontal hastalıkların tedavisinde de kullanılabileceği gösterilmiştir (Zupančić vd., 2015). Başka bir çalışmada, yara pansuman malzemesi olarak kitosan ve polikaprolakton koaksiyel elektroğirilmiş nanolifler ile ferulik asit ve resveratrolün enkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve salınım özellikleri incelenmiştir (Poornima ve Korrapati, 2017). Benzer şekilde, polikaprolakton ve jelatin ile oluşturulan koaksiyel lifler ile resveratrolün lokal salınımı amaçlanmış ve lösemi hücreleri üzerindeki terapötik etkileri araştırılmıştır (Al-Attar ve Madihally, 2018). Ancak yapılan bu çalışmalarda, resveratrol için tasarlanan taşıyıcı sistemler farklı hastalıkların tedavisi için geliştirilmiştir. Taşıyıcı sistemlerin gıdalarda kullanımı söz konusu olduğunda enkapsülasyon materyalinin gıdalarda kullanılabilir ve genellikle güvenilir kabul edilen (generally recognized as safe) sınıfta olması, üretiminin ucuz olması, gıda ürününün görünüşü, yapısı, tadı ve kokusu üzerinde olumsuz etkisi olmaması ve gıdanın depolanması sırasında stabilitesini koruması gibi ek gereksinimlere ihtiyaç duyulmaktadır (Davidov-Pardo ve McClements, 2014). Elektroğirme yöntemi ile enkapsülasyonda sıklıkla kullanılan polimerlerden biri olan selüloz asetat toksik olmaması, yüksek ısı ve mekanik stabiliteye sahip olması, biyoçözünür olması ve kimyasal dirence sahip olması gibi avantajları sayesinde bu gereksinimleri büyük oranda karşılamaktadır (Han vd., 2008). Elektroğirilmiş selüloz asetat lifleri *Acanthos ebracteatus Vahl* ekstraktı, 6-gingerol, kurkumin ve asiaticosid gibi farklı biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyonunda başarıyla kullanılmıştır (Vongsetskul vd., 2016; Chantarodsakun vd., 2014; Suwantong vd., 2007; Suwantong vd., 2008).

Bu çalışmada, literatürde ilk defa resveratrol ilave edilmiş selüloz asetat polimeri kullanılarak

elektroçirime yöntemi ile lifler elde edilmiş ve geliştirilen taşıyıcı sistemin biyoaktif bileşik enkapsülasyonu için performansı incelenmiştir. Çalışma kapsamında lifler taramalı elektron mikroskobu (SEM, scanning electron microscope) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR, Fourier transform infrared) spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Resveratrol yüklü liflerin zamana ve sıcaklığa bağlı antioksidan aktiviteleri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca, tampon çözelti içerisinde elektroçirilmiş liflerden resveratrolün salınımı incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Selüloz asetat (moleküler ağırlığı ~ 30000 Da), asetik asit (99.8-100%), etanol (safılık, ≥ 99.8%), potasyum fosfat monobazık, sodium fosfat dibazık heptahidrat ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir. Trans-resveratrol (ResVida®) DSM Nutritional Products Ltd. (Kaiseragust, Switzerland) firmasından alınmıştır.

Elektroçirime Prosesi

Elektroçirime prosesi için %15 (a/a) selüloz asetat çözeltisi asetik asit:etanol (8:2, h/h) içerisinde hazırlanmıştır. Resveratrol stok çözeltisi 50 mg/mL derişimde etanol içerisinde hazırlanmış ve polimerin ağırlıkça %1.5'i olacak şekilde çözeltiye ilave edilmiştir.

Elektroçirime prosesi yüksek voltaj güç kaynağına ve dönen kollektöre sahip Electrospinning ESM 1100 (Solvay A.Ş., Ankara, Türkiye) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Resveratrol içermeyen ve resveratrol yüklü selüloz asetat çözeltileri 21G başlıklı plastik şırıngalara yüklenmiş ve şırıngalar dijital kontrollü şırınga pompasına (New Era NE-1000, Scientific Instrument Services, Ringoes, NJ, ABD) yerleştirilmiştir. Çözeltiler 35 kV potansiyelde, uç-kollektör mesafesi 10 cm olacak şekilde, 3 mL/saat akış hızında beslenmiştir. Yüklü ve yüksüz lifler aynı işlem parametreleri ile üretilmiştir.

Elektroçirilmiş liflerin karakterizasyonu

Resveratrol, selüloz asetat lifleri ve resveratrol yüklü selüloz asetat liflerinin kimyasal yapısı tekli elmas kristal ve triglisin sülfat dedektöre sahip Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (Thermo Nicolet IS50, Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, MA, ABD) ile analiz edilmiştir. Ölçümler için 4000-400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında, 4 cm⁻¹ çözünürlükte 32 taramanın ortalaması alınarak kızılötesi spektrumları elde edilmiştir.

Elektroçirilmiş liflerin morfolojileri ve çapları emisyon taramalı electron mikroskobu (ESEM) (FEI-Quanta 200 FEG, Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, MA, ABD) ile belirlenmiştir. Bunun için örnekler püskürtmeli kaplama cihazı (Precision Etching and Coating System (PECS) 682, Gatan Inc., Pleasanton, CA, USA) kullanılarak ince altın-paladyum tabakası ile kaplanmıştır. Örneklerin ESEM görüntüleri 5000x yakınlaştırma ile elde edilmiştir. Ortalama lif çapları ve çap histogramları ImageJ yazılımı (NIH, Maryland, ABD) ile hesaplanmıştır.

Enkapsülasyon etkinliği

Liflerin enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesi için resveratrol yüklü liflerden 1 mg alınarak 5 mL 0.05 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4) ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 30 saniye boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiler 10000 xg'de 5 dakika santrifüjlenmiş ve supernatantın absorbans değeri 310 nm dalgaboyunda Agilent 8453 UV-Visible spektrofotometresi (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) ile ölçülmüştür. Supernatanta geçen resveratrol miktarı standart kalibrasyon eğrisinden bulunmuştur. Enkapsülasyon etkinliği (%EE) Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır:

$$\%EE = \left[\frac{\text{Teorik toplam resveratrol konsantrasyonu} - \text{enkapsüle olmayan resveratrol konsantrasyonu}}{\text{teorik toplam resveratrol konsantrasyonu}} \right] \times 100 \quad (1)$$

Resveratrolün salınımının incelenmesi

Resveratrol yüklü selüloz asetat liflerden alınan 10 mg, 500 µL 0.05 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4) içerisine alınmış ve oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda inkübe edilmiştir. İnkübasyon

başlangıcından itibaren 1., 2., 4., 8., 16., 20., 22., ve 24. saatlerde tampon çözeltiden örnek alınarak 310 nm dalgaboyunda spektrofotometre ile salınan resveratrol miktarı belirlenmiştir.

Antioksidan aktivite

Örneklerde antioksidan aktivite analizi DPPH analizi ile gerçekleştirilmiştir (Serpen vd., 2007). Resveratrol yüklü lifler 4°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta depolanmış ve belirli zaman aralıklarından liflerden 10 mg alınarak 100 µL asetik asit içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen bu çözeltiye 10 mL DPPH çözeltisi ilave edilmiş ve 1 saat boyunca orbital çalkalayıcıda karıştırılmıştır. İnkübasyon sonunda çözeltiler 10000 ×g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve supernatantların absorbanans değerleri 310 nm dalgaboyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak resveratrol yüklenmemiş liflere de aynı işlem uygulanmıştır. Enkapsüle resveratrol ile karşılaştırmak amacıyla serbest resveratrolün antioksidan aktivitesi de incelenmiştir. Örnekler için antioksidan aktivite Eşitlik 2'ye göre hesaplanmıştır. Eşitlikte $A_{kontrol}$ lif içermeyen DPPH çözeltisinin absorbanans değerini, $A_{örnek}$ ise lif içeren reaksiyon ortamının absorbanans değerini ifade etmektedir.

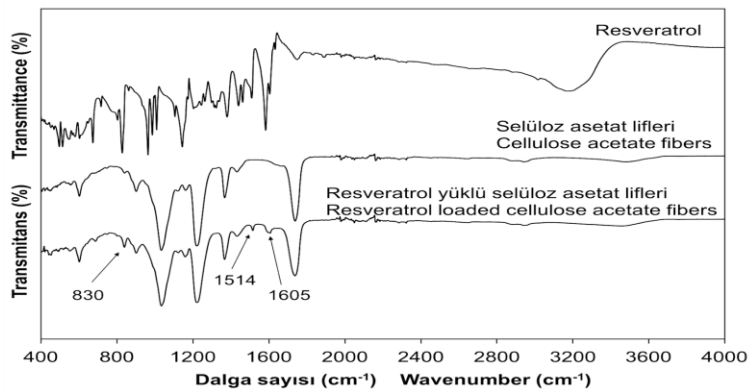
$$\% \text{ antioksidan aktivite} = [(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}] \times 100 \quad (2)$$

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Elektroergilmiş liflerin karakterizasyonu

Resveratrolün, yüksüz selüloz asetat liflerinin ve resveratrol yüklü liflerin ATR-FTIR spektrumları

Şekil 1'de görülmektedir. Selüloz asetat spektrumunda C=O esnemesi ile ilgili 1735 cm⁻¹ ve C-H eğilmesi ile ilgili 1366 cm⁻¹ dalga sayısında karakteristik pikler görülmektedir. Bunun yanında, 1214 cm⁻¹ ve 1030 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pikler ise C-O esnemesi ile ilişkilendirilmektedir (Keun vd., 2004). Resveratrolle ait karakteristik parmak izi bölgesi 600 ile 1630 cm⁻¹ arasında görülmektedir. Resveratrolün spektrumunda 1605 cm⁻¹, 1583 cm⁻¹ ve 1380 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pikler sırasıyla, C-C aromatik çift bağ esnemesi, C-C olefinik esnemesi ve C-C esnemesiyle ilişkilendirilmekte ve 964 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pik ise resveratrolün trans formundan kaynaklanmaktadır (Kumpugdee-Vollrath vd., 2012). Resveratrol yüklü selüloz asetat liflerine ait spektrum yüksüz liflere ait spektrumla büyük oranda benzerlik göstermekle birlikte, yüksüz liflerden farklı olarak 1605 cm⁻¹, 1514 cm⁻¹ ve 830 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pikler resveratrol varlığını işaret etmektedir. Resveratrol içeren liflere ait spektrumda yeni oluşan bir pik veya pik dalga sayılarında önemli bir kayma görülmemesi resveratrolün selüloz asetat içerisinde sadece fiziksel olarak tutunduğunu düşündürmektedir. Resveratrol ve polimer arasında herhangi bir kimyasal bağın oluşmamasının, biyoaktif bileşiğin salınımını kolaylaştıracağı ve tüketim sonrasında da aktivitesinde önemli bir değişikliğe yol açmayarak biyoyararlılığını arttırabileceği düşünülmektedir.

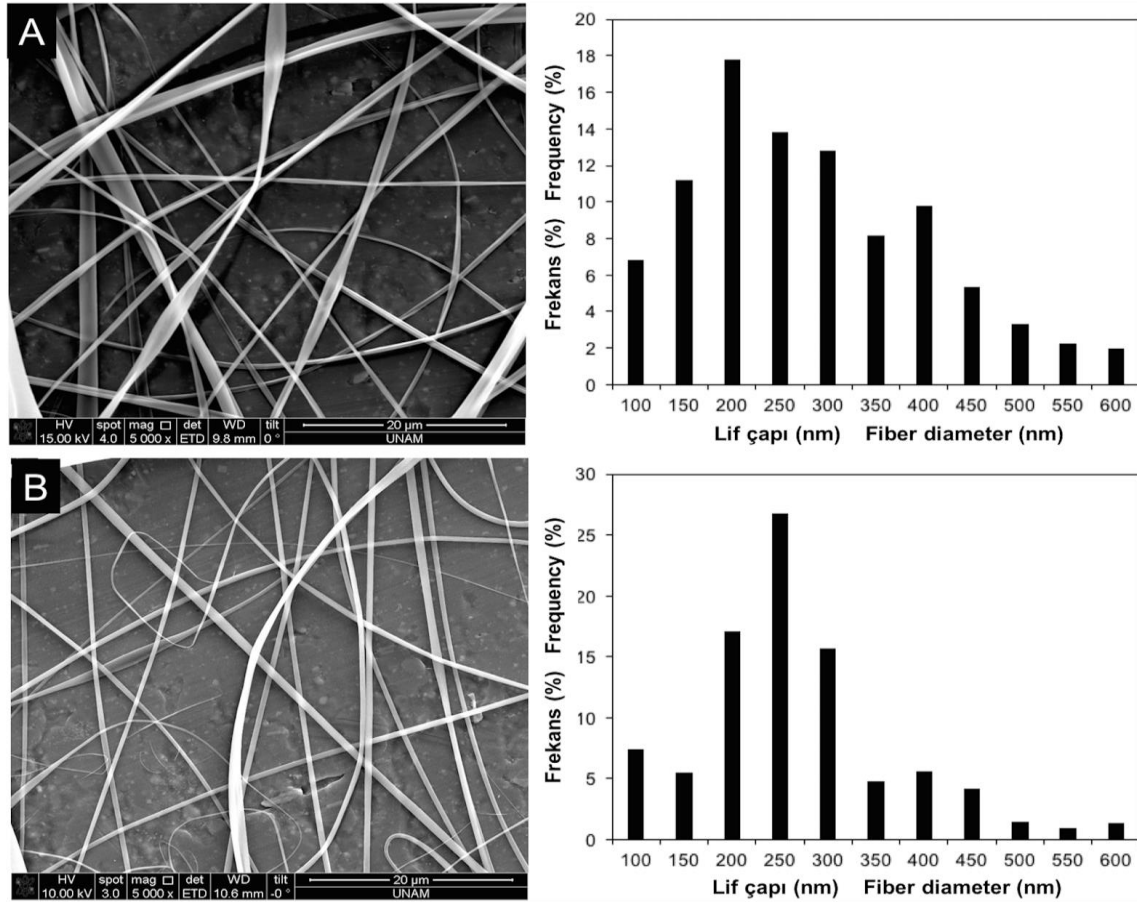


Şekil 1. Resveratrolle, selüloz asetat liflerine ve resveratrol yüklü selüloz asetat liflerine ait ATR-FTIR spektrumları

Figure 1. ATR-FTIR spectra of resveratrol, cellulose acetate fibers and resveratrol loaded cellulose acetate fibers

Resveratrol yüklü ve yüksüz selüloz asetat liflerinin morfolojileri ESEM ile incelenmiştir. Liflere ait temsili ESEM görüntüleri ve çap histogramları Şekil 2'de verilmiştir. Elde edilen tüm liflerin düzgün yüzeyli olması ve damla içermemesi elektroğirme prosesinin başarılı bir

şekilde gerçekleştirildiğini göstermiştir. Yüklü ve yüksüz liflerin ortalama çapları sırasıyla, 493 nm ve 478 nm olarak bulunmuş ve resveratrol ilavesiyle lif çaplarında önemli bir değişim saptanmamıştır.



Şekil 2. Resveratrol içermeyen (A) ve resveratrol yüklü (B) selüloz asetat liflerine ait ESEM görüntüleri ve çap histogramları

Figure 2. ESEM images and diameter histograms of unloaded (A) and resveratrol loaded (B) cellulose acetate fibers

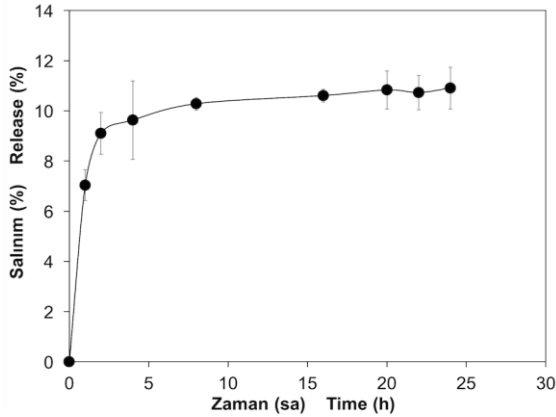
Elektroğrılmış liflerin enkapsülasyon etkinliği ve resveratrolün salınımı

Elektroğrılmış selüloz asetat liflerinin resveratrol için enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesi amacıyla lifler tampon çözelti içerisine alınmış ve liflere yüklenen resveratrol miktarından tampon çözeltisine geçen resveratrol miktarının çıkarılması ile enkapsülasyon miktarı belirlenmiştir. Polimer ağırlığının %1.5'i kadar yüklenen resveratrol için enkapsülasyon etkinliği 94.5 ± 0.6 olarak bulunmuştur. Elde edilen

yüksek enkapsülasyon etkinliğinin selüloz asetatın tampon çözeltisindeki düşük çözünürlüğünden kaynaklandığı düşünülmektedir (Jyothi vd., 2010).

Tampon çözelti içerisinde liflerden salınan resveratrol miktarı 310 nm dalgaboyunda absorbans ölçümü ile belirlenmiştir. Selüloz asetat liflerinden resveratrolün salınım profili Şekil 3'te gösterilmektedir. Resveratrol başlangıçta çok hızlı bir salınım göstermiş ve 1 saat sonunda liflerdeki resveratrolün %7'si salınmıştır. Başlangıçtaki bu

ani salınımın lif yapılarının yüzeyinde yer alan veya yüzeye yakın moleküllerin hızlı bir şekilde çözeltiye geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Başlangıçtaki ani salınım sonrasında resveratrol kademeli bir salınım göstermiş, 20. saatten sonra salınan miktar sabit değere ulaşmıştır. 36 saatin sonunda liflere yüklenen resveratrolün %11'i salınmıştır. Selüloz asetat liflerinin sulu çözeltilerdeki düşük çözünürlüğü ve porsuz bir yapıya sahip olması, bu liflere yüklenen bileşiklerin kısmi salınımına neden olmaktadır (Yan vd., 2014). Bu durum kontrollü salınım sistemleri için tasarlanan liflerde büyük bir sorun olarak karşılanırken, gıdalara katılacak olan biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyonu için önemli bir avantaj sağlamaktadır. Böylece gıdaların depolama süresi boyunca bileşiklerin korunması sağlanabilmektedir. Ancak bu durumda enkapsülasyon sisteminin tüketim sonrasında sindirim sistemindeki salınım özellikleri büyük önem kazanmakta ve sindirim sonrasında da bileşiğin tamamen salınmaması olumsuz bir durum olarak değerlendirilmektedir (Kiatyongchai vd., 2014). Bu nedenle, sulu ortamdaki salınım özellikleri incelendiğinde, selüloz asetat lifleri resveratrolün enkapsülasyonu için umut vadetse de, sindirim sistemindeki salınım özellikleri de mutlaka incelenmelidir.



Şekil 3. Selüloz asetat liflerinden resveratrolün salınım profili

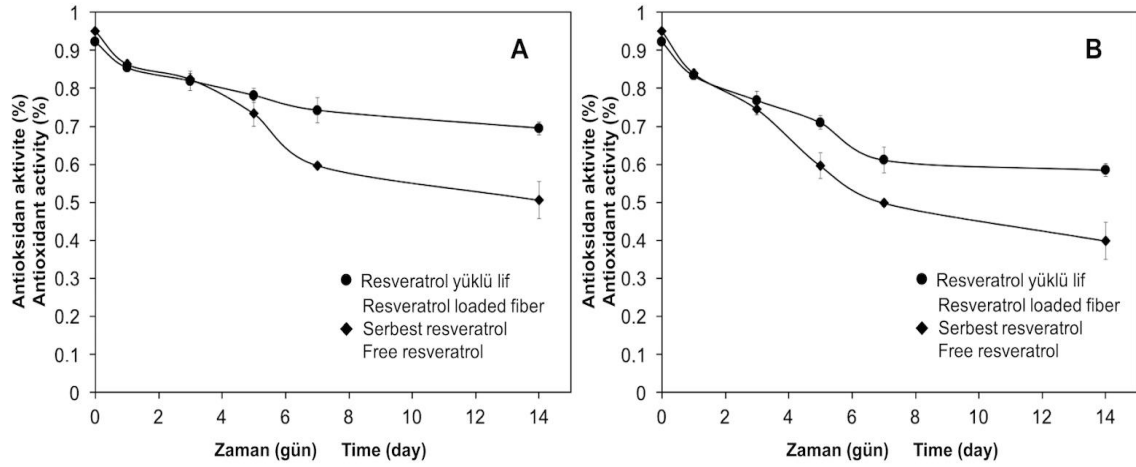
Figure 3. Release profile of resveratrol from cellulose acetate fibers

Antioksidan aktivite

Serbest resveratrol, resveratrol yüklü lifler ve yüksüz lifler iki farklı sıcaklıkta (4°C ve 25°C) 14 gün boyunca depolanmış ve belli zaman

aralıklarında antioksidan aktiviteleri DPPH analizi ile belirlenmiştir (Şekil 4). Resveratrol içermeyen selüloz asetat lifleri antioksidan aktivite göstermemişlerdir. Depolamanın başlangıcında serbest resveratrolün ve resveratrol yüklü liflerin benzer antioksidan aktivite göstermeleri resveratrolün antioksidan özelliklerinin elektroçirme prosesinden etkilenmediğini ortaya koymuştur. Depolama sıcaklığının 4°C olduğu durumda (Şekil 4a), ilk 3 gün boyunca serbest resveratrolün ve resveratrol yüklü liflerin antioksidan aktivitelerinde benzer düşüş görülmüştür. Sonrasında, serbest resveratrolün antioksidan aktivitesinde hızlı bir düşüş gözlenirken enkapsüle resveratrolün antioksidan aktivitesinde daha yavaş bir azalış meydana gelmiştir. Depolama süresinin sonunda, serbest resveratrol antioksidan aktivitesi %51'e düşerken, resveratrol yüklü liflerin aktivitesi %70'e düşmüştür. Depolama sıcaklığının 25°C olduğu durumda da benzer bir eğilim görülmüş (Şekil 4b) ve depolama süresinin sonunda, serbest resveratrol antioksidan aktivitesi %40 ve resveratrol yüklü liflerin aktivitesi %59 olarak belirlenmiştir.

Son yıllarda elektroçirme prosesi farklı biyoaktif bileşiklerin liflere enkapsülasyonu amacıyla sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada, elektroçirme ile antioksidan aktiviteye sahip resveratrolün düzgün ve tekdüze selüloz asetat liflere enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Resveratrolün liflerden salınım özellikleri incelendiğinde ise bileşiğin salınımının 20 saatten sonra durduğu ve başlangıçta yüklenen resveratrolün %89'unun lif içinde kaldığı görülmüştür. Son olarak, üretilen liflerin resveratrolün enkapsülasyonu için kullanılabilirliğini ortaya koymak için iki farklı sıcaklıkta depolama esnasındaki antioksidan aktivitedeki değişim incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde serbest resveratrolle kıyaslandığında, elektroçirilmiş lifler ile enkapsülasyonun resveratrolün antioksidan kapasitesini arttırdığı görülmüştür. Çalışmanın sonucunda, üretilen selüloz asetat liflerinin gıda endüstrisinde antioksidan maddelerin enkapsülasyonunda etkin bir şekilde kullanılabileceği ortaya konmuştur.



Şekil 4. Serbest resveratrol ve resveratrol yüklü selüloz asetat liflerinin 4°C (A) ve 25°C'de (B) depolama sırasındaki antioksidan aktiviteleri

Figure 4. Antioxidant activity of free resveratrol and resveratrol loaded cellulose acetate fibers during the storage at 4°C (A) and 25°C (B)

KAYNAKLAR

Aceituno-Medina, M., Mendoza, S., Lagaron, J.M., Lopez-Rubio, A. (2015). Photoprotection of folic acid upon encapsulation in food-grade amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) protein isolate-Pullulan electrospun fibers. *Lebensm-Wiss Technol* 62: 970-975, doi: 10.1016/j.lwt.2015.02.025.

Al-Attar, T., Madihally, S.V. (2018). Influence of controlled release of resveratrol from electrospun fibers in combination with siRNA on leukemia cells. *Eur J Pharm Sci* 123: 173-183, doi: 10.1016/j.ejps.2018.07.043.

Alves, N.E.G., Valdés, S.T., Silveira, C.M.M., Martino, H.S.D.D., Milagro, F.I., Moreno-Aliaga, M.J., Ribeiro, S.M.R. (2012). Studies on mechanistic role of natural bioactive compounds in the management of obesity an overview. *Open Nutraceuticals J* 5: 193-206, doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1876396001205010193>.

Aytac, Z., Yildiz, Z.I., Kayaci-Senirmak, F., Tekinay, T., Uyar, T. (2017). Electrospinning of cyclodextrin/linalool-inclusion complex nanofibers: Fast-dissolving nanofibrous web with prolonged release and antibacterial activity. *Food Chem* 231: 192-201, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.113

Chantarodsakun, T., Vongsetskul, T., Jangpatrapongsa, K., Tuchinda, P., Uamsiri, S., Bamrungrachoen, C., Kumkate, S., Opaprakasit, P., Tangboriboonrat, P. (2014). [6]-Gingerol-loaded cellulose acetate electrospun fibers as a topical carrier for controlled release. *Polym Bull* 71: 3163-3176, doi: 10.1007/s00289-014-1243-x.

Davidov-Pardo, G., McClements, D.J. (2014). Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. *Trends Food Sci Tech* 38: 88e103, 10.1016/j.tifs.2014.05.003.

Ghorani, B., Tucker, N. (2015). Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocoll* 51: 227-240, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.05.024

Han, S.O., Youk, J.H., Min, K.D., Kang, Y.O., Park, W.H. (2008). Electrospinning of cellulose acetate nanofibers using a mixed solvent of acetic acid/water: Effects of solvent composition on the fiber diameter. *Mater Lett* 62: 759-762, doi: 10.1016/j.matlet.2007.06.059

Jyothi, N.V., Prasanna, P.M., Sakarkar, S.N., Prabha, K.S., Ramaiah, P.S., Srawan, G.Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *J*

- Microencapsul* 27: 187-197, doi: 10.3109/02652040903131301
- Keun, S.W., Ho, Y.J., Seung, L.T., Ho, P.W. (2004). Electrospinning of ultrafine cellulose acetate fibers: Studies of a new solvent system and deacetylation of ultrafine cellulose acetate fibers. *J Polym Sci Pol Phys* 42: 5-11, doi: 10.1002/polb.10668.
- Kiatyongchai, T., Wongsasulak, S., Yoovidhya, T. (2014). Coaxial Electrospinning and Release Characteristics of Cellulose Acetate–Gelatin Blend Encapsulating a Model Drug. *J Appl Polym Sci* 131: 40167, doi: 10.1002/app.40167
- Kumpugdee-Vollrath, M., Ibold, Y., Sriamornsak, P. (2012). Solid state characterization of trans resveratrol complexes with different cyclodextrins. *JAAASP* 1(2): 125–136.
- Orallo, F., Alvarez, E., Camina, M., Leiro, J. M., Gomez, E., Fernandez, P. (2002). The possible implication of trans-Resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 61: 294–302, doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05843.x
- Palsamy, P., Subramanian, S. (2011). Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2–Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta* 1812: 719–731, doi: 10.1016/j.bbadis.2011.03.008.
- Penalva, R., Esparza, I., Larraneta, E., González-Navarro, C.J., Gamazo, C., Irache, J.M. (2015). Zein-based nanoparticles improve the oral bioavailability of resveratrol and its anti-inflammatory effects in a mouse model of endotoxic shock. *J Agric Food Chem* 63: 5603–5611, doi: 10.1021/jf505694e.
- Poornima, B., Korrapati, P.S. (2017). Fabrication of chitosan-polycaprolactone composite nanofibrous scaffold for simultaneous delivery of ferulic acid and resveratrol. *Carbohydr Polym* 157: 1741-1749, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.11.056.
- Rauf, A., Imran, M., Suleria, H.A.R., Ahmad, B., Peters, D.G., Mubarak, M.S. (2017). A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food Funct* 8: 4284–4305, doi:10.1039/c7fo01300k.
- Riccitiello, F., De Luise, A., Conte, R., D'Aniello, S., Vittoria, V., Di Salle, A., Calarco, A., Peluso, G. (2018). Effect of resveratrol release kinetic from electrospun nanofibers on osteoblast and osteoclast differentiation. *Eur Polym J* 99: 289-297, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.12.035
- Serpen, A., Capuano, E., Fogliano, V., Gökmen, V. (2007). A New Procedure To Measure the Antioxidant Activity of Insoluble Food Components. *J Agric Food Chem* 55: 7676-7681, doi: 10.1021/jf071291z
- Suwantong, O., Opanasopit, P., Ruktanonchai, U., Supaphol, P. (2007). Electrospun cellulose acetate fiber mats containing curcumin and release characteristic of the herbal substance. *Polymer* 48: 7546-7557, doi: 10.1016/j.polymer.2007.11.019
- Suwantong, O., Ruktanonchai, U., Supaphol, P. (2008). Electrospun cellulose acetate fiber mats containing asiaticoside or Centella asiatica crude extract and the release characteristics of asiaticoside. *Polymer* 49: 4239-4247, doi: 10.1016/j.polymer.2008.07.020.
- Timmers, S., Konings, E., Bilet, L., Houtkooper, R.H., van de Weijer, T., Goossens, G.H., Hoeks, J., van der Krieken, S., Ryu, D., Kersten, S., Moonen-Kornips, E., Hesselink, M.K., Kunz, I., SchrauwenHinderling, V.B., Blaak, E.E., Auwerx, J., Schrauwen, P. (2011). Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metab* 14: 612–622, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.002>.
- Vongsetskul, T., Phurayar, P., Chutimasakul, T., Tuchinda, P., Uamsiri, S., Kumkate, S., Pearngam, P., Jitpibull, J., Samphaongern, C., Tangboriboonrat, P. (2016). Acanthus ebracteatus Vahl. extract-loaded cellulose acetate ultrafine fibers as a topical carrier for controlled-release applications. *Polym Bull* 73: 3319-3331, doi: 10.1007/s00289-016-1658-7

Yan, J., White, K., Yu, D.G., Zhao, X.Y. (2014). Sustained-release multiple-component cellulose acetate nanofibers fabricated using a modified coaxial electrospinning process. *J Mater Sci* 49: 538–547, doi: 10.1007/s10853-013-7733-7.

Zupančič, Š., Baumgartner, S., Lavrič, Z., Petelin, M., Kristl, J. (2015). Local delivery of resveratrol using polycaprolactone nanofibers for treatment of periodontal disease. *J Drug Deliv Sci Tec* 30: 408–416, doi: 10.1016/j.jddst.2015.07.009.



THE EFFECTS OF MICROENCAPSULATED *L. RHAMNOSUS* AND STORAGE ON BIOGENIC AMINE AMOUNT OF SUCUK

Emel Unal Turhan^{1*}, Zerrin Erginkaya², Hakan Benli²,
Mutlu Buket Akın³, Erdal Agcam²

¹Osmaniye Korkut Ata University, Kadirli Applied Sciences School, Department of Food Technology, Osmaniye, Turkey

²University of Cukurova, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Adana, Turkey

³University of Harran, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Şanlıurfa, Turkey

Received / Geliş: 29.03.2019; Accepted / Kabul: 17.08.2019 Published online / Online baskı: 01.09.2019

Unal Turhan, E., Erginkaya, Z., Benli, H., Akın M.B., Agcam, E. (2019). The effects of microencapsulated *L. rhamnosus* and storage on biogenic amine amount of sucuk. GIDA (2019) 44 (5): 819-825 doi: 10.15237/gida.GD19064

Ünal Turhan, E., Erginkaya, Z., Benli, H., Akın M.B., Ağcam, E. (2019). Sucuğun biyojen amin miktarı üzerine depolamanın ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un etkisi. GIDA (2019) 44 (5): 819-825 doi: 10.15237/gida.GD19064

ABSTRACT

In this study, the effect of microencapsulated *L. rhamnosus* was investigated on biogenic amine amounts in sucuk during the 6 months storage. Traditional and probiotic sucuk production were occurred with *L. plantarum* and *L. rhamnosus*. Probiotic sucuk was produced with free or microencapsulated *L. rhamnosus*. Microencapsulation protected survival of *L. rhamnosus* in sucuk. It was observed that biogenic amine amounts of sucuk increased with storage. Putrescine, cadaverine, histamine, tyramine and tryptamine were detected as the most abundant biogenic amines in sucuk. It was also determined that addition of *L. rhamnosus* plus *L. plantarum* were reduced effectively biogenic amine amounts in sucuk samples. Total biogenic amine amounts in sucuk without probiotic *L. rhamnosus* was found higher than in sucuk with probiotic *L. rhamnosus*. In conclusion, short storage period and the use of probiotic culture are recommended for the production of sucuk with low biogenic amine level.

Keywords: Biogenic amines, microencapsulation, probiotic, sucuk

SUCUĞUN BİYOJEN AMİN MİKTARI ÜZERİNE DEPOLAMANIN VE MİKROENKAPSÜLE *L. RHAMNOSUS*'UN ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada 6 aylık depolama periyodu sırasında sucuktaki biyojen amin miktarı üzerinde depolamanın ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un etkisi araştırılmıştır. Geleneksel ve probiyotik sucuk üretimi *L. plantarum* ve *L. rhamnosus* ile gerçekleştirilmiştir. Probiyotik sucuk, serbest ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus* ile üretilmiştir. Mikroenkapsülasyon işlemi sucuktaki *L. rhamnosus*'un canlılığını korumuştur. Sucuktaki biyojen amin miktarının depolamayla birlikte arttığı gözlenmiştir. Putresin, kadaverin, histamin, tiramin ve triptamin'in sucukta en bol bulunan biyojen aminler olduğu ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca *L. plantarum*'a ilave olarak *L. rhamnosus* ilavesinin sucuk örneklerindeki biyojen amin miktarlarını etkin bir şekilde azalttığı belirlenmiştir. Probiyotik *L. rhamnosus* bulunmayan geleneksel sucuklardaki toplam biyojen amin miktarı *L. rhamnosus*'lu probiyotik sucuklardan daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, kısa depolama süresi ve probiyotik kültür kullanımı düşük biyojen amin seviyeli sucuk üretimi için tavsiye edilmektedir.

Anahtar sözcükler: Biyojen aminler, mikroenkapsülasyon, probiyotik, sucuk

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: emelunalturhan@gmail.com

☎:(+90) 328 827 1000

☎:(+90) 328 888 0091

INTRODUCTION

Fermented meat products could be suitable vehicle for probiotics. Especially, fermented dry sausages containing probiotic are attracted to consumers because of both their functional properties and dietary composition with high protein content (Rubio et al., 2013; Cavalheiro et al., 2015; Wang et al., 2015). In this regard, a number of studies were conducted on probiotic fermented sausages. *Lactobacillus* strains were mostly used as probiotic cultures in fermented sausages. However these strains suffer from adverse conditions such as low pH and water activity, curing agents, competitive microorganisms, spices and other ingredients in fermented sausages (De Prisco and Mauriello, 2016). Microencapsulation technique has been emerged and developed to protect probiotics against these stress factors in various food products (Champagne and Fustier, 2007; Kalkan et al., 2018). However, there are very few studies about application of microencapsulation in fermented meat products (Cavalheiro et al., 2015).

Sucuk known as a typical Turkish dry-fermented sausage is the most popular and widely consumed meat product in Turkey (Özdemir, 1999; Gencelep et al., 2008). The safety of fermented meat products is a major concern for industry and consumer (Wang et al., 2015). For example some biogenic amines can have undesirable effect on human health due to their toxicity properties (Kongkiattikajorn, 2015; Lu et al., 2015). The microorganisms from fermentation process may contribute to biogenic amines accumulation and their activities vary according to species and strain (Jairath et al., 2015; Kongkiattikajorn, 2015). The choice of suitable starter culture (amine negative starter culture) prevents the formation of high levels of biogenic amine in fermented sausages (Xie et al., 2015). Lactic acid bacteria are widely used in fermented sausages as starter or probiotic culture and inhibit undesired amine positive microorganisms to improve the quality and safety of final product because of their rapid acidification ability (Lu et al., 2015). In Turkey, recently there have been a few studies about probiotic sucuk, while no reports are available on the study of sucuk production with encapsulated

probiotic strains. For example, sucuk manufacture with the use of free probiotic cultures such as *L. plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* was achieved by some researchers in Turkey (Kaya and Aksu, 2005; Ergönül and Kundakçı, 2011; Bağdatlı and Kundakçı, 2016; Özer et al., 2016). On the other hand, in other countries, works based on fermented sausage with microencapsulated or free probiotic strains were conducted by some of previous researchers (Muthukumarasamy and Holley, 2006; De Vuyst et al., 2008; Espinoza and Navarro, 2010; Sidira et al., 2014).

In this study, sucuk samples obtained by microencapsulated and free *L. rhamnosus* were compared in terms of their biogenic amine contents.

MATERIALS AND METHODS

Starter culture and probiotic culture used in the present study were *L. plantarum* (Blessing-Biotech GmbH-Stuttgart/Germany) and *L. rhamnosus* (Danisco USA INC.), respectively. Prebiotic (fructooligosaccharide), growth promoter (peptide), sodium alginate, gellan gum and gelatin were coating materials applied in microencapsulation.

Microencapsulation of Probiotic Strain

Incorporation of probiotic strain (*L. rhamnosus*) was carried out with 1.89% sodium alginate, 0.96% gellan gum, 0.15% gelatine, 1% peptide and 1.45% fructooligosaccharides by extrusion method based on rate of optimal coating material combination in terms of probiotic survival found by Unal (2014). Also, microencapsulation technique practiced by Chen et al. (2007) was performed in this study.

Probiotic Sucuk Production

For the manufacturing of probiotic sucuk, the method of previous researchers was followed with a bit modification (Kaban and Kaya, 2009). Sucuk productions were occurred with 3 varied culture combinations (A: Control sample containing free *L. plantarum*, B: Sucuk sample containing free *L. rhamnosus* and free *L. plantarum*,

C: Sucuk sample containing microencapsulated *L. rhamnosus* and free *L. plantarum*). Detailed information related to probiotic sucuk production with microencapsulated and free cells was given in previous paper of the present author (Ünal Turhan et al., 2017). The sucuk samples were vacuum packaged and stored at 10-15°C for 6 months.

Sampling and Sample Preparation

From three replications, sucuk samples were taken on the 0, 2, 4 and 6 months of storage. Biogenic amine amounts, *L. plantarum* and *L. rhamnosus* counts were analyzed. All analyses were carried out in duplicates.

Biogenic Amine Analysis

a) Reagents: The water used in the study was purified by a Millipore-Q system (Millipore Corp., Saint-Quentin, France). 1.7 diaminoheptan, perchloric acid, NaOH, NaHCO₃, dansyl chloride, ammonium acetate, acetonitrile and amine standard solutions including histamine, tryptamine, tyramine, putrescine, 2-phenylethylamine, cadaverine, spermidine and spermine were purchased from Sigma Chemical Co. (USA).

b) Extraction and Quantification: Biogenic amine levels of the samples were determined according to the method of Eerola et al. (1993) and Genççelep et al. (2008) with slight modification. Amine standard solutions (1 mg/mL) were prepared in 0.4 M perchloric acid. Working solutions (0.0, 2.0, 5.0, 10 and 20 mg/mL) of each amine standard solution were prepared in 0.4 M perchloric acid and stored at 4°C. For the extraction of biogenic amines 2.0 g samples were mixed with 0.4 M perchloric acid and the detection of biogenic was carried out as their dansyl derivatives by HPLC. Elution solvents were 0.1 M ammonium acetate (solvent A) and acetonitrile (solvent B). The gradient elution was programmed as starting at 50% solvent B and ending at 90% solvent B in 25 min. The equilibration of the system was last for 10 min before following analysis. 20 µL of derivatized biogenic amine solution was injected onto the column in the HPLC apparatus. The column was

thermostated at 30°C and flux was set at 1.0 mL/min.

The detection of peaks were carried out at 254 nm using the HPLC system with a column nucleodur 100-5-C18 (12.5 X 4 mm) and a gradient pump. This instrumental system consists HPLC (Shimadzu LC-20AT, Japon), quaternary pump (G1311A), vacuum degasser (G1322A), auto sampler (G1313A), Diode Array Detector (DAD, SPD-M20A), variable wavelength (G1314A) and a computer with the Agilent package program. The quantitative determinations were performed according to internal standard (1.7-diaminoheptane) method, utilizing peak heights. Biogenic amine amounts were given in mg/kg.

Statistical Analysis

Data obtained from the present study were represented as averages of triplicate data with their standard deviations. Statistical analysis was performed according to one-way ANOVA. Duncan's multiple test also was applied to detect the significance or insignificance of differences among averages ($P < 0.05$) based on "Windows SPSS 15 Software" (Bek and Efe, 1988).

RESULT AND DISCUSSION

Table 1 represented biogenic amine amounts found in sucuk samples during storage. Total biogenic amine amounts changed from 360.68 mg/kg to 1378.35 mg/kg.

The maximum threshold of total biogenic amines that has been considered dangerous from human health was reported as 1000 mg/kg by Dominguez et al. (2016). Total biogenic amine amounts of A, B and C samples in 6 months of storage and of A and C samples in 4 month of storage exceeded this dangerous limit. As seen from results, there were significant differences in biogenic amines amounts of sucuk. In accordance with our study, previous researchers stated that the main biogenic amines in fermented sausages and sucuk were putrescine, cadaverine, histamine, tyramine and tryptamine (Genççelep et al., 2007; Genççelep et al., 2008; Kurt and Zorba, 2009; Lu et al., 2015; Xie et al., 2015). Putrescine was biogenic amine with the highest amount in sucuk

samples whereas phenylethylamine and spermidine amounts in sucuk samples were found at low levels. Similar to the present results, in the paper of Ergönül and Kundakçı (2011) putrescine content (ranged from 3.94 to 35.48 ppm) in

probiotic sucuk samples was found higher than other biogenic amines such as cadaverine, histamine, tyramine (between 3.90 and 18.50 ppm).

Table 1. Biogenic amine amounts in sucuk samples during the storage (mg/kg)

	A-0	B-0	C-0	A-2	B-2	C-2	A-4	B-4	C-4	A-6	B-6	C-6
Tryptamine	27.98 ^a	8.99 ^c	10.06 ^b	43.55 ^{ab}	28.87 ^b	15.57 ^b	57.39 ^a	37.7 ^{ab}	53.19 ^a	61.66 ^a	52.24 ^a	56.09 ^a
Phenyl-ethylamine	10.28 ^c	1.47 ^b	1.03 ^{bc}	14.66 ^{bc}	3.02 ^{ab}	0.74 ^c	18.89 ^b	4.99 ^a	3.83 ^{ab}	25.14 ^a	4.99 ^a	5.40 ^a
Putrescine	260.57 ^d	177.92 ^c	165.07 ^d	404.41 ^c	314.48 ^b	334.21 ^c	447.49 ^b	338.38 ^b	399.89 ^b	535.13 ^a	522.57 ^a	510.16 ^a
Cadaverine	60.59 ^c	16.29 ^c	8.96 ^c	63.98 ^c	21.67 ^c	12.83 ^c	156.30 ^a	93.29 ^b	91.17 ^b	121.96 ^b	169.27 ^a	166.84 ^a
Histamine	115.95 ^d	84.01 ^d	54.62 ^d	145.72 ^c	110.76 ^c	113.31 ^c	270.34 ^a	207.77 ^b	283.92 ^b	232.31 ^b	401.90 ^a	358.78 ^a
Tyramine	121.02 ^d	78.88 ^c	82.40 ^c	211.69 ^c	158.25 ^b	180.75 ^b	259.69 ^b	164.58 ^b	192.95 ^b	312.16 ^a	236.27 ^a	238.12 ^a
Spermidine	5.42 ^b	4.75 ^c	5.77 ^b	4.75 ^b	6.85 ^a	7.97 ^a	6.54 ^b	5.94 ^{ab}	5.31 ^b	10.06 ^a	5.38 ^c	5.99 ^b
Spermine	33.83 ^a	28.63 ^c	32.77 ^b	28.23 ^a	30.57 ^c	27.90 ^c	24.20 ^a	37.71 ^a	29.99 ^b	28.61 ^a	32.54 ^b	36.97 ^a
Total Amounts	635.64	400.94	360.68	916.99	674.47	693.28	1240.84	890.36	1060.25	1327.03	1425.16	1378.35

a, b, c: values with different letters are significantly different ($P < 0.05$), A: Control sample containing free *L. plantarum*, B: Sucuk sample containing free *L. rhamnosus* and free *L. plantarum*, C: Sucuk sample containing microencapsulated *L. rhamnosus* and free *L. plantarum*, 0: The beginning of storage, 2: 2nd month of storage, 4: 4th month of storage, 6: 6th month of storage

In another study, Genççelep et al. (2008) reported that the most important biogenic amines were tyramine (maximum 676 mg/kg) and putrescine (maximum 364 mg/kg). Spermidine amounts and spermine in sucuk samples ranged from 4.75 to 10.06 mg/kg and from 24.20 to 36.97 mg/kg within the acceptable level. Spermine and spermidine in fermented sausages are the main biogenic amines coming from raw material and their amounts rarely change during the fermentation and storage (Lu et al., 2015). Similarly spermine and spermidine values in sucuk samples did not undergo large changes during the whole storage period.

Quality characteristics of foods could change with storage period (Loizzo et al., 2016). To this regard, we followed the evolution over 6 months of biogenic amine amounts (Table 1). Storage period affected significantly ($P < 0.05$) biogenic amine amounts in sucuk samples (A, B, C), with the exception of spermine in A sample. Results of this study showed that total biogenic amine concentrations at the beginning of storage were low (635.64 mg/kg for A sample, 400.94 mg/kg

for B sample and 360.68 mg/kg for C sample) and after 6 months of storage these values reached 1327.03 mg/kg, 1425.16 mg/kg and 1378.35 mg/kg, respectively. Similar to the present results, Xie et al. (2015) reported that total biogenic amine amounts in fermented sausages with *L. plantarum* as starter culture were approximately 1000 mg/kg. Biogenic amine amounts of sucuk samples mostly increased with the storage, and especially a significant increase was seen in level of putrescine, cadaverine, histamine and tyramine in accordance. These results are also in agreement with Loizzo et al. (2016) who reported that biogenic amine concentrations increased with storage time and tyramine, putrescine and cadaverine were the most abundant. Similarly, Bozkurt and Erkmén (2004) stated that storage time significantly affected biogenic amine amount. Additionally total biogenic amine amounts in A sucuk sample were found higher than B and C sample in 0, 2 and 4 months of storage except for 6 month of storage. In 6 month of storage total biogenic amine amounts in A sample showed a drop due to increase of cadaverine and histamine amount

in B and C sample. During the first 4 month of storage, presence of probiotic culture in B and C sample showed a good effect in reducing the accumulation of biogenic amine. In the study of Ergönül and Kundakçı (2011) while the highest biogenic amine accumulation in probiotic sucuk samples was observed in the 4 months of storage period, there was no significant change in biogenic amine amounts of sucuk samples from 4 to 8 months of storage period.

Starter cultures are used to control the fermentation process and to provide standardized sucuk production having properties of favorable quality. During the formation of biogenic amine in sucuk, fermentative cultures influence the decarboxylase activity of microorganisms producing biogenic amine (Gücükoğlu and Küplülü, 2010; Song et al., 2018). Similarly, in the present study, culture combination had significantly effect on biogenic amine amounts in sucuk samples. Especially, a high correlation among biogenic amine amount and probiotic content was observed. As seen from results, formation of biogenic amine in probiotic sucuk samples (B and C) were found lower than A samples. This situation was considered that prevalent of probiotic culture in sucuk prevented formation of biogenic amine. Similarly, some researchers reported that probiotics caused to drop in formation of biogenic amine (Erkkilä et al., 2001). For instance, in the study of Ergönül and Kundakçı (2011), putrescine amount (13.38 ppm) in sucuk containing probiotic *L. casei* was found lower than with *L. acidophilus* (35.48 ppm). The present study revealed that the type and counts of microbial cultures (probiotic and starter) affected biogenic amine amounts in sucuk samples as highlighted in the paper of Genccelep et al. (2007). As a matter of fact B and C samples containing both starter and probiotic culture had lower biogenic amine amounts than A sample and this results confirmed the literature. In summary the production of biogenic amine was limited by probiotic culture. Many researchers reported that fermentation with appropriate starter cultures or mixed cultures is effective approach to reduce biogenic amine formation during fermented sausages production (Kongkiattikajorn, 2015;

Wang et al., 2015; Xie et al., 2015; Dominguez et al., 2016; Kantachote et al., 2016; Sun et al., 2016). Sun et al. (2016) reported that the lowest amounts of biogenic amines were observed in sausages inoculated with the bacterial mixture including *Staphylococcus xylosum* and *Lactobacillus plantarum*. Similarly, addition of *L. rhamnosus* as well as *L. plantarum* in the production of sausages reduced biogenic amine formation.

As regards to effect of microencapsulation on biogenic amine amounts, in general it was observed that there were no significantly differences among sucuk productions with microencapsulated *L. rhamnosus* or free *L. rhamnosus*. Thus obvious relation between microencapsulation and biogenic amine amount could not be found in B and C samples. Similarly, Song et al. (2018) reported that there were no statistical differences between biogenic amine amounts in probiotic sausages containing microencapsulated or free *B. longum*.

CONCLUSION

Culture combination and storage period affected some biogenic amine amounts. Biogenic amine amounts in sucuk samples mostly increased with storage. Sucuk samples containing probiotic culture (B and C sample) had lower amounts of biogenic amine than A sample. These results confirmed that probiotic cultures in sucuk prevented biogenic amine formation and biogenic amine amounts were negatively correlated with probiotic counts. Probiotic *L. rhamnosus* could be considered as candidates for a mixed starter culture in sucuk production to inhibit biogenic amine formation. Probiotic sucuk in the present research could contribute to the variety of probiotic functional products and safely be consumed because of positive effect of probiotic on health and protective properties of probiotic. Probiotic sucuk will possibly contribute to probiotic product diversity.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was supported by the Scientific and Technical Research Council of Turkey (TUBITAK, Project 112O481) and Çukurova

University Research Fund (ZF-2010-D17 and ZF2011BAP10).

REFERENCES

Bagdatlı, A., Kundakci, A. (2016). Optimization of compositional and structural properties in probiotic sausage production. *J Food Sci Technol*, 53(3): 1679-1689.

Bek Y, Efe E. Araştırma ve Deneme Metodları-I. Adana, Turkey: Çukurova University Agricultural Faculty; 1988 (in Turkish).

Bozkurt, H., Erkmén, O. (2004). Effects of temperature, humidity and additives on the formation of biogenic amines in sucuk during ripening and storage periods. *Food Sci Tech Int*, 10(1): 21-28.

Cavalheiro C.P., Ruiz-Capillas C, Herrero A.M., Jimenez-Colmenero F, deMenezes C.R., Fries L.L.M. (2015). Application of probiotic delivery systems in meat products. *Trends Food Sci Tech*, 46: 120-131.

Champagne, C., Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Curr Opin Biotech*, 18: 184-190.

Chen, M., Chen, K., Kuo, Y. (2007). Optimal thermotolerance of *Bifidobacterium bifidum* in gellan-alginate microparticles. *Biotechnol Bioeng*, 98 (2).

De Vuyst, L., Falony, G., Leroy, F. (2008). Probiotics in fermented sausages. *Meat Sci*, 80: 75-78.

De Prisco, A., Mauriello, G. (2016). Probiotication of foods: a focus on microencapsulation tool. *Trends Food Sci Tech*, 48: 27-39.

Domínguez, R., Munekata, P.E., Agregan, R., Lorenzo, J.M. (2016). Effect of commercial starter cultures on free amino acid, biogenic amine and free fatty acid contents in dry-cured foal sausage. *LWT-Food Sci Technol*, 71: 47-53.

Eerola, S., Hinkkanen, R., Lindfors, E., Hirvi, T. (1993). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *J AOAC Int*, 76(3): 575-577.

Ergönül, B., Kundakçi, A. (2011). Microbiological attributes and biogenic amine content of probiotic Turkish fermented sausage. *J Verbr Lebensm*, 6: 49-56.

Erkkilä, S., Suihko, M.L., Eerola, S., Petaja, E., Mattila-Sandholm, T. (2001). Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Int J Food Microbiol*, 64: 205-210.

Espinoza, Y.R., Navarro, Y.G. (2010). Non-Dairy probiotic products. *Food Microbiol*, 27: 1-11.

Gencelep, H., Kaban, G., Kaya, M. (2007). Effects of starter cultures and nitrite levels on formation of biogenic amines in sucuk. *Meat Sci*, 77(3): 424-430.

Gencelep, H., Aksu, M.I., Oz, F., Kaya, M. (2008). Determination of biogenic amines in sucuk. *Food Control*, 19: 868-872.

Gücüköglü, A., Küplülü, Ö. (2010). The effect of different starter cultures and ripening temperatures on formation of biogenic amine in Turkish fermented sausages. *Eur Food Res Technol*, 230: 875-884.

Jairath, G., Singh, P.K., Dabur, R.S., Rani, M., Chaudhari, M. (2015). Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: a review. *J Food Sci Technol*, 52(11): 6835-6846.

Kaban, G., Kaya, M. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosum* on the quality characteristics of dry fermented sausage "Sucuk". *J Food Sci*, 74(1): 58-S63.

Kalkan S, Öztürk D, Selimoglu BS. (2018). Determining some of the quality characteristics of probiotic yogurts manufactured by using microencapsulated *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Turk J Vet Anim Sci*, 42: 617-623.

Kaya, M., Aksu, M.I. (2005). Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics of sliced 'sucuk' produced using probiotics culture. *J Sci Food Agric*, 85: 2281-2288.

Kantachote, D., Ratanaburee, A., Sukhoom, A., Sumpradit, T., Asavaroungpipop, N. (2016). Use of amino butyric acid producing lactic acid

- bacteria as starters to reduce biogenic amines and cholesterol in Thai fermented pork sausage (Nham) and their distribution during fermentation. *LWT- Food Sci Technol*, 70: 171-177.
- Kongkiattikajorn, J. (2015). Potential of starter culture to reduce biogenic amines accumulation in som-fug, a Thai traditional fermented fish sausage. *J Ethnic Foods*, 2: 186-194.
- Kurt, Ş., Zorba, Ö. (2009). The effects of ripening period, nitrite level and heat treatment on biogenic amine formation of "sucuk" – A Turkish dry fermented sausage. *Meat Sci*, 82(2): 179-184.
- Loizzo, M.R., Spizzirri, U.G., Bonesi, M., Tundis, R., Picci, N., Restuccia, D. (2016). Influence of packaging conditions on biogenic amines and fatty acids evolution during 15 months storage of a typical spreadable salami (Nduja). *Food Chem*, 213: 115–122.
- Lu, S., Ji, H., Wang, Q., Li, B., Li, K., Xu, C., Jiang, C. (2015). The effects of starter cultures and plant extracts on the biogenic amine accumulation in traditional Chinese smoked horse meat sausages. *Food Control*, 50: 869-875.
- Muthukumarasamy, P., Holley, R.A. (2006). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *Int J Food Microbiol*, 111: 164–169.
- Özdemir, H. (1999). Türk fermente sucuğunun florasındaki dominant laktobasil türlerinin sucuğun organoleptik nitelikleri ile ilişkisi. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 46: 189-198.
- Özer, C.O., Kılıç, B., Kılıç, G.B. (2016). *In vitro* microbial production of conjugated linoleic acid by probiotic *L. plantarum* strains: Utilization as a functional starter culture in sucuk fermentation. *Meat Sci*, 114: 24-31.
- Rubio, R., Jofré, A., Aymerich, T., Guàrdia, M.D., Garriga, M. (2014). Nutritionally enhanced fermented sausages as a vehicle for potential probiotic *Lactobacilli* delivery. *Meat Sci*, 96: 937-942.
- Sidira, M., Karapetsas, A., Galanis, A., Kanellaki, M., Kourkoutas, Y. (2014). Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry fermented sausages and investigation of microbial dynamics. *Meat Sci*, 96: 948–955.
- Song, M.Y., Ba, H.V., Park, W.S., Yoo, J.Y., Kang, H.B., Kim, J.H., Kang, S.M., Kim, B.M., Oh, M.H., Ham, J.S. (2018). Quality characteristics of functional fermented sausages added with encapsulated probiotic *Bifidobacterium longum* KACC 91563. *Korean J Food Sci An*, 38(5): 981-994.
- Sun, Q., Chen, Q., Li, F., Zheng, D., Kong, B. (2016). Biogenic amine inhibition and quality protection of Harbin dry sausages by inoculation with *Staphylococcus xylosum* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Control*, 68: 358-366.
- Unal, E. (2014). Probiyotik laktik asit bakterilerinden *L. rhamnosus*'un fermente sucukların bazı özellikleri üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, PhD thesis, 171p.
- Ünal Turhan, E., Erginkaya, Z., Polat, S., Özer, E.A. (2017). Design of probiotic dry fermented sausage (sucuk) production with microencapsulated and free cells of *Lactobacillus rhamnosus*. *Turk J Vet Anim Sci*, 41: 598-603.
- Wang Y., Sun Y., Zhang X., Zhang Z., Song J., Gui M., Li P. (2015). Bacteriocin producing probiotics enhance the safety and functionality of sturgeon sausage. *Food Control*, 50: 729-735.
- Xie, C., Wang, H.H., Nie, X.K., Chen, L., Deng, S.L., Xu, X.L. (2015). Reduction of biogenic amine concentration in fermented sausage by selected starter cultures. *CyTA-J Food*, 13(4): 491-497.

FARKLI İLLERDEN TOPLANAN SIKMA PEYNİRLERİNİN MİKROBİYOLOJİK VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ*

Furkan Aydın**, Mustafa Ardıç

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

Geliş / Received: 30.05.2019; Kabul / Accepted: 17.08.2019; Online baskı / Published online: 01.09.2019

Aydın, F., Ardıç, M. (2019). Farklı illerden toplanan sıkma peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. GIDA (2019) 44 (5): 826-836 doi: 10.15237/gida.GD19088

Aydın, F., Ardıç, M. (2019). Determination of microbiological and chemical properties of sikma cheeses collected from different provinces. GIDA (2019) 44 (5): 826-836 doi: 10.15237/gida.GD19088

ÖZ

Bu çalışmada farklı illerden toplanan sıkma peynir örneklerinden *Enterococcus* cinsi bakterilerin izolasyonu, identifikasyonu ile örneklerin genel mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, 20 peynir örneğinden 84 izolat izole edilmiş olup bunların 32'si *E. faecalis*, 31'i *E. faecium*, 13'ü *E. durans*, 4'ü *E. gallinarum*, 3'ü *E. casseliflavus* ve 1'i de *E. thailandicus* olarak tanımlanmıştır. Çalışmada incelenen peynirlerin toplam aerobik mezofilik, maya ve küf, koliform, enterokok ve laktobasil sayıları ortalama sırasıyla 7.32 ± 0.95 , 4.94 ± 0.89 , 4.02 ± 1.88 , 5.86 ± 1.38 ve 6.90 ± 1.22 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Kimyasal analizler sonucunda ise ortalama kuru madde, nem, protein, yağ, kuru maddede yağ, tuz, kuru maddede tuz, kül, asitlik ve pH değerleri sırasıyla %55.44±3.68, %44.56±3.68, %23.51±2.26, %23.42±5.22, %41.89±5.16, %5.51±2.13, %10.06±5.98, %6.88±2.62, %0.3779±0.103 ve 5.66±0.14 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, sıkma peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin geniş sınırlar içinde seyrettiği ve çiğ süt kullanılarak üretilmesinden kaynaklı enterokok mikroflorasının zengin olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Geleneksel peynirler, sıkma peynirleri, MALDI-TOF-MS, *Enterococcus*, enterokok.

DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SIKMA CHEESES COLLECTED FROM DIFFERENT PROVINCES*

ABSTRACT

In this study, identification of *Enterococcus* spp. from sikma cheeses and determination of microbiological and chemical properties of the samples were aimed. For this purpose, 84 isolates from 20 cheese samples were obtained. Among them, 32 *E. faecalis*, 31 *E. faecium*, 13 *E. durans*, 4 *E. gallinarum*, 3 *E. casseliflavus* and 1 *E. thailandicus* were identified. According to microbiological analysis; total aerobic mesophilic bacteria, yeast and mould, coliform, *Enterococcus* and *Lactobacillus* spp. were assessed to be 7.32 ± 0.95 , 4.94 ± 0.89 , 4.02 ± 1.88 , 5.86 ± 1.38 and 6.90 ± 1.22 log cfu/g, respectively. Chemical analysis revealed that dry matter, moisture, protein, fat, fat in dry matter, salt, salt in dry matter, ash, acidity and pH were 55.44±3.68%, 44.56±3.68%, 23.51±2.26%, 23.42±5.22%, 41.89±5.16%, 5.51±2.13%, 10.06±5.98%, 6.88±2.62%, 0.3779±0.103% and 5.66±0.14%, respectively. In conclusion, results indicated that sikma cheeses have wide range of microbiological and chemical properties and a diverse *Enterococcus* microflora due to using raw milk in the production of cheeses.

Keywords: Traditional cheeses, sikma cheeses, MALDI-TOF-MS, *Enterococcus*, enterokok.

* Bu makale, sorumlu yazarın "Yöresel bazı peynirlerdeki *Enterococcus* cinsi bakterilerin MALDI-TOF-TOF-MS yöntemi ile tanımlanması" başlıklı yüksek lisans tezinin bir bölümüdür / This paper is a part of corresponding author's MSc thesis entitled "Identification of *Enterococcus* genus bacteria by MALDI-TOF-TOF-MS method".

** Yazışmadan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: furkanaydin@aksaray.edu.tr

☎: (+90) 382 288 3551

☎: (+90) 382 288 3525

GİRİŞ

Türkiye yöresel ürün çeşitliliği açısından oldukça zengin bir ülkedir. Farklı kişi ve kurumlar tarafından yayınlanan sonuçlar arasında ufak farklılıklar olsa da Türkiye’de 130’un üzerinde yöresel peynir üretildiği bildirilmiştir (Kamber, 2015). Kültürel mirasın bir göstergesi olan yöresel peynirlerin korunup endüstriye kazandırılması ekonomik ve kültürel açıdan önem arz etmektedir (Sarı vd., 2018). Genellikle mandıra ve küçük imalathanelerde çiğ süt kullanılarak üretilen bu peynir çeşitleri kendine özgü mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal niteliklere sahiptir (Yalçın vd., 2007). Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri’nde yöresel halk tarafından sıklıkla tüketilen Şanlıurfa, Gaziantep, Maraş ve Malatya sıkma peynirleri kullanılan çiğ sütün nevi, telemenin baskılama ve haşlama aşamaları ile salamura muhafazaları bakımından birbirlerine benzerlik göstermektedir (Hayaloğlu vd., 2008).

Üretim yapılan yörelere göre küçük farklılıklar olsa da geleneksel sıkma peynirinin üretiminde çiğ süt ilk olarak kaba pisliklerinden arındırılarak rennet enzimi ile mayalanmakta ve kabın üstü bir bez ile kapatılmaktadır. Mayalama işlemi sonucunda oluşan pıhtı tülbentlere doldurularak ağzı sıkıca düğümlenmektedir. Böylece peynir altı suyunun pıhtıdan uzaklaşması sağlanmaktadır. Daha sonra, tülbentin içindeki pıhtı baskıya alınmakta ve baskılama sonrasında teleme 60-90°C’deki sıcak su veya peynir altı suyu içerisinde 2-5 dakika boyunca haşlanmaktadır. El ile sıkılarak şekil verilen peynir daha sonrasında salamura çözeltisine alınarak 3-4 ay boyunca olgunlaşmaya bırakılmaktadır (Ceylan vd., 2003; Ardiç ve Nizamlioğlu, 2004; Hayaloğlu vd., 2008).

Geleneksel peynir üretiminde sütün pastörize edilmemesi, hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmaması gibi nedenler fekal kontaminasyonun bir göstergesi olan enterokokların gelişmesine imkân sağlamaktadır (Toğay ve Temiz, 2011). *Enterococcus* cinsi bakteriler Gram (+), katalaz (-) morfolojik olarak kok şeklinde, geniş pH aralıklarında ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterebilen bir laktik asit bakterisi (LAB) grubudur (Klein vd., 2003). İnsan ve hayvan bağırsak mikrobiyotasının birer parçası olmalarına

karşın geleneksel yollarla üretilen birçok fermente gıdanın mikrobiyotasında yer almaktadır (Tuncer vd., 2013). Peynirde sıklıkla rastlanan türler arasında *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* yer almakla birlikte (Giraffa, 2003) *E. casseliflavus*, *E. hirae*, *E. italicus*, *E. avium* ve *E. pseudoavium* gibi türlerin de izole edildiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ertürkmen ve Öner, 2015; Kırmacı vd., 2016; Domingos-Lopes vd., 2017; İspirli vd., 2017).

Peynirde bulunma popülasyonları oldukça değişkenlik gösteren enterokoklar telemede 4.00-6.00 log kob/g arasında bulunurken, olgunlaşma periyodu sonucunda bu sayının 5.00-7.00 kob/g dolaylarına çıktığı farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Picon vd., 2016; Pyz-Lukasik vd., 2018; Öner ve Sarıdağ, 2019). Enterokoklar, peynir teknolojisi açısından düşünüldüğünde olgunlaşma periyodu boyunca gösterdikleri lipolitik ve proteolitik faaliyetler neticesinde tat, aroma ve yapıya katkıda bulunsa da (Franz vd., 1999; Giraffa, 2003) bazı tür ve suşlarının vankomisin başta olmak üzere birçok antibiyotige göstermiş olduğu direnç ve bu direnci bağırsak mikrobiyotasında bulunan diğer mikroorganizmalara aktarma potansiyelinden dolayı gıdalarda bulunması ve/veya ek kültür olarak kullanılması günümüzde hâlen bir soru işaretidir (Miller vd., 2016; Ahmed ve Baptiste, 2018; Nawaz vd., 2019).

Yapılan literatür araştırması kapsamında, geleneksel yollarla üretilen Urfa beyaz peynirlerinin enterokok mikrobiyotasının belirlenmesi ile ilgili çalışmalar yer alsa da (Uraz vd., 2008; Kırmacı vd., 2016) sıkma peynirlerinin enterokok mikrobiyotasının belirlenmesine ait bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma kapsamında Şanlıurfa, Gaziantep, Kahramanmaraş ve Malatya illerinden toplanmış sıkma peynirlerinin *Enterococcus* spp. mikrobiyotası ile mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada Gaziantep, Şanlıurfa, Malatya ve Kahramanmaraş illerinde üretilen sıkma peynirlerinin her birinden 5'er adet olmak üzere

toplamda 20 adet peynir örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler soğuk zincir kırılmadan laboratuvara getirilmiştir.

Enterokok suşlarının izolasyonu

Enterokok suşlarının izolasyonu Kanamycin Esculin Azide Agar (KAA) (Merck, Almanya) besiyeri kullanılarak yayma yöntemi ile yapılmıştır. Ekimden sonra Petri kapları 37°C'de aerobik şartlar altında 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Siyah zonlu şüpheli enterokok kolonileri Tryptic Soy Borth (Merck, Almanya) ve Tryptic Soy Agar (Merck, Almanya) besiyerleri kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar teyit amaçlı 10°C ve 45°C'de, pH 9.6 ve %6.5 NaCl varlığında geliştirilmiştir. Bütün şartlarda gelişim gösteren izolatlar Gram boyama ve katalaz testleri uygulandıktan sonra %40 oranında steril gliserol ilave edilerek -80°C'de muhafaza edilmiştir.

İzolatların Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS) ile tanımlanması

İlk olarak, 2 mg α -siyano-4-hidroksisinnamik asit (Sigma-Aldrich, Almanya) matriks kimyasalı 150 μ l organik çözücü ile karıştırılmıştır. 1 ml organik çözücünün hazırlanması için ise 475 μ l ddH₂O, 500 μ l asetonitril solüsyonu (Sigma-Aldrich, Almanya) ile 25 μ l Trifluoroasetik asit (Sigma-Aldrich, Almanya) çözeltilerinden alınmış ve steril bir eppendorf tüpü içerisinde iyice homojenize olana kadar karıştırılmıştır. Aktifleştirilen kültürlerden steril bir kürdan yardımıyla alınarak MALDI plakasının (MTP 384; Bruker Daltonik GmbH, Almanya) haznelerine sürülmüştür. Üzerine 1 μ l hazırlanan organik çözelti ve matriks karışımından eklenerek oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Han vd., 2014). Kuruması tamamlanan örnekleri içeren plaka MALDI Bio-Typer (Bruker Daltonik, Almanya) cihazına yerleştirilmiştir. Tanımlama metodu olarak MBT-FC.par seçilmiş, lazer ışın şiddeti ise %50.0 (50.0 Hz) olarak belirlenmiştir. Sistem veritabanı olarak MALDI-BioTyper 3.0 kullanılmıştır.

Sonuçlar logaritma skoru olarak kaydedilmiştir. Bu doğrultuda, 2.300-3.000 skoruna sahip olan

izolatlar "Tür düzeyinde güvenilir tanımlama", 2.000-2.299 "Cins düzeyinde yüksek güvenilirlikli, tür düzeyinde yüksek ihtimalli", 1.700-1.999 "Yüksek ihtimalli cins tanımlaması" ve 0,000-1.699 "Güvenilir olmayan tanımlama" olarak değerlendirilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizlerde toplam mezofil aerobik bakteri (TMAB), maya ve küf, enterokok ve laktobasil sayıları için yayma, koliform bakteri sayısı için ise çift kat dökme yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla 10 g peynir örneği 90 mL ¼ kuvvetindeki Ringer solüsyonu içeren steril bir stomacher poşetinde iyice karışana kadar homojenize edilmiş ve ardından 10⁻⁸'e kadar seyreltilmiştir. TMAB sayımı Plate Count Agar (PCA) (Merck, Almanya) kullanılarak 30°C'de 24-48 saat, maya ve küf sayımı Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGC) (Merck, Almanya) kullanılarak 24°C'de 5 gün, koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB Agar) (Merck, Almanya) kullanılarak 30°C'de 24 saat, enterokok sayımı KAA (Merck, Almanya) kullanılarak 37°C'de 48 saat, laktobasil sayımı ise de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar (Merck, Almanya) kullanılarak anaerobik şartlar altında 30°C'de 48-72 saatlik inkübasyonlar sonucunda yapılmıştır (Ardıç ve Nizamlioğlu, 2004; Kırmacı, 2010).

Kimyasal Analizler

Peynirlerde, gravimetrik yöntem ile toplam kuru madde (KM), Kjeldahl yöntemi ile toplam azot (protein), Van Gulik yöntemi ile yağ oranı, Mohr yöntemi ile tuz oranı, titrasyon asitliği ile laktik asit cinsinden asidite ve pH metre ile pH değerlerinin ölçümleri yapılmıştır (Metin, 2008).

BULGULAR VE TARTIŞMA

MALDI-TOF-MS sonuçları

Fenotipik özellikler baz alınarak yapılan ön tanımlamalar sonucunda *Enterococcus* spp. olarak tanımlanan izolatların MALDI-TOF-MS sonuçları Çizelge 1'de sunulmuştur. Tanı sonucunda *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin dominant enterokok mikroflorasını oluşturduğu görülmektedir. Bununla birlikte *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. thailandicus* türleri

de tanımlanmıştır. Sıkma peynir üretiminde kötü hijyen koşulları ve çiğ sütün kullanılması enterokok kontaminasyonunun birincil nedenidir. Çiğ süttten telemeye, oradan da peynire geçen bu bakteriler düşük pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarında canlılıklarını sürdürmesinden dolayı birçok geleneksel yollarla üretilen peynirin laktik mikroflorasının ciddi bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu çalışma kapsamında izole edilen dominant türler birçok araştırmacı tarafından tanımlanan türler ile

benzerlik gösterse de dominant olmayan türler arasında farklılıklar tespit edilmiştir (Durlu-Özkaya vd., 2001; Aquilanti vd., 2007; Korucu, 2012; Ertürkmen ve Öner, 2015; Kırmacı vd., 2016; Domingos-Lopes vd., 2017; İspirli vd., 2017). Bunun temel sebepleri arasında kullanılan çiğ sütün nevi, coğrafi farklılıklar, kontaminasyon düzeyleri, telemenin haşlama sıcaklığı ve süresi ile depolama şartları gibi birçok faktör yer almaktadır.

Çizelge 1. İzolatların tür düzeyinde MALDI-TOF-MS ile tanı sonucu
Table 1. Identification of the isolates on species level by MALDI-TOF-MS

Enterococcus spp.	İzolat Sayısı (Number of Isolate)	İzolat Yüzdesi (Percentage of Isolate) (%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	32	38.09
<i>Enterococcus faecium</i>	31	36.90
<i>Enterococcus durans</i>	13	15.48
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4	4.76
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	3	3.57
<i>Enterococcus thailandicus</i>	1	1.20

Enterokokların doğal yaşam ortamı insan ve memeli hayvanların bağırsaklarıdır. İnsan dışkısında enterokok türleri arasında dominant olarak bulunan *E. faecalis* ile birlikte *E. faecium*, *E. hirae*, *E. avium* ve *E. durans* türlerinin de bulunduğu bildirilmektedir. Ek olarak, memeli hayvanların dışkısından da enterokoklar izole edilebilmektedir. Bunlar arasında *E. faecium* inek bağırsağından en çok izole edilen tür olup bunu *E. faecalis*, *E. hirae* ve *E. casseliflavus* türleri takip etmektedir (Lemsaddek ve Tenreiro, 2012). *E. gallinarum* türünün ise özellikle vankomisine karşı gösterdiği direnç nedeniyle birçok hastane enfeksiyonundan izolasyonu mümkündür ve zaman zaman insan bağırsak mikroflorasının da bir parçası olabilmektedir ve dolayısıyla dışkıdan izole edilebilmektedir (Narciso-Schiavon vd., 2015). Son olarak, *E. thailandicus* ilk olarak Tayland'da sosisten izole edilmiştir. İnsan dışkısı kaynaklı olduğu düşünülen *E. thailandicus* moleküler genetik olarak %99.3-%99.6 gibi büyük oranda *E. hirae* ile benzerlik gösterdiği bilinmektedir (Tanasupawat vd., 2008). Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar literatür bilgileri ile kıyaslandığında *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin hem insan hem de memeli hayvan dışkısında

baskın olmasından dolayı dominant mikrofloranın bu iki tür tarafından oluşması şaşırtıcı bir sonuç değildir.

Farklı güven aralıklarında (GA) tanımlanan izolatlar Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelgeye göre izolatların %78.57'si $3.000 \geq GA \geq 2.300$ aralığında sonuç verirken %19.05'i ise $2.300 \geq GA \geq 2.000$ aralığında sonuç vermiştir. Seksen dört izolat arasında 1 *E. casseliflavus* izolatı 'yüksek ihtimalli cins tanımlaması' anlamına gelen 1.992 skoru ile tanımlanmıştır. Benzer şekilde aralarında enterokokların da bulunduğu LAB tanımlanmasında MALDI-TOF-MS yönteminin kullanıldığı çalışmalarda tür düzeyinde doğru tanı aralığı $3.000 \geq GA \geq 2.000$ olarak alınmış ve %92.3-%100.0 arasında tanımlama başarısı elde edilmiştir (Angelakis vd., 2011; Carbonnelle vd., 2012; Bareika vd., 2017; Nacef vd., 2017; Ledina vd., 2018; Russo vd., 2018). Çalışma sonuçları aynı GA referans alınarak değerlendirildiğinde %98.91'lik tür düzeyinde doğru tanımlama ile benzer sonuçlar sergilemiştir.

Çizelge 2. Farklı güven aralıklarında tanımlanan izolat sayıları
Table 2. Number of isolates identified in different confidence intervals

Aralık (Interval)	<1.700	1.700-1.999	2.000-2.299	2.300-3.000
İzolat sayıları (Number of isolates)	0	1	17	66

Mikrobiyolojik özellikler

Yapılan mikrobiyolojik ekimler neticesinde elde edilen sonuçlar Çizelge 3’de sunulmuştur. Hayvanın memesinde steril olarak bulunan çiğ süte memeden, peynir üretiminde kullanılan araç gereçlerden ve direkt olarak insandan

mikroorganizma kontaminasyonu olmaktadır. Bu durum göz önüne alındığında özellikle çiğ süttten geleneksel yollarla üretilen peynirlerde TMAB sayısının yüksek olması beklenmektedir. Nitekim ortalama TMAB değeri 7.32 ± 0.95 log kob/g olarak bulunmuştur.

Çizelge 3. Peynir örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçları (log kob/g)

Table 3. Microbiological counts of the samples (log cfu/g)

Mikroorganizmalar (Microorganisms)	En az (Minimum)	En çok (Maximum)	Ortalama (Mean)
TMAB (TMAB)	5.84 ± 0.05	8.66 ± 0.04	7.32 ± 0.95
Maya ve Küf (Yeast and Mould)	3.23 ± 0.11	6.86 ± 0.07	4.94 ± 0.89
Koliform (Coliform)	1.16 ± 0.03	5.96 ± 0.08	4.02 ± 1.88
Enterokok (Enterococcus spp.)	3.18 ± 0.02	8.25 ± 0.10	5.86 ± 1.38
Laktobasil (Lactobacillus spp.)	4.36 ± 0.09	8.59 ± 0.13	6.90 ± 1.22

TMAB: Toplam Mezofil Aerob Bakteri. TMAB: Total Mesophilic Aerob Bacteria.

Maya ve küf sayısı ortalama 4.94 ± 0.89 log kob/g olarak saptanmıştır (Çizelge 3). Bu mikroorganizma grupları peynirde çoğunlukla istenmeyen tat ve aromadan sorumludur. Düşük su aktivitesi ve pH ile yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilme yeteneklerinden dolayı geleneksel yollarla üretilen peynirlerde maya ve küf sayısı $5.00-6.00$ log kob/g sayılarına kadar çıktığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Pyz-Łukasik vd., 2018; Öner ve Sarıdağ, 2019). Benzer şekilde mevcut çalışma sonuçları da bu verileri destekler niteliktedir.

Toplam koliform sayısı ortalama 4.02 ± 1.88 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Gıdaların doğal mikroflorasında bulunmayan koliformlar ürüne dışkı veya toprak bulaşığı olduğunu, üretimin hijyenik şartlar altında yapılmadığını ve yetersiz ısı işlem uygulamalarını işaret etmektedir (Halkman

ve Halkman, 2014). Diğer yandan, dışkı kontaminasyonunun bir göstergesi olan *Enterococcus* cinsi bakteriler koliform grubu bakterilere kıyasla daha zorlu koşullarda yaşamını sürdürme yeteneklerinden dolayı zaman zaman araştırmacılar tarafından indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (Çıtak vd., 2009; Pappa vd., 2019). Çalışma verileri incelendiğinde enterokok sayısı ortalama 5.86 ± 1.38 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Enterokok sayısının çiğ süttten üretilen peynirlerde olgunlaşma aşamasında $5.00-7.00$ log kob/g arasında değiştiği farklı araştırma grupları tarafından bildirilmiştir (Renyé vd., 2008; Colombo vd., 2010; González-Montiel ve Franco-Fernández, 2015; Picon vd., 2016; Pyz-Łukasik vd., 2018). Bu değerlerin elde edilen çalışma verileri ile örtüştüğü tespit edilmiştir.

Olgunlaştırılmış peynirlerde olgunlaşma esnasında dominant mikroflora çoğunlukla starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB) olarak adlandırılan mezofil laktobasiller ve enterokoklar tarafından oluşmaktadır (Gobbetti vd., 2015; Yuvaşen vd., 2018). Laktobasiller ortamda fermentasyon sonucunda az miktarda kalan laktozu metabolize etmekte ve karbon enerji kaynağı bittiğinde aminoasit ile sitratı kullanarak aroma maddeleri üretmektedir. Bu yüzden, olgunlaştırılan peynirlerde ürünün tat ve aroması taze olarak tüketilen peynirlere kıyasla daha zengin olmaktadır (Skeie vd., 2008). Türkiye’de olgunlaştırılarak tüketilen peynirlerde çeşitli araştırmacılar tarafından laktobasil sayısının ortalama olarak 7.00-8.00 log kob/g aralığında değiştiği bildirilmiştir (Ardıç ve Nizamloğlu, 2004; Yalçın vd., 2007; Dinkçi vd., 2012; Morul ve İşleyici, 2012; Kara ve Akkaya, 2015). Bu çalışmada, elde edilen laktobasil sayıları da bu sonuçları desteklemektedir.

Kimyasal özellikler

Peynir örneklerinin kimyasal analiz bulguları Çizelge 4’te sunulmuştur. Yarı-sert peynirler grubunda değerlendirilen sıkma peynirlerinin besleyici değeri hakkında kabaca bilgi sunan kuru madde miktarı ortalama 55.44 ± 3.68 olarak tespit edilmiştir. Örneklerin ortalama nem değeri ise 44.56 ± 3.68 olarak hesaplanmıştır. Peynirlerin %70.0’i (14/20) Türk Gıda Kodeksi Peyniri Tebliği’nde yer alan telemesi haşlanan peynirlerin içermesi gereken maksimum nem miktarı ile (En çok %45.0) örtüşmektedir (Anonymous, 2015). Çalışmada elde edilen sonuçlar Urfa ve Maraş illerinden toplanan sıkma peynirlerinde çalışan Yetişmeyen ve Yıldız (2003) ile Yalçın vd. (2007) tarafından bildirilen sonuçlarla benzerlik gösterirken, Tekinşen ve Nizamloğlu (2003) tarafından bildirilen % nem miktarlarından yüksek çıkmıştır. Sonuçlar arasında farkın fazla olması peynirlerin standart bir üretim tekniğinin olmamasından ve üretimde farklı türde sütlerin kullanılmış olmasından ileri geldiği düşünülmektedir.

Çizelge 4. Peynir örneklerinin kimyasal özellikleri
Table 4. Chemical properties of the samples

Kimyasal Bileşen (Chemical Composition)	En az (Minimum)	En çok (Maximum)	Ortalama (Mean)
Kuru madde (%) (Dry matter %)	46.87 ± 0.27	63.45 ± 0.05	55.44 ± 3.68
Nem (%) (Humidity %)	36.55 ± 0.05	53.13 ± 0.27	44.56 ± 3.68
Protein (%) (Protein %)	19.46 ± 0.19	28.75 ± 0.05	23.51 ± 2.26
Yağ (%) (Fat %)	14.00 ± 0.50	33.0 ± 0.00	23.42 ± 5.22
Kuru maddede yağ (%) (Fat in dry matter %)	23.23 ± 0.49	46.95 ± 0.71	41.89 ± 5.16
Tuz (%) (Salt %)	2.05 ± 0.22	11.24 ± 0.21	5.51 ± 2.13
Kuru maddede tuz (%) (Salt in dry matter %)	3.57 ± 0.18	22.66 ± 0.46	10.06 ± 5.98
Kül (%) (Ash %)	2.96 ± 0.04	11.58 ± 0.15	6.88 ± 2.62
Asitlik (%) (Acidity %)	0.2160 ± 0.036	0.6116 ± 0.00	0.3779 ± 0.103
pH (pH)	5.24 ± 0.02	5.83 ± 0.01	5.66 ± 0.14

Örneklerin protein değerleri ortalama $\%23.51 \pm 2.26$ olarak saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çelikkalek (2010) tarafından bildirilen Malatya sıkma peynirlerine ait ortalama protein değerlerinden daha düşük, Kaya (2002) ile Yetişmeyen ve Yıldız (2003) tarafından bildirilen Gaziantep ve Urfa sıkma peynirlerine ait değerlerden ise daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki farklılığın peynir üretiminde kullanılan çiğ sütün türünden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yağ içeriğinin $\%14.00 \pm 0.50$ ile $\%33.0 \pm 0.00$ değerleri arasında değiştiği ve ortalama $\%23.42 \pm 5.22$ olarak bulunduğu belirlenmiştir. Kuru maddede yağ içeriği ise ortalama $\%41.89 \pm 5.16$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4). Örnekler Peynir Tebliği'nde yer alan 'peynirlerin süt yağı miktarına göre sınıflandırılması' başlığında değerlendirildiğinde $\%25.0$ 'i (5) tam yağlı, $\%75.0$ 'i (15) ise yarım yağlı olarak sınıflandırılmıştır (Anonymous, 2015). Elde edilen bu sonuçlar Çelikkalek (2010) ve Karatekin (2014) tarafından bildirilen Malatya sıkma peynirine ait sonuçlar ile benzerlik gösterirken Gölge ve Şahan (2008) tarafından bildirilen Maraş sıkma peynirine ait sonuçlardan daha düşük bulunmuştur. Aradaki farklılığın çiğ sütün yağ içeriği ile telemenin haşlama sıcaklığı ve süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

İncelenen numunelerin tuz ve kuru maddedeki tuz oranları ortalama sırasıyla $\%5.51 \pm 2.13$ ve $\%10.06 \pm 2.98$ olarak tespit edilmiştir. Peynir Tebliği'nde salamurada depolanan peynirler için izin verilen kuru maddedeki maksimum tuz miktarına ($\%7.5$) örneklerin $\%55.0$ 'i (11) uymaktadır. Elde edilen sonuçlar Yetişmeyen ve Yıldız (2003) tarafından bildirilen Urfa sıkma peynirine ait sonuçlar ile benzerlik gösterirken Ceylan vd. (2003) tarafından bildirilen Maraş sıkma peynirine ait sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur. Sonuçların çok geniş dağılım göstermesinin peynirlerin farklı salamura konsantrasyonlarında farklı sürelerde depolanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Numunelerde en az $\%2.96 \pm 0.04$, en çok $\%11.58 \pm 0.15$ ve ortalama $\%6.88 \pm 2.62$ olarak tespit edilen kül değerleri Urfa sıkma peynirlerine ait Ardıç ve Nizamlıoğlu (2004) tarafından elde edilen değerler ile benzerlik gösterirken Özer vd. (2002) tarafından bildirilen değerlerden daha düşük bulunmuştur.

Ortalama $\%0.3779 \pm 0.103$ olarak bulunan titrasyon asitliği değeri Ardıç ve Nizamlıoğlu (2004) ile Yalçın vd. (2007) tarafından bildirilen sonuçlar ile benzerlik gösterirken Çağlar vd. (1998) ile Yetişmeyen ve Yıldız (2003) tarafından bildirilen değerlerden daha düşük olduğu saptanmıştır. LAB tarafından laktozun parçalanması sonucunda oluşan laktik asit tadın oluşmasında, gıda patojenlerine karşı peyniri korunmasında ve peynirin yapısının elde edilmesinde önemli rol oynamaktadır (Ceylan vd. 2003). Elde edilen sonuçlar ile diğer araştırmacıların elde ettiği sonuçlar arasındaki farklılıkların olgunlaşma öncesi teleminin haşlanma sıcaklık ve süresi ile tuz miktarları arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Peynirde asitliğin ifade edilmesinde bir diğer ifade olan pH değeri ortalama 5.66 ± 0.14 olarak bulunmuş olup bu değer Ardıç ve Nizamlıoğlu (2004) tarafından bildirilen değerler ile benzerlik göstermekteyken Tekinşen ve Nizamlıoğlu (2003) tarafından bildirilen Maraş sıkma peynirine ait değerlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Aradaki farklılıkların çiğ sütün mikroorganizma yükü, haşlama sıcaklık ve süresi, salamura tuz konsantrasyonu ve olgunlaşma şartlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak, çiğ süt kullanılarak üretilen geleneksel sıkma peynirlerinin standart bir üretim tekniğinin olmamasından dolayı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin geniş sınırlarda seyrettiği tespit edilmiştir. Ek olarak, incelenen örneklerde hijyen kurallarına uyulmaması neticesinde çiğ sütün kontaminasyonu suretiyle telemeye oradan da peynire geçen *Enterococcus* cinsine ait 6 farklı tür MALDI-TOF-MS yöntemi ile tespit edilmiştir. İlerleyen çalışmalarda, fırsatçı patojenler olarak nitelendirilen fakat aynı zamanda peynir

teknolojisinde de NSLAB olarak önemli bir rolü olan enterokokların öncelikle 16S rRNA bölgelerinin çoğaltılarak doğru genotipik karakterizasyonunun yapılması, vankomisin başta olmak üzere antibiyotik dirençliklerinin ve virülens faktörlerinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, M.O., Baptiste, K.E. (2018). Vancomycin-resistant enterococci: a review of antimicrobial resistance mechanisms and perspectives of human and animal health. *Microb Drug Resist*, 24(5): 590-606, doi: 10.1089/mdr.2017.0147.
- Angelakis, E., Million, M., Henry, M., Raoult, D. (2011). Rapid and accurate bacterial identification in probiotics and yoghurts by MALDI-TOF mass spectrometry. *J Food Sci*, 76(8): 568-572, doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02369.x.
- Anonymous (2015). Türk gıda kodeksi. Peynir tebliği (2015/6). Gıda, Tarım ve Hayvancılık bakanlığı. 8 Şubat 2015 tarih ve 29261 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Aquilanti, L., Silvestri, G., Zannini, E., Osimani, A., Santarelli, S., Clementi, F. (2007). Phenotypic, genotypic and technological characterization of predominant lactic acid bacteria in Pecorino cheese from central Italy. *J Appl Microbiol*, 103(4): 948-960, doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03513.x.
- Ardıç, M., Nizamlioğlu, M. (2004). Pastörizasyon ve Farklı Haşlama Sıcaklıklarının Urfa Peynirinin Kalitesine Etkisi, *Vet Bil Derg*. 20(1): 61-69.
- Bareika, H A., Sidarenka, A.V., Novik, G.I. (2017). Starter cultures of lactic acid bacteria for special diet products, *Eurobiotech J*, 1(1): 89-90, doi: 10.24190/ISSN2564-615X/2017/01.15.
- Carbonnelle, E., Grohs, P., Jacquier, H., Day, N., Tenza, Sylvie, Dewailly, A., Vissouarn, O., Rottman, M., Herrmann, J-L., Podglajen, I., Raskine, L. (2012). Robustness of two MALDI-TOF mass spectrometry systems for bacterial identification, *J Microbiol Methods*, 89(2): 133-136, doi: 10.1016/j.mimet.2012.03.003.
- Ceylan, Z.G., Turkoglu, H., Dayisoylu, K.S. (2003). The microbiological and chemical quality of sıkma cheese produced in Turkey. *Pak J Nutr*, 2(2): 95-97.
- Colombo, E., Franzetti, L., Frusca, M., Scarpellini, M. (2010). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Italian goat cheese. *J Food Prot*, 73(4): 657-662, doi: 10.4315/0362-028X-73.4.657.
- Çağlar, A., Türkoğlu, H., Ceylan, Z. G. (1998). Sıkma peynirinin yapılışı ve bileşimi, 5. Süt ve süt ürünleri Sempozyumu 'Geleneksel Süt Ürünleri!', 21-22 Mayıs, Tekirdağ, Türkiye.
- Çelikkbilek, İ. (2010). Sıkma peynirinin özellikleri üzerine pastörizasyon işlemi ve pıhtılaşma süresinin etkileri. Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 61 s.
- Çıtak, S., Gündoğan, N., Kala, E. (2009). Evaluation of Coliform and Enterococcus as Fecal Indicator Bacteria in Frozen Meat and Vegetables in Ankara. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 66(4): 145-151.
- Dinkçi, N., Gülfem, Ü., Akalın, A. S., Varol, S., Gönc, S. (2012). Kargı tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Ege Üniv Ziraat Fak Derg*, 49(3): 287-292.
- Domingos-Lopes, M.F.P., Stanton, C., Ross, P.R., Dapkevicius, M.L.E., Silva, C. C.G., (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiol*, 63: 178-190, doi: 10.1016/j.fm.2016.11.014.
- Durlu-Özkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. (2001). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. *J Appl Microbiol*, 91(5): 861-870, doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01448.x.
- Ertürkmen, P., Öner, Z. (2015). Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3): 9-16, doi: 10.19113/sdufbed.25545.

- Franz, C.M., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E. (1999). Enterococci at the crossroads of food safety?. *Int J Food Microbiol*, 47(1-2): 1-24, doi: 10.1016/S0168-1605(99)00007-0.
- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *Int J Food Microbiol*, 88(2-3): 215-222, doi: 10.1016/S0168-1605(03)00183-1.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Mancini, L., Fox, P. F. (2015). Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends Food Sci Technol*, 45(2): 167-178, doi: 10.1016/j.tifs.2015.07.016.
- González-Montiel, L., Franco-Fernández, M.J. (2015). Microbiological profile of aro cheese consumed in Oaxaca, Mexico. *Braz J Food Technol*, 18(3): 250-257, doi: 10.1590/1981-6723.7514.
- Gölge, Ö., Şahan, N. (2008). Geleneksel Yöntemle Üretilen Kelle Peynirlerinin Bazı Kalite Özellikleri, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum, Türkiye, 677-680.
- Halkman, H.B.D., Halkman, A.K. (2014). Indicator organisms. In: Encyclopedia of Food Microbiology, Batt, A.C., Tortorello, M.L. (chief ed.), Volume 2, Academic Press, the UK, pp. 358-363.
- Han, S-K., Hong, Y., Kwak, H-L., Kim, E-S., Kim, M-J., Shrivastav, A., Oh, M-H., Kim, H-Y. (2014). Identification of lactic acid bacteria in pork meat and pork meat products using SDS-PAGE, 16s rRNA gene sequencing and MALDI-TOF Mass Spectrometry. *J Food Saf*, 34(3): 224-232, doi: 10.1111/jfs.12117.
- Hayaloğlu, A.A., Özer, B.H., Fox, P.F. (2008). Cheeses of Turkey: 2. Varieties ripened under brine. *Dairy Sci Technol*, 88(2): 225-244. doi: 10.1051/dst:2007014.
- İspirli, H., Demirbaş, F., Dertli, E. (2017). Characterization of functional properties of Enterococcus spp. isolated from Turkish white cheese. *LWT*, 75: 358-365, doi: 10.1016/j.lwt.2016.09.010.
- Kamber, U. (2015). Traditional Turkey Cheeses and Their Classification. *Van Vet J*, 26(3): 161-171.
- Kara, R., Akkaya, L. (2015). Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-Kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 15(1): 1-6, doi: 10.5578/fmbd.8717.
- Karatekin, B. (2014). Bazı üretim parametrelerinin malatya peynirinin fonksiyonel ve olgunlaşma özellikleri üzerine etkisi, İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi, Malatya, Türkiye, 83 s.
- Kaya, S. (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining, *J Food Eng*, 52(2):155-159, doi: 10.1016/S0260-8774(01)00098-X.
- Kaynar, P. (2011). Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 41: 1-8.
- Kırmacı, H.A. (2010). Geleneksel urfa peynirinde yer alan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve starter kültür olarak kullanım olanakları, Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 161 s.
- Kırmacı, H.A., Özer, B.H., Akçelik, M., Akçelik, N. (2016). Identification and characterisation of lactic acid bacteria isolated from traditional Urfa cheese. *Int J Dairy Technol*, 69(2): 301-307, doi: 10.1111/1471-0307.12260.
- Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol*, 88(2-3): 123-131, doi: 10.1016/S0168-1605(03)00175-2.
- Korucu, D. (2012). Tomas peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması, Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 57 s.
- Ledina, T., Golob, M., Djordjević, J., Magas, V., Colovic, S., Bulajic, S. (2018). MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of Serbian artisanal cheeses microbiota. *J Verbrauch Lebensm*, 13(3): 309-314, doi: 10.1007/s00003-018-1164-y.

- Lemsaddek, A., Tenreiro, R. (2012). Diversity and Ecological Niches. In: *Enterococcus and Safety*, Semedo-Lemsaddek, T., Barreto-Crespo, M. T., Tenreiro, R (Editörler), Nova Science Publishers, New York, USA.
- Meier, F., Lacroix, C., Meile, L., Jans, C. (2018). Enterococci and pseudomonads as quality indicators in industrial production and storage of mozzarella cheese from raw cow milk. *Int Dairy J*, 82: 28-34, doi: 10.1016/j.idairyj.2018.02.010.
- Metin, M. (2008). *Süt ve Mamülleri Analiz Yöntemleri*, 3. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, Türkiye, 439 s.
- Miller, W.R., Murray, B.E., Rice, L.B., Arias, C.A. (2016). Vancomycin-resistant enterococci: therapeutic challenges in the 21st century. *Infect Dis Clin*, 30(2): 415-439, doi: 10.1016/j.idc.2016.02.006.
- Morul, F., İşleyici, Ö. (2012). Divle tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(2): 71-76.
- Nacef, M., Chevalier, M., Chollet, S., Drider, D., Flahaut, C. (2017). MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a French cheese: The Maroilles. *Int J Food Microbiol*, 247: 2-8, doi: 10.1016/j.mimet.2012.03.003.
- Narciso-Schiavon, J.L., Borgonovo, A., Marques, P.C., Tonon, D., Bansho, E.T., Maggi, D.C., Dantas-Corrêa, E.B., Lucca Schiavon, L. (2015). Enterococcus casseliflavus and Enterococcus gallinarum as causative agents of spontaneous bacterial peritonitis, *Ann Hepatol*, 14(2): 270-272, doi: 10.1016/S1665-2681(19)30791-4.
- Nawaz, F., Khan, M.N., Javed, A., Ahmed, I., Ali, N., Ali, M.I., Bakhtiar, S.M. Imran, M. (2019). Genomic and functional characterisation of enterococcus mundtii qauem2808 isolated from artisanal fermented milk product dahi. *Front Microbiol*, 10: 1-26, doi: 10.3389/fmicb.2019.00434.
- Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2019). Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler. *GIDA*, 44(3): 523-533, doi:10.15237/gida.GD19048
- Özer, B., Atasoy, F., Akin, S. (2002). Some properties of Urfa cheese (a traditional White-brined Turkish cheese) produced from bovine and ovine milks. *Int J Dairy Technol*, 55(2): 94-99, doi: 10.1046/j.1471-0307.2002.00040.x.
- Pappa, E. C., Kondyli, E., Samelis, J. (2019). Microbiological and biochemical characteristics of Kashkaval cheese produced using pasteurised or raw milk. *Int Dairy J*, 89: 60-67, doi: 10.1016/j.idairyj.2018.08.011.
- Picon, A., Garde, S., Ávila, M., Nuñez, M. (2016). Microbiota dynamics and lactic acid bacteria biodiversity in raw goat milk cheeses. *Int Dairy J*, 58: 14-22, doi: 10.1016/j.idairyj.2015.09.010
- Pyz-Łukasik, R., Knysz, P., Gondek, M. (2018). Hygiene quality and consumer safety of traditional short-and long-ripened cheeses from poland. *J Food Qual*, 2018: 1-7, doi: 10.1155/2018/8732412.
- Renye, J. A., Somkuti, G. A., Vallejo-Córdoba, B., Van Hekken, D. L., González-Córdova, A. F. (2008). Characterization of the microflora isolated from queso fresco made from raw and pasteurized milk. *J Food Saf*, 28(1): 59-75, doi: 10.1111/j.1745-4565.2007.00095.x.
- Russo, N., Caggia, C., Pino, A., Coque, T.M., Arioli, S., Randazzo, C. L. (2018). Enterococcus spp. in Ragusano PDO and Pecorino Siciliano cheese types: A snapshot of their antibiotic resistance distribution. *Food Chem Toxicol*, 120: 277-286, doi: 10.1016/j.fct.2018.07.023.
- Sarı, K., Yaman, H., Coşkun, H., Akoğlu, A. (2018). Geleneksel menden peynirinin mikrobiyal kalitesi, uçucu bileşen profili, tekstürel ve bazı kimyasal özellikleri. *GIDA*, 43(2): 185-196, doi: 10.15237/gida.GD17089.
- Skeie, S., Kieronczyk, A., Næss, R. M., Østlie, H. (2008). Lactobacillus adjuncts in cheese: Their influence on the degradation of citrate and serine during ripening of a washed curd cheese. *Int Dairy J*, 18(2): 158-168, doi: 10.1016/j.idairyj.2007.09.003.

- Tanasupawat, S., Sukontasing, S., Lee, J.S. (2008). Enterococcus thailandicus sp. nov., isolated from fermented sausage ("mum") in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58(7): 1630-1634, doi: 10.1099/ijms.0.65535-0.
- Tekinşen, K.K. ve Nizamlıoğlu, M. (2003). Maraş Peyniri Üretiminde Baskılama Ağırlığı ve Haşlama Suyu Sıcaklığının Bazı Kalite Niteliklerine Etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*, 27(1): 53-160.
- Toğay, S.Ö., Temiz, A. (2011). Gıda Kaynaklı Enterokokların Gıda ve İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. *GIDA*, 36(5): 303-310.
- Tuncer, Ö.B., Ay, Z., Tuncer, Y. (2013). Occurrence of enterocin genes, virulence factors, and antibiotic resistance in 3 bacteriocin-producer Enterococcus faecium strains isolated from Turkish tulum cheese. *Turk J Biol*, 37: 443-449, doi: 10.3906/biy-1209-26.
- Uraz, G., Coşkun, S., Özer, B. (2008). Microflora and pathogen bacteria (Salmonella, Klebsiella, Yersinia, Pseudomonas, Aeromonas, Escherichia coli, Staphylococcus aureus) in Urfa cheese (a traditional white-brined Turkish cheese). *Pak J Nutr*, 7(5): 635-630, doi: 10.3923/pjn.2008.630.635.
- Yalçın, S., Ardiç, M., Nizamlıoğlu, M. (2007). Urfa Peynirinin Bazı Kalite Nitelikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2(3): 90-95.
- Yetişmeyen, A. ve Yıldız, F. 2003. Urfa Peynirlerinin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması, *GIDA*, 28(3): 287-294.
- Yuvaşen, A., Macit, E., Dertli, E. (2018). Microbial species playing roles for the production of traditional Kasar cheese during pre-maturation period. *LWT*, 91: 406-413, doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.075.

AGLOMERASYON İŞLEMİNİN YOĞURT TOZUNUN NEM SORPSİYON İZOTERMİ VE TERMODİNAMİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

İlyas Atalar*

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

Geliş / *Received*: 06.07.2019; Kabul / *Accepted*: 17.08.2019; Online baskı / *Published online*: 01.09.2019

Atalar, İ. (2019). Aglomerasyon işleminin yoğurt tozunun nem sorpsiyon izotermi ve termodinamik özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (5): 837-848 doi: 10.15237/gida.GD19100

Atalar, İ. (2019). Effect of agglomeration process on the moisture sorption isotherms and thermodynamics properties of yoghurt powder. GIDA (2019) 44 (5): 837-848 doi: 10.15237/gida.GD19100

ÖZ

Bu çalışmada farklı bağlayıcılar kullanarak aglomere edilen yoğurt tozların nem sorpsiyon özellikleri araştırılmıştır. Bu amaçla aglomere olmamış yoğurt tozu ile laktoz ve distile su bağlayıcıları kullanılarak aglomere edilmiş yoğurt tozlarının 4, 20 ve 40 °C sıcaklıklarda nem sorpsiyon izotermi tespit edilmiştir. Denge bağıl nem değerleri Oswin, BET ve GAB modellerine uyarlanmıştır. Aglomere tozların nem çekme özellikleri aglomere olmamış (kontrol) yoğurt tozuna göre farklılıklar göstermiştir. Yoğurt tozlarının yüksek sıcaklıklarda daha az higroskopik olduğu belirlenmiştir. Bağlayıcı olarak higroskopik karakterdeki laktozun kullanılması saf suya kıyasla yüksek su aktivite değerlerinde nem sorpsiyon oranını arttırmıştır. İzosterik ısı, diferansiyel entalpi ve entropi değerleri gibi termodinamik kavramlar kullanılarak sorpsiyon davranışı, nem ve enerji gereksinimleri tespit edilmiştir. Yoğurt tozlarının nem içeriği arttıkça tüm tozlarda izosterik ısı sorpsiyonu değerlerinde azalma gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Akışkan yatak aglomerasyon, yoğurt tozu, bağlayıcı etkisi, nem sorpsiyon izotermi

EFFECT OF AGGLOMERATION PROCESS ON THE MOISTURE SORPTION ISOTHERMS AND THERMODYNAMICS PROPERTIES OF YOGHURT POWDER

ABSTRACT

In this study, the effect of different binders on the sorption behavior of agglomerated yoghurt powders was presented. Moisture sorption isotherms of non-agglomerated yoghurt powder and agglomerated yoghurt powders with lactose and distilled water were determined at 4, 20 and 40 °C temperature levels. Equilibrium moisture contents of powders were fitted to mathematical models such as Oswin, BET and GAB equations. Moisture sorption properties of agglomerated powders were found as different from control yoghurt powder. It was determined that powders are less hygroscopic at higher temperatures. Using lactose binders caused to increase in water sorption values of powders at higher water activity values. Thermodynamic properties such as isosteric heat of sorption, differential entropy, and enthalpy values were assessed to provide knowledge about the properties of water and energy requirement associated with sorption behavior. Isosteric heat values decreased with increasing of moisture content of yoghurt powders.

Keywords: Fluid bed agglomeration, yoghurt powder, binder effect, moisture sorption isotherm

* Yazışmadan sorumlu yazar/*Corresponding author*

✉: ilyasatalar@ibu.edu.tr; atalarilyas@gmail.com

☎: (+90) 374 254 10 00 / 4834

☎: (+90) 374 253 45 58

GİRİŞ

Yoğurt tozu, fermente bir süt ürünü olan yoğurdun çeşitli kurutma yöntemleriyle kurutulup toz forma dönüştürülmesi ile elde edilen bir üründür. Yaygın olarak çeşitli gıda formülasyonlarında (kraker, çips, bazı çorba çeşitleri vb.) kullanılmaktadır. Gıda bileşeni olarak kullanımının yanı sıra, tekrar sulandırma işlemiyle tüketimi de söz konusudur. Püskürtmeli kurutma işlemi instant toz üretimi üzerine tek başına çözüm olamamakta, partiküller arasında yüksek kohezyon kuvvetleri meydana gelmesinden dolayı düşük instant (ıslanabilme, dağılabilmek ve çözünürlük) özelliğine sahip tozlar üretilmektedir. Aglomerasyon (granülasyon) prosesi küçük partiküllerin büyük partiküllere dönüşümü olarak tarif edilmektedir. Islatmalı aglomerasyon teknolojisinin gıdaların çözünme, ıslanma ve batabilme gibi instant özelliklerinin iyileştirilmesinin yanı sıra, yüksek partikül büyüklüğü ve gözenekli morfoloji sağlaması, istenilen yüksek kalitede toz üretimine olanak sağlamaktadır (Atalar ve Yazıcı, 2018a).

Nem sorpsiyon izotermi gıdanın denge nem içeriği ile kendisini çevreleyen ortamın belirli bir sıcaklıktaki bağıl nemi arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır (Kumar ve Mishra, 2006). Denge nem içeriği tozların fiziksel, kimyasal ve mikrobiyel stabilitealarının yanı sıra kurutma, karışım, ambalajlama ve depolama gibi işlem koşullarındaki davranışları hakkında bilgi vermektedir. Gıdaların sorpsiyon izotermi genellikle sigmoid şekilli olup yorumlanmaları zordur. Bu nedenle bu eğrilerin açıklanabilmesi için matematiksel modeller geliştirilmiştir.

Isının sorpsiyonu gıda tozlarının depolanması boyunca önemli bir parametredir. Gıdanın en uygun nem içeriğine sahip olduğu depolama stabilitesine erişmesi için kurutulması gereken son noktayı ifade etmektedir. Aynı zamanda gıdanın belirli miktar suyun uzaklaştırılması için gerekli olan minimum enerji içeriği hakkında da bilgi vermektedir (Tatar vd., 2014). Nem sorpsiyon izotermi en az üç sıcaklık için hesaplandığında net izosterik ısı sorpsiyonu Clausius Clapeyron eşitliği kullanılarak hesaplanabilmektedir. (Edrisi Sormoli ve Langrish, 2015). Su molekülleri katı

gıda maddesi içerisinde bağlı durumdaysa saf suyun entalpisinden düşük entalpi değerine sahiptir. Dolayısıyla katı içerisindeki nem saf suya oranla daha yüksek buharlaşma ısısına sahiptir. Katı gıda maddesi içerisindeki suyun buharlaşma ısısı ile saf suyun buharlaşma gizli ısısı arasındaki fark sorpsiyonun net izosterik ısısı ya da ıslanma entalpi olarak adlandırılmaktadır. Sorpsiyonun net izosterik ısısını bilerek ürünü belirli bir nem içeriğine kurutmak için gerekli entalpi hesaplanabilmektedir (Basu vd., 2006).

Çalışmanın amacı aglomerasyon işleminin ve aglomerasyon aşamasında kullanılan bağlayıcıların yoğurt tozunun nem sorpsiyon izotermi ve izosterik ısısı üzerine etkisini belirlemektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmanın ana materyali olan yoğurt tozu (%34 protein, %1 yağ, %55 karbonhidrat ve %4.5 kül) süt firmasından (Akova Gıda, Konya) hazır olarak temin edilmiştir. Bağlayıcı olarak kullanılan laktoz ve sorpsiyon analizlerinde kullanılan tuzlar Sigma (St. Louis, MO, ABD)'dan satın alınmıştır.

Aglomerasyon İşlemi

Yoğurt tozunun aglomerasyon işlemi için laboratuvar ölçekli akışkan yatak sistemi kullanılmıştır (Mini Glatt, Almanya). Aglomerasyonda her bir denemede 150 g yoğurt tozu kullanılmıştır. Bağlayıcı çözeltisi peristatik pompa vasıtasıyla sisteme gönderilerek püskürtme hızı dakikada 2.11 mL/dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Sisteme giren hava hızı tozların sistem içerisinde yeterli akışkanlıklarının sağlanabilmesi amacıyla 8-9 m³/h aralıklarında sabit tutulmuştur. Aglomerasyon işlemi bittikten sonra tozların mono-model partikül dağılımı gösterebilmeleri amacıyla eleklerden geçirilerek eleme işlemi gerçekleştirilecektir. Aglomerasyon işlem koşulları olarak 62 °C hava giriş sıcaklığı, 0.9 bar atomizasyon basıncı ve 68 g bağlayıcı miktarı kullanılmıştır (Atalar ve Yazıcı, 2018b).

Sorpsiyon İzotermi

Nem sorpsiyon izotermi gravimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Yoğurt tozu örnekleri kurutulduktan sonra 0.5±0.1 g yoğurt tozu olacak

şekilde plastik kaplar içerisine tartılarak farklı su aktivitesindeki kavanozlar içerisine yerleştirilmiştir. Çizelge 1'deki tuzların aşırı doymuş çözeltileri hazırlanarak farklı nem ortamları sağlanmıştır. (Kurt ve Kahyaoglu, 2014;

Sarıcaoğlu ve Turhan, 2017). Örnekler 10, 25 ve 40 ±1°C sıcaklıklarda denge neme ulaşmaları için etüvlerde bekletilmiştir. Örnekler 1mg/1g değişim seviyesinin altına düşene kadar (2- 3 hafta) her iki günde bir düzenli olarak tartılmıştır.

Çizelge 1. Üç farklı sıcaklıkta doymuş tuz çözeltilerinin su aktivitesi değerleri
Table 1. Water activity values of saturated salt solutions at three different temperature

Tuz	Sıcaklık		
	10 °C	25 °C	40 °C
NaOH	–	0.0824	0.0692
KAc	0.2338	0.2251	0.2116
MgCl ₂	0.3347	0.3278	0.3205
K ₂ CO ₃	0.4314	0.4316	0.4317
Mg ₂ NO ₃	0.5736	0.5289	0.4991
KI	0.7211	0.6886	0.6696
NaCl	0.7567	0.7529	0.7487
KCl	0.8677	0.8434	0.8295
KNO ₃	0.9596	0.9358	0.9079

Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüleri (SEM) ve Partikül Boyutu Analizi

Yoğurt tozlarına ait SEM görüntüleri taramalı elektron mikroskopu (JSM-7001F, JEOL, Japonya) kullanarak çekilmiştir. Örnekler görüntüleme işleminden önce altın-paladyum (Quorum SC7620, İngiltere) ile kaplanmıştır. Taramalı elektron işlemi 5Kv'da 100x büyütme koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Partikül boyutu analizi ise kuru besleme ünitesine sahip lazer kırınımı prensibine göre partikül analizi cihazında (Mastersizer 3000; Malver Instruments Ltd., Worcestshire, İngiltere) tespit edilmiştir. Sauter çapı (alan-bazlı çap) (D[3,2]) ve d₅₀ (partiküllerin %50'sinin belirlenen değerden

düşük çapı olduğunu belirtmektedir) parametreleri değerlendirme kriteri olarak seçilmiştir.

Matematiksel Modeller

Yoğurt tozlarına ait nem sorpsiyon izotermi denge nem içeriklerinin ortam su aktivitesine karşı grafiklerinin çizilmesi ile elde edilmiştir. Çizelge 2'de gösterilen 3 farklı model Oswin (1946), Brunauer vd. (1938), Guggenheim, Anderson, ve de Boer (GAB) (Van der Berg ve Bruin, 1981) nem sorpsiyon eğrilerine uyarlanmıştır. Model parametreleri değerleri lineer olmayan regresyon analizleri ile Sigma Plot 10.0 yazılımı vasıtasıyla hesaplanmıştır.

Çizelge 2. Yoğurt tozlarının deneysel adsorpsiyon verilerine uygulanan matematiksel modeller
Table 2. Equations describing the sorption equilibrium isotherms of yoghurt powders

Model İsmi	Model
Oswin	$M = a \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^b$
BET	$M = a \left(\frac{m_0 C a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C a_w)} \right)$
GAB	$M = a \left(\frac{m_0 C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)} \right)$

a, b, C, K ve M₀ ve M denklemler katsayıları

İ. Atalar

Adsorpsiyona ait net izosterik ısı ya da differansiyel entalpi q_{st} toplam ısı adsorpsiyonundan su buharı ısısının Q_{st} çıkarılmasıyla hesaplanmıştır. Diferansiyel entalpi Clausiuse Clapeyron eşitliği kullanarak aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\left[\frac{\partial \ln a_w}{\partial \left(\frac{1}{T}\right)} \right] = \frac{Q_{st} - \lambda}{R} = -\frac{q_{st}}{R} \quad (1)$$

Adsorpsiyon izosterik ısı, sabit nem içeriğinde $\ln(a_w)$ değerinin $1/T$ değerine karşı eğimleri belirlenerek tespit edilmiştir. R evrensel gaz sabitidir (8.314 J/mol K).

Q_{st} değeri ise aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$Q_{st} = q_{st} + \lambda \quad (2)$$

λ değeri saf suyun gizli ısısı olup sabit (43.95 kJ/mol) olarak alınmıştır. İzoterik ısı (q_{st}) ve differansiyel entropi (S_d) arasındaki ilişki aşağıdaki denkleme gösterilmiştir (Rao ve Rizvi, 1994).

$$-\partial \ln a_w |m = -\frac{q_{st}}{RT} - \frac{S_d}{R} \quad (3)$$

$\ln(a_w)$ değerini sabit nem içeriğinde $1/T$ değerine karşı bir grafiğe işlediğinde q_{st} değeri eğimden hesaplanmakta $\frac{q_{st}}{RT}$ ve S_d değeri S_d/R katsayısından hesaplanmaktadır. Entalpi-entropi dengelenme teorisine göre q_{st} ve S_d arasında lineer bir ilişki vardır ve aşağıdaki denklemden hesaplanmaktadır (Leffer ve Grunwald 1963).

$$q_{st} = T_\beta \cdot S_d = \Delta G_\beta \quad (4)$$

T_β (K) izokinetik sıcaklık iken ΔG_β (J/mol) T_β sıcaklığındaki serbest enerji olup lineer regresyonla tespit edilmektedir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Mikroskobik Görüntüleme ve Partikül Boyutu

Yoğurt tozlarına ait taramalı mikroskop görüntüleri (100x) Şekil 1'de gösterilmiştir. Şekil 1'dan da görüldüğü gibi aglomere olmamış yoğurt tozlarının küçük partiküllerden oluştuğu ve partiküller arasında bağlanmayı oluşturacak köprü

kuvvetlerinin meydana gelmediği gözlemlenmiştir. Şekil 1b ve 1c, sırasıyla laktoz ve distile su bağlayıcıları kullanılmış yoğurt tozlarına ait görüntülerdir. Aglomerasyon işlemiyle birlikte partiküller arası köprülerin oluştuğu, partikül boyutunun arttığı ve gözenekli yapının meydana geldiği şekillerden anlaşılmaktadır. Aglomerasyon işlemiyle meydana gelmiş yapının toz ürünlerin iyi bir şekilde rekonstitüye olması için gerekli olan yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir (Skanderby vd., 2009).

Yoğurt tozlarına ait partikül boyutu dağılım grafikleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Şekil 2'de görüldüğü üzere tüm örneklerin mono-model dağılımı göstermiştir. Kontrol Yoğurt tozu ile laktoz ve distile su bağlayıcılarına ait ortalama partikül büyüklüğü parametreleri sırasıyla 66.3 ± 1.15 , 183 ± 1.25 ve 173 ± 2.65 μm bulunmuşken Sauter çapları 47.7 ± 0.8 , 139 ± 1.55 ve 132 ± 2.35 μm bulunmuştur.

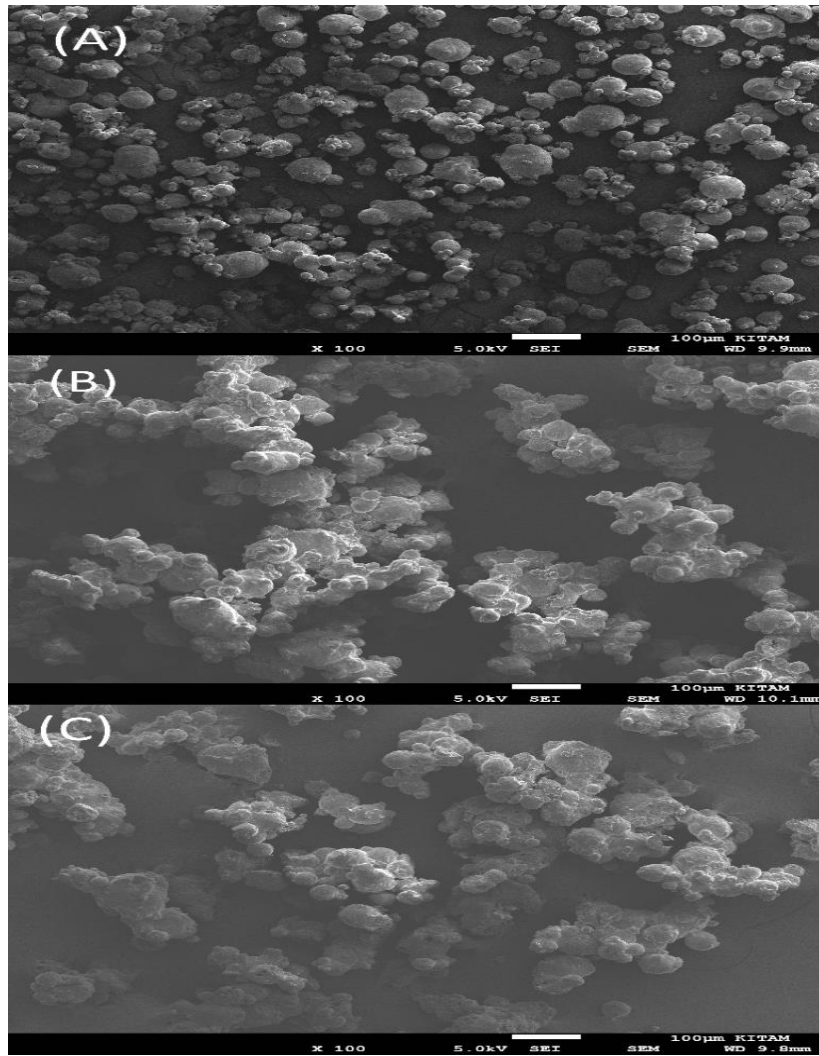
İzotermeler

Kontrol ve aglomere olmuş yoğurt tozlarına ait 10, 20 ve 40°C'deki adsorpsiyon izotermeleri Şekil 3'te gösterilmiştir. İzotermeler sigmoid şekilli olup yoğurt tozları ile ilgili önceki çalışmalarda bezer görünümler tespit edilmiştir (Koç vd., 2010; Seth vd., 2018).

Tüm örneklerde sabit su aktivitesi değerlerinde sıcaklığın azalması ile absorbe olan su oranını arttırdığı tespit edilmiştir. Denge nem içeriğinin azalmasında protein ve karbonhidratların düşük sıcaklıklarda yüksek sıcaklıklara kıyasla daha iyi nem çekmesi temel etkidir (Kaymak-Ertekin ve Gedik, 2004). Yoğurt tozlarının yüksek sıcaklıklarda daha az higroskopik olduğu tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklıklarda su moleküllerinin kinetik enerjilerinin yüksek olduğu ve su adsorpsiyonun düşük olduğu bilinmektedir. Benzer sonuçlar yoğurt tozlarının izotermi ile ilgili çalışmalarda tespit edilmiştir (Koç vd., 2010; Seth vd., 2018). Tüm örneklerin nem adsorpsiyonunda su aktivitesinin 0.5'i geçmesinden sonra belirgin artış tespit edilmiştir. Düşük su aktivite değerlerinde (<0.52), su sadece yüzeyde adsorbe olurken, su aktivite değerleri arttıkça çözünabilir bileşenlerin çözünürlüğü artmakta ve tüm

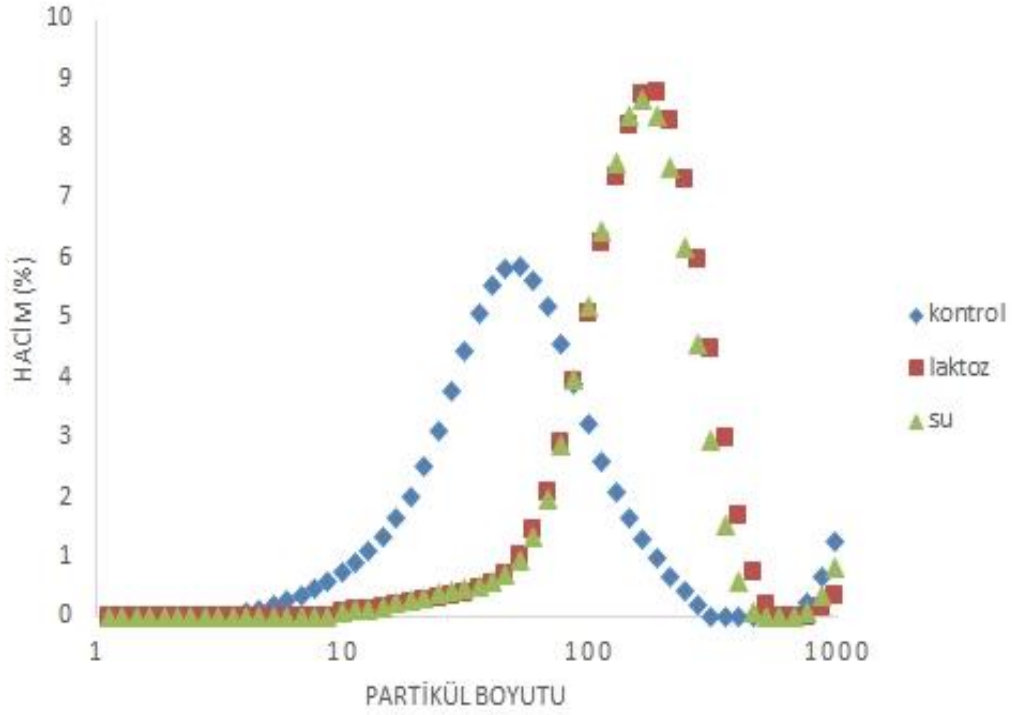
sıcaklıklarda nem içeriğinde artış meydana gelmektedir (Tatar vd., 2014). Su aktivitesinin 0.52 değerinin altında kontrol örneğinin adsorpladığı nem miktarı aglomere olmuş örneklerle kıyasla belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu durum düşük su aktivitesi değerlerinde suyun sadece yüzeyde adsorplanmasına bağlı olarak düşük partikül büyüklüğü gösteren kontrol örneğinde yüzey alanının fazla olması adsorplanan nem içeriğini artırmıştır. Su aktivitesinin 0.52 değerini aşmasıyla aglomere tozlar ile aglomere olmamış kontrol örneğinin nem adsorplama

değerleri birbirine yaklaşmıştır. Aglomere yoğurt tozlarında laktoz bağlayıcısının kullanılması saf suya kıyasla yüksek su aktivite değerlerinde nem adsorplama oranını arttırmıştır. Bu durumun laktozun higroskopik özellik göstermesinden dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir. Nem adsorpsiyonu için sıcaklığın etkisinin yanı sıra kimyasal kompozisyonun da önemli olduğu bilinmektedir (Tatar vd., 2014). Bu bağlamda higroskopik bağlayıcılar kullanılarak üretilmiş toz örneklerin daha düşük su aktivitele muhafaza edilmeleri gerekmektedir.



Şekil 1. Kontrol yoğurt tozu (a), laktoz bağlayıcısı kullanılarak aglomere edilmiş yoğurt tozu (b) ve distile su bağlayıcısı kullanılarak aglomere edilmiş yoğurt tozuna (c) ait taramalı elektron mikroskop görüntüleri (100x)

Figure 1. Scanning electron photographs of control yoghurt powder (a), agglomerated yoghurt powder with lactose binder (b) and agglomerated yoghurt powder with distilled water(100x)



Şekil 2. Yoğurt tozlarının partikül boyut dağılım grafikleri
 Figure 2. Particle size distribution of yogurt powders

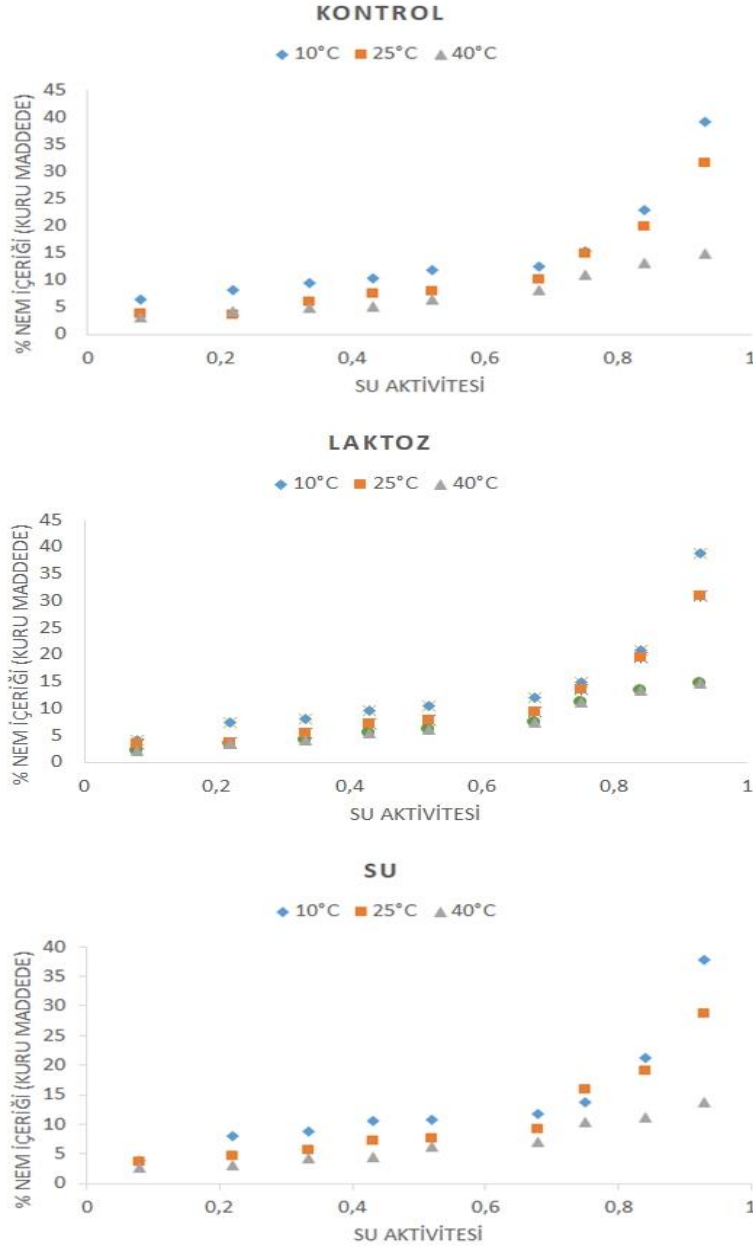
BET, GAB ve Oswin modellerine göre tahminlenen parametreler ile regresyon katsayısı (R^2) ve $RMSE$ (ortalama hata kareleri toplamı kökü) değerleri Çizelge. 3'te gösterilmiştir. Yüksek R^2 ve düşük $RMSE$ değerleri model uygunluğu açısından istenen değerlerdir. Üç model de tüm tozlar için yüksek R^2 ve düşük $RMSE$ değerlerine sahip olduğundan modelleme aşaması için uygun bulunmuştur.

Tek katman formundaki su (M_0) değeri tek tabaka su içeriğini göstermektedir. M_0 değeri bozulma reaksiyonlarının kontrol edilmesinde ve depolama koşullarının tespitinde önem taşımaktadır (Kaya ve Kahyaoglu, 2007). M_0 değeri BET ve GAB denklemleri ile hesaplanmıştır. Bağlayıcı olarak distile su kullanımı 40°C dışındaki sıcaklıklarda laktöz kullanımına göre yüksek M_0 değerine yol açmıştır. Kontrol örneğinin tek katman formundaki su içeriği aglomere olmuş tozlara kıyasla yüksek bulunmuştur. Sıcaklığın artması ile M_0 değerinde azalış meydana gelmiştir. Bu durum yüksek aktivasyon enerjisi teorisi ile

açıklanabilmektedir (Seth vd., 2018). Enerji sabitleri olan C ve K değerleri sıcaklığa bağlı parametrelerdir. Sabit K değeri çoklu tabakadaki moleküller arasındaki interaksyonun ölçüsüdür. K değeri bire eşit olduğunda tekli tabakanın ötesindeki moleküllerin saf suyla aynı özellikte olduğu anlaşılmaktadır (Edrisi Sormoli ve Langrish, 2015). Tüm sıcaklıklarda tozların K değerleri 0.7932 ile 0.9463 arasında değişiklik göstermektedir. Koç vd. (2010) yoğurt tozunun GAB modeline göre belirlenmiş K değerini 0.85-0.91 arasında belirlemiştir. Seth vd. (2018) tatlandırılmış yoğurt tozuna ait K değerlerini 1-1.02 değerleri arasında bulmuştur. K değerleri sıcaklığın artmasıyla tüm tozlarda düşüş göstermiştir. İzoterm sıcaklıklarından 40 °C hariç tüm sıcaklıklarda laktöz bağlayıcısı kullanılan tozların K değerleri diğer tozlara göre az da olsa yüksek bulunmuştur. C sabiti ise ürün yüzeyi üzerindeki bağlanma bölmelerine su moleküllerin bağlanma kuvvetinin ölçüsüdür. Yüksek C değeri tek tabaka içerisindeki su molekülleri arasında güçlü bağ yapılarının bulunduğunu

göstermektedir. C değerleri K değerlerine göre tüm tozlarda yüksek bulunmuştur. C değerinin 1'den çok büyük olması K değerlerinin ise 1'e yakın olması tekli ve çoklu tabaka nem içeriklerinin bağlama kuvvetleri arasında önemli derecede farklılıklar olduğunu ve çoklu tabakanın ısı sorpsiyonunun saf suyun buharlaşma gizli ısı ile aynı olduğu anlamına gelmektedir (Quirijns vd.,

2005). Bu nedenle yüksek nem içeriklerinde yoğurt tozlarından su moleküllerinin buharlaşması için tozların nem içeriğinin tekli tabaka su içeriğine düşene kadar saf suyun buharlaşma ısısı kadar ısı gerektirmektedir. Bu noktadan sonra katı yüzeyinde güçlü bir şekilde bağlanmış su moleküllerinin uzaklaştırılması için fazla enerji kullanılmalıdır.



Şekil 3. Sıcaklığın yoğurt tozlarının su sorpsiyon izotermi üzerine etkisi
Figure 3. Effect of temperature on water adsorption isotherms of yogurt powders

İ. Atalar

Çizelge 3. Yoğurt tozlarının 10, 25 ve 40 °C'deki sorpsiyon izotermelerinin tespiti için tahmini model parametreleri

Table 3. Experimental parameters of fitted models to experimental data for the sorption isotherm of yoghurt powders at 10, 25 and 40 °C

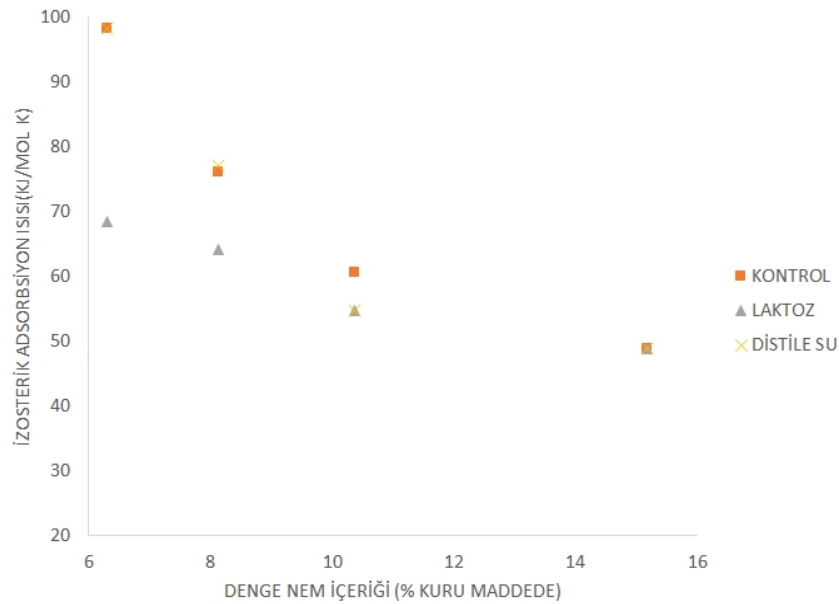
Model	Aw	Parametre	Kontrol			Laktoz			Distile Su		
			10°C	25°C	40°C	10°C	25°C	40°C	10°C	25°C	40°C
Oswin 0.22-0.94		a	10.7704	8.045	6.6768	9.472	7.5399	6.2624	9.7795	8.1255	5.8779
		b	0.479	0.5105	0.3683	0.5281	0.5278	0.4025	0.5033	0.4754	0.3854
		R^2	0.9511	0.9881	0.9698	0.9676	0.9855	0.9574	0.9511	0.9717	0.9556
		RMSE	2.4142	1.0618	0.772	2.0172	1.0817	0.9893	2.387	1.4944	0.8238
BET 0.22-0.53		M_0	5.9247	3.9799	3.1488	5.4931	3.8499	3.2082	5.9531	3.8486	2.8909
		C	875.907	43.4832	420.1835	38.3078	33.5194	20.3194	27.9077	79.767	63.8998
		R^2	0.9478	0.8803	0.9479	0.9292	0.9136	0.9962	0.8759	0.9377	0.883
		RMSE	0.5552	0.8131	0.3039	0.754	0.6776	0.113	1.1405	0.4805	0.5419
GAB 0.22-0.94		M_0	5.0749	4.3344	3.9358	4.5879	4.0419	4.4572	4.71	4.4408	3.5814
		C	56.2407	27.9583	41.0186	-305.77	28.4904	8.8584	-414.11	28.4821	23.9882
		K	0.9333	0.9229	0.8221	0.9463	0.9304	0.7932	0.939	0.9057	0.8234
		R^2	0.9789	0.9919	0.9822	0.9833	0.9918	0.972	0.9622	0.9783	0.9673
		RMSE	1.7262	0.9442	0.6409	1.5632	0.9399	0.8655	2.1297	1.4134	0.8164

a , b , C , K ve M_0 denklem katsayıları. R^2 regresyon katsayısı, RMSE ortalama hata kareleri toplamı kökü.

Termodinamik Özellikler

Su buharı ile adsorbant gıda maddesi arasındaki etkileşimin ölçüsü olan izosterik ısı sorpsiyonu değerleri Q_{st} sıcaklığın etkisinin tespiti açısından önem taşımaktadır. In (am) değerlerine karşı $1/T$ değerleri sabit nem içeriklerinde grafiğe işlenerek bu grafiklerin her bir nem içeriğinde eğimleri

vasıtasıyla net izosterik ısı sorpsiyonu (q_{st}) değerleri elde edilmiştir. Yoğurt tozlarına ait q_{st} değerleri denge nem içeriği değerlerine bağlılık göstermektedir. Kontrol örneği ile laktoz ve distile su ile aglomere olmuş yoğurt tozlarına ait denge nem içeriğindeki izosterik ısı adsopsiyonu değerleri Şekil. 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Sıcaklığın yoğurt tozlarının izosterik ısı sorpsiyonu üzerine etkisi
Figure 4. Effect of temperature on isosteric heat sorption of yoghurt powders

İzoterik ısı sorpsiyonu değerleri %6 ve %8 denge nem içeriğinde laktoz kullanılarak üretilmiş aglomere yoğurt tozlarında diğer tozlara kıyasla düşük bulunmuştur. Denge nem içeriği arttıkça izosterik ısı sorpsiyonu değerleri azalarak birbirine yakınlaşmıştır. Benzer bulgular farklı çalışmalarda rapor edilmiştir (Ayrancı ve Duman, 2005; Seth vd., 2018; Tatar vd., 2014). Bu durum düşük nem içeriklerinde sorpsiyonun hidrofilik grupların üzerinde olduğunu, nem içeriği arttıkça tozun şiştiğini ve su moleküllerinin bağlanabilmesi için yüksek enerjili bölmelerin açıldığını işaret etmektedir. Böylece yüksek nem içeriğinde düşük izosterik ısı sorpsiyonu meydana gelmektedir. İzoterik ısı sorpsiyonuna ait modeller power law modeline uyarlanarak tespit edilmiştir.

$$Q_{st} = 408(EMC)^{-0.793} \quad R^2 = 0.9782 \quad (KONTROL)$$

$$Q_{st} = 423(EMC)^{-0.82} \quad R^2 = 0.9196 \quad (DİSTİLE SU)$$

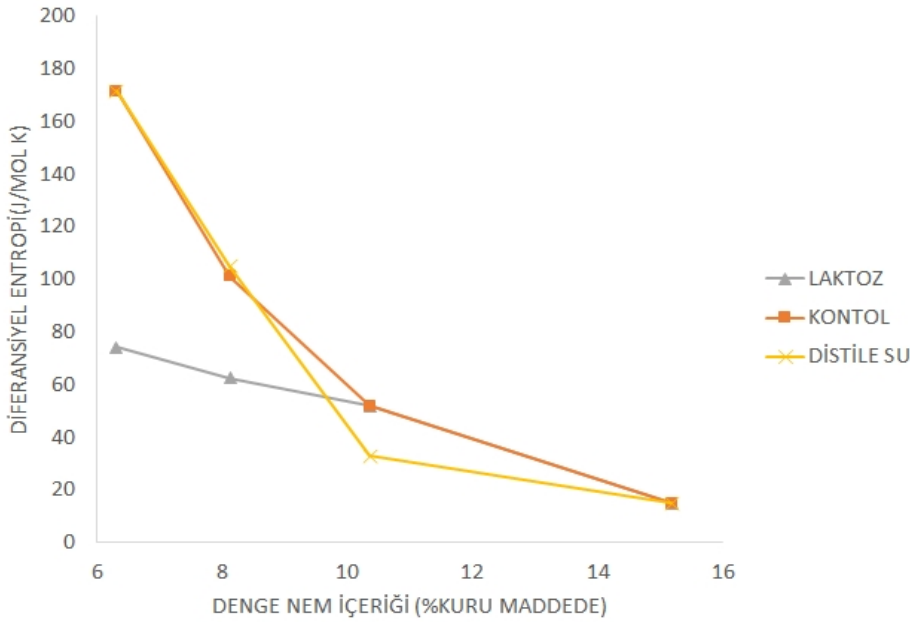
$$Q_{st} = 144(EMC)^{-0.401} \quad R^2 = 0.9705 \quad (LAKTOZ)$$

Kontrol örneği ile aglomere olmuş yoğurt tozlarına ait diferansiyel entropi değişimleri (S_d) Şekil 5'te gösterilmiştir. Değerler benzer şekilde power law modeline uyarlanmıştır.

$$S_d = 32523(EMC)^{-2.794} \quad R^2 = 0.9907 \quad (KONTROL)$$

$$S_d = 37558(EMC)^{-2.905} \quad R^2 = 0.969 \quad (DİSTİLE SU)$$

$$S_d = 2532(EMC)^{-1.805} \quad R^2 = 0.869 \quad (LAKTOZ)$$

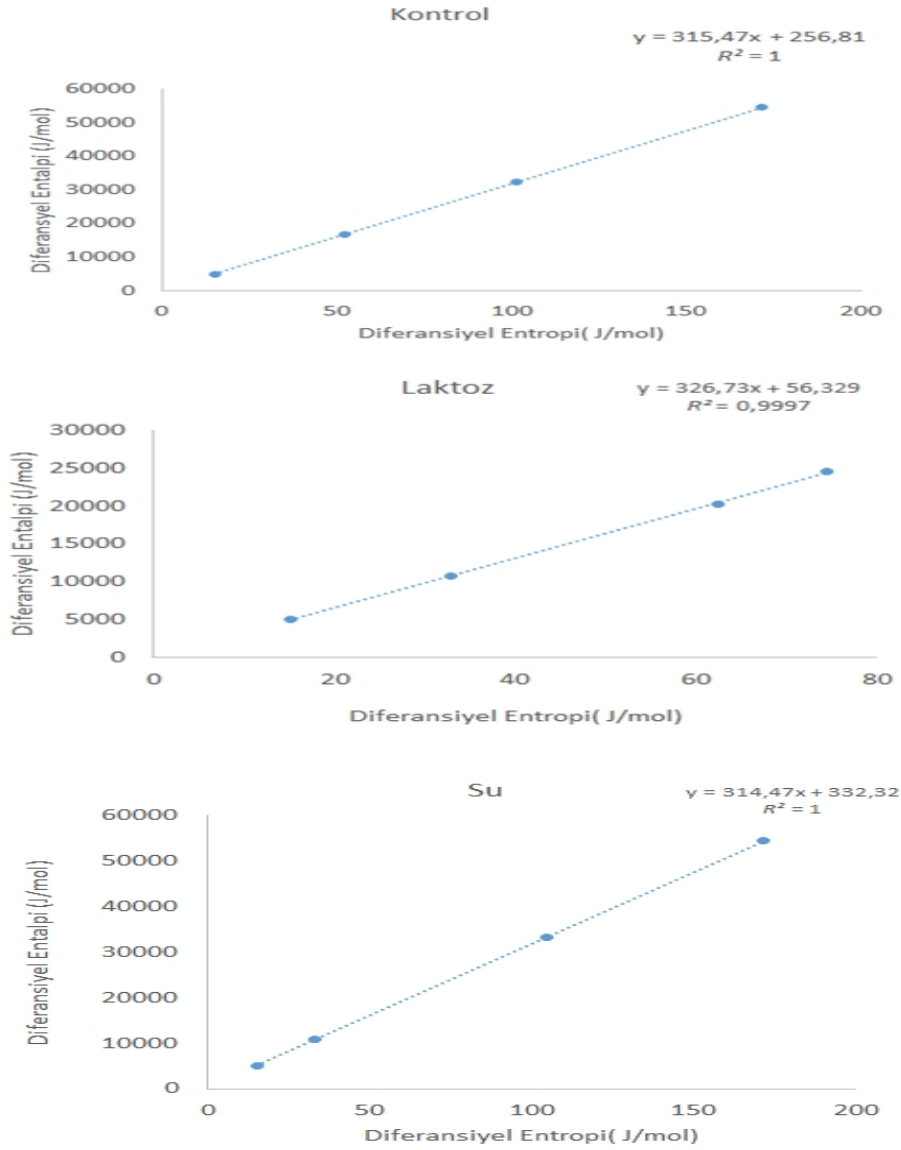


Şekil 5. Yoğurt tozlarına ait sorpsiyonun diferansiyel entropi grafikleri
Figure 5. Differential entropy of sorption of yoghurt powders

Belirli nem içeriklerine ait entalpi-entropi grafikleri lineer regresyon uygulanarak denklem 3'e göre hesaplanmıştır. Şekil 6'da diferansiyel entalpi değerleri ile entropi değerlerinde lineer bir ilişkinin mevcut olduğu elde edilen yüksek regresyon katsayısı ile tespit edilmiştir

Kontrol ile laktoz ve distile su ile aglomere edilmiş yoğurt tozları için regresyon katsayısı sırasıyla $R^2 = 1$, $R^2 = 0.999$ ve $R^2 = 1$ olarak belirlenmiştir.

İzokinetik sıcaklık (T_β) ve serbest enerji (ΔG_β) değerleri Gibbs yasası olarak da bilinen denklem 4'e göre hesaplanmıştır. Kontrol yoğurt tozu ile laktoz ve distile su bağlayıcıları kullanılarak aglomere olmuş yoğurt tozları için T_β değerleri sırasıyla 315.47, 326.73 ve 314.47 K bulunmuşken ΔG_β değerleri 0.256, 0.056 ve 0.332 kJ/mol olarak belirlenmiştir.



Şekil 6. Yoğurt tozlarına ait diferansiyel entropi değerlerine karşı diferansiyel entalpi grafiği

Figure 6. Differential enthalpy values versus differential entropy values of yoghurt powders

İzokinetik sıcaklık değeri (T_{β}) aynı hızda tüm sorpsiyon reaksiyonların meydana geldiği sıcaklık olup maddenin kompozisyonuna göre değişiklik göstermektedir. T_{β} değeri kontrol yoğurt tozu ile laktoz ve distile su ile aglomere edilmiş yoğurt tozları için sırasıyla 315.47, 326.73 ve 314.47 K olarak tespit edilmiştir. Entalpi-entropi dengelenme teorisinin doğruluğu sıcaklık değerlerinin harmonik ortalamalarının ($T_{hm}=296.12K$) kıyaslanmasıyla gerçekleştiril-

miştir. T_{β} değerlerinin T_{hm} değerlerinden büyük olması sorpsiyon mekanizmasının entalpi kontrollü olduğunu göstermektedir (Spada vd., 2013). ΔG_{β} değerleri ise su için sorbent maddenin affinitesini göstermekte olup negatif olması durumunda nem sorpsiyonun kendiliğinden olduğunu, pozitif olması durumunda ise olmadığını göstermektedir (Yogendrarajah vd., 2015). Tüm yoğurt tozu örneklerinde nem çekme işleminin kendiliğinden meydana geldiği ve ΔG_{β}

değerlerinin kontrol ile laktoz ve distile su ile aglomere edilmiş yoğurt tozları için sırasıyla 0.265, 0.056 ve 0.332 (kJ/mol) olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada aglomere olmamış kontrol yoğurt tozu ve laktoz ve distile su bağlayıcıları kullanılarak üretilmiş aglomere yoğurt tozlarına ait 10, 25 ve 40°C sıcaklık derecelerindeki nem sorpsiyon izotermeleri incelenmiştir. Denge nem değerleri sıcaklığın artması ile azalma göstermiştir. Tüm örneklerin nem adsorpsiyonunda su aktivitesinin 0.5'i geçmesinden sonra belirgin artış tespit edilmiştir. Su aktivitesinin 0.52 değerinin altında kontrol örneğinin adsorpladığı nem miktarı, diğer tozlara kıyasla daha fazla yüzey alanının sahip olması nedeniyle adsorplanan nem içeriğini artmasına neden olmuştur. Su aktivitesinin 0.52 değerini aşmasıyla aglomere tozlar ile aglomere olmamış kontrol örneğinin nem adsorplama değerleri birbirine yaklaşmıştır. Laktoz bağlayıcısının kullanılması saf suya göre higroskopik özellik göstermesinden dolayı yüksek su aktivite değerlerinde nem adsorplama oranını arttırmıştır. Yoğurt tozlarının denge nem içeriği değeri arttıkça tüm tozlarda izosterik ısı sorpsiyonu değerlerinde azalma gözlemlenmiştir. Diferansiyel entalpi değerleri ile entropi değerlerinde lineer bir ilişkinin mevcut olduğu tespit edilmiş olup T_{β} değerlerinin T_{hm} değerlerinden büyük olması tüm yoğurt tozu örneklerinde nem çekme işleminin kendiliğinden meydana geldiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

Atalar, I., Yazici, F. (2018a). Effect of different binders on reconstitution behaviors and physical, structural, and morphological properties of fluidized bed agglomerated yoghurt powder. *Dry Technol*, article in press <https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1529038>

Atalar, I., Yazici, F. (2018b). Influence of top spray fluidized bed agglomeration conditions on the reconstitution property and structure modification of skim yoghurt powder. *J Food Process Pres*, 42 (1): 1-10.

Ayranci, E., Duman, O. (2005). Moisture sorption isotherms of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and its protein isolate at 10, 20 and 30°C. *J Food Eng*, 70 (1): 83-91.

Basu, S., Shivhare, U. S., Mujumdar, A. S. (2006). Models for sorption isotherms for foods: A review. *Dry Technol*, 24 (8): 917-930.

Brunauer, S., Emmett, P. H., Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *J Am Chem Soc*, 60: 309-319.

Edrisi Sormoli, M., Langrish, T. A. G. (2015). Moisture sorption isotherms and net isosteric heat of sorption for spray-dried pure orange juice powder. *LWT - Food Sci Technol*, 62 (1): 875-882.

Kaya, S., Kahyaoglu, T. (2007). Moisture sorption and thermodynamic properties of safflower petals and tarragon. *J Food Eng*, 78 (2): 413-421.

Kaymak-Ertekin, F., Gedik, A. (2004). Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *LWT - Food Sci Technol*, 37 (4): 429-438.

Koç, B., Yilmazer, M. S., Balkir, P., Ertekin, F. K. (2010a). Moisture sorption isotherms and storage stability of spray-dried yogurt powder. *Dry Technol*, 28 (6): 816-822.

Kumar, P., Mishra, H. N. (2006). Moisture sorption characteristics of mango-soy-fortified yogurt powder. *Int J Dairy Technol*, 59 (1): 22-28.

Kurt A, Kahyaoglu T. (2014). Characterization of a new biodegradable edible film made from safflower glucomannan. *Carbohydr Polym*, 104 (0): 50-58.

Leffer, J. E., Grunwald, E. (1963). Rates and equilibria of organic reactions. New York: John Wiley.

Oswin, C. R. (1946). The kinetics of package life, III. Isotherm. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 65:419-421.

Quirijns, E. J., Van Boxtel, A. J. B., Van Loon, W. K. P., Van Straten, G. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *J Sci Food Agric*, 85 (11): 1805-1814.

- Rao MA, Rizvi SSH (1994) Engineering properties of foods, 2nd edn. Marcel Dekker Inc, New York
- Saricaoglu, F. T., Turhan, S. (2017). Functional and Film-forming Properties of Mechanically Deboned Chicken Meat Proteins. *Int J Food Eng*, 13 (11): 1-16.
- Seth, D., Dash, K. K., Mishra, H. N., Deka, S. C. (2018). Thermodynamics of sorption isotherms and storage stability of spray dried sweetened yoghurt powder. *J Food Sci Technol*, 55 (10): 4139-4147.
- Skanderby, M.; Westergaard, V.; Partridge, A.; Muir, D. D. (2009). Dried Milk Products. In Dairy Powders and Concentrated Products; Tamime, AY., Ed.; Wiley- Blackwell: New York, pp 180-234.
- Spada, J. C., Noreña, C. P. Z., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C. (2013). Water adsorption isotherms of microcapsules with hydrolyzed pinhão (Araucaria angustifolia seeds) starch as wall material. *J Food Eng*, 114 (1): 64-69.
- Tatar, F., Cengiz, A., Kahyaoglu, T. (2014). Effect of Hemicellulose as a Coating Material on Water Sorption Thermodynamics of the Microencapsulated Fish Oil and Artificial Neural Network (ANN) Modeling of Isotherms. *Food Bioprocess Tech*, 7 (10): 2793-2802.
- Van den Berg, C., Bruin, S. (1981). Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects (In Water activity: influences on food quality). New York: Academic Press.
- Yogendrarajah P, Samapundo S, Devlieghere F, de Saeger S, de Meulenaer B (2015). Moisture sorption isotherms and thermo- dynamic properties of whole black peppercorns (*Piper nigrum* L.). *LWT - Food Sci Technol*, 64:177-188.



EZİNE ESKİ KAŞAR PEYNİRİNİN KARAKTERİSTİK BAZI ÖZELLİKLERİ

Muhammed Ali Doğan, Yonca Karagül Yüceer*

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

Geliş / *Received*: 05.03.2019; Kabul / *Accepted*: 24.06.2019; Online baskı / *Published online*: 04.09.2019

Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. (2019). Ezine eski kaşar peynirinin karakteristik bazı özellikleri. *GIDA* (2019) 44 (5): 849-860 doi: 10.15237/gida.GD19052

Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. (2019). Some characteristic properties of Ezine aged kasar cheese. GIDA (2019) 44 (5): 849-860 doi: 10.15237/gida.GD19052

ÖZ

Çalışmada, Ezine ve Bayramiç ilçelerinde bulunan mandıralarda üretilen Ezine eski kaşar peynirlerinin bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Peynirlerin genel bileşiminin farklı olduğu, renk ölçümleri ve toplam serbest aminoasit, hidrolitik ransidite ve olgunlaşma düzeyleri arasında da farklılıklar olduğu görülmüştür. Özellikle, peynirlerin sertlik ve sakızimsılık ölçümleri arasında geniş varyasyon olduğu saptanmıştır. Peynirlerde belirlenen karakteristik bazı duyuşal terimleri pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı, sülfür, ransit, tuzlu ve umamidir. Uçucu bileşen kompozisyonunun belirlenmesi için altı peynir örneği seçilmiştir. Aldehitler, ketonlar, alkoller, asitler ve esterler analiz edilen peynirlerde belirlenen yaygın uçucu bileşenlerdir.

Anahtar kelimeler: Ezine eski kaşar peyniri, fiziksel ve kimyasal özellikler, uçucu bileşen, duyuşal.

SOME CHARACTERISTIC PROPERTIES OF EZINE AGED KASAR CHEESE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine some physical, chemical and sensory properties of Ezine aged Kasar cheeses produced in cheese plants located in Ezine and Bayramiç towns of Çanakkale. It was determined that general composition of the cheeses were different and differences were seen in color measurements and total free amino acids, hydrolytic rancidity and ripening levels of the cheeses. Specifically, wide variation was detected in hardness and gumminess measurements of the cheeses. Cooked, whey, creamy, sulfur, rancid, salty and umami were some characteristic sensory terms determined in the cheeses. Six cheese samples were selected for determination of volatile compound composition. Aldehydes, ketones, alcohols, acids and esters were the common volatile compounds in the cheeses analyzed. Some terpenes including pinene and limonene were also found in the cheeses.

Keywords: Ezine aged kasar cheese, physical and chemical properties, volatile compound, sensory.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ yoncayuceer@comu.edu.tr,

☎ (+90) 286 218 0018/2272,

☎ (+90) 286 218 0541

GİRİŞ

Eski kaşar peyniri, “üretildikten sonra kendine has özellikleri kazanması için belirli koşullarda en az 90 gün süreyle olgunlaştırılıp piyasaya sürülen peynirdir” şeklinde tanımlanmaktadır (TSE, 1999). Ezine eski kaşar peyniri de bu peynir sınıfına dahil bir peynir olup Çanakkale iline bağlı Ezine, Ayvacık ve Bayramiç ilçelerinin yer aldığı bölgeden toplanan sütün işlenmesi ile üretilmekte ve olgunlaştırıldıktan sonra tüketime sunulmaktadır. Bölgede genellikle Trakya eski kaşarı olarak satışa sunulmaktadır. Peynir yapımında süt karışımı, doğal şirden mayası ve deniz tuzunun dışında herhangi bir katkı maddesi kullanılmamaktadır. Tekerlek halindeki peynirlerin beş tanesi çuvallara yerleştirilerek belirli koşullarda soğuk hava deposunda olgunlaştırılmaktadır.

Ezine eski kaşar peynirinin üretimi için belirtilen coğrafi bölgeden sağlanan süt seperatörden geçirildikten sonra mayalama sıcaklığına (32-36 °C) kadar ısıtılarak tekneye alınır ve mayalanır. Peynir mayası ilave edilmiş sütün yaklaşık 45-60 dakika pıhtılaşması beklenir ve oluşan pıhtı leblebi tanesi büyüklüğünde kırılır. Peyniraltı suyu alındıktan sonra teleme 45-75 dakika baskıda bekletildikten sonra kesilerek asitlik gelişimi için tekneye alınır. Paslanmaz delikli kovalarla haşlama suyuna daldırılarak teleme haşlanır ve elastikiyet kazanması sağlanır. Daha sonra elastik kıvam kazanan peynirler tuz ilave edilerek yoğrulur ve kalıplanır. Kalıplanan peynirler bir gün boyunca kalıplarda bekletilip soğuduktan sonra yaklaşık 15-20 °C olan ön olgunlaştırma odasına alınır ve kalıplardan çıkarılır. İlerleyen günlerde peynir tekerlerinin etrafında küf gelişimi ve kabuk benzeri yapı oluşur. Peynirlerin kenar kısımları yıkanıp küfler temizlendikten sonra çuvallara konarak olgunlaştırılır. Bu çalışmada amaç, bölgede faaliyet gösteren sınırlı sayıdaki işletme tarafından üretilen geleneksel bir peynir çeşidimiz olan Ezine eski kaşar peynirinin karakteristik özelliklerinin ortaya konmasıdır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada farklı süt türleri ve olgunluk düzeylerine sahip toplam 20 Ezine eski kaşar peyniri beş üretici firmadan temin edilmiştir. Bu örneklerden altı tanesi duyu özelliklerine göre

seçilerek uçucu bileşen analizlerinde kullanılmıştır.

Peynirlerin bileşimi ve fizikokimyasal analizler

Peynirlerde % asitlik (Metin, 2006), kurumadde (TS, 1989), yağ (TS, 1978), pH ve tuz (Bradley vd., 1992), kül ve toplam protein (AOAC, 2000) belirlenmiştir. Örneklerde suda çözünür azot oranı (SÇA), Kuchroo ve Fox (1982)’a göre % 12’lik TCA’da çözünen azot miktarı da Polychroniadou vd. (1999) tarafından önerilen yöntemle tespit edilmiştir. % 5 PTA’da çözünen azot miktarı Jarrett vd. (1982) tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. Peynirlerde hidrolitik ransidite titrimetrik metotla (Renner, 1986), toplam serbest aminoasitlik Folkerstma ve Fox (1992) tarafından uygulandığı biçimiyle tespit edilmiştir.

Peynirin renk analizi Minolta Renk Ölçüm cihazı (Bhale vd., 2003), tekstürel özellikleri Tekstür Analizörü (Brookfield CT3, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir.

Uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS 6890 N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır.

Peynirlerde bulunan uçucu bileşenler katı faz mikroekstraksiyon yöntemi (SPME) ile izole edilmiş ve DB-5 (30 m uzunluk×0,32 mm iç çap (i.d.)×0,25 µm film kalınlığı) kolona enjekte edilmiştir (J&W Scientific, Folsom, California, ABD). Analizlerde 2 g peynir 40 mL SPME vialine (Supelco, Bellafonte, ABD) alınıp içine 2 mL saf su, 1 g sodyum klorür ve 5 µL iç standart (1 mL’inde 0.1 µL 2-metil valerik asit ve 0,6 µL 2-metil-3-heptanon bulunmaktadır) ilave edilerek 40 °C’lik su banyosunda (GFL, Model 1103, Burgwedel, Almanya) 20 dakika süreyle bekletilmiştir. Sonra SPME fiber (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex Supelco, Bellafonte, ABD) vialine batırılıp 20 dakika daha 40 °C’lik su banyosunda bekletilmiş ve GC-MS’e enjekte edilmiştir. Taşıyıcı gaz akışı 1.2 mL/dk, fırın programı başlangıç sıcaklığı 40 °C’de 1 dakika olup 4 °C/dk ramp ile 250 °C son sıcaklığa ulaşılmış ve 15 dakika bekletilmiştir. MS şartları

ise; kapiler ara yüz sıcaklığı 280 °C, iyonizasyon enerjisi: 70 eV: kütle aralığı 35-350 amu, tarama hızı 4.45 scan/s'dir. Uçucu bileşenlerin tespitinde National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphaneleri kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin miktar belirlenmesi ise oransal bolluklarına göre (Avsar vd., 2004) belirlenmiştir.

Duyusal analizler

Peynirlerin tanımlayıcı duysal özellikleri, eğitilmiş ve yaşları 25-50 arasında değişen 6 panelist (4 bayan, 2 erkek) tarafından SpectrumTM yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Meilgaard vd., 1999). Değerlendirecek panelistler peynir ve süt ürünlerinde duysal değerlendirmeler konusunda yaklaşık 50 saat eğitim almışlardır. Eğitim, ölçülendirme çalışmaları ve değerlendirmeler için 15 puanlı skala kullanılmıştır. Peynirler panelistlere 15-20 g'lık porsiyonlar halinde sunulmuş ve panelistlerin ağızını nötürlemesi için ekmek ve su kullanılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Peynirlerin fiziksel, kimyasal ve duysal bazı özelliklerinin ortaya konması, peynirler arasındaki farklılık ve benzerliklerin belirlenebilmesi amacıyla Çok Boyutlu Ölçeklendirme Analizi (Multidimensional Scaling) kullanılmıştır (Kruskal, 1964; Baspinar vd., 2000).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Peynir örneklerinin olgunluk düzeyi, asitlik ve genel bileşimi Çizelge 1 ve 2'de sunulmuştur. Peynirlerden beş tanesi (E1, E4, E5, E6, E7) inek sütü kullanılarak üretilmiş olup diğer peynirlerin üretiminde koyun, keçi ve inek sütleri birlikte kullanılmıştır. Peynirlerin olgunluk düzeyi ise 4 ve 20 ay arasında değişmektedir (Çizelge 1 ve Çizelge 2). Peynirlerin titrasyon asitliği % 0.67-1.21, pH değerleri 5.14-5.79, kül % 3.84-5.48, kurumadde % 54.27-64.66, tuz % 2.10-4.10, protein % 23.99-29.24, yağ % 23.11-28.96 arasında değişmektedir. En yüksek pH değeri 5.79 ile E11 numaralı peynir, en düşük pH değeri ise 5.14 ile E6 numaralı peynirde olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma aşamasında belirli bir dönemden sonra meydana gelen amonyak, karbonil bileşikler vb. bazı bileşikler sebebiyle (McSweeney vd., 1993; Yüzbaşı, 1996) veya organik asitlerin

metabolizması ve aminoasitlerin deaminasyonu sonucunda pH'nın değişim gösterdiği bildirilmektedir (Madkor vd., 1987). Peynirlerde en yüksek titrasyon asitliği ölçümünün % 1.21 ile E9 numaralı peynirde, en düşük asitliğin % 0.67 ile E7 numaralı peynirde olduğu saptanmıştır. Olgunlaşma süresi uzun olan peynirlerde titrasyon asitliğinin genel olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, E4 ve E9 numaralı peynirlerin olgunlaşma süreleri uzun olup titrasyon asitlikleri de yüksek bulunmuştur (Çizelge 1).

Ezine eski kaşar peynirlerinde kurumadde içeriği % 54.27-64.66, yağ içeriği de % 23.11-28.96 arasında değişmektedir (Çizelge 1). Kurumadde oranı arttıkça % yağ oranları da genel olarak artış göstermiştir. Kurumadde oranı en düşük peynirlerden olan E10 peyniri en düşük yağ oranına sahiptir. E9, E11 ve E13 peynirleri de hem yüksek kurumadde hem de yüksek yağ oranına sahiptir. Peynirlerde tuz oranı en yüksek olan % 4.10 ile E15 numaralı peynir, en düşük oranda tuz ise % 2.10 ile E10 numaralı peynir olmuştur (Çizelge 1). Olgunlaşma süresi uzun olan peynirlerde tuz oranının genel olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, E2, E9, E11 ve E13 numaralı peynirlerin olgunlaşma süreleri uzun olup tuz oranları da yüksek bulunmuştur. Kül analizleri sonucunda peynirlerde kül oranının % 3.84-5.48 arasında değiştiği belirlenmiştir. Olgun kaşar peynirleri üzerine yapılan diğer çalışmalarda da (Yaşar, 2000; Aydemir, 2010; Doğan, 2010; Kesenkaş vd., 2009) benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Ezine eski kaşar peynirinde protein, azot fraksiyonları ve hidrolitik ransidite değerleri Çizelge 2'de sunulmuştur. Peynirlerde belirlenen SÇA, TCA, PTA ve TSA değerleri olgunlaşma süresince proteoliz düzeyini göstermektedir. Ezine eski kaşar peynirlerinde en yüksek SÇA oranı % 1.02 ile E14 numaralı peynir örneği ve en düşük SÇA oranı % 0.39 ile E1 numaralı peynir örneğine aittir (Çizelge 2). Olgunlaşma süresi uzun olan E13 ve E15 numaralı peynirlerde proteoliz düzeyi de yüksek bulunmuştur. Koca (2002), 90 gün boyunca olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde SÇA değerinin 0.18-0.43 arasında olduğunu belirlemiştir.

Çizelge 1. Ezine eski kaşar peynirlerinde asitlik ve bileşim (n=20) (ortalama±standart hata)
 Table 1. Acidity and composition in Ezine aged kasar cheeses (n=20) (Mean±S.E)

Peynir Cheese	Olgunlaşma/ (ay/month) ve/ and Süt/Milk	pH*	% T. A* T.A %	% K. M D. M %	% Tuz Salt %	% Yağ Fat %	% Kül Ash %
E1	9-İ	5.44	0.86	59.16±0.19	2.51±0.01	28.08±0.37	4.80±0.01
E2	16-K-K-İ	5.40	0.82	60.55±0.29	3.34±0.01	28.83±0.37	4.23±0.00
E3	16-K-K-İ	5.32	0.82	60.66±0.50	3.56±0.01	28.94±0.27	4.76±0.01
E4	20-İ	5.27	0.93	61.32±0.17	3.02±0.00	26.72±0.27	4.88±0.00
E5	20-İ	5.31	0.86	60.22±0.03	2.98±0.01	26.55±0.37	4.74±0.02
E6	20-İ	5.14	0.93	59.86±0.01	2.97±0.01	26.71±0.28	4.43±0.00
E7	9-İ	5.49	0.67	60.22±0.15	2.75±0.01	28.72±0.47	4.50±0.01
E8	16-K-K-İ	5.58	0.68	60.14±0.37	2.74±0.01	26.70±0.26	4.88±0.03
E9	9-K-K-İ	5.56	1.21	64.66±0.55	3.44±0.01	28.63±0.25	5.48±0.02
E10	5-K-K-İ	5.35	1.02	55.46±0.01	2.10±0.00	23.11±0.11	3.93±0.01
E11	9-K-K-İ	5.79	0.89	62.32±0.04	3.41±0.01	28.96±0.22	4.78±0.03
E12	5-K-K-İ	5.32	1.03	55.16±0.21	3.30±0.00	25.23±0.23	4.64±0.00
E13	16-K-K-İ	5.30	0.87	62.09±0.00	3.59±0.00	28.23±0.24	5.38±0.01
E14	5-K-K-İ	5.65	0.95	54.27±0.16	2.85±0.00	24.35±0.11	3.84±0.01
E15	16-K-K-İ	5.21	0.97	61.54±0.09	4.10±0.01	27.09±0.12	5.26±0.01
E16	4-K-K-İ	5.24	1.06	60.06±0.07	3.02±0.00	26.21±0.23	4.20±0.01
E17	4-K-K-İ	5.16	0.94	59.66±0.07	3.12±0.00	26.11±0.12	3.96±0.01
E18	4-K-K-İ	5.17	0.89	59.62±0.30	2.78±0.01	27.83±0.09	4.34±0.02
E19	4-K-K-İ	5.46	1.03	58.56±0.34	3.64±0.00	25.47±0.24	4.66±0.02
E20	4-K-K-İ	5.66	0.99	58.41±0.14	3.01±0.01	28.94±0.23	3.88±0.01
Min.		5.14	0.67	54.27±0.16	2.10±0.00	23.11±0.11	3.84±0.01
Mak./Max		5.79	1.21	64.66±0.55	4.10±0.01	28.96±0.22	5.48±0.02
Ort./Mean		5.39	0.92	59.70±0.18	3.14±0.00	27.07±0.24	4.58±0.01

E: Ezine eski kaşar peyniri. S. E.:Standart hata, K: Koyun sütü, K: Keçi sütü, İ: İnek sütü, T.A: Titrasyon Asitliği, K.M: Kurumadde, Min: Minimum, Mak.: Maksimum, Ort.: Ortalama. *:Standart hata<0.01.

E: Ezine aged kasar cheese, S.E: standard error, K:Sheep, K: Goat, İ: Cow, T.A: Titratable acidity, K.M.: Dry matter, Min.: Minimum, Max.: Maximum, Ort: Mean. *:Standard error<0.01.

Ezine eski kaşar peynirlerinde en yüksek TCA oranının % 0.85 ile E20 numaralı peynirde, en düşük TCA oranı % 0.20 ile E8 numaralı peynirde olduğu saptanmıştır. E11, E14, E19 ve E20 numaralı peynirlerin proteolitik aktivitesi yüksektir. Uzun süre olgunlaşan peynirlerde proteolitik aktivitenin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Say (2008), 90 gün olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde TCA değerini 0.04-0.23 arasında, Yaşar (2007), 90 gün olgunlaştırdığı kaşar peynirinde TCA değerini 0.04-0.14 arasında belirlemiştir.

Ezine eski kaşar peynirlerinde en yüksek PTA oranı % 0.35 ile E20 numaralı peynirde, en düşük PTA oranı % 0.04 ile E1, E2 ve E6 numaralı peynirlerde tespit edilmiştir. E7, E9 ve E11 numaralı peynirlerin proteolitik aktivitelerinin yüksek olduğu saptanmış olup bu peynirlerin olgunluk süreleri de uzundur. Yaşar (2007), 90 gün olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinin PTA değerinin 0.02-0.06 arasında olduğunu belirlemiştir.

Ezine eski kaşar peynirlerinde en yüksek toplam serbest aminoasit değerinin 16.30 mg Leu/ g ile

E9 numaralı peynirde, en düşük toplam serbest aminoasit değerinin ise E15 numaralı peynirde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Bu sonuçlara göre E6, E7 ve E9 numaralı peynirlerde toplam serbest aminoasit değerleri yüksek bulunmuş, bu peynirlerde olgunluk süreleri uzun ve proteoliz düzeylerinin genel olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Say (2008), 90 gün olgunlaştırdığı

kaşar peynirlerinde TSA değerlerinin 6.95-38.95 mg Leu/ g arasında, Yaşar (2007), 90 gün olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinin TSA değerlerinin 0.74-3.57 mg Leu/ g arasında, Temizkan (2012), 90 gün boyunca olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde TSA değerlerinin 0.15-1.54 mg Leu/ g arasında olduğunu tespit etmiştir.

Çizelge 2. Peynirlerin protein, azot fraksiyonları, serbest aminoasit ve hidrolitik ransidite sonuçları (n=20) (ortalama±standart hata)

Table 2. Protein, nitrogen fractions, free amino acids and hydrolytic rancidity results of the cheeses (n=20) (Mean±S.E)

Peynir	% Protein	% SÇA*	% TCA*	% PTA*	ADV	
					TSA (mg Leu/g)	(meq KOH/ 100 g yağ)
E1	24.85±0.16	0.39	0.31	0.04	6.68±0.56	2.89±0.07
E2	26.02±0.20	0.46	0.22	0.04	5.15±0.46	6.55±0.07
E3	25.53±0.20	0.41	0.24	0.05	3.68±0.10	3.59±0.07
E4	28.38±0.28	0.53	0.42	0.11	8.47±0.66	6.76±0.07
E5	27.60±0.17	0.45	0.36	0.13	9.09±0.17	6.34±0.07
E6	27.33±0.23	0.55	0.38	0.04	12.26±0.29	5.60±0.03
E7	25.57±0.16	0.61	0.42	0.16	12.71±0.21	4.54±0.03
E8	26.92±0.06	0.48	0.20	0.09	3.10±0.31	3.45±0.07
E9	29.24±0.11	0.76	0.49	0.16	16.30±0.94	3.03±0.07
E10	27.20±0.02	0.85	0.53	0.14	15.45±0.46	3.56±0.03
E11	27.26±0.12	0.59	0.56	0.22	9.99±0.42	3.48±0.10
E12	23.99±0.09	0.47	0.45	0.07	6.26±0.35	6.27±0.07
E13	27.00±0.18	0.82	0.25	0.10	2.53±0.01	3.77±0.03
E14	24.83±0.13	1.02	0.64	0.26	8.71±0.23	3.31±0.07
E15	27.98±0.15	0.82	0.28	0.09	2.50±0.04	3.34±0.10
E16	28.30±0.23	0.70	0.38	0.14	4.53±0.40	5.11±0.03
E17	28.42±0.13	0.40	0.33	0.13	3.41±0.18	5.95±0.03
E18	26.18±0.07	0.88	0.31	0.15	3.10±0.00	3.87±0.07
E19	27.04±0.13	0.93	0.65	0.05	6.76±0.17	6.20±0.14
E20	24.22±0.11	1.01	0.85	0.35	13.39±0.34	3.66±0.07
Min.	23.99±0.09	0.39	0.20	0.04	2.50±0.04	2.89±0.07
Mak./Max.	29.24±0.11	1.02	0.85	0.35	16.30±0.94	6.76±0.07
Ort./Mean	26.69±0.15	0.66	0.41	0.13	7.70±0.31	4.56±0.06

E: Ezine eski kaşar peyniri, SÇA: Suda Çözünen Azot, TCA: Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot Oranı, PTA: Fosfotungustik Asitte Çözünen Azot Oranı, TSA: Toplam Serbest Aminoasitlik, ADV: Hidrolitik Ransidite (Acid Degree Value, Min.: Minimum, Mak.: Maksimum, Ort.: Ortalama. *:Standard hata<0.01.

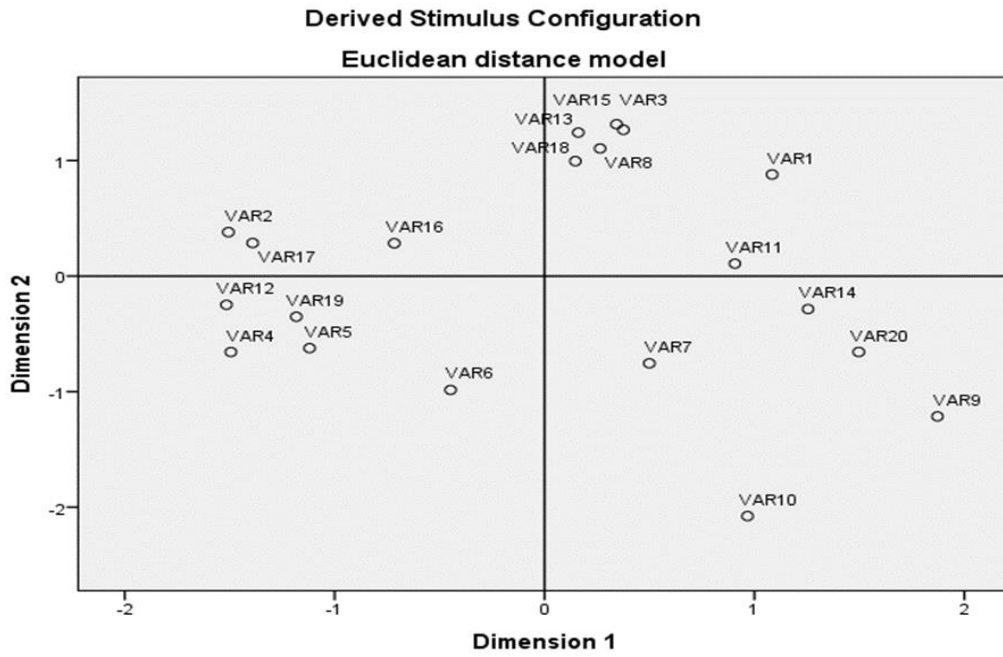
E: Ezine aged kasar cheese, S. E. : Standard error, SÇA: Water soluble nitrogen ratio, TCA: 12 % Trichloroacetic acid-soluble nitrogen ratio, PTA: 5 % Phosphotungustic acid-soluble nitrogen ratio, TSA: Total free amino acid, ADV: Acid degree value, Min.: Minimum, Max.: Maximum, Ort.: Mean. *:Standard error<0.01.

Hidrolitik ransidite (ADV) peynirlerdeki süt yağında bulunan serbest yağ asidi miktarını ve lipoliz düzeyini gösteren bir parametredir.

Peynirlerde olgunlaşma süresi uzadıkça lipolitik aktivite artmakta ve hidrolitik ransidite yükselmektedir. Peynirlerde en yüksek hidrolitik

ransidite değeri 6.76 meq KOH/ 100 g yağ ile E4 numaralı peynirde, en düşük hidrolitik ransidite değeri 2.89 meq KOH/ 100 g yağ ile E1 numaralı peynirde tespit edilmiştir. E2, E4, E5, E12 ve E19 peynirlerinde hidrolitik ransidite değerlerinin yüksek olduğu saptanmış olup bu durum lipolitik aktivitenin de yüksek seviyede olduğunun göstergesidir. Kesenkaş vd., (2009), bitkisel yağ ekleyip 3 ay boyunca olgunlaştırdıkları kaşar

peynirinde hidrolitik ransidite değerinin 1.19-2.22 meq KOH/ 100 g yağ arasında, Ürkek (2008), 3 farklı homojenizasyon basıncı kullanarak üretilen 90 gün olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde hidrolitik ransidite değerinin 0.74-5.33 meq KOH/ 100 g yağ arasında olduğunu saptamıştır. Şekil 1'de Ezine eski kaşar peynirlerinin kimyasal analiz sonuçlarına göre geometrik dağılımı görülmektedir.



Şekil 1. Ezine eski kaşar peynirlerinin kimyasal analiz sonuçlarına göre geometrik dağılımı. VAR: Her bir peynir örneğini temsil etmektedir.

Figure 1. Geometric distribution of Ezine aged kasar cheese based on the results of chemical analysis. VAR: represents each cheese.

Peynirlerde kimyasal analiz sonuçları bakımından E3, E8, E13, E15 ve E18 peynirleri aynı bölgede toplanmış olup geometrik olarak çok yakın dağılım göstermektedirler (Şekil 1). Ancak E1 ve E11 peynirleri diğerlerinde farklı görülmektedir. Özellikle E3 ve E15 peynirlerinin kimyasal analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge 1 ve Çizelge 2) özellikle pH, protein, SÇA, titrasyon asitliği, TCA ve PTA değerleri bakımından birbirine benzerlik göstermektedir. E11 peynirinin farklı oluşu bu peynirin en yüksek pH, TSA, yağ, kül, kurumadde ve protein değerlerine sahip olmasıyla açıklanabilir. E10 peynirin geometrik olarak diğer peynirlerden uzak konumda olması ise

kurumadde oranının, tuz oranının, yağ ve kül içeriğinin düşük olmasına bağlanabilir. Peynirlerin olgunluk durumu, sütlerin karışım oranları, peynirlerin üretim şekli, süt türleri vb. etmenler peynirlerde bu tür farklılıkların oluşmasına neden olabilir.

Ezine eski kaşar peynirinde tekstür profil analizi ve renk analiz sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. Peynirlerde en yüksek sertlik değerinin 4985.12 g ile E17 numaralı peynirde, en düşük sertlik değerinin ise 1921.75 g ile E8 numaralı peynirde, en yüksek sakızimsılık değeri 3990.37 g ile E13 numaralı peynirde, en düşük sakızimsılık değeri

1561.95 g ile E8 numaralı peynirde, en yüksek iç yapışkanlık değeri 0.85 ile E5 numaralı peynirde, en düşük iç yapışkanlık değeri 0.66 ile E20 numaralı peynirde, en yüksek elastikiyet özelliği

2.76 mm ile E14 numaralı peynirde, en düşük elastikiyet özelliği 2.38 mm ile E16 numaralı peynirde belirlenmiştir.

Çizelge 3. Tekstür profil analizi ve renk analiz sonuçları (n=20) (ortalama±standart hata)

Table 3. Texture profile analysis and color analysis results (n=20) (Mean±S.E)

Peynir Cheese	Sertlik (g) Hardness	İç yapış. Adh.	Elas. (mm) Resilience	Sak. (g) Gumminess	L*	b*
E1	3615.62±414	0.74±0.01	2.61±0.04	2709.42±329	77.42±0.68	20.76±0.19
E2	3454.37±462	0.71±0.01	2.54±0.06	2455.50±316	76.72±0.82	21.40±0.12
E3	2612.75±326	0.80±0.01	2.65±0.04	2095.35±253	81.18±0.32	18.08±0.31
E4	4304.37±471	0.84±0.03	2.69±0.10	3651.42±462	77.80±0.40	17.34±0.19
E5	2610.37±464	0.85±0.01	2.75±0.02	2211.17±374	76.44±0.36	18.15±0.44
E6	2922.37±353	0.84±0.01	2.75±0.01	2454.55±302	82.51±0.26	19.08±0.22
E7	2304.75±239	0.78±0.00	2.65±0.01	1817.05±184	80.69±0.13	19.13±0.64
E8	1921.75±178	0.81±0.01	2.63±0.03	1561.95±124	81.57±0.19	21.25±0.49
E9	2948.87±322	0.79±0.01	2.64±0.01	3148.47±334	73.69±0.29	22.33±0.46
E10	3039.62±715	0.80±0.02	2.66±0.06	2404.47±500	78.83±0.28	15.42±0.12
E11	4459.25±135	0.83±0.02	2.69±0.02	3730.72±206	72.56±0.49	24.74±0.19
E12	4163.50±703	0.78±0.01	2.56±0.10	3226.45±524	76.37±1.09	17.07±0.29
E13	4890.62±236	0.81±0.03	2.76±0.01	3990.37±160	83.87±0.58	16.53±0.20
E14	3598.50±373	0.81±0.01	2.68±0.06	2895.62±260	75.93±0.58	14.87±0.25
E15	4509.87±398	0.81±0.04	2.73±0.03	3689.07±474	82.18±0.81	16.92±0.42
E16	3784.37±245	0.75±0.01	2.38±0.18	2859.67±142	81.87±0.29	16.03±0.22
E17	4985.12±186	0.78±0.03	2.70±0.11	3926.07±322	75.93±0.70	18.28±0.51
E18	4297.50±544	0.77±0.01	2.66±0.04	3324.12±416	76.97±0.66	19.25±0.27
E19	3368.12±473	0.77±0.03	2.41±0.14	2579.70±340	80.54±0.69	15.60±0.28
E20	3922.37±593	0.66±0.03	2.60±0.01	2579.32±364	77.11±1.66	14.87±0.17
Min.	1921.75±178	0.66±0.03	2.38±0.18	1561.95±124	72.56±0.49	14.87±0.17
Mak./Max	4985.12±186	0.85±0.01	2.76±0.01	3990.37±160	83.87±0.58	24.74±0.19
Ort./Mean	3585.70±391	0.79±0.01	2.64±0.05	2865.52±319	78.51±0.56	18.36±0.29

E: Ezine eski kaşar peyniri, İç yapış.: İç yapışkanlık, Elas.: Elastikiyet, Sak.: Sakızimsılık, Min.: Minimum, Mak.: Maksimum, Ort.: Ortalama.

E: Ezine aged kasar cheese, Adh.: Adhesiveness, Min.: Minimum, Max.: Maximum, Ort.: Mean.

Peynirlerde sertlik özelliğinin farklı olması nem ve yağ oranı ile ilgilidir (Jack ve Paterson, 1992). Peynirde sakızimsılık özelliği sertlik ile ilişkili olduğundan sertliği etkileyen etmenler sakızimsılık özelliğini de etkilemektedir (Chen vd., 1979). E10 ve E19 numaralı peynirlerde yağ ve kurumadde oranının düşük olması (Çizelge 1) sebebiyle bu peynirlere ait sertlik ve sakızimsılık değerleri de düşük olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Peynirlerde proteinin parçalanması sonucu elastikiyetin azaldığı belirtilmektedir (Hort ve Grys, 2001). Örneğin E9, E14 ve E20 numaralı peynirlerin proteoliz değerlerinin yüksek olması nedeniyle (Çizelge 2), elastikiyet değerlerinin

düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 3). Peynirde yağ oranının artmasıyla iç yapışkanlık değeri azalmaktadır (Jong, 1987). E1, E2 ve E20 numaralı peynirlerde yağ oranının yüksek olması (Çizelge 1) iç yapışkanlık değerlerinin düşük olmasına (Çizelge 3) bağlanabilir. Şalvarcı (2015), 90 gün olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde sertlik, iç yapışkanlık, elastikiyet ve sakızimsılık değerlerini sırasıyla; 4305-6280 g, 0.64-0.72, 0.82-0.84 mm ve 2994-4009 g arasında, Saygılı (2015), 90 gün depoladığı kaşar peynirlerinde sertlik, iç yapışkanlık, elastikiyet ve sakızimsılık değerlerini sırasıyla; 1988-4496 g, 0.54-0.91, 2.89-4.17 mm ve 1073.99-3724.40 g arasında belirlemiştir.

Peynirlerde L^* değeri beyaz rengi ve parlaklığı gösteren bir parametre, a^* değeri kırmızı rengi gösteren parametre, b^* değeri ise sarı rengi gösteren parametredir. Özellikle L^* ve b^* parametreleri peynir kalitesinin belirlenmesinde önemli olan özelliklerdir. Peynirlerin renk analiz sonuçlarına ait veriler Çizelge 3'de sunulmuştur. Ezine eski kaşar peynirlerinde L^* değerleri incelendiğinde en yüksek L^* değerinin 83.87 ile E13 numaralı peynirde, en düşük L^* değerinin ise 72.56 ile E11 numaralı peynirde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Düşük oranda tuz miktarına sahip peynirlerde L^* değeri daha yüksek bulunmuştur (Kaya, 2002). Düşük tuz oranına sahip olan E1, E8 ve E10 numaralı peynirlerde (Çizelge 1) L^* değerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 3). Genel olarak olgunlaşma süresi uzadıkça peynirlerde parlaklığın arttığı görülmüştür. Örneğin, E3, E6, E7, E8 ve E13 numaralı peynirlerin L^* değerlerinin (80.69-83.87) yüksek olduğu saptanmıştır. Ezine eski kaşar peynirlerinin b^* değerlerinin geniş bir dağılım gösterdiği, en yüksek b^* değerinin 24.74 ile E11 numaralı peynirde, en düşük b^* değerinin ise 14.87 ile E14 numaralı peynirde olduğu saptanmıştır. Yalman (2011), 90 gün boyunca olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde L^* değerini 81.86-85.13 arasında, b^* renk değerlerini 14.78-18.34 arasında, Temizkan (2012), 90 gün boyunca olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde L^* değerini 75.26-88.46 arasında, b^* renk değerlerini 13.77-24.20 arasında belirlemiştir.

Peynirlerde 33 uçucu bileşen belirlenmiş olup bunlardan 24 tanesi analiz edilen altı peynir örneğinde de tespit edilmiştir (Çizelge 4). Esterler, aminoasitlerce oluşturulan acı tat ve yağ asitlerince oluşturulan ransit tadı azaltarak peynirin aromasına olumlu katkı sağlamaktadır (Gallois ve Langlois, 1990). E3 ve E20 numaralı peynirlerde ester miktarlarının yüksek olduğu saptanmış olup bu peynirlere ait duyu analizler sonucu tespit edilen ransit tat da düşük bulunmuştur (Çizelge 5). Ezine eski kaşar peynirlerinde tespit edilen ve miktarı yüksek olan esterler; bütanoik asit etil ester ve heksanoik asit etil esterdir.

Ezine eski kaşar peynirinde tespit edilen ve miktarı yüksek olan alkol bileşenleri ise 3-metil-1-bütanol ve 2-pentanoldür. Alkol miktarı en yüksek olan peynirler E6 ve E14'tür. Ercan vd. (2011), sepet peynirinde yaptığı çalışmada 1-hekzanol tespit etmiştir.

Ezine eski kaşar peynirlerinde aldehit olarak sadece 3-metil-bütanal belirlenmiş olup miktarı en yüksek olan peynir E9'dur. E3 ve E6 numaralı peynirlerde keton bileşikler yüksek miktarlarda bulunmuş olup (Çizelge 4) bu peynirlerin olgunlaşma süreleri de uzundur. Ezine eski kaşar peynirlerinde 2-pentanon ve 2-heptanon miktarca en yüksek olan ketonlardır.

Terpenlerin, hayvanların otlatılması ile süte ve oradan peynire geçtiği belirtilmektedir (Viallon vd., 2000). Ezine eski kaşar peynirinde tespit edilen terpenler; limonen, α -pinen olmak üzere iki tanedir. Limonen miktarı en yüksek olan peynir E3, α -pinen miktarı en yüksek peynir E14'tür. Ercan vd. (2011), sepet peynirinde yaptığı çalışmada limonen tespit etmiştir. E6, E14 ve E20 numaralı peynirlerde asit miktarlarının yüksek olduğu (Çizelge 4) saptanmış olup bu peynirlere ait proteoliz seviyesi de yüksek bulunmuştur (Çizelge 2). Ezine eski kaşar peynirlerinde tespit edilen ve miktarı yüksek olan asitler; asetik asit, bütanoik asit ve heksanoik asittir. Yalman (2011) 90 gün depoladığı kaşar peynirlerinde 2-metil-bütanoik asit ve 3-metil-bütanoik asit tespit etmiştir.

Yapılan duyu analizler sonucunda peynirlerde 6 panelist tarafından pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı, sülfür, ransit, tuzlu, ekşi, umami, keskin (bite), buruk, acı aroma ve tat terimleri belirlenmiştir (Çizelge 5). Aromatik terimlerden en fazla yoğunluğa sahip olan aromalar pişmiş, peynir altı suyu, kremamsı, sülfür ve ransittir. Temel tatlardan en yüksek puana sahip olan tat özelliği tuzluluktur. Bunu, ekşi, keskin ve umami tatlar takip etmektedir.

Çizelge 4. Analiz edilen peynir örneklerinde bulunan uçucu bileşenler (n=6)
 Table 4. Volatile compounds found in analyzed cheese samples (n=6)

Uçucu Bileşenler Volatile Compounds	Peynirler (µg/ 100 g) Cheeses (µg/ 100 g)						
	RI	E3	E6	E9	E13	E14	E20
2-Butanon	<600	15.13±1.14	-	-	-	65.00±40.9	-
Asetik asit	600	-	1372.50±109.60	790.50±295	1093±136.9	104.50±82.7	5027.00±3165
3-Metil-bütanal	645	0.66±0.17	-	2.50±0.78	0.50±0.11	-	-
1-Butanol	657	0.58±0.09	1.00±0.04	0.50±0.14	0.50±0.03	1.50±0.01	8.00±0.56
2-Pentanon	685	16.60±1.96	24.00±4.95	2.50±1.06	7.50±1.15	11.00±2.83	16.50±1.39
2-Pentanol	699	5.18±1.26	7.50±1.18	6.00±1.22	4.50±0.90	11.00±2.83	4.00±0.64
Asetoin	705	4.20±1.42	7.50±1.41	4.50±0.63	5.00±0.77	8.50±0.70	4.00±0.11
3-Metil-1-bütanol	728	26.89±7.61	1.41±0.23	4.00±1.07	20.00±2.60	12.50±1.41	15.00±1.59
Toluen	760	1.01±0.32	1.99±0.28	0.50±0.12	1.00±0.11	1.00±0.02	1.50±0.11
Diasetil	777	0.57±0.03	2.70±0.04	0.50±0.16	1.50±0.03	17.50±0.42	3.00±0.31
Bütanoik asit etil ester	801	14.46±1.64	28.12±4.70	20.50±5.97	17.50±2.70	26.00±5.15	29.00±1.37
Bütanoik asit	812	-	2051.05±98.2	653.50±157	773±186	613.50±220	1620.50±620
3-Metil-bütanoik asit	847	1.58±0.92	6.50±1.44	2.50±0.42	3.50±1.70	6.00±1.13	3.00±0.71
2-Metil-bütanoik asit	857	-	6.96±1.88	0.50±0.13	2.00±0.12	3.00±0.31	2.00±0.08
1-Hekzanol	866	-	-	0.50±0.20	1.00±0.11	1.50±0.22	3.00±0.10
2-Heptanon	857	15.44±3.22	26.29±5.24	5.00±0.66	4.00±0.06	7.50±0.84	3.50±0.33
2-Heptanol	900	3.66±0.20	8.19±0.84	5.00±0.72	2.00±0.14	6.00±0.35	3.00±0.31
Oksime metoksi fenil	907	5.42±0.54	4.39±0.55	3.00±0.52	4.50±0.12	3.50±0.35	4.00±0.21
Hekzanoik asit metil ester	923	2.99±0.32	6.05±0.91	1.00±0.31	0.50±0.23	1.00±0.11	2.00±0.08
α-pinen	930	0.58±0.17	0.88±0.14	0.35±0.21	0.30±0.12	16.00±0.28	1.00±0.16
β-pinen	972	1.05±0.07	3.74±0.84	-	2.50±0.54	2.00±0.21	0.50±0.29
Hekzanoik Asit etil ester	999	32.25±2.58	48.68±1.91	27.50±4.04	24.50±0.91	16.50±0.29	32.50±3.80
Hekzanoik asit	1014	-	1845.70±95.50	755.50±204	1181±113.80	1977±830	1112.50±214
D-limonen	1025	2.53±0.98	2.01±0.43	1.50±0.37	1.50±0.32	2.00±0.21	1.00±0.14
Eucalyptol	1027	4.33±0.13	4.04±0.17	3.00±0.79	3.00±0.22	4.00±0.42	2.50±0.03
2-Nonanon	1090	3.96±0.02	8.63±0.53	1.00±0.21	1.50±0.23	3.00±0.22	0.50±0.08
Fenil etil alkol	1109	1.42±0.52	0.83±0.18	0.50±0.04	0.50±0.06	0.50±0.05	0.40±0.10
Oktanoik asit metil ester	1117	1.77±0.12	2.81±0.29	1.50±1.05	1.00±0.02	0.35±0.14	1.50±0.09
Kamfor	1138	0.25±0.02	0.50±0.08	0.15±0.04	0.20±0.03	0.50±0.09	0.35±0.07
Oktanoik asit	1186	1.87±1.44	613.76±113.8	796.50±378	360.00±1.41	1219.50±156	389.50±109
Oktanoik asit etil ester	1197	1.07±0.04	3.89±0.17	2.50±0.63	0.50±0.06	2.00±0.18	2.00±0.24
Dekanoik asit	1372	-	21.17±5.58	217.50±122	9.00±4.47	188.00±27.60	-
Dekanoik asit etil ester	1396	0.30±0.07	0.77±0.21	1.00±0.65	0.25±0.06	0.50±0.18	0.50±0.12

RI: Alıkonma indeksi, -: belirlenemedi.

RI: Retention index, -: not determined.

Çizelge 5. Peynirlerin duyuşal özellikleri (n=20)
 Table 5. Sensory properties of the cheeses (n=20)

Peynir <i>Cheese</i>	Piş. <i>Cooked</i>	PAS <i>Whey</i>	Kre. <i>Creamy</i>	Sül. <i>Sulfur</i>	Ran.	Tuzlu <i>Salty</i>	Ekşi <i>Sour</i>	Umami	Keskin <i>Bite</i>
E1	3.33±0.40	3.33±0.81	4.83±0.40	-	-	6.00±0.00	1.41±0.49	0.25±0.15	-
E2	3.08±0.20	3.58±0.49	4.00±0.00	-	-	6.50±0.54	2.00±0.00	0.33±0.25	-
E3	3.75±1.08	3.16±0.98	4.66±0.81	0.66±0.51	1.41±0.58	7.16±0.40	2.41±0.49	0.91±0.20	0.25±0.15
E4	2.50±0.54	3.66±0.51	3.58±0.91	1.25±0.88	3.41±0.66	9.50±0.83	2.16±0.40	1.75±0.41	1.33±0.51
E5	2.50±0.54	2.00±0.00	4.83±0.75	1.66±1.21	2.66±0.81	7.33±0.51	1.75±0.41	2.16±0.25	2.00±0.00
E6	3.00±0.00	2.83±0.40	4.08±0.66	5.00±0.00	5.00±0.00	9.33±0.51	1.25±0.41	1.91±0.58	3.33±0.40
E7	4.00±0.00	3.83±0.40	4.33±0.51	2.00±0.00	0.66±0.25	7.66±0.51	0.26±0.02	1.08±0.66	-
E8	3.66±1.03	2.66±0.81	4.83±0.40	1.00±0.31	0.41±0.20	6.66±0.51	0.66±0.25	0.46±0.25	-
E9	2.83±0.75	2.16±0.40	3.00±0.63	2.33±0.25	2.33±0.51	10.50±0.54	1.91±0.20	2.50±0.31	0.16±0.08
E10	2.08±0.49	2.00±0.00	3.00±0.00	1.00±0.31	3.66±0.51	7.00±0.00	1.33±0.25	1.83±0.81	2.91±0.20
E11	3.00±0.00	3.16±0.40	3.83±0.40	2.75±0.88	0.91±0.37	7.91±0.49	0.91±0.37	2.25±0.41	0.41±0.37
E12	3.16±0.40	3.33±0.81	2.91±0.66	1.75±0.41	0.88±0.49	8.08±1.11	1.00±0.31	1.25±0.41	0.66±0.25
E13	3.25±0.41	3.66±0.51	3.08±0.49	0.91±0.20	1.08±0.58	9.08±0.20	0.91±0.37	0.83±0.25	0.41±0.20
E14	3.25±0.61	2.75±0.61	2.91±0.66	1.91±0.86	1.91±0.20	8.91±0.66	1.58±0.37	2.25±0.52	1.00±0.44
E15	2.58±0.49	2.66±0.60	3.16±0.40	0.75±0.41	0.91±0.58	10.50±0.54	1.08±0.66	1.08±0.37	0.25±0.00
E16	2.83±0.25	3.08±0.80	2.66±1.21	1.16±0.75	1.33±0.60	6.75±0.88	1.91±0.20	1.83±0.25	1.41±0.58
E17	3.16±0.40	3.16±0.40	2.41±0.73	0.91±0.37	2.33±0.87	6.58±0.66	1.83±0.25	1.55±0.54	0.66±0.40
E18	2.83±0.40	2.83±0.40	2.58±0.66	0.75±0.27	0.88±0.20	6.83±0.75	2.16±0.68	2.16±0.40	2.50±0.63
E19	3.91±0.20	2.75±0.41	2.08±0.66	1.08±0.49	1.00±0.31	8.41±0.91	2.50±0.54	1.33±0.51	2.75±0.41
E20	3.33±0.81	2.58±0.80	2.58±0.49	2.58±0.37	2.75±0.61	7.25±0.41	1.83±0.25	2.91±0.20	4.91±0.20
Min.	2.08±0.49	2.00±0.00	2.08±0.66	-	-	6.00±0.00	0.26±0.02	0.25±0.15	-
Mak./Max	4.00±0.00	3.83±0.40	4.83±0.75	5.00±0.00	5.00±0.00	10.50±0.54	2.50±0.54	2.91±0.20	4.91±0.20
Ort./Mean	3.10±0.45	2.58±0.52	3.47±0.57	1.47±0.40	1.68±0.41	7.90±0.54	1.54±0.34	1.53±0.38	1.25±0.24

E: Ezine eski kaşar peyniri, Piş.: Pişmiş, PAS: Peyniraltı suyu, Kre.: Kremamsı, Sül.: Sülfür, Ran.: Ransit, Min.: Minimum, Mak.: Maksimum, Ort.: Ortalama. -: belirlenemedi.

E: Ezine aged kasar cheese, Piş.: Cooked, PAS: Whey, Kre.: Cream, Sül.: Sulfur, Ran: Rancid, Min.: Minimum, Max.: Maximum, Ort.: Mean. -: not determined

Pişmiş özelliği bakımından en yüksek puan E7 numaralı peynirde, en düşük puan E10 numaralı peynirde, peynir altı suyu özelliği bakımından en yüksek puan 3.83 puan ile E7 numaralı peynirde, en düşük puanı 2 ile E5 ve E10 numaralı peynirde, kremamsı özellik olarak en yüksek puan E5 ve E8 numaralı peynirlerde, tuzluluk özelliği bakımından en yüksek puan 10.5 ile E9 ve E15 numaralı peynirlerde, en düşük puan ise E1 numaralı peynirde belirlenmiştir. Yalman (2011), 90 gün depoladığı kaşar peynirlerinde duyuşal analizler sonucu pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı ve tuzlu terimlerinin değerleri sırasıyla; 2.40-3.21, 0.41-3.31, 2.90-3.12 ve 1.28-1.56 olarak bulmuştur.

SONUÇ

Ezine eski kaşar peyniri üretiminde kullanılan süt türleri ve süt karışım miktarları farklılık gösterebilmektedir. Bu faktörler peynirlerin bileşimi, fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinde de farklılıklara neden olabilmektedir. Ezine eski kaşar peyniri ağırlıklı olarak koyun sütünden üretilmesine rağmen çeşitli oranlarda süt karışımlarından oluşması peynirin kendine özgü karakteristik uçucu bileşen profiline etki etmektedir. Elde edilen bulgular yöresel olarak üretilen Ezine eski kaşar peynirinin bazı karakteristik özelliklerinin ortaya konması ve tanıtılması konusunda temel bilgiler sağlamaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu makale Muhammed Ali DOĞAN'ın "Ezine Eski Kaşar Peynirinin Karakteristik Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi" başlıklı yüksek lisans tezinden (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, YÖK Tez No: 527733) üretilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirilmesinde desteklerini esirgemeyen Ezine eski kaşar peyniri üreticisi firmalara ve duyuşal değerlendirmelerde katkı sağlayan panelistlere teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

AOAC, (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Volume I, II. 17. Edition, Gaithersburg, USA.

Avşar, Y. K., Karagül, Y. Y., Drake, M. A., Singh, T. K., Yoon, Y., Cadwallader, K. R. (2004). Characterization of nutty flavor in Cheddar cheese. *J Dairy Sci*, 87: 1999-2010.

Aydemir, O. (2010). Kars kaşar peynirinin karakterizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye, 128 s.

Baspınar, E., Mendes, M., Camdeviren, H. (2000). Multidimensional scaling analysis and its usage. *Biyoteknoloji (KUKEM)*, 24: 89-98.

Bhale, S., No, H. K., Prinyawiwatkul, W., Farr, A. J., Nadarajah, K., Meyers, S. P. (2003). Chitosan coating improves shelf life of eggs. *J Food Sci*, 68 (7): 2378-2383.

Bradley, Jr. R. L., Arnold, Jr. E., Barbano, D. M., Semerad, R. G., Smith, D. E., Vines, B.K. (1992). Chemical and physical methods. In standard methods for the examination of dairy products, ed: Marshall, R. T., *Am Public Health Assoc*, Washington D.C., 433-531.

Chen, A. H., Larkin, J. W., Clark, C. J., Irwin, W. E. (1979). Textural analysis of cheese. *J Dairy Sci*, 62: 901-907.

Doğan, N. (2010). Erzurum piyasasında satılan kaşar peynirlerinin bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tespiti. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 41 s.

Ercan, D., Korel, F., Yüceer, Y. K., Kınık Ö. (2011). Physicochemical, textural, volatile and

sensory profiles of traditional Sepet cheese. *J Dairy Sci*, 94:4300-4312.

Fırat, N. (2006). Çiğ ve pastörize süttten üretilen kaşar peynirlerinin olgunlaşma süresince bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 76 s.

Folkertsma, B., Fox, P. F. (1992). Use of the Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening. *J Dairy Res*, 59: 217-224.

Gallois, A., Langlois, D. 1990. Volatile compounds of French blue cheeses. *Le Lait*, 70: 89-106.

Hort, J., Grys, G. L. (2001). Developments in the textural and rheological properties of UK Cheddar cheese during ripening. *Int Dairy J*, 11: 475-481.

IDF, (1993). Milk determination of nitrogen content. IDF: 20B, International Dairy Federation, Belgium.

Jack, F. R., Paterson A. (1992). Texture of hard cheeses. *Trend in Food Sci Technol*, 3: 160-164.

Jarrett, W. D., Aston, J. W., Dullely, J. R. (1982). A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust J Dairy Technol*, 37: 55-58.

Jong, L. (1987). The influence of the moisture content on the consistency and protein breakdown of cheese. *Neth Milk Dairy J*, 32: 1-14.

Kaya, S. (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining. *J Food Eng*, 52: 155-159.

Kesenkaş, H., Dinkçi, N., Seçkin, A. K., Kınık, Ö., Gönç, S. (2009). The effect of using a vegetable fat blend on some attributes of kashar cheese. *Grasas Aceites*, 60 (1): 41-47.

Koca, N. (2002). Bazı yağ ikame maddelerinin yağ azaltılmış taze kaşar peynirinin nitelikleri üzerine etkileri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 227 s.

Kruskal, J. B. (1964). Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis, *Psychometrika*, 2: 1-27.

- Kuchroo, C. N., Fox, P. F. (1982). Soluble nitrogen in cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37: 331-335.
- Madkor, S., Fox, P. F., Shalabi, S. I., Metwalli, N. H. (1987). Studies on the ripening of stilton cheese: Proteolysis. *Food Chem*, 25: 13-29.
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Lucey, J. A., Jordan, K. N., Cogan, T. M. (1993). Contribution of the indigenous microflora to the maturation of cheddar cheese, *Int Dairy J*, 3: 613-634.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., Carr, B. T. (1999). *Descriptive analysis techniques*. Sensory Evaluation Techniques. 3. Edition CRC Press, Inc. Boca Raton, FL. 161-170.
- Metin, M., (2006). *Süt Teknolojisi*. E.Ü. Mühendislik Fakültesi, Yayın No:33, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 623 s.
- NIST, (2008). NIST/EPA/NIH Mass spectral library (NIST 08). National Institute of Standards and Technology Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD 20899.
- Omar, M. M., El-Zayat, A. I. (1986). Ripening changes of kashkaval cheese made from Cow's milk. *Food Chem*, 22: 83-94.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., Paschaloudis, N. (1999). Effect of time, temperature and extraction method on trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *Int Dairy J*, 9: 559-568.
- Renner, E. (1986). *Milchpraktikum*. Fachgebiet Milchwissenschaft Justic-Liebing Universität Giessen, 57 p.
- Say, D. (2008). Haşlama suyunun tuz konsantrasyonu ve depolama süresinin kaşar peynirinin özellikleri üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 131 s.
- Saygılı, D. (2015). Mersin uçucu yağı içeren yenilebilir film üretimi ve kaşar peynirinin muhafazasında mikrobiyal inaktivasyona etkisi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 98 s.
- Şalvarcı, M. (2015). Farklı pH değerlerindeki telemelerden farklı üretim yöntemleriyle üretilen kaşar peynirlerinin bazı özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 76 s.
- Temizkan, R. (2012). Kaşar peynirinin bileşim, proteoliz, fonksiyonel ve duyuşal özellikleri üzerine inek, koyun ve keçi sütü kullanımının etkisi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çanakkale, 80 s.
- TS. (1978). Peynirde yağ miktarı tayini. (Van-Gulik Metodu): Türk Standartları Enstitüsü. TS 3046. Ankara.
- TS. (1989). Beyaz peynir standardı, Türk Standartları Enstitüsü. TS 591. Ankara.
- TSE (1999). Kaşar peyniri standardı, Türk Standartları Enstitüsü. TS 3272, Ankara.
- Viallon, C., Martin, B., Verdier, M. I., Pradel, P. G., J. P., Coulon, J. B., Berdague, J. L. (2000). Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat. *Lait*, 80: 635-641.
- Wiley, (2005). Wiley Registry of Mass Spectral Data 7. Edition (Fred. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251, 2005 (CD-ROM).
- Yalman, M. (2011). Kaşar benzeri peynir üretimi: fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 57 s.
- Yaşar, K. (2000). Vakum paketlenmiş kaşar peyniri yapımında uygulanan farklı proseslerinin kaşar peynirinin çeşitli özelliklerine etkisi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekirdağ, 76 s.
- Yaşar, K. (2007). Farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımının ve olgunlaşma süresinin kaşar peynirinin özellikleri üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Adana, 134 s.
- Yüzbaşı, N. (1996). Pastörize edilmiş starter kültür katılmış sütlerden glukono delta lakton (GDL) kullanılarak elde edilen beyaz peynirlerin bazı nitelikleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ankara, 80 s.

PAKETLİ BALLARIN BOTANİK ORJİN TESPİTİ VE MİKROSKOBİK ANALİZLERİ: ETİKET BİLGİLERİ İLE İÇERİK UYUMLULUĞUNUN KARŞILAŞTIRILMASI

**Çiğdem Özenirler^{1,2,*}, Nazlı Mayda¹, Ömür Gençay Çelemlı^{1,2},
Aslı Özkök², Kadriye Sorkun^{1,2}**

¹Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara-Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Arı ve Arı Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Beytepe, Ankara-Türkiye

Geliş / *Received*: 14.03.2019; Kabul / *Accepted*: 18.08.2019; Online baskı / *Published online*: 04.09.2019

Özenirler, Ç., Mayda, N., Gençay Çelemlı, Ö., Özkök, A., Sorkun, K. (2019). Paketli balların botanik orijin tespiti ve mikroskopik analizleri: etiket bilgileri ile içerik uyumluluğunun karşılaştırılması. *GIDA* (2019) 44 (5): 861-865 doi: 10.15237/gida.GD19058

Özenirler, Ç., Mayda, N., Gençay Çelemlı, Ö., Özkök, A., Sorkun, K. (2019). Botanic origin detection and microscopic analysis of packaged honeys: comparison of content with label information. GIDA (2019) 44 (5): 861-865 doi: 10.15237/gida.GD19058

ÖZ

Bal, çiçekli bitkilerin nektarlarından ya da bitki özsuğu ile beslenen böceklerin salgılarından köken alır. İçeriğindeki polen ve bal çiği elementlerinin tanımlanması, balın botanik kökeninin belirlenmesinde kullanılan en önemli araçlardır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre gıda maddesi olarak tüketime sunulacak balların botanik kökeninin standartlar çerçevesinde yapılan analizler ile tespit edilmesi ve paket üzerindeki etiket ile alıcıların bilgilendirilmesi gerekir. Bu çalışmada Türkiye'de satışı sunulmuş paketli balların mikroskopik analizleri gerçekleştirilerek elde edilen sonuçların etiket bilgisi ile uyumluluğunun karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda balların polen kompozisyonları, bal çiği elementleri (BÇE), 10 gram baldaki toplam polen sayısı (TPS-10 g) ve bal çiği elementi sayıları, yüzde nem ve nişasta miktarı incelenmiştir. Sonuç olarak tüm bal örneklerinin nem değerlerinin tebliğde verilen değerlerle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Mikroskopik incelemeler sonucunda 10 balın etikette yer alan botanik orijini ile uyum göstermediği, üç balda %10'dan fazla nişasta bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Piyasa balları, botanik orijin, kalite

BOTANIC ORIGIN DETECTION AND MICROSCOPIC ANALYSIS OF PACKAGED HONEYS: COMPARISON OF CONTENT WITH LABEL INFORMATION

ABSTRACT

Honey originates from the nectars of flowering plants or excretions of plant-sucking insects on plants. The identification of pollen and honeydew elements is the most important tool used to determine the botanical origin. According to the Turkish Food Codex Communiqué on Honey, it's necessary to determine the botanical origin of the honey to inform the buyers with the label on the package. Our aim was to detect the botanic origin and comparison with their label information content compliance of packaged honeys produced in Turkey. In this context, pollen compositions of honeys, the number of honeydew elements, total number of pollen and honeydew elements in 10 grams of honey, percentage of moisture and starch were examined. As a result, moisture values were found suitable. 10 honeys didn't match with the botanical origin declared in the label, and in three honey samples more than 10% starch was found.

Key words: Packed honeys, botanical origin, quality

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding author*

✉ cozenir@hacettepe.edu.tr,

☎ (+90) 0312 297 8055

☎ (+90) 312 299 2028

GİRİŞ

Bal; bitkilerin çiçeklerinde veya diğer canlı kısımlarında bulunan nektaryumlardan salgılanan nektarlardan, ya da bitki özsuğu ile beslenen böceklerin salgılarından köken alır (Anklam, 1998). Karbonhidrat kaynağı olan bu tatlı salgıların bal arılarınca toplanması, arının vücudunda değişik enzimlerle metabolize olması ve petek gözlerine depolanması, suyunun uçurulması ve olgunlaşması ile arıların ve insanoğlunun da besin maddesi olarak kullandığı bal üretimi gerçekleşir (Sorkun, 2008).

Balın sınıflandırılması, arıların balın kökenini oluşturan maddeyi topladıkları kaynak göz önünde bulundurularak yapılır. Bu kapsamda bal, çiçek ve salgı balı olarak iki genel sınıfta incelenir (Moar, 1985). Çiçek balının kökeni nektar, salgı balının kökeni ise bitkilerin canlı kısımlarının salgıları ve/veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki özsuğu emici böceklerin salgıdır (Anonim, 2012).

Balın kaynağını belirlemek için kullanılan geleneksel yöntem, balların mikroskopik olarak değerlendirilmesine dayanır. Buradaki temel prensip balın kökenini dolaylı yoldan tespit etmektir. Balların üretimi sırasında arıların ziyaret ettiği bitkileri belirlemek için bal içindeki polenlerin tanımlanması (Soares vd., 2015) ve salgı kökenli balların mikroskopik analizlerinde bal çiği elementi olarak nitelendirilen spor, hif ve alglerin tespiti ve bu verilerin sayısal olarak değerlendirilmesi söz konusudur (Louveaux vd., 1978). Polen taneleri, çoğunlukla nektarlı bitkilerden, bal arılarının diyetinin amino asit, yağ asidi ve mineral ihtiyacını karşılamak için gerçekleştirilen yiyecek arama davranışları sırasında taşınır (Yang vd., 2013; Avni vd., 2014; Belay vd., 2017).

Balda tespit edilen taksanın polenlerinin yüzdeleri hesaplanarak dominat ($45 \leq x$), sekonder ($16 \leq x \leq 44$), minör ($4 \leq x \leq 15$) ve eser ($3 \leq x$) olmak üzere dört farklı kategoride balların bitki kaynakları kategorize edilir (Pérez-Arquillué vd., 1995). Herhangi bir balın monofloral (tek bir bitkisel kaynaktan köken almış) olarak nitelendirilebilmesi için bahsi geçen bitkiye ait

polenlerin, mikroskopik incelemeler sonucunda, balda dominant halde bulunduğunun tespit edilmesi gerekir (Day vd., 1990). Balın polen içeriğinin belirlenmesi, sahteciliğin tespiti için kullanılmakta olan önemli araçlardandır (Bayram ve Demir 2018).

Mikroskopik incelemeler sonucunda tespit edilen 10 gram baldaki bal çiği elementi (BÇE) sayısı ile toplam polen sayısı (TPS-10 g) oranları da salgı balını kendi içinde kategorize edebilmemize yardımcı olur. BÇE/TPS-10 g oranının 1.5-3.0 değerleri arasında olması balın salgı-çiçek karışık bal olduğunu, 3.0-4.5 değer aralığında olması yoğun çam balı olduğunu gösterirken, bu oran >4.5 şeklinde ifade buluyorsa da çok kaliteli çam balı olarak nitelendirilir (Sorkun, 2008).

Balın paketlenmesi ve etiketlenmesi aşamasında Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği çerçevesinde konulmuş kurallar bulunur. Etiketle balın orijini; salgı veya çiçek balı olduğu, bal ifadesinin yanında aynı punto ile belirtilir. Etiketinde botanik orijini belirtilen ballarda bu özellikleri polen analizi ile belirlenir. Nişasta/polen oranının maksimum 10/100 olması gerekir. Balın ihtiva ettiği nem miktarının en fazla % 20 olması beklenir (Anonim, 2012).

Bu çalışmada hedefimiz paketlenmiş ve hâlihazırda marketlerde satılmakta olan ballardan alınan 29 örneğin mikroskopik analizleri, botanik orijinlerinin tespit edilmesi ve etiket bilgisi ile içerik uyumluluğunun karşılaştırılmasıdır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bal Örnekleri

Araştırmada kullanılan materyal, 2017 yılında marketlerde satılmakta olan ballar arasından alınmıştır. Etiketleri üzerinde yapılan tanımlamalar doğrultusunda, 21 çiçek balı ve 8 salgı balı olmak üzere 29 örnek üzerinde incelemeler yapılmıştır. Çiçek ballarının dört tanesi petekli baldır.

Balın Mikroskopik Analizi

Balın mikroskopik analizi için iki farklı yöntem ile preparasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bunlardan birincisi balda polen analizi, diğeri ise

baldaki toplam polen ya da bal çiği elementi sayısını belirleme analizidir. Polen analizi için hazırlanan preparatlarda nişasta sayımı da yapılmıştır.

Balda polen analizi için preparasyon işlemleri
Sorkun (2008) metodu ile preparasyon yapılmıştır. Bu kapsamda cam baget yardımıyla stok baldan 10 g alınıp deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 20 mL distile su ilave edilmiştir. Balın su içerisinde çözülmesini sağlamak amacıyla tüpler yaklaşık sıcaklığı 45° C'lik su banyosunda 20-25 dakika bekletilmiş ve su banyosundan çıkarılan tüp karıştırıcı yardımı ile karıştırılmıştır. Çözelti 3500 rpm'de 45 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj edilen tüplerin süpernatant kısmı dökülmüştür. İğne ucuna alınan bir miktar (1-2 mm³) bazık fuksinli gliserin-jelatinin dipteki çökeltiyeye bulaştırılmasıyla alınan materyal lam üzerine aktarılmış, bu materyalin ısıtma tablasında 30-40° C'de ısıtılarak erimesi sağlanmıştır. Eriyen kısmın üzerine 18x18 mm'lik lamel kapatılarak ters çevrilip preparatın kuruması sağlanmıştır. Hazırlanan preparat yaklaşık 12 saat bu şekilde bekletildikten sonra incelemeye hazır hale gelmiştir. Polen sayımları, Nikon Eclipse E400 mikroskobu kullanılarak yapılmıştır.

Balların toplam polen sayısının ve bal çiği elementi sayılarının belirlenmesi için preparat hazırlanması

Toplanan bal örneklerinde TPS ve BÇE, Moar (1985) ve Sorkun (2008)'ün bildirdiği metoda göre hazırlanıp ışık mikroskobunda incelenmiştir. Homojen hale getirilmiş stok baldan 10 g alınmış ve deney tüpüne aktarılmıştır. Örneğin üzerine 20 mL distile su ilave edilerek tüp içerisine şahit olarak bir tanesine 9666 adet *Lycopodium* spp. sporu içeren tablet atılmıştır. Tablet erimesini sağlamak amacıyla tüpler 45 C°'lik su banyosunda bekletilmiştir. Tablet eridikten sonra polenlerin ve sporların boyanmasını sağlayan iki damla bazık fuksin ilave edilmiştir. Tüpler 3500 rpm'de 45 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen tüplerin süpernatant kısmı dökülmüştür. Tüpün içerisine 0.1 mL kadar %50'lik gliserin ilave edilerek dipteki çökeltinin gliserin ile homojen bir biçimde karışması sağlanmıştır. Bu karışımdan pipetle 0.01 mL alınarak, 0.09 mL %50'lik gliserin konulmuş

başka bir tüpe aktarılmıştır. Bu tüpteki çözeltiden 0.01 mL alınarak lam üzerine konulmuş ve üzerine lamel kapatılarak mikroskopta incelenmeye hazır hale getirilmiştir.

Hazırlanan preparatlar, Nikon Eclipse E400 marka mikroskopta incelenmiş olup 18x18 mm'lik alan tamamen taranmıştır. Bu alanda bulunan tüm polenler, bal çiği elementleri ve *Lycopodium* spp. sporları sayısal olarak tespit edilmiştir. Sayılan spor ve polenlerden “sayılan polen sayısı x 9666 / sayılan *Lycopodium* sporu” formülü ile TPS bulunmuştur.

Refraktometre ile Nem Tayini

Baldaki nem miktarı, Bogdanov vd. (1997) ve Devillers vd. (2004)'nin uyguladığı metoda göre, taşınabilir refraktometre aracılığı ile tespit edilmiştir. Buna göre, cam baget ile alınan yaklaşık 1 g bal, refraktometrenin cam bölmesine konulmuştur. Nemin miktarı merceklili kısımdan bakılarak % olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Balın polen analizi sonuçlarına göre yapılan sınıflandırma, TPS-10 g, BÇE/TPS-10 g, nem ve nişasta başlıkları altında yapılan değerlendirmeler sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 1'de verilmiştir.

Tüm bal örneklerinin nem değerlerinin %13.5 - %18.3 aralığında değerler ile temsil edildiği saptanmış olup, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne uygun oldukları tespit edilmiştir. Mikroskobik incelemeler sonucunda, BÇE/TPS-10 g bulguları doğrultusunda, 19 balın etiket bilgisi ile uyumlu olduğu, 10 balın ise etikette yer alan botanik orijini ile uyum göstermediği bulunmuştur. Dört adet petekli çiçek balı, polen içeriği bakımından karışık çiçek balı olarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu ballardan bir tanesinin etiketinde yer alan “akasya” ibaresi, balın monofloral bir bal olduğunun bilgisini verirken, polen analizi sonuçları balın multifloral kaynaklı olduğunu göstermiştir. 7 adet bal süzme çam balı, bir adet bal ise süzme salğı balı olarak etiketlenmiştir. Toplamda 8 adet olan salğı balından, yalnızca bir tanesinin çam balı kriterlerine uygun olduğu, 5 tanesinin orta yoğun çam ve çiçek balı, 2 tanesinin ise az yoğun çiçek

balı olduğu bulunmuştur. Etiket bilgileri ile ilgili uyumsuzluğun çam ve çiçek ballarının karıştırılarak satılmasından kaynaklandığı düşünölmektedir. 16 adet süzme çiçek balı olarak etiketlenmiş balın 14'ünün karışık çiçek balı, 1 tanesinin yoğun çam balı ve bir diğerinin ise eser bal çiği elementi içeren karışık çiçek balı olduğu

tespit edilmiştir. Bir adet süzme kestane balı etiketli ürünün polen içeriğinin %93'ünün kestane olduğu bulunmuş ve etiket bilgisi ile uyumluluğu onaylanmıştır. Üç balda %10'dan fazla nişasta bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 1. Bal örneklerinin etiket bilgisi, polen analiz sonuçları, TPS-10 g, BÇE/TPS-10 g, nem ve nişasta değerleri

Table 1. Label information of honeys, pollen compositions, total number of pollen in 10 grams of honey (NTP-10 g), the number of honeydew element (NHE)/NTP-10 g, percentage of moisture and percentage of starch in honey

Etiket Bilgisi <i>Label Information</i>	Polen Analizi Sonuçları <i>Pollen Analysis Results</i>	TPS-10 g <i>TPN-10g</i>	BÇE/TPS-10 g <i>HDE/TPN-10 g</i>	Nem (%) <i>Moisture (%)</i>	Nişasta (%) <i>Starch (%)</i>
Petekli Çiçek Balı <i>Comb Flower Honey</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	20642	-	15.9	0
Petekli Çiçek Balı <i>Comb Flower Honey</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	2612	-	15.7	0
Petekli Çiçek Balı <i>Comb Flower Honey</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	1247	-	13.5	0
*Petekli Çiçek Balı (Akasya) <i>Comb Flower Honey (Acacia)</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	6444	-	16.5	80
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	13367	2.8	17.4	5
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Az Yoğun, Çiçek Balı <i>Less Intense, Flower Honey</i>	37137	0.51	17	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Az Yoğun, Çiçek Balı <i>Less Intense, Flower Honey</i>	39113	0.63	16.8	0
Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Yoğun Çam Balı <i>Dense Pine Honey</i>	68540	3	17.4	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	110192	2.8	18.3	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	45913	2.3	17.9	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	19332	1.56	17.1	0
*Süzme Çiçek Balı <i>Drained Flower Honey</i>	Yoğun Çam Balı <i>Dense Pine Honey</i>	9666	3.6	18.1	1

* Etiket bilgileri ile polen analizi sonuçları uyuşmayan bal örnekleri

*Honeys which are not match with the botanical origin declared in the label

TPS-10 g: Toplam polen sayısı, TPN-10 g: Total Pollen Number

BÇE: Bal çiği elementi, HDE: Honeydew Element

Türkiye'nin altı farklı bölgesinde bulunan çeşitli illerdeki büyük ve küçük ölçekli marketlerden toplanan 47 adet süzme bal örneği yapılan bir çalışmada incelenmiştir. Monofloral ballarda yanlış etiketleme tespit edilen çalışmada, 47 adet bal örneğinden, 7 örnekte *Nosema* sp. sporları değişik yoğunluklarda bulunmuştur (Bölükbaşı, 2009).

Yapılan kısıtlı sayıda çalışma, ülkemizde paketli olarak satışa sunulan ballarda etiket bilgileri ve genel içerik durumları ile ilgili olarak tüketicilerde güvensizliğe yol açacak uygulamaların olduğunu göstermektedir. Nektar ya da salgıdan kovana, kovandan sofralara gelinceye kadar yaşanan süreçte geçirilen dönüşüm değerlendirildiğinde, her ne kadar pek çok noktada gıda olarak tüketilen bu ürünün kontrolü yapılıyor olsa da, vardığımız sonuçlar belli düzeylerdeki sıkıntılarının göstergesi olarak sunulmuştur. Balın kaynağı ile ilgili olarak üreticiden alınan sözlü bilgi yerine, polen analizlerinin yapılarak etiketleme işlemlerinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bu çerçevede, balın botanik orijinin belirlenmesi aşamasında daha sıkı denetimlerinin yapılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem*, 63: 549-562.

Anonim (2012). Türk gıda kodeksi. Bal tebliği (2012/58). Tarım ve Orman Bakanlığı. 27 Temmuz 2012 tarih ve 28366 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Avni, D., Hendriksma, H.P., Dag, A., Uni, Z., Shafir, S. (2014). Nutritional aspects of honey bee-collected pollen and constraints on colony development in the eastern Mediterranean. *J Insect Physiol*, 69: 65-73.

Bogdanov, S., Martin, P., & Lüllmann, C. (1997). Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie (France)*.

Bayram, N.E., Demir, E. (2018). Specifying some quality characteristics of monofloral and

multifloral honey samples. *Hacettepe J Biol & Chem*, 46: 417-423.

Belay, A., Haki, G.D., Birringer, M., Borck, H., Addi, A., Baye, K., Melaku, S. (2017). Rheology and botanical origin of Ethiopian monofloral honey. *Lwt-Food Sci Technol*, 75: 393-401.

Bölükbaşı, D.N. (2009). Melissopalynologic analysis of packed honey. *Mellifera*, 9: 2-8.

Day, S., Beyer, R., Mercer, A., Ogden, S. (1990). The nutrient composition of honeybee-collected pollen in Otago, New Zealand. *J Apic Res*, 29: 138-146.

Devillers, J., Morlot, M., Pham-Delegue, M. H., & Dore, J. C. (2004). Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chem*, 86(2): 305-312.

Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59(4): 139-157.

Moar, N. (1985). Pollen analysis of New Zealand honey. *N Z J Agric Res*, 28: 39-70.

Pérez-Arquillué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T., Herrera, A. (1995). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chem*, 54: 167-172.

Soares, S., Amaral, J.S., Oliveira, M.B.P., Mafra, I. (2015). Improving DNA isolation from honey for the botanical origin identification. *Food Control*, 48: 130-136.

Sorkun, K., (2008). *Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları*. Palme Yayınları: 462, Ankara, Türkiye, 341s.

Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., Sun, P. (2013). Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *J Agric Food Chem*, 61: 708-718.



**FERMENTE SUCUKTAN İZOLE EDİLEN MUNDTİSİN KS ÜRETİCİSİ
ENTEROCOCCUS MUNDTII YB6.30 SUŞUNUN TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE
GÜVENLİK DEĞERLENDİRMESİ***

Melike Kasap, Yasin Tuncer**

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 10.06.2019; Kabul / Accepted: 17.08.2019; Online baskı / Published online: 11.09.2019

Kasap, M., Tuncer, Y. (2019). Fermente sucuktan izole edilen mundtisın KS üreticisi *Enterococcus mundtii* YB6.30 suşunun teknolojik özellikleri ve güvenlik değerlendirmesi. GIDA (2019) 44 (5): 866-880 doi: 10.15237/gida.GD19090

Kasap, M., Tuncer, Y. (2019). Technological properties and safety evaluation of mundticin KS producer *Enterococcus mundtii* YB6.30 strain isolated from fermented sucuk. GIDA (2019) 44 (5): 866-880 doi: 10.15237/gida.GD19090

ÖZ

Bu çalışmada, mundtisın KS üreticisi *Enterococcus mundtii* YB6.30 suşunun teknolojik özellikleri ve güvenlik değerlendirmesinin fenotipik ve genotipik yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır. *E. mundtii* YB6.30 suşunun de Man, Rogosa and Sharpe broth ortamında, yapılandırılmış yağsız süt ortamına göre daha hızlı asit üretim özelliği gösterdiği belirlenmiştir. *E. mundtii* YB6.30 suşunun proteolitik aktivite gösterdiği ve nitratı redükte ettiği fakat lipolitik aktivite göstermediği tespit edilmiştir. YB6.30 suşu denemelerde kullanılan antibiyotiklerin tamamına duyarlı bulunmuştur. Fenotipik testler sonucu YB6.30 suşunun hemolitik aktivite ve jelatinaz aktivitesi göstermediği belirlenmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile YB6.30 suşunun virülens faktör içermediği tespit edilmiştir. YB6.30 suşu histidin, lizin ve ornitini dekarboksile edemez iken, tirozinden tiramin ürettiği belirlenmiştir. PZR denemeleri sonucu YB6.30 suşunda yalnız tirozin dekarboksilaz (*tdc*) geni varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları mundtisın KS üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanımının güvenli olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Enterococcus mundtii*, sucuk, mundtisın KS, teknolojik özellikler, güvenlik değerlendirme

**TECHNOLOGICAL PROPERTIES AND SAFETY EVALUATION OF MUNDTICIN
KS PRODUCER *ENTEROCOCCUS MUNDTII* YB6.30 STRAIN ISOLATED FROM
FERMENTED SUCUK**

ABSTRACT

In this study, investigation of technological properties and safety evaluation of mundticin KS producer *Enterococcus mundtii* YB6.30 by phenotypic and genotypic methods were aimed. *E. mundtii* YB6.30 strain has been determined to show a faster acid production properties in de Man, Rogosa and Sharpe broth than reconstituted skim milk. *E. mundtii* YB6.30 strain showed proteolytic activity and reduced nitrate but not showed lipolytic activity. The YB6.30 strain was found to be sensitive to all antibiotics used in this study. As a result of phenotypic tests, YB6.30 strain did not show hemolytic and gelatinase activities. The YB6.30 strain was not found to contain virulence factor genes using polymerase chain reaction (PCR). The YB6.30 strain was found to produce tyramine from tyrosine while it did not decarboxylate histidine, lysine and ornithine. As a result of PCR experiment, only tyrosine decarboxylase gene (*tdc*) was detected in YB6.30 strain. The results of this study showed that mundticin KS producer *E. mundtii* YB6.30 strain was safe to use as a starter culture in the food industry.

Keywords: *Enterococcus mundtii*, sucuk, mundticin KS, technological properties, safety evaluation

* Bu çalışma Melike Kasap'ın yüksek lisans tez çalışmasıdır. Bu çalışmanın bir kısmı International Marmara Science and Social Sciences Congress (IMASCON 2018) Kocaeli/Türkiye'de sözlü sunum olarak sunulmuş ve kongre kitabında bildiri olarak basılmıştır. *This paper is MSc thesis of Melike Kasap. This study was presented as a oral presentation at the International Marmara Science and Social Sciences Congress (IMASCON 2018) Kocaeli/Turkey, and a part of this study was published in the book of proceedings.*

**Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉ yasintuncer@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1713

☎ (+90) 246 237 0437

GİRİŞ

Enterokoklar toprak, yüzey suları, okyanus suyu, kanalizasyon, bitkiler ve insan ve hayvan gastrointestinal kanalının yanı sıra geleneksel yöntemler ile üretilen peynir, sosis vb. fermente gıdalardan sıklıkla izole edilebilen homofermentatif laktik asit bakterileridir (Franz vd., 1999; Giraffa, 2003; Ogier ve Serror, 2008). Laktik asit üretimi, proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, sitrat yıkımı ve nitrat redüktaz aktivitesi enterokokların fermente gıdaların üretiminde starter kültür olarak kullanımlarını esas teşkil eden teknolojik özellikleridir (Sarantinopoulos vd., 2001; Giraffa, 2003; Foulquié Moreno vd., 2006). Ayrıca enterokoklar enterosin olarak isimlendirilen özellikle *Listeria* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bakteriyosinler de üretebilmektedir. Günümüze kadar *E. mundtii* suşları tarafından üretilen sınırlı sayıda bakteriyosin tanımlanmıştır. Mundtisin (Bennik vd., 1998), mundtisin KS (Kawamoto vd., 2002), mundtisin CRL35 (Saavedra vd., 2004), mundtisin QU2 (Zendo vd., 2005) ve mundtisin L (Feng vd., 2009) *E. mundtii* suşları tarafından üretildiği bildirilmiş bakteriyosinlerdir. Mundtisin KS, 43 amino asitten oluşan ve *E. mundtii*, *E. faecium*, *E. faecalis* ve *L. monocytogenes*'e karşı etkili olan bir peptiddir (Kawamoto vd., 2002).

Enterokoklar sahip olduğu teknolojik özelliklerin yanı sıra endokardit, merkezi sinir sistemi, üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi, karın içi ve pelvik enfeksiyonlarına sebep olan hastane kaynaklı (nozokomiyal) patojenler olarak da tanımlanmaktadır (Foulquié Moreno vd., 2006; Reyes vd., 2017). Bu nedenle starter veya probiyotik kültür olarak kullanılacak enterokok suşlarının endüstriyel özelliklerinin yanı sıra güvenlik değerlendirmelerinin de yapılması gerekmektedir (İnoğlu ve Tuncer, 2013). Enterokokların patojenitesi, virülens faktör içermeleri ve çoklu antibiyotik direncine sahip olmalarından ileri gelmektedir. Enterokoklarda tanımlanmış başlıca virülens faktörler agregasyon maddesi, kollojen bağlayan protein, endokarditis spesifik antijeni, enterokokal yüzey proteini, sitolizin, jelatinaz, hiyalüronidaz ve seks feromonlarıdır (Chajęcka-Wierzchowska vd., 2017). Enterokoklar antibiyotiklere karşı hem

doğal (intrinsik) hem de kazanılmış (aktarılabılır) direnç gösterebilmektedir (Klare vd., 2001). Enterokoklar sefalosporinler, aminoglikozidler, klindamisin ve trimetoprim-sülfametoksozole doğal direnç gösterirken, mutasyon veya direnç genlerinin yatay transferi yolu ile yüksek seviyede aminoglikozid, yüksek seviyede ampisilin, vankomisin veya diğer antibiyotiklere direnç kazanabilmektedirler (García-Solache ve Rice, 2019). Çoklu antibiyotik dirence sahip enterokok suşları (iki veya daha fazla antibiyotik sınıfına dirençli) dünya genelinde hastalıkların tedavisinde sayısız sorunlara neden olmaktadır (Shokoohizadeh vd., 2018). Enterokokların tüketici sağlığı açısından risk teşkil eden diğer bir özellikleri biyojen amin üretmeleridir. Biyojen aminler, amino asitlerin mikrobiyal dekarboksilasyonu yolu ile oluşan toksik bileşiklerdir. Fermente gıdalardan izole edilen enterokokların genel olarak tirozini dekarboksile ederek tiramin ürettiği bilinmektedir (İnoğlu ve Tuncer, 2013; Barbieri vd., 2019).

Bu çalışmada fermente sucuktan izole edilmiş mundtisin KS üreticisi *Enterococcus mundtii* YB6.30 suşunun hem teknolojik özellikleri (laktik asit üretimi, proteolitik aktivite, lipolitik aktivite ve nitrat redüktaz aktivitesi) incelenmiş hem de güvenlik değerlendirmesi (antibiyotik direnç, hemolitik aktivite, jelatinaz aktivitesi, virülens faktör genlerinin tespiti, biyojen amin üretimi ve amino asit dekarboksilaz genlerinin tespiti) yapılarak izolatu starter kültür olarak kullanım potansiyeli araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Mikroorganizma

Çalışmada kullanılan mundtisin KS üreticisi *Enterococcus mundtii* YB6.30 suşu Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bakteriye Genetik Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Bakteriyosin üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşu de Man, Rogosa and Sharpe broth (MRS, LAB M, Lancashire, UK) ortamında % 20 (v/v) steril gliserol ilave edilerek -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma kültürü ise gliserol ilave edilmemiş MRS broth ortamında +4 °C'de ve haftalık pasajlama yapılarak muhafaza edilmiştir.

Laktik asit üretimi

E. mundtii YB6.30 suşunun asit üretim yeteneği, yapılandırılmış yağsız süt (RSM, LAB M) (% 11, w/v) ve MRS broth ortamlarında test edilmiştir. RSM ve MRS broth ortamlarına aktif YB6.30 kültüründen % 1 (v/v) oranında ekim yapılmış ve örnekler 30 °C ve 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0., 6. ve 24. saatleri sonunda besiyeri ortamlarından örnek alınarak kültür pH'sı pH metre (WTW 3110, Almanya) yardımıyla ölçülmüştür. Kültürün asit üretim yeteneği başlangıç pH değeri ile inkübasyon sonrası oluşan pH değerleri arasındaki fark (Δ pH) dikkate alınarak hesaplanmıştır (Özkalp vd., 2007).

Proteolitik aktivite

E. mundtii YB6.30 suşunun proteolitik aktivitesi calcium caseinate agar (Fluka 21065, İsviçre) ortamında belirlenmiştir. MRS broth ortamında geliştirilen kültürden mikropipet yardımıyla 10 µL calcium caseinate agar ortamına pipetlenmiş ve petri kutuları 37 °C'de 3 gün inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda koloni etrafında zon oluşumu incelenmiş ve zon çapı ölçülmüştür (Martín vd., 2006).

Lipolitik aktivite

Lipolitik aktivitenin belirlenmesinde spirit blue agar (BD Difco) (Landeta vd., 2013), % 1 tween 80 veya tween 20 ilave edilmiş MRS agar (Essid vd., 2007) ve tributyrin agar olmak üzere 4 farklı besiyeri ortamı kullanılmıştır. Her bir besiyerine aktif YB6.30 kültüründen mikropipet yardımıyla 10 µL kültür inoküle edilmiş ve petri kutuları 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda koloni etrafında opak zon oluşumu incelenmiştir.

Nitrat redüktaz aktivitesi

Nitrat redüktaz aktivitesi % 0.1 (w/v) oranında KNO₃ içeren YT agar ortamında belirlenmiştir (Miralles vd., 1996). YT agar besiyeri ortamına aktif YB6.30 kültüründen mikropipet yardımıyla 10 µL kültür pipetlenmiş ve koloni oluşumu için 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda nitrat reaktifi A (Fluka 38497) ve nitrat reaktifi B (Fluka 39441) eşit hacimde karıştırılarak kolonilerin üstü kapanacak

şekilde petri kutularına aktarılmıştır. Reaktif ilavesini takiben koloni renginin kırmızıya dönmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Denemelerde nitrat redüktaz pozitif *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 suşları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Antibiyotik direnç

E. mundtii YB6.30 suşunun antibiyotik direnç profili Oxoid Ltd. Şti. (İngiltere)'den temin edilen ampicilin (10 µg), penisilin G (10 U), vankomisin (30 µg), teikoplanin (30 µg), eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), doksisisiklin (30 µg), minosiklin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), norfloksasin (10 µg), nitrofurantoin (300 µg), rifampin (5 µg), kloramfenikol (30 µg), quinopristin-dalfopristin (15 µg), linezolid (30 µg), gentamisin (120 µg) ve streptomisin (300 µg) ticari antibiyotik diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Yogurtcu ve Tuncer, 2013). Disk difüzyon testlerinde *E. faecalis* ATCC 29212 suşu kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Standards Institute, CLSI) 2016 kılavuzuna göre değerlendirilmiştir.

Hemolitik aktivite

Hemolitik aktivite % 5 (v/v) koyun kanı içeren Columbia agar (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, İtalya) besiyeri ortamında test edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda (37 °C'de 48 saat) koloni çevresinde berrak zon oluşumu β -, bulanık yeşilimsi zon oluşumu α - ve zon oluşmaması ise γ -hemolitik reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Cariolato vd., 2008). Denemelerde β -hemolitik *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşu kontrol olarak kullanılmıştır.

Jelatinaz aktivitesi

Jelatinaz aktivitesi % 3 (w/v) jelatin (Merck, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiş Todd-Hewitt agar (Liofilchem) besiyeri ortamında test edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda (37 °C'de 24 saat) petri kutusu +4 °C'de 5 saat buzdolabında tutulmuştur. Süre sonunda koloni etrafında bulanık zon oluşumu jelatinaz aktivitesinin pozitif olduğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Eaton ve Gasson, 2001). Denemede jelatinaz

pozitif *E. faecalis* NYE7 suşu kontrol olarak kullanılmıştır (Inoğlu ve Tuncer, 2013).

Genomik DNA izolasyonu

Genomik DNA, MRS broth besiyerlerinde 37 °C'de 18 saat geliştirilen *E. mundtii* YB6.30 kültüründen *Cancilla* vd. (1992) tarafından önerilen yönteme göre izole edilmiştir. Genomik DNA örneği 50 µL Tris-EDTA tampon (pH 8.0) ile çözülmüş ve kullanılmaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA örneğinin agaroz jel elektroforezi % 0.7 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jellerde 65 voltta 1.5 saat süreyle yapılmıştır. Jel 0.2 µg/mL etidyum bromit (Amresco Inc., Solon, OH, ABD) içeren çözeltide boyanmış ve UV transilluminator (Vilber Lourmat, ECX-F20.M, Fransa) üzerinde incelenmiştir. Jel fotoğrafı çekiminde Nikon D5100 dijital fotoğraf makinesi (Nikon Corp., Japonya) kullanılmıştır.

Virülens genlerin tespiti

E. mundtii YB6.30 suşunda jelatinaz (*gelE*), hücre duvarı adhezinleri (*efaA_{fm}*, *efaA_{fs}*), ekstraselüler yüzey proteini (*esp_{fm}*, *esp_{fs}*), seks feromonları (*cpd*, *cob*, *caf*, *cad*), kollojen bağlayan protein (*ace*, *acm*), agregasyon proteini (*agg*), sitolizin (*cylM*, *cylB*, *cylA*) ve hiyaluronidaz (*hyl*) üretim özelliklerini kodlayan virülens faktör genlerinin varlığı Çizelge 1'de verilen primer çiftleri kullanılarak PZR ile araştırılmıştır. *acm*, *agg*, *gelE*, *efaA_{fm}*, *efaA_{fs}*, *cdp*, *esp_{fm}*, *esp_{fs}*, *cob*, *caf*, *cad*, *ace*, *cylM*, *cylB* ve *cylA* genlerinin varlığı 95 °C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu (1 döngü), 95 °C'de 30 saniye / 54 °C (*acm* geni için 52 °C, *agg* geni için 56 °C)'de 30 saniye / 72 °C'de 60 saniye çoğaltma (35 döngü) ve 72 °C'de 10 dakika son uzama (1 döngü) aşamalarından oluşan protokol uygulanarak TurboCycler 2 gradient termal döngü cihazı (Blue-Ray Biotech Corp. Tayvan) ile araştırılmıştır. Hiyaluronidaz geninin (*hyl*) PZR ile varlığının tespitinde ise 95 °C'de 2 dakika başlangıç denatürasyonu (1 döngü), 95 °C'de 30 saniye / 56 °C'de 90 saniye / 72 °C'de 90 saniye çoğaltma (35 döngü) ve 72 °C'de 10 dakika son uzama (1 döngü) aşamalarından oluşan protokol uygulanmıştır. PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi % 1.5 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jelde yapılmıştır. Jeller etidyum bromit içeren çözeltide

boyanmış, UV ışık üzerinde fotoğraflanmıştır. Fragment büyüklükleri Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll Biotechnology Co. Ltd, Kore) kullanılarak hesaplanmıştır. PZR denemelerinde *E. faecalis* ATCC 29212 suşu (*gelE*⁺, *efaA_{fs}*⁺, *cpd*⁺, *cob*⁺, *caf*⁺, *cad*⁺, *ace*⁺, *acm*⁺, *cylB*⁺, *cylA*⁺) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Biyogen amin üretimi

E. mundtii YB6.30 suşunun biyojen amin üretim özelliklerinin belirlenmesinde Bover-Cid ve Holzapfel (1999) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Besiyerinin hazırlanmasında histidin, lizin, ornitin veya tirozin amino asitleri kullanılmıştır. Denemelerde tiraminojenik *E. faecalis* NYE54 suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Inoğlu ve Tuncer, 2013).

Aminoasit dekarboksilaz genlerinin PZR ile araştırılması

Histidin (*hdc*), lizin (*ldc*), ornitin (*odc*) ve tirozin (*tdc*) dekarboksilaz genlerinin varlığı Çizelge 2'de verilen primer çiftleri kullanılarak araştırılmıştır (de Las Rivas vd., 2006). PZR denemelerinde; 95 °C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonu (1 döngü), 95 °C'de 30 saniye / 53 °C'de 30 saniye / 72 °C'de 2 dakika çoğaltma (30 döngü) ve 72 °C'de 20 dakika son uzama (1 döngü) aşamalarından oluşan protokol uygulanmıştır. Çoğaltılan amino asit dekarboksilaz genlerinin PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi % 1.5 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jellerde yapılmıştır. Denemelerde tiraminojenik *E. faecalis* NYE54 (*tdc*⁺) suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

İstatistik Analiz

Laktik asit üretim düzeyi bakımından elde edilen veriler faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analiz tekniği ile analize edilmiştir. Uygulama faktörünün RSM ve MRS olmak üzere 2 seviyesi ve zaman faktörünün de 0., 6. ve 24. saat olmak üzere 3 seviyesi mevcuttur. Tekrarlanan ölçümler zaman faktörünün seviyelerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada faktörlerin seviye ortalamaları arasındaki farklılıklarının belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

Çizelge 1. Virülens genlerin tespitinde kullanılan PZR primerleri ve ürün büyüklükleri
Table 1. PCR primers for detection of virulence genes and product sizes

Gen <i>Gene</i>	Primer sekansları (5'-3') <i>Primer sequences (5'-3')</i>	Ürün büyüklüğü (bp) <i>Product size (bp)</i>	Kaynak <i>Reference</i>
<i>gelE</i>	ACC CCG TAT CAT TGG TTT ACG CAT TGC TTT TCC ATC	419	Reviriego vd., 2005
<i>efaA_{fm}</i>	AAC AGA TCC GCA TGA ATA CAT TTC ATC ATC TGA TAG TA	735	Reviriego vd., 2005
<i>efaA_{fs}</i>	GAC AGA CCC TCA CGA ATA AGT TCA TCA TGC TGT AGT A	705	Reviriego vd., 2005
<i>esp_{fm}</i>	TTG CTA ATG CAA GTC ACG TCC GCA TCA ACA CTT GCA TTA CCG AA	955	Reviriego vd., 2005
<i>esp_{fs}</i>	TTG CTA ATG CTA GTC CAC GAC C GCG TCA ACA CTT GCA TTG CCG AA	933	Reviriego vd., 2005
<i>cpd</i>	TGG TGG GTT ATT TTT CAA TTC TAC GGC TCT GGC TTA CTA	782	Reviriego vd., 2005
<i>cob</i>	AAC ATT CAG CAA ACA AAG C GCG TCA TAA AGA GTGGTC AT	1405	Reviriego vd., 2005
<i>acf</i>	GGG AAT TGA GTA GTG AAG AAG AGC CGC TAA AAT CGG TAA AAT	543	Reviriego vd., 2005
<i>cad</i>	TGC TTT GTC ATT GAC AAT CCG ACT TTT TCC CAA CCC CTC AA	1299	Reviriego vd., 2005
<i>ace</i>	AAA GTA GAA TTA GAT CCA CAC TCT ATC ACA TTC GGT TGC G	350	Ben Belgacem vd., 2010
<i>acm</i>	GGC CAG AAA CGT AAC CGA TA CGC TGG GGA AAT CTT GTA AA	353	Camargo vd., 2006
<i>agg</i>	AAG AAA AAG AAG TAG ACC AAC AAA CGG CAA GAC AAG TAA ATA	1553	Eaton ve Gasson, 2001
<i>cyLM</i>	CTG ATG GAA AGA AGA TAG TAT TGA GTT GGT CTG ATT ACA TTT	742	Reviriego vd., 2005
<i>cyLB</i>	ATT CCT ACC TAT GTT CTG TTA AAT AAA CTC TTC TTT TCC AAC	843	Reviriego vd., 2005
<i>cyLA</i>	TGG ATG ATA GTG ATA GGA AGT TCT ACA GTA AAT CTT TCG TCA	517	Reviriego vd., 2005
<i>hyl</i>	ACA GAA GAG CTG CAG GAA ATG GAC TGA CGT CCA AGT TTC CAA	276	Vankerckhoven vd., 2004

Çizelge 2. Amino asit dekarboksilaz genlerinin tespitinde kullanılan PZR primerleri ve ürün büyüklükleri
Table 2. PCR primers for detection of amino acid decarboxylase genes and product sizes

Gen <i>Gene</i>	Primer dizisi (5'-3') <i>Primer sequences (5'-3')</i>	Ürün büyüklüğü (bp) <i>Product size (bp)</i>
<i>hdc</i>	GGNATNGTINWSNTAYGAYMGNGCNGA ATNGCDATNGCNSWCCANACNCCRTA	372
<i>tdc</i>	TGGYTNGTNCNCARACNAARCAFTA ACRTARTCNACCATRTTRAARTCNCGG	825
<i>odc</i>	TWYMAYGCNGAYAARACNTAYTTYGT ACRCANAGNACNCCNGGNGGRTANGG ATHWGN TWYGGNAAYACNATHAARAA GCNARNCCNCCRAAYTTNCCDATRTC	1440 624
<i>ldc</i>	CAYRTNCCNGGNCAAAA GGDATNCCNGGNGGRTA	1185

Y: C veya T; R: A veya G; W: A veya T; S: C veya G; M: A veya C; D: A, G veya T; H: A, C veya T; B: C, G veya T; N: A, C, G veya T.

Y: C or T; R: A or G; W: A or T; S: C or G; M: A or C; D: A, G or T; H: A, C or T; B: C, G or T; N: A, C, G or T.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Laktik asit üretim yeteneğinin belirlenmesi için *E. mundtii* YB6.30 suşu RSM ve MRS broth ortamlarında 30 ve 37 °C'de kültüre edilmiş ve inkübasyonun 0., 6. ve 24. saatlerinde kültür pH'sı

ölçülmüştür. YB6.30 suşunun RSM ve MRS broth ortamlarında 30 ve 37 °C'de inkübasyonun 0., 6. ve 24. saatlerinde ölçülen pH değerleri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. *E. mundtii* YB6.30 suşunun RSM ve MRS broth ortamlarında inkübasyonun (30 ve 37 °C'de) 0., 6. ve 24. saatlerinde pH değerleri

Table 3. pH values of *E. mundtii* YB6.30 strain at 0., 6. and 24. hours of incubation (at 30 and 37 °C) in RSM and MRS broth

Kültür ortamı* Culture medium*	Zaman (saat) Time (hour)	pH değeri pH value	
		30 °C'de (at 30 °C)	37 °C'de (at 37 °C)
RSM	0	a**6.55±0.014Aa***	a6.51±0.014Ab
	6	a6.45±0.066Aa	a6.22±0.066Bb
	24	a5.99±0.018Ba	a5.65±0.018Cb
MRS	0	b6.50±0.014Aa	b6.46±0.014Ab
	6	a6.43±0.066Aa	b5.85±0.066Bb
	24	b5.09±0.018Ba	b4.75±0.018Cb

*RSM: yapılandırılmış yağsız süt; MRS: de Man, Rogosa and Sharpe broth

*RSM: reconstituted skim milk; MRS: de Man, Rogosa and Sharpe broth

**Ortalamanın solundaki küçük harfler zaman x sıcaklık kombinasyonunda kültür ortamları arasındaki farklılığı göstermektedir.

** The lower case letters to the left of the average indicate the difference between the cultural environments in the time x temperature combination.

***Ortalamanın sağındaki büyük harfler kültür ortamı x sıcaklık kombinasyonunda zamanlar arası farklılığı, küçük harfler kültür ortamı x zaman kombinasyonunda sıcaklıklar arası farklılığı göstermektedir.

*** Capital letters to the right of the average show the difference between times in the culture medium x temperature combination, the lower case letters indicate the difference between temperatures in the culture medium x time combination.

Cogan vd. (1997), iyi bir mezofilik starter kültürün süt ortamında 30 °C'de 6 saat inkübasyon sonunda pH'yı 6.6'dan 5.3'e düşürmesi gerektiğini belirtmiştir. *E. mundtii* YB6.30 suşunun yalnız MRS broth ortamında inkübasyonun 24. saati sonunda pH'yı 5.3'ün altına düşürdüğü tespit edilmiştir. 30 °C'de inkübe edilen örneklerde pH 5.09±0.018'e ve 37 °C'de kültüre edilen örneklerde pH 4.75±0.018'e düşmüştür (Çizelge 3). Bu veriler ışığında *E. mundtii* YB6.30 suşunun RSM ortamında 30 ve 37 °C'de inkübasyon sıcaklığında yavaş asit üretim özelliği gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan, *E. mundtii* YB6.30 suşu MRS broth ortamında 37 °C'de 24. saat inkübasyon sonunda hızlı asit üretim özelliği göstermiştir. Bradley vd. (1992)'ne göre kültürlerin asit üretim özelliği besiyerlerinin başlangıç pH değeri ile inkübasyondan sonra

oluşan pH değerleri arasındaki fark (Δ pH) dikkate alınarak, hızlı (Δ pH >1.5), orta (Δ pH 1.0 ile 1.5 arasında) ve yavaş (Δ pH <1.0) olarak tanımlanmaktadır. Bu kriterler dikkate alınarak *E. mundtii* YB6.30 suşunun RSM ortamında 30 ve 37 °C'de inkübasyonun 6. ve 24. saatleri sonunda Δ pH değeri 1'in altında olduğu için yavaş asit üretim yeteneği gösterdiği belirlenmiştir. MRS broth ortamında ise 30 ve 37 °C'de inkübasyonun 6. saatinde yavaş, 24. saati sonunda 30 °C'de orta ve 37 °C'de ise hızlı asit üretim özelliği göstermiştir. Enterokok türlerinin sütte asit üretim yeteneği üzerine yapılan çalışmalar asit üretiminin türe, suşa ve inkübasyon süresine göre farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Enterokoklar genel olarak yavaş veya orta düzeyde asit üretim yeteneğine sahiptirler (Durlu-Ozkaya vd., 2001; Ambadoyiannis vd., 2004).

Diğer taraftan enterokok izolatlarının 37 °C'de 16-24 saat inkübasyon sonunda süt pH'sını 5.0-5.2'nin altına düşürdüğünü bildiren çalışmalarda bulunmaktadır (Sarantinopoulos vd., 2001, Tuncer, 2009; Banwo vd., 2013; Oladipo vd., 2015; Aspri vd., 2016).

Asit üretim yeteneği starter kültür seçiminde önemli bir kriterdir. Starter kültürler tarafından üretilen organik asitler bozulma yapan veya patojenik bakteriler gibi istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini önlemekte hem de son ürünün organoleptik özelliklerinin oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Anagnostopoulos vd., 2018). Hızlı asit üretim yeteneğine sahip suşlar çoğunlukla starter kültür olarak kullanılırken, orta veya zayıf asit üretim yeteneğine sahip suşlar ise diğer teknolojik özelliklerine bağlı olarak yardımcı starter kültür olarak kullanılabilir (Ayad vd., 2004; Lee, 2005). Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, fermente sucuktan izole edilen mundtis KS üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun asit üretim yeteneği bakımından değerlendirildiğinde et ürünlerinin yanı sıra fermente süt ürünlerinin üretiminde de yardımcı starter kültür olarak starter kültür kombinasyonlarında yer alabileceğini göstermektedir.

E. mundtii YB6.30 suşunun calcium caseinate agar kullanılarak yapılan proteolitik aktivite testi sonucu proteolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer olarak Serio vd. (2010), 70 enterokok suşunun (34 *E. faecium*, 28 *E. faecalis* ve 8 *E. durans*) RSM agar ortamında proteolitik aktivite özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında 9 *E. faecalis*, 2 *E. faecium* ve 1 *E. durans* izolatının proteolitik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Jaouani vd. (2015), 9 *E. faecium*, 8 *E. faecalis*, 3 *E. hirae* ve 2 *E. mundtii* olmak üzere 22 bakteriyosin üreticisi enterokok izolatından 3 *E. faecium* (L5, 59 ve 97) ve 2 *E. faecalis* (K4 ve 98) suşunun skim milk agar ortamında kazeini hidrolize ederek proteolitik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Aspri vd. (2016), eşek sütünden izole edilen enterokok izolatlarının skim milk agar ortamında proteolitik aktivite özelliklerini test etmişler ve izolatların % 78'inin (56/72) besiyeri ortamında opak zon oluşturarak proteolitik aktivite pozitif

özellik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan Ben Belgacem vd. (2010), Tunus fermente et ürünü Gueddid'ten izole ettikleri antibakteriyel aktiviteye sahip 24 enterokok suşunun proteolitik aktivite özelliğini % 1.5 skim milk içeren triptik soy agar ortamında test etmişler ve suşların hiçbirinin kazeini hidrolize edemediğini belirlemişlerdir. Benzer olarak Landeta vd. (2013), İspanyol sosislerinden izole edilen 19 *E. faecium* izolatının hiçbirinin jelatin ve calcium caseinate agar ortamlarında proteolitik aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir. Proteoliz, fermente bir ürünün organoleptik özelliklerinin gelişimine katkıda bulunan temel endüstriyel özelliklerden biridir (Anagnostopoulos vd., 2018). Bu nedenle bakteriyosin üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun calcium caseinate agar ortamında proteolitik aktivite göstermesi starter kültür olarak kullanımı için bir avantajdır.

E. mundtii YB6.30 suşunun lipolitik aktivite testleri sonucu aktivite göstermediği belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuca benzer olarak Jaouani vd. (2015), bakteriyosin üreticisi 9 *E. faecium*, 8 *E. faecalis*, 3 *E. hirae* ve 2 *E. mundtii* suşunun hiçbirinin tributyrin agarda lipolitik aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir. Aspri vd. (2016), enterokok izolatlarının hiçbirinin tributyrin agar ortamında zon vermediğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda enterokok izolatlarının lipolitik aktivite gösterdiğini bildiren çalışmalarda bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genel olarak enterokokların düşük düzeyde lipolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Sarantinopoulos vd., 2001; Tuncer, 2009; Ribeiro vd., 2014; Oladipo vd., 2015; Čanigová vd., 2016; Anagnostopoulos vd., 2018). Lipolitik aktivite starter kültür olarak kullanılacak suşlarda arzu edilen bir özellik olmakla beraber yüksek lipolitik aktivite son ürünün organoleptik özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Morandi vd., 2006). Bu nedenle bakteriyosin üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun lipolitik aktivite göstermemesinin starter kültür olarak kullanımı için bir dezavantaj olmadığı düşünülmektedir.

Nitrat redüktaz testi sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunun nitrat pozitif özellik gösterdiği belirlenmiştir. Benzer olarak Landeta vd. (2013), kurutulmuş İspanyol sosislerinden izole ettikleri enterokokların nitrat redüktaz aktivitesi gösterdiğini rapor etmişlerdir. Et ürünlerinde temel bir katkı maddesi olarak kullanılan nitrit karakteristik kürlenmiş et renginin, lezzet ve doku özelliklerinin geliştirilmesi ve özellikle *Clostridium botulinum* başta olmak üzere patojen mikroorganizmaların inaktivasyonu ve oksidatif acılaştırma oluşumunu engellediği için uzun yıllardır kullanılmaktadır (Ahn vd., 2004; Liu vd., 2010). Kurutularak olgunlaştırılan fermente sosislerde temel renk oluşumundan koagülaz-negatif stafilkoklar sorumlu olsa da, tipik renk oluşum sürecinde nitratın nitrite indirgenmesinde laktik asit bakterileri de rol oynamaktadır. Koagülaz-negatif stafilkoklara nazaran laktik asit bakterileri düşük düzeyde nitrat redüktaz aktivitesi gösterse de, nitrat redüktaz aktivitesinin nitrozomiyogloblin oluşum mekanizmasına doğrudan dahil olması nedeniyle bu bakterilerde de nitrat redüktaz aktivitesinin araştırılması istenilmektedir (Ammor ve Mayo, 2007). Bu nedenle *E. mundtii* YB6.30 suşunun nitratı redükte etmesi teknolojik açıdan önemlidir. Bu özellik *E. mundtii* YB6.30 suşunun fermente et ürünlerinde starter kültür kombinasyonlarında yer alması için bir avantajdır.

Çalışma kapsamında bakteriyosinjenik *E. mundtii* YB6.30 suşunun antibiyotik direnç profili 18 ticari antibiyotik diski kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile test edilmiş ve YB6.30 suşunun denemelerde kullanılan antibiyotiklerin tamamına duyarlı olduğu belirlenmiştir. Banwo vd. (2013), çiğ inek sütünden izole ettikleri bakteriyosin üreticisi *E. faecium* CM4 ve 2CM1 suşlarının antibiyotik direnç profillerini inceledikleri çalışmalarında, *E. faecium* CM4 suşunun vankomisine yüksek duyarlılık gösterdiğini ancak streptomisin, kloramfenikol, gentamisin, pefloksasin, siprofloksasin ve tetrasikline karşı orta derecede duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar *E. faecium* 2CM1 suşunun ise pefloksasine karşı dirençli, streptomisin, gentamisin, tetrasiklin ve vankomisinin de dahil olduğu 7 antibiyotiğe karşı ise orta seviyede

duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Özden Tuncer vd. (2013), bakteriyosin üreticisi *E. faecium* EYT17, EYT31 ve EYT39 suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesinde disk difüzyon testi kullanmışlar ve suşların tamamının ampisilin, kloramfenikol, gentamisin, norfloksasin, penisilin, streptomisin, tetrasiklin, sülfametoksazol/trimetoprim ve vankomisine duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. *E. faecium* suşları yalnızca eritromisine orta seviyede dirençli bulunmuştur. Tuncer vd. (2014) disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılan antibiyotik direnç testi sonucu bakteriyosin üreticisi *E. faecalis* MYE58 suşunun denemelerde kullanılan 10 antibiyotikten streptomisin (300 µg) ve tetrasikline (30 µg) hariç diğer antibiyotiklere karşı duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Antibiyotik direnç testleri sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunun denemelerde kullanılan bütün antibiyotiklere karşı duyarlı bulunması suşun güvenilirliği açısından avantajdır.

E. mundtii YB6.30 suşunun hemolitik aktivite özelliği koyun kanı içeren Columbia agar ortamında test edilmiş ve YB6.30 suşunun hemolitik aktivite göstermediği (γ- hemolitik) tespit edilmiştir. Elde edilen bu bulguya benzer olarak farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da gıda kaynaklı enterokok izolatlarının hemolitik aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Banwo vd., 2013; Tuncer vd., 2014; Anagnostopoulos vd., 2018). Banwo vd. (2013), çiğ süttten izole edilen bakteriyosin üreticisi *E. faecium* CM4 ve 2CM1 suşlarının hemolitik aktivite göstermediğini bildirmiştir. Tuncer vd. (2014), çiğ süttten izole ettikleri enterosin üreticisi *E. faecalis* MYE58 suşunun hemolitik aktivite göstermediğini belirlemişlerdir. Anagnostopoulos vd. (2018), yeşil zeytinden izole edilen enterokok suşlarının hiçbirinin hemolitik aktivite göstermediğini rapor etmişlerdir. Enterokoklarda hemolizin/sitolizin varlığı son derece dikkatlice kontrol edilmesi gereken bir özellik olup hemolitik aktivitenin olmaması süt endüstrisinde kullanılacak starter kültürlerin seçilmesinde önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir (Giraffa, 1995). Hemolizin üretimi enterokokal enfeksiyonların şiddetini artırabilmekte ve hemolizin üretimine katılan genlerin varlığı risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Valenzuela vd.,

2009). Gıda fermentasyonlarında starter kültür olarak kullanılacak olan suşların β -hemolitik aktivite göstermesi istenilmeyen bir durumdur (Gomes vd., 2008). Bu nedenle *E. mundtii* YB6.30 suşunun hemolitik aktivite göstermemesi gıda üretim proseslerinde kullanılması için bir avantajdır.

Jelatinaz testi sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunun jelatinaz aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir. Gomes vd. (2008), Brezilya'da üretilen peynir, et, sebze ve süt ürünlerinden izole edilen suşların jelatinaz aktivitesini incelemişler ve sadece *E. faecalis* izolatlarının % 60'ının jelatinaz aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *E. faecium*, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* izolatlarının ise jelatinaz aktivitesi göstermediğini bildirmişlerdir. Trivedi vd. (2011), et, süt ve meyve/sebze ürünlerinden izole ettikleri 250 enterokok izolatının jelatinaz aktivitesini incelemişler ve sadece etten izole edilen 1 *E. faecalis* izolatının jelatinaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Banwo vd. (2013), çığ inek sütünden izole ettikleri bakteriyosin üreticisi *E. faecium* CM4 ve 2CM1 suşlarının her ikisinin de jelatinaz aktivitesi göstermediğini belirlemişlerdir. Tuncer vd. (2014), çığ süttten izole edilen bakteriyosin üreticisi *E. faecalis* MYE58 suşunun jelatinaz negatif özellik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda gıda ve klinik kaynaklı enterokok izolatlarında jelatinaz aktivitesinin tespit edildiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Eaton ve Gasson, 2001; Cariolato vd., 2008; Manavalan vd., 2015). Jelatinaz çinko içeren hücre dışı bir metalloproteinaz olup jelatin, kollojen, fibrinojen, kazein, hemoglobin, insülin ve bazı biyoaktif peptidlerin hidrolizine neden olmaktadır. Düzensiz metalloproteinaz aktivitesi kanser hücrelerinin invazyonu, artrit ve periodontit gibi patolojik durumlarla ilişkilendirilmektedir (Singh vd., 1998; Kanematsu vd., 1998; Dworniczek vd., 2003). *E. mundtii* YB6.30 suşunun jelatinaz aktivitesi göstermemesi starter kültür olarak kullanımı için bir avantajdır.

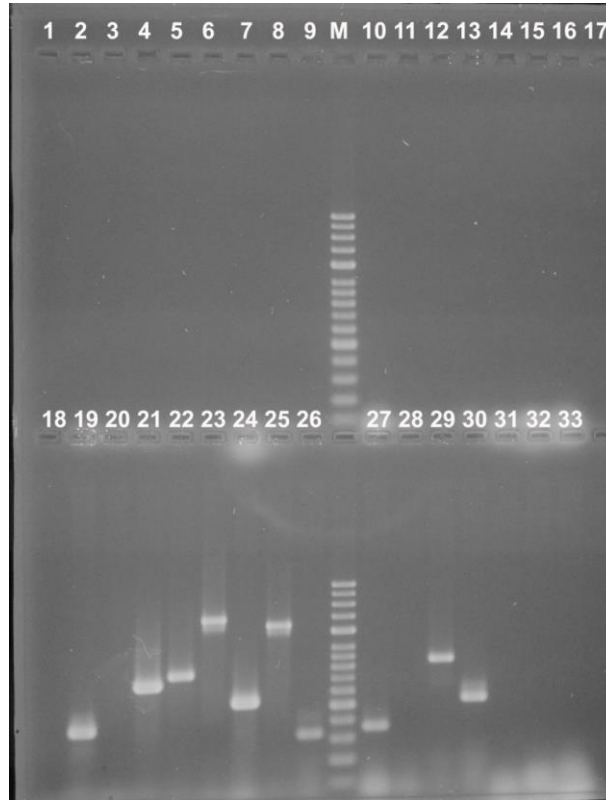
Mikroorganizmaların hastalık yapıcı etkisini arttıran efektör moleküller virülens faktörler olarak isimlendirilmektedir (Mundy vd., 2000).

Enterokoklar düşük virülens özellikli bakteriler olarak bilinmelerine rağmen son yıllarda artan nozokomiyal enfeksiyonların sorumluları arasında yer almaktadırlar. Gıda kaynaklı enterokokların virülens özellikleri klinik örneklerle göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Eaton ve Gasson, 2001; Foulquié Moreno vd., 2006; Inoğlu ve Tuncer, 2013; Özden Tuncer vd., 2013). Jelatinaz (*gelE*), hücre duvarı adhezinleri (*efaA_{fm}*, *efaA_{fi}*), ekstraselüler yüzey proteini (*esp_{fm}*, *esp_{fi}*), seks feromonları (*cpd*, *cob*, *ccf*, *cad*), kollojen bağlayan protein (*ace*, *acm*), agregasyon proteini (*agg*), sitolizin (*cyLM*, *cyLB*, *cyLA*) ve hiyaluronidaz (*hyl*) üretim özelliklerini kodlayan virülens faktörlerin genetik determinantlarının spesifik primerler kullanılarak araştırıldığı PZR çalışması sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunda virülens faktör genlerinin hiçbirinin bulunmadığı tespit edilmiştir (Şekil 1). *E. mundtii* YB6.30 suşunda *gelE* geni bulunmaması jelatinaz aktivitesinin fenotipik olarak test edildiği deneme sonucunu desteklemektedir. Geçmiş yıllarda farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda ise fenotipik olarak jelatinaz aktivitesi göstermeyen ancak sessiz *gelE* geni varlığı tespit edilen enterokok izolatları bildirilmiştir (Eaton ve Gasson, 2001; Franz vd., 2001; Cariolato vd., 2008; Trivedi vd., 2011; Tuncer vd., 2014; Avcı ve Özden-Tuncer, 2017). Benzer olarak kanlı agar ortamında hemolitik aktivite göstermediği tespit edilen *E. mundtii* YB6.30 suşunda *cyLM*, *cyLB*, *cyLA* genlerinin de tespit edilmemesi fenotipik test sonucunu desteklemektedir. PZR denemeleri sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunda virülens faktör geni varlığı tespit edilmemiş olması gıda endüstrisinde kullanım için güvenli olduğunu göstermektedir.

Bakteriyosin üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun amino asit dekarboksilaz besiyerinde dört farklı amino asit öncüsü kullanılarak yapılan biyojen amin üretim özelliğinin fenotipik olarak test edildiği denemeler sonucu, YB6.30 suşunun histidin, lizin ve ornitin amino asitlerini dekarboksile etmediği ancak tirozini dekarboksile ederek tiramin ürettiği belirlenmiştir. Mikroorganizmaların amino asit dekarboksilasyonu tür, suş ve çevresel koşullara göre farklılık göstermektedir. Bununla birlikte enterokoklarda tiramin üretiminin yaygın olarak

tespit edildiği farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ambadoyiannis vd., 2004; Tuncer, 2009; Inoğlu ve Tuncer, 2013; Yüceer ve Özden Tuncer, 2015; Aspri vd., 2016; Avcı ve Özden Tuncer, 2017; Zommiti vd., 2018). Yüksek düzeyde biyojen amin tüketiminin organizmada çeşitli farmakolojik, fizyolojik ve toksik etkiler

göstermesinden dolayı bakteriyosin üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun tirozin dışında test edilen diğer amino asitleri dekarboksile etmemesi bir avantajdır. Ancak söz konusu suşun tiramin üretim miktarının daha sonra yapılacak çalışmalar ile araştırılması gıda sistemlerinde kullanım güvenliğinin belirlenmesi için gerekmektedir.



Şekil 1. *E. mundtii* YB6.30 ve *E. faecalis* ATCC 29212 suşlarında virülens genlerin PZR ile tespiti (1-16: *E. mundtii* YB6.30, 18-33: *E. faecalis* ATCC 29212 (pozitif kontrol))

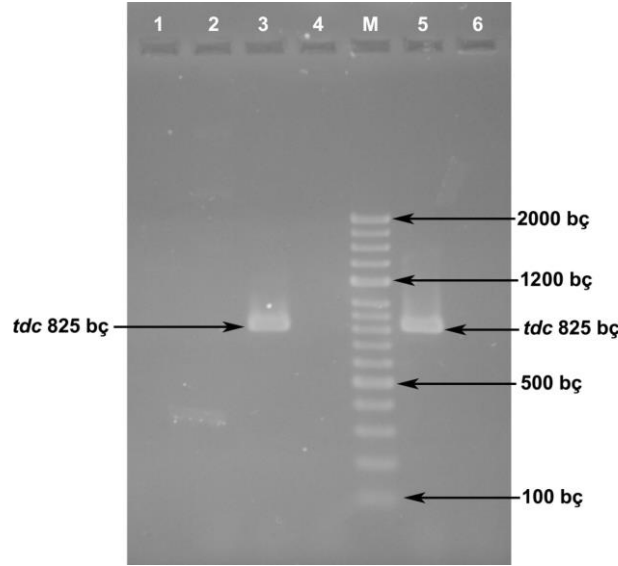
1: *agg*; 2: *gelE*; 3: *efaA_{fm}*; 4: *efaA_{fs}*; 5: *cpd*; 6: *cob*; 7: *ccf*; 8: *cad*; 9: *ace*; M: Genesta™ 100 bç DNA marker (GeneAll, Kore); 10: *acm*; 11: *cylM*; 12: *cylB*; 13: *cylA*; 14: *hyl*; 15: *esp_{fm}*; 16: *esp_{fs}*; 17: negatif kontrol (su); 18: *agg*; 19: *gelE* (419 bç); 20: *efaA_{fm}*; 21: *efaA_{fs}* (705 bç); 22: *cpd* (782 bç); 23: *cob* (1405 bç); 24: *ccf* (543 bç); 25: *cad* (1299 bç); 26: *ace* (350 bç); M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Kore); 27: *acm* (353 bç); 28: *cylM*; 29: *cylB* (843 bç); 30: *cylA* (517 bç); 31: *hyl*; 32: *esp_{fm}*; 33: *esp_{fs}*

Figure 1. PCR detection of virulence genes in *E. mundtii* YB6.30 and *E. faecalis* ATCC 29212 strains (1-16: *E. mundtii* YB6.30, 18-33: *E. faecalis* ATCC 29212 (positive control))

1: *agg*; 2: *gelE*; 3: *efaA_{fm}*; 4: *efaA_{fs}*; 5: *cpd*; 6: *cob*; 7: *ccf*; 8: *cad*; 9: *ace*; M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Korea); 10: *acm*; 11: *cylM*; 12: *cylB*; 13: *cylA*; 14: *hyl*; 15: *esp_{fm}*; 16: *esp_{fs}*; 17: negative control (water); 18: *agg*; 19: *gelE* (419 bp); 20: *efaA_{fm}*; 21: *efaA_{fs}* (705 bp); 22: *cpd* (782 bp); 23: *cob* (1405 bp); 24: *ccf* (543 bp); 25: *cad* (1299 bp); 26: *ace* (350 bp); M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Korea); 27: *acm* (353 bp); 28: *cylM*; 29: *cylB* (843 bp); 30: *cylA* (517 bp); 31: *hyl*; 32: *esp_{fm}*; 33: *esp_{fs}*

Histidin (*bdc*), lizin (*ldc*), ornitin (*odc*) ve tirozin (*tdc*) dekarboksilaz genlerinin araştırıldığı PZR denemesi sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunda sadece *tdc* geni varlığı tespit edilmiştir. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonucu *tdc* genine özgü 825 kb büyüklüğünde fragment elde edilmiştir (Şekil 2). PZR sonuçları amino asit dekarboksilaz besiyerinde elde edilen fenotipik

test sonuçlarını desteklemektedir. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da tiramin üretimi ile *tdc* geni varlığı arasında uyum olduğu bildirilmiştir (Kucerová vd., 2009; Kalhotka vd., 2012; Inoğlu ve Tuncer, 2013; Yüceer ve Özden Tuncer, 2015; Avcı ve Özden Tuncer, 2017).



Şekil 2. *E. mundtii* YB6.30 suşunda histidin (*bdc*), lizin (*ldc*), tirozin (*tdc*) ve ornitin (*odc*) dekarboksilaz genlerinin PZR amplifikasyonu
1: *bdc*; 2: *ldc*; 3: *tdc*; 4: *odc*; M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Kore); 5: *tdc* (*E. faecalis* NYE54 pozitif kontrol); 6: negatif kontrol (su)

Figure 2. PCR amplification of histidine (*bdc*), lysine (*ldc*), tyrosine (*tdc*) and ornithine (*odc*) decarboxylase genes in *E. mundtii* YB6.30 strain

1: *bdc*; 2: *ldc*; 3: *tdc*; 4: *odc*; M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Korea); 5: *tdc* (*E. faecalis* NYE54 positive control); 6: negative control (water)

SONUÇ

Mundtisin KS üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun teknolojik özellikleri ve güvenlik değerlendirmesinin araştırılması sonucu bu suşun gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanımının güvenli olduğu tespit edilmiştir. *E. mundtii* YB6.30 suşunun ileride yapılacak çalışmalar ile gıda üretim süreçlerinde starter kültür olarak kullanımının test edilmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı FYL-2018-5765 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Ahn, H.J., Kim, J.H., Jo, C., Lee, J.W., Yook, H.S., Byun, M.W. (2004). Combined effects of gamma irradiation and a modified atmospheric packaging on the physicochemical characteristics of sausage. *Radiat Phys Chem*, 71(1-2), 53-56.

- Ambadoyiannis, G., Hatzikamari, M., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. (2004). Probiotic and technological properties of enterococci isolates from infants and cheese. *Food Biotechnol*, 18 (3), 307-325.
- Ammor, M.S., Mayo, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: an update. *Meat Sci*, 76(1), 138-146.
- Anagnostopoulos, D., Bozoudi, D., Tsaltas, D. (2018). Enterococci isolated from cypriot green table olives as a new source of technological and probiotic properties. *Fermentation*, 4(2), 48.
- Aspri, M., Bozoudi, D., Tsaltas, D., Hill, C., Papademas, P. (2016). Raw donkey milk as a source of *Enterococcus* diversity: assessment of their technological properties and safety characteristics. *Food Control*, 73, 81-90.
- Avcı, M., Özden Tuncer, B. (2017). Safety evaluation of enterocin producer *Enterococcus* sp. strains isolated from traditional Turkish cheeses. *Pol J Microbiol*, 2, 223-233.
- Ayad, E.H.E., Nashat, S., El-Sadek, N., Metwaly, H., El-Soda, M. (2004). Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiol*, 21(6), 715-725.
- Banwo, K., Sanni, A., Tan, H. (2013). Technological properties and probiotic potential of *Enterococcus faecium* strains isolated from cow milk. *J Appl Microbiol*, 114(1), 229-241.
- Barbieri, F., Montanari, C., Gardini, F., Tabanelli, F. (2019). Biogenic amine production by lactic acid bacteria: a review. *Foods*, 8, 17. doi:10.3390/foods8010017
- Ben Belgacem, Z., Abriouel, H., Omar, N.B., Lucas, R., Martínez-Canamero, M., Gálvez, A., Manai, M. (2010). Antimicrobial activity, safety aspects and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat. *Food Control*, 21(4), 462-470.
- Bennik, M.H.J., Vanloo, B., Brasseur, R., Gorris, L.G.M., Smid, E.J. (1998). A novel bacteriocin with a YGNGV motif from vegetable-associated *Enterococcus mundtii*: full characterization and interaction with target organisms. *Biochim Biophys Acta*, 1373, 47-58.
- Bover-Cid, S., Holzapfel, W.H. (1999). Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 53(1), 33-41.
- Bradley, R.L., Arnold, E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K. (1992). Chemical and physical methods. In: *Standart Methods for The Examination of Dairy Products*. Marshall, T. (ed), American Public Health Association, Washington Dc, pp. 433-531.
- Camargo, I.L.B.C., Gilmore, M.S., Darini, A.L.C. (2006). Multilocus sequence typing and analysis of putative virulence factors in vancomycin-resistant and vancomycin-sensitive *Enterococcus faecium* isolates from Brazil. *Clin Microbiol Infect*, 12(11), 1123-1130.
- Cancilla, M.R., Powell, I.B., Hillier, A.J., Davidson, B.E. (1992). Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with 32P and fluorescent labels. *Appl Environ Microbiol*, 58(5), 1772-1775.
- Čanigová, M., Ducková, V., Lavová, M., Bezeková, J., Kročko, M. (2016). Selected technological properties and antibiotic resistance of enterococci isolated from milk. *Potravinárstvo, Potr. S. J. F. Sci.*, 10(1), 518-523.
- Cariolato, D., Andrighetto, C., Lombardi, A. (2008). Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19(9), 886-892.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zandernowska, A., Łaniewska-Trokenheim, Ł. (2017). Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food. *LWT-Food Sci Technol*, 75, 670-676.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, (CLSI 2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-

- Fifth Informational Supplement M100-S26 CLSI, Wayne, PA.
- Cogan, B.T.M., Barbosa, M., Beuvier, E., BianchiSalvadori, B., Cocconcelli, P.S., Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A., Medina, M., Rea, M.C., Rodriguez, E. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *J Dairy Res*, 64, 409-421.
- de Las Rivas, B., Marcobal, A., Carrascosa, A.V., Munoz, R. (2006). PCR detection of foodborne bacteria producing the biogenic amines histamine, tyramine, putrescine and cadaverine. *J Food Prot*, 69(10), 2509-2514.
- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. (2001). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from beyaz cheese made from raw ewes' milk. *J Appl Microbiol*, 91(5), 861-870.
- Dworniczek, E., Kuzko, K., Mróz, E., Wojciech, Ł., Adamski, R., Sobieszczńska, B., Seniuk, A. (2003). Virulence factors and *in vitro* adherence of *Enterococcus* strains to urinary catheters. *Folia Microbiol*, 48(5), 671-678.
- Eaton, T.J., Gasson, M.J. (2001). Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol*, 67(4), 1628-1635.
- Essid, I., Ben Ismail, H., Bel Hadj Ahmed, S., Ghedamsi, R., Hassouna, M. (2007). Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. *Meat Sci*, 77(2), 204-212.
- Feng, G., Guron, G.K., Churey, J.J., Worobo, R.W. (2009). Characterization of mundticin L, a class IIa anti-Listeria bacteriocin from *Enterococcus mundtii* CUGF08. *Appl Environ Microbiol*, 75, 5708-5713.
- Foulquié Moreno, M., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol*, 106(1), 1-24.
- Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E. (1999). Enterococci at the crossroads of food safety? *Int J Food Microbiol*, 47(1-2), 1-24.
- Franz, C.M.A.P., Muscholl-Silberhorn, A.B., Yousif, N.M.K., Vancanneyt, M., Swings, J., Holzapfel, W. (2001). Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. *Appl Environ Microbiol*, 67(9), 4385-4389.
- García-Solache, M., Rice, L. B. (2019). The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clin Microbiol Rev*, 32:e00058-18. doi:10.1128/CMR.00058-18
- Giraffa, G. (1995). Enterococcal bacteriocins: their potential as anti-listeria factors in dairy technology. *Food Microbiol*, 12, 291-299.
- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *Int J Food Microbiol*, 88(2-3), 215-222.
- Gomes, B.C., Esteves, C.T., Palazzo, I.C.V., Darini, A.L.C., Felis, G.E., Sechi, L.A., Franco, B.D.G.M., De Martinis, E.C.P. (2008). Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiol*, 25(5), 668-675.
- Gök Charyyev, M., Özden Tuncer, B., Akpınar Kankaya, D., Tuncer, Y. (2019). Bacteriocinogenic properties and safety evaluation of *Enterococcus faecium* YT52 isolated from boza, a traditional cereal based fermented beverage. *J Consum Prot Food Saf*, 14 (1), 41-53.
- Inoğlu, Z.N., Tuncer, Y. (2013). Safety assessment of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from Turkish tulum cheese. *J Food Saf*, 33(3), 369-377.
- Jaouani, I., Abbassi, M.S., Ribeiro, S.C., Khemiri, M., Mansouri, R., Messadi, L., Silva, C.C.G. (2015). Safety and technological properties of bacteriocinogenic enterococci isolates from Tunisia. *J Appl Microbiol*, 119(4), 1089-1100.
- Kalhotka, L., Manga, I., Přichystalová, J., Hůlová, M., Vyletětlová, M., Šustová K. (2012). Decarboxylase activity test of the genus *Enterococcus* isolated from goat milk and cheese. *Acta Vet Brno*, 81(2), 145-151.

- Kanematsu, E., Deguchi, T., Yasuda, M., Kawamura, T., Nishino, Y., Kawada, Y. (1998). Alterations in the GyrA subunit of DNA gyrase and the ParC subunit of DNA topoisomerase IV associated with quinolone resistance in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 42(2), 433-435.
- Kawamoto, S., Shima, J., Sato, R., Eguchi, T., Ohmomo, S., Shibato, J., Horikoshi, N., Takeshita, K., Sameshima, T. (2002). Biochemical and genetic characterization of mundticin KS, an antilisterial peptide produced by *Enterococcus mundtii* NFRI 7393. *J Appl Microbiol*, 68, 3830-3840.
- Klare, I., Werner, G., Witte, W. (2001). Enterococci. Habitats, infections, virulence factors, resistances to antibiotics, transfer of resistance determinants. *Contrib Microbiol*, 8, 108-122.
- Kucerová, K., Svobodová, H., Tůma, Š., Ondráčková, I., Pločková, M. (2009). Production of biogenic amines by enterococci. *Czech J Food Sci*, 27(2), 50-55.
- Landeta, G., Curiel, J.A., Carrascosa, A.V., Muñoz, R., de Las Rivas, B. (2013). Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. *Meat Sci*, 95(2), 272-280.
- Lee, K. (2005). A media design program for lactic acid production coupled with extraction by electrodialysis. *Bioresour Technol*, 96(13), 1505-1510.
- Liu, D.C., Wu, S.W., Tan, F.J. (2010). Effects of addition of anka rice on the qualities of low-nitrite Chinese sausages. *Food Chem*, 118(2), 245-250.
- Manavalan, J., Kannaiyan, K., Velatyutham, A., Vadivel, S., Kuthalaramalingam, S. (2015). Phenotypic speciation of enterococci with special reference to prevalence, virulence and antimicrobial resistance. *Int J Res Med Sci*, 3(10), 2623-2629.
- Martín, B., Garriga, M., Hugas, M., Bover-Cid, S., Veciana-Nogués, M.T., Aymerich, T. (2006). Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. *Int J Food Microbiol*, 107(2), 148-158.
- Miralles, M.C., Flores, J., Perez-Martinez, G. (1996). Biochemical test 8790 for the selection of *Staphylococcus* strains as potential meat starter cultures. *Food Microbiol*, 13(3), 227-236.
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lodi, R. (2006). Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from North-West Italian dairy products. *Int Dairy J*, 16(8), 867-875.
- Mundy, L.M., Sahm, D.F., Gilmore, M. (2000). Relationship between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*, 13(4), 513-522.
- Ogier, J.C., Serror, P. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiol*, 126(3), 291-301.
- Oladipo, C.I., Sanni, A., Chakraborty, W., Chakraborty, S., Jana, S., Rudra, D.S., Gachui, R., Swarnakar, S. (2015). Technological properties of strains of *Enterococcus gallinarum* isolated from selected Nigerian traditional fermented foods. *Malays J Microbiol*, 11(1), 1-13.
- Özden Tuncer, B., Ay, Z., Tuncer, Y. (2013). Occurrence of enterocin genes, virulence factors, and antibiotic resistance in 3 bacteriocin-producer *Enterococcus faecium* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Turk J Biol*, 37(4), 443-449.
- Özkalp, B., Özden, B., Tuncer, Y., Şanlıbaba, P., Akçelik, M. (2007). Technological characterization of wild-type *Lactococcus lactis* strains isolated from raw milk and traditional fermented milk products in Turkey. *Le Lait*, 87(6), 521-534.
- Reviriego, C., Eaton, T., Martín, R., Jiménez, E., Fernández, L., Gasson, M.J., Rodríguez, J.M. (2005). Screening of virulence determinants in *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *J Hum Lact*, 21(2), 131-137.
- Reyes, K., Zervos, M., John, J. (2017). Enterococcal infections in adults. In: *Antimicrobial Drug Resistance*. Mayers, D.L., Sobel, J.D., Ouellette, M., Kaye, K.S., Marchaim, D. (eds), Clinical and Epidemiological Aspects, Volume 2,

- Springer International Publishing, Berlin, pp. 811-818.
- Ribeiro, S.C., Coelho, M.C., Todorov, S.D., Franco, B.D.G.M., Dapkevicius, M.L.E., Silva, C.C.G. (2014). Technological properties of bacteriocin producing lactic acid bacteria isolated from Pico cheese an artisanal cow's milk cheese. *J Appl Microbiol*, 116(3), 573-585.
- Saavedra, L., Minahk, C., de Ruiz Holgado, A.P., Sesma, F. (2004). Enhancement of the enterocin CRL35 activity by a synthetic peptide derived from the NH₂-terminal sequence. *Antimicrob Agents Chemother*, 48, 2778-2781.
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T. M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. (2001). Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *Int Dairy J*, 11(8), 621-647.
- Serio, A., Chaves-López, C., Paparella, A., Suzzi, G. (2010). Evaluation of metabolic activities of enterococci isolated from Pecorino Abruzzese cheese. *Int Dairy J*, 20(7), 459-464.
- Shokoohzadeh, L., Ekrami, A., Labibzadeh, M., Ali, L., Alavi, S.M. (2018). Antimicrobial resistance patterns and virulence factors of enterococci isolates in hospitalized burn patients. *BMC Res Notes*, 11:1. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-3088-5>
- Singh, K.V., Qin, X., Weinstock, G.M., Murray, B.E. (1998). Generation and testing of mutants of *Enterococcus faecalis* in 880 ort peritonitis model. *J Infect Dis*, 178(5), 1416-1420.
- Trivedi, K., Cupakova, S., Karpiskova, R. (2011). Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs. *Vet Med-Czech*, 56 (7), 352-357.
- Tuncer, M., Özden Tuncer, B., Tuncer, Y. (2014). Çiğ süttten izole edilen enterosin B üreticisi *Enterococcus faecalis* MYE58 suşunun güvenlik değerlendirmesi. *Gıda*, 39(5), 275-282.
- Tuncer, Y. (2009). Some technological properties of phenotypically identified enterococci strains isolated from Turkish tulum cheese. *Afr J Biotechnol*, 8(24), 7008-7016.
- Valenzuela, A.S., Ben Omar, N., Abriouel, H., López, R.L., Veljovic, K., Cañamero, M.M., Topisirovic, M.K.T., Gálvez, A. (2009). Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. *Food Control*, 20(4), 381-385.
- Vankerckhoven, V., Autgaerden, T.V., Vael, C., Lammens, C., Chapelle, S., Rossi, R., Jabes, D., Goossens, H. (2004). Development of a multiplex PCR 880ort he detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol*, 42(10), 4473-4479.
- Yogurtcu, N.N., Tuncer, Y. (2013). Antibiotic susceptibility patterns of *Enterococcus* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Int J Dairy Technol*, 66, 236-242.
- Yüceer, Ö., Özden Tuncer, B. (2015). Determination of antibiotic resistance and biogenic amine production of lactic acid bacteria isolated from fermented Turkish sausage (Sucuk). *J Food Saf*, 35(2), 276-285.
- Zendo, T., Eunggruttanagorn, N., Fujioka, S., Tashiro, Y., Nomura, K., Sera, Y., Kobayashi, G., Nakayama, J., Ishizaki, A., Sonomoto, K. (2005). Identification and production of a bacteriocin from *Enterococcus mundtii* QU2 isolated from soybean. *J Appl Microbiol*, 99, 1181-1190.
- Zommiti, M., Cambronel, M., Maillot, O., Barreau, M., Sebei, K., Feuilloley, M., Ferchichi, M., Connil, N. (2018). Evaluation of probiotic properties and safety of *Enterococcus faecium* isolated from artisanal Tunisian meat "Dried Ossban. *Front Microbiol*, 9, 1685.

KARABAŞOTU ÇAYLARINDA KÂFUR MİKTAR TAYİNİ

Zeynep Oraloğlu¹, Gökalp İşcan^{2*}

¹Düzce Atatürk Devlet Hastanesi, Eczane Birimi, Merkez, Düzce, Türkiye

²Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Tepebaşı-Eskişehir, Türkiye

Geliş / Received: 11.06.2019; Kabul / Accepted: 17.08.2019; Online baskı / Published online: 11.09.2019

Oraloğlu, Z., İşcan, G.. (2019). Karabaşotu çaylarında kâfur miktar tayini. *GIDA* (2019) 44 (5): 881-888 doi: 10.15237/gida.GD19091

Oraloğlu, Z., İşcan, G.. (2019). *Camphor quantification in topped lavender herbal teas*, *GIDA* (2019) 44 (5): 881-888 doi: 10.15237/gida.GD19091

ÖZ

Lavandula cinsi (Lamiaceae) ekonomik ve tıbbi açıdan büyük önem taşıyan uçucu yağ bitkilerinin yer aldığı önemli bir taksondur. Bu cinsin Türkiye’de doğal yayılış gösteren *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis* (Boiss.) Upson & S.Andrews olmak üzere iki türü mevcuttur. Bunlar “karabaşotu, karan, yalancı lavanta, karahan” gibi isimlerle bilinmekte ve halk arasında genellikle birbirinin yerine tıbbi amaçlarla yüzyıllardır kullanılmaktadır. İnfüzyonu ve distilasyonla elde edilen uçucu yağı, analjezik, antiseptik, yara iyi edici, balgam söktürücü, sinir ve kalp kuvvetlendirici gibi etkileri nedeniyle halk arasında kullanılmaktadır. Çalışmamızda, ülkemizin farklı bölgelerinden temin edilen karabaşotu çiçeklerinin uçucu yağ bileşimleri ile hazırlanan çaylarında Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından toksisite dozları yayımlanan kâfurun, kantitatif miktarı ortaya konmuştur. Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi/alev iyonlaşma dedektörü kullanılarak yapılan analizlerde, tüm örneklerden elde edilen uçucu yağların ana bileşenleri olarak kâfur (%7-53) ve fenkon (%27-58) saptanırken, hazırlanan %5 infüzyonlarda ise 4,6-243 µg/mL aralığında kâfur tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Karabaşotu, *Lavandula stoechas*, *Lavandula pedunculata*, kâfur, bitkisel infüzyon

CAMPBOR QUANTIFICATION IN TOPPED LAVENDER HERBAL TEAS

ABSTRACT

Lavandula genus (Lamiaceae) is an important taxon, which contains essential oil plants that have a great economic and medical importance. The genus has two species that are naturally growing in Turkey, *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* (karabaş) and *L. pedunculata* subsp. *cariensis* (Karan). These species, locally known as karabaşotu, karan, yalancı lavanta, karahan and they are generally used interchangeably in folk medicine for medical purposes. Their infusions and essential oils are widely used for their analgesic, antiseptic, wound healing, expectorant, nerve and heart tonic properties. In our study, the essential oil composition of the flowers and camphor quantity in prepared infusions, European Food Safety Authority (EFSA) announced the toxic doses, were determined by using gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography/flame ionization detector. Camphor (7-53%) and fenchone (27-58%) were found as the main components of the oils, whereas the amounts of camphor in %5 infusions were found between the range of 4,6-243 µg/mL.

Keywords: Topped lavender, *Lavandula stoechas*, *Lavandula pedunculata*, camphor, herbal infusion.

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉ giscan@anadolu.edu.tr,

☎ (+90) 222 335 0580

☎ (+90) 222 335 0750

GİRİŞ

Lavandula stoechas L. ve *L. pedunculata* (Mill.) Cav., (Lamiaceae) ülkemizde halk tıbbında başta çay formunda olmak üzere yaygın şekilde tüketilen *Lavandula* cinsinin ülkemizde doğal olarak yetişen iki türüdür (Baytop, 1999; Ertuğ, 2002; Gören vd., 2002; İnan vd., 2013).

Davis'in "Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası" isimli eserinde, *Lavandula stoechas* L.'in subsp. *stoechas* ve subsp. *cariensis* isimli iki alt türü kayıtlıken (Mill, 1982), son çalışmalarla bu iki alttür, *Lavandula pedunculata* subsp. *cariensis* (Boiss.) Upton & S. Andrews ve *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* olarak iki ayrı tür şeklinde kayıt altına alınmıştır (Upton vd.; 2004).

Türkiye bitki örtüsü zenginliği ile orantılı olarak, her yıl binlerce ton tıbbi bitki doğadan toplanmakta veya kültüre alınmakta, bu ürünler bölgesel olarak geleneksel şekilde kullanılmakta veya yurt dışına ihraç edilmektedir (Balaban, 1999; Acibuca ve Budak, 2018).

Ülkemizde doğal olarak yetişen ve halk arasında karabaş otu, gargan otu ya da keşiş otu olarak bilinen karabaşotu yüzyıllardır Anadolu halk hekimliğinde üst solunum yolları problemlerinde, antiseptik ve yara iyi edici etkileri için tedavide kullanılmaktadır (Aryal, 1997; Öztürk vd., 2005). Taşıdığı flavonoidler, saponin ve uçucu yağın bu etkilerden sorumlu oldukları düşünülmektedir (Baytop, 1999). *L. stoechas* (karabaşotu) Akdeniz ülkelerinde ve memleketimizde alçak makide sık rastlanılan, çiçek durumunun tepesinde mor renkli verimsiz brakteler taşıyan bir çalıdır (Baytop, 1996). Halk arasında "Karan" ismiyle bilinen *L. pedunculata* subsp. *cariensis* ise daha ziyade Güney Batı Anadolu'nun kurak tepelerinde yetişen bir türdür. *L. stoechas*'a çok benzer, ancak çiçek durumunun uzun saplı olması diğer türden kolayca ayrılmasını sağlar. Bu iki türün çiçek durumları özellikle çay formunda, aynı amaçlarla birbirinin yerine kullanılmaktadır (Baytop, 1996).

Yapılan uçucu yağ analiz çalışmalarında çiçek durumlarından elde edilen yağlarda ana bileşenlerin genellikle kâfur ve fenkon olduğu belirlenmiştir. (Tanker vd., 1977; Akgün vd.,

2001; Öztürk vd., 2005; Angioni vd., 2006). Bitki haricen antiseptik özellikleri ile genellikle yara iyi edici olarak öne çıkmaktadır (Baytop, 1999). Yapılan bir çalışmada bitkinin çiçeklerinden hazırlanan infüzyon ve yağlı ekstresinin saç dökülmesi ve akne kullanıldığı bildirilmiştir (Kökçü vd., 2015). Melikoğlu ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada ise çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyon ve dekoksionlarının halk arasında dâhilen astım tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir. Yine benzer bir etnobotanik araştırmada yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun halk arasında mide ülseri tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Kültür, 2018).

Lavandula stoechas'ın yaprak ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın kokusu linalol ve linalil asetatça zengin Lavanta (*Lavanta angustifolia* Mill.) esansı gibi hoş olmadığından, parfümeri sanayiinden ziyade ağrı kesici, antiseptik, yara iyi edici, yatıştırıcı, balgam söktürücü, idrar yolları iltihaplarını giderici, egzama yaralarını iyi edici, sinir ve kalp kuvvetlendirici gibi etkileri için kullanılmıştır. Bazı kayıtlara göre Osmanlı İmparatorluğu döneminde, Keşiş Dağında bulunan karabaşotunun, kolera hastalığı tedavisinde kullanılması ve eczanelerde satılması ile ilgili, 1848 tarihli bir padişah fermanı bulunmaktadır (Baytop, 1999).

Bu bitkilerin de uçucu yağlarının ana bileşenleri olan kâfur ve kâfur içeren preparatlar gıda ve ilaç sanayiinde uzun yıllardır yaygın şekilde kullanılmaktadır. En çok soğuk algınlığının evde tedavisi için, inhalerlerin içinde, kâfur içeren uçucu yağlar, taşıyıcı yağda %19-20 kâfur içeren preparatlar ve topikal analjezik olarak kullanılan liniment ve balzamlarda önemli bir etkin madde olarak kullanılmaktadır (Zuccarini, 2009).

Fesleğen, kişniş, kekik, biberiye ve adaçayı gibi sık kullanılan aromatik bitkilerde de belirli miktarlarda yer alan kâfur, gıda ve kozmetik alanlarında kullanımı sınırlandırılmış olup, gastrointestinal kanalda kolayca emilen toksisite riski yüksek bir maddedir (EFSA, 2008).

Akut toksisite belirtileri, merkezi sinir sistemi uyarımı, oral ve gastrik tahriş, bulantı ve kusma, heyecan, halüsinasyonlar, deliryum, titreme, konvülsiyonlar ve idrar retansiyonudur. Lokal olarak, solunum yollarında, deri, göz ve mukoza zarında tahrişe neden olabilir (Tisserand ve Young, 2013). EFSA'nın raporunda akut toksisite dozu 5 g/kg (vücut ağırlığı) olarak belirtilirken, yeterince klinik çalışma olmadığından kronik toksisiteye yol açabilecek dozun 60 kg'lık bir birey için en fazla 15 mg olabileceği ve bu dozun üzerine çıkılmaması yönünde tavsiye verilmiştir (Anonymous, 2008).

Çalışmamızda, ülkemiz yerel marketlerinden ve bazı üreticilerden temin edilen 10 farklı karabaşotu örneğinin botanik incelemeleri yapılarak, tür teşhisi gerçekleştirilmiş,

hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağlarının ana bileşenleri gaz kromatografisi/kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi/alev iyonlaşma dedektörü sistemleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, bu örneklerden hazırlanan çaylarda, gaz kromatografisi/alev iyonlaşma dedektörü kullanılarak kâfur kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitkisel Materyal

Çalışmada kullanılan bitkisel materyal kaynakları, Çizelge 1'de gösterilmiştir. Morfolojik yapısına göre teşhisi yapılan (Şekil 1) örneklerden taze olanlar gölgede kurutulmuş, yaprak ve gövde parçaları uzaklaştırılarak çiçek durumları analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 1. *L. stoechas* subsp. *stoechas* (solda) ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis*
Figure 1. *L. stoechas* subsp. *stoechas* (left) and *L. pedunculata* subsp. *cariensis*

Çizelge 1. Deneyleerde kullanılan bitkisel materyaller.
Table 1. Plant materials used in the experiments.

Örnek/ Sample	Türü/ Species	Kaynağı/ Source
N01	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	Yerel market/Local market, Datça, Emecik, 2017
N02	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	Üretim tesisi/Production facility, Aydın, Nazilli, 2017
N03	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	Web alışveriş sitesi/Web shopping, 2017
N04	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	Üretim tesisi/Production facility, Mersin, 2016
N05	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	Yerel market/Local market, Eskişehir, 2017
N06	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	Yerel market/Local market, Antalya 2016
N07	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	Üretim tesisi/Production facility, Antalya, 2017
N08	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	Doğadan toplandı/Collected Küçük Kumla, Gemlik, 2017
N09	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	Yerel market/Local market, İzmir, Alaçatı, 2017
N10	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	Yerel market/Local market, Eskişehir, 2017

Uçucu Yağ Eldesi

Bitkisel materyalden uçucu yağ elde edilmesi amacı ile Avrupa Farmakopesi'nde tarif edilen laboratuvar ölçekli Clevenger apareyi kullanılmıştır. 50 g kaba toz haline getirilmiş drog 2 L'lik balona doldurulduktan sonra üzerine 1000 mL distile su ilave edilmiştir. 3 saat süre ile distilasyon işlemi sonunda miktarı belirlenen yağ, susuz sodyum sülfattan geçirilerek +4°C'de amber şişelerde muhafaza edilmiştir (Anonymous, 2013).

Uçucu Yağ Analizi

Uçucu yağ örneklerinde 40 µL alınarak, 1 mL *n*-hekzanda çözülmüş Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GK/KS) ve Gaz Kromatografisi/Alev İyonlaşma dedektörü (GK/AİD) sistemleri ile eř zamanlı olarak analizleri gerçekteşirilmifitir. GK sisteminde AİD dedektörü ile tespit edilen bileşiklerin bağlı yüzdeleri belirlenmiştir. GK/KS sistemi ile bileşenlerin kütle spektrumları alınmıştır. Değerlendirme işlemleri Wiley ve MassFinder kütüphane tarama yazılımları kullanılarak yapılmıştır.

GK-AİD analiz koşulları:

Shimadzu 2010 sistemleri kullanılarak yapılmıştır. AİD sıcaklığı 250°C dir. GK/KS sistemi ile uyumlu tutunma zamanları elde edilebilmesi için 25m x 0,25mm Ø, 0,25 mm film kalınlığında CPSil-5CB kolon kullanılmış ve aşağıda verilen sıcaklık programı uygulanmıştır.

GK/KS analiz koşulları:

GK/KS analizlerinde Shimadzu QP2010 Plus sistemleri kullanılmıştır. GK sisteminde kullanılan kolonun aynısı ile taşıyıcı gaz akış hızı 1 mL/dak. olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklık programı, 60°C'de 10 dakika, 4°C/dak artışla 260°C'ye, 260°C'de 5 dak.'dır. Split oranı 50:1'dir. Enjeksiyon portu sıcaklığı 260°C olarak ayarlanmıştır. Kütle spektrumları (MS) 70 eV elektron enerjisi uygulanarak ve m/z 35 - 450 kütle aralığında alınmıştır.

İnfüzyon Hazırlanması ve Kâfur Miktar Tayini

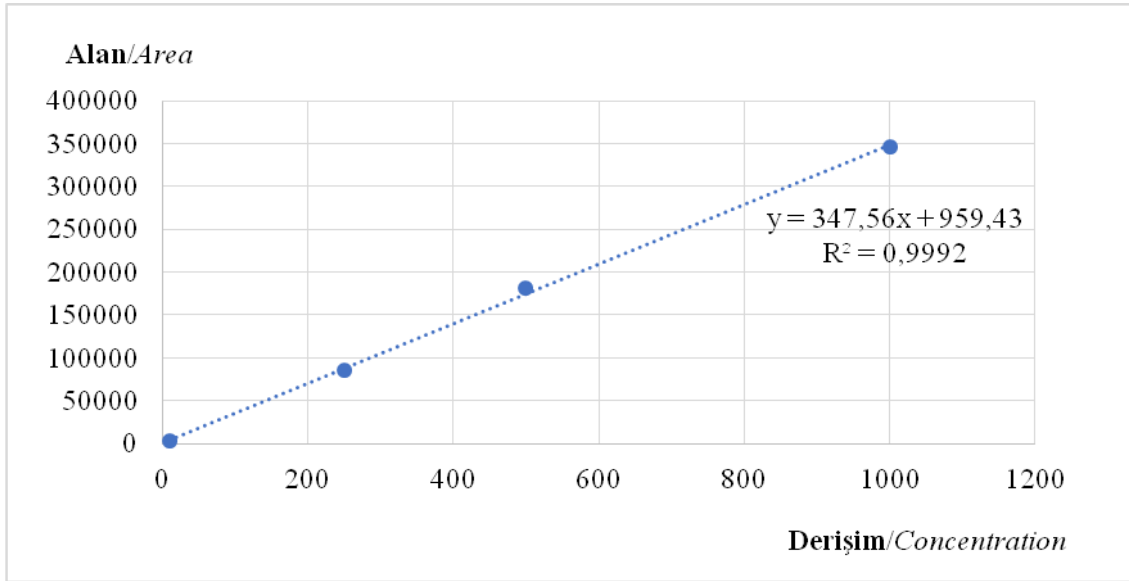
Tunç havanda kaba toz edilmiş, 5'er g örnek 100 mL 80°C distile su ilave edilerek, saat camı ile kapatılmış beherlerde 15-20 dakika demlenmeye bırakılmıştır. Çözeltiler süre sonunda adi süzgeç kâğıdından süzölüp hacimleri kadar *n*-hekzan ile ayırma hunisinde sıvı/sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Ayrılan *n*-hekzanlı kısımlar GK/AİD sisteminde analiz edilmiştir. Miktar tayini için AİD dedektörlü GK kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır (şekil 2.). Bunun için 10-1500 ppm arasındaki derişimlerde hazırlanan saf kâfur (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Her bir numune için elde edilen kâfur derişimi (ppm) ile 1 kupa (yaklaşık 200 mL) çaydan vücuda alınabilecek kâfur miktarı da ayrıca hesaplanmıştır.

Geri kazanım çalışması:

Bu amaçla aynı gün içinde çift paralel olarak tekrarlamak suretiyle, 5'er gram N05 nolu örnek

üzerine 20, 40 ve 60 mg olmak üzere 3 farklı dozda kâfur eklenmiş, üzerine 80°C'de 100 mL distile su eklenerek ara sıra çalkalamak suretiyle 20 dk beklenmiştir. Örnek süzildükten sonra hacmi 100 mL'ye tamamlanmış, ayırma hunisine alınıp üzerine 100 mL *n*-hekzan ilave edilerek ekstre edilmiştir. Ayrılan hekzanlı kısımdan 1 mL alınıp

GK-AİD'de analiz edilmiştir. Üç ayrı dozda elde edilen geri kazanım oranları, Şekil 2'deki kalibrasyon eğrisine göre hesaplanarak %75 olarak tespit edilmiştir. Tabloda verilen sonuçlar bu orana göre hesaplanmıştır.



Şekil 2. Kâfur miktar tayini için hazırlanan kalibrasyon eğrisi.

Figure 2. Calibration curve for the camphor quantification

BULGULAR

Uçucu Yağ Analizi

Clevenger aparatı kullanılarak 3 saatlik su distilasyonu ile kuru drog üzerinden hesaplanmış uçucu yağ verimleri % 0,5-2,5 aralığında tespit edilmiştir. Uçucu yağ verimleri başta bitkinin türü ile değişmekle birlikte genellikle toplanan bitkinin kurutma şartları ve depolama süresi ile ilgili kalite standartlarını da ortaya koymaktadır.

L. stoechas subsp. *stoechas* ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis* örneklerinden elde edilen uçucu yağların bileşimleri GK-AİD ve GK/KS sistemleri ile belirlenmiş, ana bileşenler (bağıl %) fenkon (% 26,4-57,5), kâfur (%7,4-43,8), kadinol (%1,0-8,5), mirtenil asetat (%1,0-7,5), bornil asetat (%1,0-5,1), verbenol (%1,0-3,8) ve 1,8-sineol (%1,0-3,1) olarak tespit edilmiştir.

L. stoechas subsp. *stoechas* uçucu yağlarında kâfur oranı %7,4 ile 43,8 arasında iken, fenkon oranının

%26,5 ile 57,5 arasında değişmekte olduğu görülmüştür. *L. pedunculata* yağlarında ise fenkon miktarları %26,7 ile %31,7 arasında iken, kâfur miktarları nispeten daha yüksek olmak üzere %33,7 ile %41 aralığında tespit edilmiştir (Çizelge 2.). Bir örnek hariç olmak üzere *L. stoechas* subsp. *stoechas* türü uçucu yağlarında ana bileşenin fenkon olduğu görülmektedir.

Karabaşotundan Hazırlanan İnfüzyonlarda Kâfur Miktar Tayini

Uçucu yağlarının ana bileşenlerinden olan kâfurun bilinen kronik toksisitesi ile ilgili EFSA'nın raporları dikkate alınarak iki türe ait çiçek durumlarından hazırlanan infüzyonlarda kronik toksisiteye sebep olabilecek kâfur miktarı ortaya konması amaçlanmıştır. Hazırlanan %5'lik infüzyon örneklerinde kâfur miktarları, yapılan geri kazanım deneyi sonuçlarına (%75) göre hesaplanarak, Çizelge 3'de verilmiştir. EFSA raporlarında 60 kg'lık bir birey için günlük "15

mg'' üzerindeki dozlara çıkılmaması önerilmektedir. Analiz edilen 10 farklı çay örneğinde kâfur miktarları 4,6 ile 243,6 µg/mL aralığında tespit edilmiştir. Günlük alım dozu 1 kupa çay (200 mL) üzerinden hesaplandığında 5,

7, 8 ve 10 kodlu *L. pedunculata* subsp. *cariensis*'e ait çay örneklerinde kronik toksisite limitinin aşıldığı görülmüştür.

Çizelge 2. Uçucu yağ numunelerinde belirlenen kâfur ve fenkon bağıl yüzde değerleri.

Table 2. The relative percentages of camphor and fenchone determined in essential oil samples.

Ana bileşenler/Main compounds	N1*	N2*	N3*	N4	N5	N6	N7	N8	N9*	N10
Fenkon	54,26	57,51	45,87	26,74	28,67	27,65	27,98	27,41	26,47	31,69
Kâfur	12,24	7,45	34,86	39,53	40,86	37,4	33,65	52,32	43,84	37,96

**L. stoechas* subsp. *stoechas*

Çizelge 3. Infüzyonlardaki kâfur miktarları

Table 3. Camphor quantity in infusions

Örnek/Sample	Tür/Species	Kâfur ^(a) (µg/mL)	Kâfur ^(b) (mg/200 mL)
N01	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	18,3	3,6
N02	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	4,6	0,9
N03	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	61,0	12,2
N04	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	19,0	3,8
N05	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	98,1	19,6*
N06	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	29,9	5,9
N07	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	135,2	27,0*
N08	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	243,6	48,7*
N09	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	63,3	12,6
N10	<i>L. pedunculata</i> subsp. <i>cariensis</i>	80,4	16,0*

^(a)0,5'lik infüzyon derişimi, ^(b)1 kupa (yaklaşık 200 mL) çaydan alınabilecek toplam miktar, *: EFSA raporuna göre 60 kg'lık bir birey için önerilen üst limit değerin (15 mg) üzerinde

^(a) Concentration in 5% infusion, ^(b) Total quantity in 1 cup of tea (approximately 200 mL) *: Over the maximum suggested limits (15 mg) for a body weight 60kg according to EFSA report

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamız kapsamında halk arasında karabaş otu olarak bilinen ve genelde aynı amaçlarla birbiri yerine kullanılan, *L. stoechas* subsp. *stoechas* ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis* türlerinin doğal ve kültür formları çeşitli kaynaklardan temin edilerek uçucu yağlarındaki ana bileşenler belirlenmiştir. 10 numunenin uçucu yağ bileşiminde ortak olan ve ana bileşenlerden biri olarak belirlenen kâfurun bilinen kronik toksisitesi ile ilgili EFSA'nın raporları dikkate alınarak iki türden hazırlanan infüzyonlarda kronik toksisiteye sebep olabilecek kâfur miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Kâfurun suda çözünürlüğü düşük olmasına karşın (1,25 gr/litre), sıcak sudaki çözünürlüğü yüksektir ve karabaşotundan hazırlanan çaylarda

miktarlarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu amaçla öncelikle hidrodistilasyon ile uçucu yağlar elde edilerek verimleri kaydedilmiştir. Yağ verimleri incelenen benzer uçucu yağ çalışmaları kıyaslandığında benzer aralıklarda (%0,5-2) olduğu görülmüştür (Hafez Ghoran vd., 2015; Dob vd., 2006; Öztürk vd., 2005, Gören vd., 2002, Tanker 1977).

L. stoechas subsp. *stoechas* ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis* örneklerinde elde edilen uçucu yağların GK-AİD ve GK/KS sistemleri ile her türde ortak bileşenler olarak bu alanda önceden yapılmış çalışmalarla benzer şekilde kâfur ve fenkon

belirlenmiştir. *L. stoechas* uçucu yağlarında fenkon miktarının genel olarak yüksekken, kâfur miktarının daha düşük olduğu görülmektedir. Ancak N9 no'lu örnekte bu genellemenin aksine, kâfur oranı (%43,8) fenkon (%26,47) oranına göre daha yüksek bulunmuştur. *L. pedunculata* yağlarında ise fenkon miktarının kâfur miktarına göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızla bu iki tür için yapılan farklı çalışmalar kıyaslandığında çalışmamızla benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Farklı ülkelerde *L. stoechas* subsp. *stoechas* ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis* bitkileri için yapılan uçucu yağ çalışmalarında GK/KS ve GK/AİD analizi sonuçlarına bakıldığında, genel olarak *L. stoechas* subsp. *stoechas* bitkisinde fenkon oranı kâfurdan yüksek iken (Kırmızıbekmez vd., 2009; İnan vd., 2013; Angioni vd., 2006; Ghica vd., 2016), *L. pedunculata* subsp. *cariensis* bitkisinde kâfur oranı fenkon oranına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tzakou vd., 2009; Akgün vd., 2001). Ülkemizde *L. stoechas* subsp. *stoechas* türü için yapılan iki çalışmada kâfur oranı fenkondan yüksek bulunmuştur (Öztürk vd., 2005; Karaca vd., 2018).

Kâfurun bilinen kronik toksisitesi ile ilgili olarak Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi raporunda 60 kg'lık bir birey için günlük kronik toksisite üst dozunun 15 mg olduğunu duyurmuştur. Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre uçucu yağlarda ana bileşen olarak görülen bu uçucu bileşenin, sıcak su ile hazırlanan ekstrelelere belirli oranlarda geçtiğini göstermiştir. Ayrıca analiz sonuçlarına göre, Karan olarak isimlendirilen *L. pedunculata* subsp. *cariensis* türünün doğal olarak kâfuru yüksek oranda taşıdığı, bu bitkiden hazırlanan çayların da yüksek oranda kâfur içerdiği anlaşılmıştır. Özellikle doğadan toplanan N08'nolu örneğin çiçek durumlarından hazırlanan çayda 243,6 µg/mL kâfur tespit edilmiştir. Bu bitkiden hazırlanarak tüketilecek çayın 1 kupasında 49 mg kâfur olduğu ve bu bileşiğin düzenli olarak vücuda alınabileceği görülmektedir. Bu değer kâfur güvenli kullanım dozu limit değerinin yaklaşık 3 katına karşılık geldiği görülmüştür. Bitkilerdeki kâfur oranı ve çalışmamızda test ettiğimiz örnekler arasındaki

kalite farklılıkları ve ülkemizdeki kontrolsüz satışlar düşünüldüğünde, bu bitkilerin mutlaka standardize edilerek istenen içeriğe sahip doğru bitki türünün kültürünün yapılması ve kâfur içeriğinin belirli aralıklarla kontrol edilme gerekliliğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- Acıbuca, V., Budak, D. B. (2018). Dünya'da ve Türkiye'de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve önemi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1): 37-44.
- Akgün, N. A., Akgün, M., Dinçer, S., Akgerman, A. (2001). Supercritical fluid extraction of *Lavandula stoechas* L. ssp. *cariensis* (Boiss.) Rozeira. *J Essent Oil Res*, 13(3): 143-148.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *J Agric Food Chem*, 54(12): 4364-4370.
- Anonymous (2008). Camphor in flavourings and other food ingredients with flavouring properties-opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission. *EFSA Journal*, 6(7): 729.
- Anonymous (2013). Ph. Eur. (2013a). Council of Europe. European Pharmacopoeia. 8th. Ed. Strasbourg: Council of Europe. Methods in Pharmacognosy, 274.
- Ayral, N. M. (1997). *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinin uçucu yağının ve uçucu olmayan organik bileşenlerinin incelenmesi ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 176 s.
- Balaban, M., Atik, C., Uçar, G. (1999). Bazı odun dışı orman ürünlerinin eterik yağ bileşimi. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 49(2): 105-114.
- Baytop, A. (1996). *Lavandula* L. *Farmasötik botanik ders kitabı*. İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 282-284 s.

- Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. 2. baskı. Nobel Kitap Evi, İstanbul, Türkiye, 284-285 s.
- Dob, T., Dahmane, D., Agli, M., Chelghoum, C. (2006). Essential oil composition of *Lavandula stoechas* from Algeria. *Pharm Biol*, 44(1): 60-64.
- Ertuğ, F. (2002). Bodrum yöresinde halk tıbbında yararlanılan bitkiler. Başer, K.H.C. ve Kırmır N. (Editörler.). 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir.
- Ghica, M. V., Albu, M. G., Kaya, D. A., Popa, L., Öztürk, Ş., Rusu, L. C., DinuPîrvu, C., Chelaru, C., Albu, L., Meghea, A., Nitipir, C. (2016). The effect of *Lavandula* essential oils on release of niflumic acid from collagen hydrolysates. *Korean J Chem Eng*, 33(4): 1325-1330.
- Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmuş, Z., Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Z Naturforsch Sect C J Biosci*, 57(9-10): 797-800.
- Hafez Ghoran, S., Azadi, B., Hussain, H. (2015). Chemical composition of the volatile oils of three *Lamiaceae* species growing wild in North of Iran. *J Herbal Drugs*, 6(1): 23-29.
- İnan, M., Kaya, D. A., Albu, M. G. (2013). The effect of lavender essential oils on collagen hydrolysate. *Rev Chim*, 64: 1037-42.
- Karaca, N., Demirci, B. ve Demirci, F. (2018). Evaluation of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* L., *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* L. essential oils and their main components against sinusitis pathogens. *Z Naturforsch Sect C J Biosci*, 73(9-10): 353-360.
- Kırmızıbekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Başer, K. H., Demirci, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey. *Nat Prod Commun*, 4(7): 1001-1006.
- Kökçü, B., Esen, O., Uysal, İ. (2015). Medicinal plants sold in Çanakkale/Turkey city center herbalists. *BioDiCon*, 8(3): 80-91.
- Kültür, Ş., Altınbaşak, O., Anıl, S., Melikoğlu, G. (2018). Türkiye’de mide ülserinde kullanılan tıbbi bitkiler. *Marmara Pharm J*, 22(1): 1-14.
- Melikoğlu, G., Kurtoğlu S., Kültür, Ş. (2015). Türkiye’de astım tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bitkiler. *Marmara Pharm J*, 19(1): 1-11.
- Mill R. R. (1982). *Lavandula* L., *Flora of Turkey and the East Aegean Island*, Davis. P. H. (baş. ed.), Edinburgh: Edinburgh Univ. Press. Vol. 7, pp. 76-77.
- Öztürk, B., Konyalıoğlu, S., Kantarcı, G., Çetinkol, D. (2005). İzmir yöresindeki yabani *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* taksonundan elde edilen uçucu yağın bileşimi, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan kapasitesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 15(1): 61-72.
- Tanker, N., Şarer, E., Başaran, V. (1977). *Lavandula stoechas* L. bitkisinin uçucu yağı üzerinde farmakognozik araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1(7): 61-66.
- Tisserand, R. ve Young, R. (2013). *Essential Oil Safety-E-Book: A Guide for Health Care Professionals*. Elsevier Health Sciences, 27 p.
- Tzakou, O., Bazos, I., ve Yannitsaros, A. (2009). Essential oil composition and enantiomeric distribution of fenchone and camphor of *Lavandula cariensis* and *L. stoechas* subsp. *stoechas* grown in Greece. *Nat Prod Commun*, 4(8): 1103-1106.
- Upson, T., Andrews, S., Harriott, G. (2004). *The genus Lavandula*. Portland: Timber press, s. 78-85.
- Zuccarini, P. (2009). Camphor: risks and benefits of a widely used natural product. *J Appl Sci Environ Manag*, 13(2): 69-74.

DETERMINATION OF FE, CU AND ZN CONTENT IN SOME SPICES SOLD WITHOUT PACKAGING IN VAN

Ufuk Mercan Yücel^{a*}, Nurhayat Atasoy^b

^aYüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, Van, Turkey

^bYüzüncü Yıl University, Faculty of Science, Department of Chemistry/Biochemistry Section, Van/Turkey

Received / Geliş: 02.02.2019; Accepted / Kabul: 02.09.2019 Published online / Online baskı: 19.09.2019

Yücel, U.M., Atasoy, N. (2019). Determination of Fe, Cu and Zn content in some spices sold without packaging in Van. GIDA (2019) 44 (5): 889-897 doi: 10.15237/gida.GD19032

Yücel, U.M., Atasoy, N. (2019). Van ilinde ambalajsız olarak satışa sunulan bazı baharat çeşitlerinde Fe, Cu ve Zn düzeylerinin belirlenmesi. GIDA (2019) 44 (5): 889-897 doi: 10.15237/gida.GD19032

ABSTRACT

The content of Fe, Cu, and Zn present in black pepper, cumin and red pepper available at herb stores and local markets in Van were determined using ICP-MS. The Fe content was 557.5 mg/kg, 467 mg/kg, 122.5 mg/kg, the Cu content was 19.4 mg/kg, 12.3 mg/kg, 11.9 mg/kg, and the Zn content was 17.6 mg/kg, 36.5 mg/kg, 11.9 mg/kg in black pepper, cumin, and red pepper, respectively. The highest Fe, Cu and Zn content were found in black pepper and the lowest Fe, Cu and Zn content in red pepper. The results showed that the Cu and Zn content determined in black pepper, cumin, and red pepper was below the WHO standards and the Fe content determined in black pepper and cumin was found to exceed the WHO standards. Therefore, continuous heavy metal analysis in terms of Fe, especially in black pepper and cumin, is essential for human health.

Keywords: Spice, iron, zinc, copper

VAN İLİNDE AMBALAJSIZ OLARAK SATIŞA SUNULAN BAZI BAHARAT ÇEŞİTLERİNDE FE, CU VE ZN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZ

Van ilinde baharatçı ve yerel marketlerden temin edilen karabiber, kimyon ve kırmızıbiberdeki Fe, Cu ve Zn düzeyleri ICP-MS cihazında tespit edildi. Karabiber, kimyon ve kırmızıbiberde Fe düzeyi sırasıyla 557.5 mg/kg, 467 mg/kg, 122.5 mg/kg, Cu düzeyi sırasıyla 19.4 mg/kg, 12.3mg/kg,11.9 mg/kg, Zn düzeyi sırasıyla 17.6 mg/kg, 36.5mg/kg, 11.9 mg/kg'dı. Analiz sonucunda en yüksek Fe, Cu ve Zn düzeyinin karabiberde, en düşük Fe, Cu ve Zn düzeyinin ise kırmızıbiberde olduğu belirlendi. Karabiber, kimyon ve kırmızıbiberde tespit edilen Cu ve Zn düzeyleri WHO'nun bildirdiği limitlerin altında, karabiber ve kimyonda tespit edilen Fe düzeyi ise WHO'nun bildirdiği limitlerin üstündeydi. Bu nedenle, özellikle karabiber ve kimyonda Fe yönünden ağır metal analizlerinin devamlı yapılması insan sağlığı açısından gereklidir.

Anahtar kelimeler: Baharat, demir, çinko, bakır

*Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: umercan@yyu.edu.tr

☎:(+90) 530 464 1614

☎:(+90) 432 2251/127

INTRODUCTION

Spices are the dried bits of plants and are added to meals in small amounts. They are widely used for both home and industrial purposes to enhance the color, flavour, and palatability of foods. Black pepper is derived from fruits of the trees in the Piperaceae family (*Piper nigrum*), which are collected before they are not fully ripe. Black pepper is added in meat dishes, salads and sauces to increase pungency of the food. Red pepper (*Capsicum annuum*) is used in a variety of dishes, such as salads, soups, meat dishes, and some sauces. Cumin (*Cuminum cyminum*) is indigenous to Egypt and India. It is also grown in Konya and Ankara in our country. It is used to add a unique flavor to dishes, such as soups, meat dishes, sauces and fish (İzer, 1997).

The Codex Alimentarius Commission (CAC) identified food contaminants as chemicals that are contaminated as a result of production, processing, preparation, storage, packaging, transportation or environmental pollution, although they are not intentionally added to food (Codex Alimentarius Commission, 2011). In recent years, heavy metals are among the most dangerous food contaminants that threaten human health (Jarup, 2003). In the list of heavy metals, there are more than 60 metals including Pb, Cd, Fe, Co, Cu, Ni, Hg, and Zn. Some of these metals (Fe, Mg, Zn, Cu, Mn) are also essential for the proper functioning of biochemical processes in the human body. These trace metals are taken up the body from potable water, food, and inspiration. However, high levels of these essential heavy metals accumulate in the body and may cause acute or chronic toxicity (Kahvecioglu et al., 2003).

Heavy metals are one of the global contaminating factors that pose danger and risk to humans and all living organisms. Environmental pollution problems have started to arise due to factors such as rapid industrialization, transition to modern agriculture, urbanization, domestic and industrial wastes, close proximity of the cultivation areas to the city, heavy metals emitted from the chimney smoke or the exhausts of motor vehicles and distorted urbanization due to the rapidly

increasing population in the world (Stresty and Madhava, 1999). Increasing environmental contamination has also caused soil contamination to increase to a level where it poses risks for living organisms. The major soil pollutants heavy metals are Cd, Cr, Hg, Pb, Cu, and Zn. These heavy metals accumulate in plant tissues and enter foods by the food chain (Çağlarırnak and Hepçimeni, 2010). Nutrition sources are contaminated through food-chain as a result of environmental and soil contamination, which may cause serious health conditions (Vural, 1993). In particular, heavy metal accumulation changes the physiological and genetic structure in the organisms (Öktüren and Sönmez, 2006; Okçu et al., 2009).

The aim of this study is to determine the levels of Fe, Cu, and Zn in the spices widely used in Van for flavoring such as red pepper, black pepper and cumin, and to evaluate the potential risks to public health. Spices are added in foods and consumed daily, so to be aware of the heavy metal content of spices is essential for human health.

MATERIAL AND METHOD

Reagents

Analytical grade nitric acid, perchloric acid (Merck, Germany) and deionised water (Milli-Q System, Millipore, Billerica, USA) were used for the preparation of all solutions. All plastic and glassware were soaked in 10% (v/v) HNO₃ overnight and rinsed with deionised water prior to use. Multielement ICP-MS calibration standard (İnorganic Ventures, USA) was used as standard solution for Fe, Cu, and Zn.

Sample collection

A total of 75 samples of red pepper, black pepper and cumin were obtained from herb stores and local markets in Van. These samples were taken from each sack with a probe to correspond to 1 sample per 300 kg. The samples were put into sterile bags and delivered to the laboratory in a short time in order to prevent air and high temperature.

The samples were preserved in the packages at room temperature until they were analyzed.

Sample preparation

For determination of heavy metal concentrations, a wet digestion of the dried samples was done according to the method described by Allen (1986) using % 65 HNO₃ and HClO₄ mixture. Each sample was weighed about 0.5 g and then combined with a 10 ml of 3:1 acid mixture (HNO₃ and HClO₄). After waiting for a while, the mixture was heated up to 70°C until a transparent solution was obtained. The clear solution was transferred into 25 ml volumetric flask, and completed to the mark with double distilled deionized water. Blanks were also prepared according to the same digestion procedure for comparison.

Measurement of heavy metals

The metal content analysis of the samples was performed with an ICP-MS device (Thermo Scientific UK, X Series 2). For each of 75 spice samples, three parallel samples were analyzed and the final results were expressed by taking the average of the results of three measurements. Calibrations were carried out using a multi element ICP-MS Standard provided from Inorganic Ventures (Christiansburg, VA, USA) with Fe, Cu and Zn concentrations of 98 µg/L, 23 µg/L and 79 µg/L, respectively. The limits of detection (LODs), defined as the concentration of each element corresponding to three times the Standard deviation of 10 reagent blanks, were 0.021, 0.003 and 1,77 µg/g for Fe, Cu, and Zn respectively. The limits of quantification (LOQs), defined as the concentration of each element corresponding to 10 times the standard deviation of 10 reagent blanks, were 0.069, 0.010, and 5.84 µg g⁻¹ for Fe, Cu, and Zn respectively. The accuracy and precision of the digestion procedure was carried out in cumin samples by spiking the analyzed samples with aliquots of metal standard

and then reanalyzing the samples. All the spiked samples were digested following the procedure described earlier in triplicates. Percentage of recoveries obtained was 95.4, 93.8, 91.5 % for Fe, Cu, and Zn respectively and the relative Standard deviations (RSDs) of replicates were less than 10%.

Statistical analysis

Data was analyzed with IBM SPSS V23. The Fe, Cu and Zn parameter was assessed by one-way analysis of variance. Tukey HSD, a multiple comparison test, was used. The results were shown as average ± standard deviation. $P < 0.001$ was chosen as the significance level.

Human Health Risk Assessment:

Human health risk assessment was carried out with the estimation of the daily consumption of an individual, in order to determine the "safe" daily intake, which is the amount considered tolerable. The exposure rate to heavy metals was calculated by the below formula according to the average metal concentration detected in the samples, assumed 20 g daily intake consumed by 50 kg body weight (ATSDR, 2016).

Calculation of the daily heavy metal intake:

$$EDI = HMC \times TDI / 1000 / ABW$$

EDI: Estimated daily intake (mg/kg/day)

HMC: Heavy metal concentration,

TDI: The daily intake (20 g)

ABW: Average body weight (50 kg)

RESULTS

The contents of Fe, Cu and Zn in black pepper, cumin, and red pepper were presented in Table 1. The values of metal concentrations were compared with the maximum permissible concentration as recommended by WHO (1984).

Table 1. The Fe, Cu and Zn content found in black pepper, cumin and red pepper

Spices	n	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	<i>p</i>
Black pepper	25	557.5±315.83 ^a	19.4±7.2 ^a	17.6±7.56 ^a	<0.001
Cumin	25	467±225.5 ^a	12.3±3.9 ^b	36.5±14.1 ^b	<0.001
Red pepper	25	122.5±48.1 ^b	11.9±5.2 ^b	11.9±2.02 ^c	<0.001
WHO limit (mg/kg) (1984)		300	50	100	

a, b, c: There is no difference between the groups with the same letter on the same line for each parameter.

Fe contents of spice samples are given in Table 1 and Figure 1. The mean values of Fe analysis showed differences among the groups ($P < 0.001$). The mean value was found 557.5 mg/kg in black pepper, 467 mg/kg in cumin and 122.5 mg/kg in red pepper. While there was no difference statistically between the mean values of black

pepper and cumin, red pepper appeared to be significantly lower than the others (Figure 1). As comparing with standard limit, the blackpepper and cumin sample had the highest content of Fe that far exceeds the permissible level recommended by WHO (1984) (Table 1).

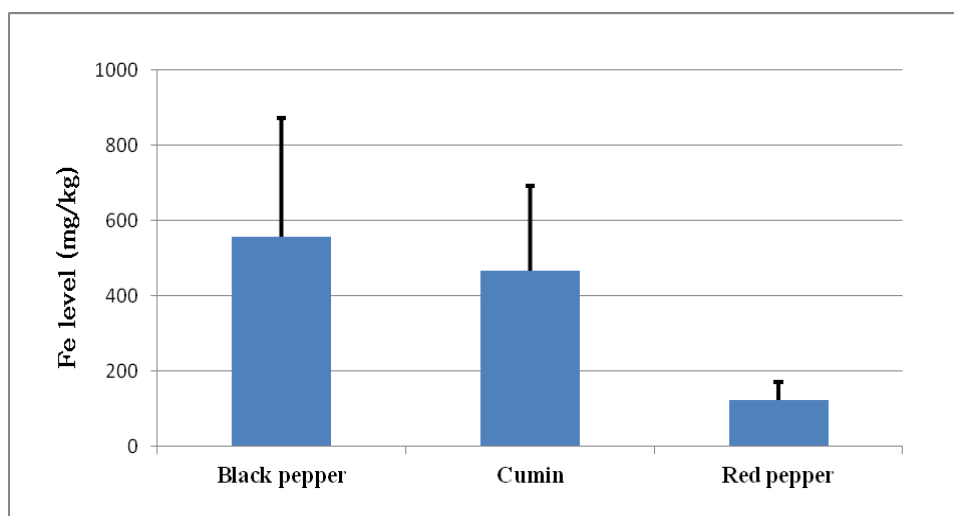


Figure 1. Levels of Fe in spice samples

As shown in Table 1, the mean values of Cu analysis showed differences among the groups ($P < 0.001$). The mean value was 19.4 mg/kg in black pepper, 12.3 mg/kg in cumin and 11.9 mg/kg in red pepper. The mean value in cumin and red pepper showed no statistical difference

($P > 0.001$) while the mean value in black pepper appeared significantly higher than the others (Figure 2). The concentrations of Cu of all the samples were lower than the maximum permissible concentration (50mg/kg) of Cu (WHO, 1984).

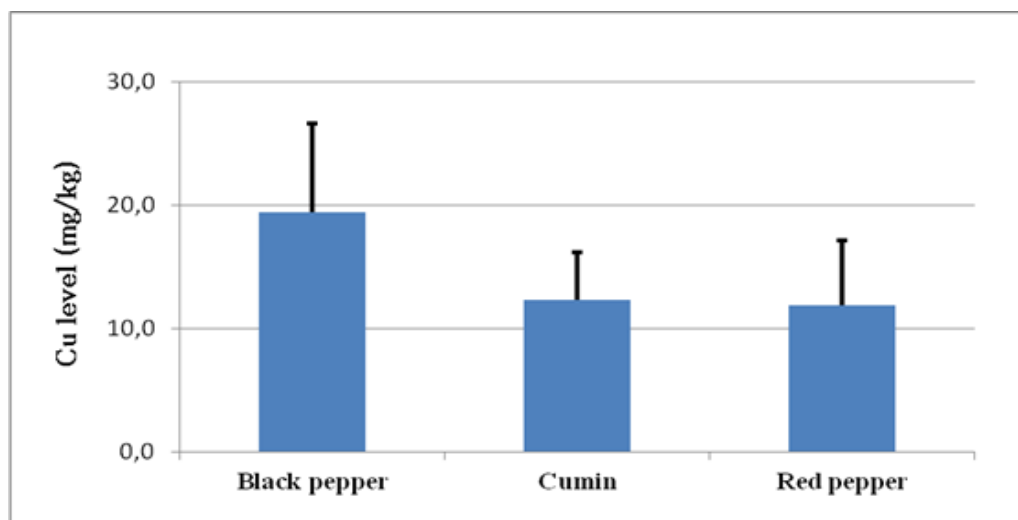


Figure 2. Levels of Cu in spice samples

The mean values of the Zn analysis differ among the groups ($P < 0.001$) in Table 1. The mean value was found 17.6 mg/kg in black pepper, 36.5 mg/kg in cumin and 11.9 mg/kg in red pepper. There were differences between the mean values of black pepper, cumin, and red pepper. The

lowest mean value was found in red pepper, while the highest value was found in cumin (Figure 3). The concentrations of Zn of all the samples were lower than the maximum permissible concentration (100mg/kg) of Zn (WHO, 1984).

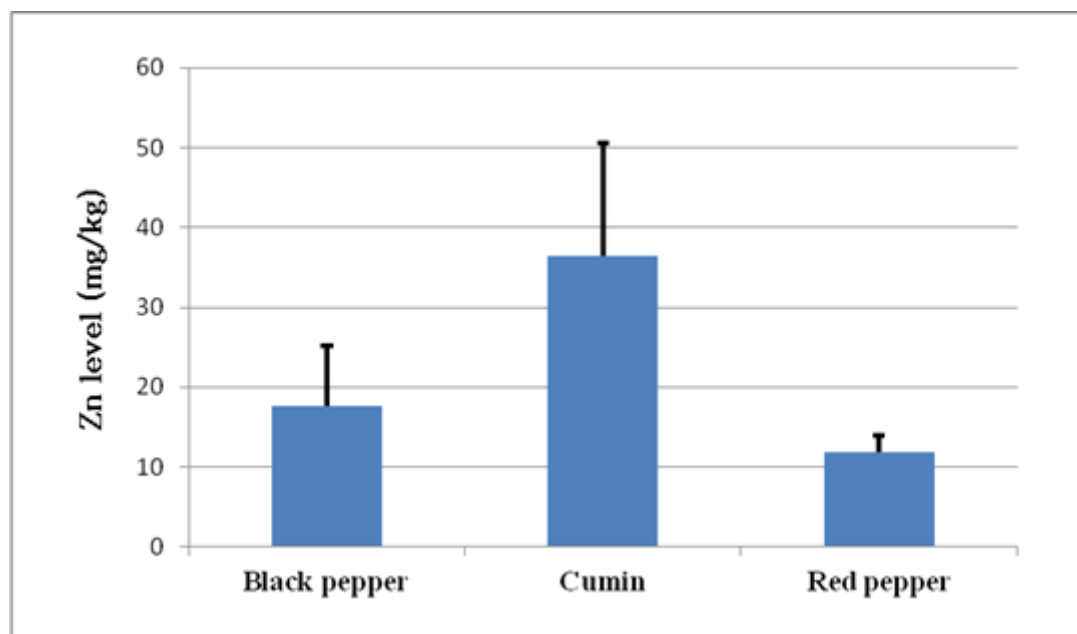


Figure 3. Levels of Zn in spice samples

The results of comparison of the daily intake (1mg/kg/day) calculated according to the average amount of heavy metals detected in spices with

the minimum risk level (MRL) determined for heavy metals are given in Table 2.

Table 2. Comparison of the daily intake (1mg/kg/day) calculated according to the average amount of heavy metals detected in spices with the minimum risk level (MRL) determined for heavy metals.

Spices	Fe (mg/kg/day)	Cu (mg/kg/day)	Zn (mg/kg/day)
Black pepper	223×10^{-2}	7.8×10^{-3}	7×10^{-3}
Cumin	187×10^{-2}	4.9×10^{-3}	14.6×10^{-3}
Red pepper	49×10^{-2}	4.8×10^{-3}	4.8×10^{-3}
WHO MRL (1993)	70×10^{-2}	10×10^{-3}	300×10^{-3}

It was calculated assuming that a 50 kg weighing person consumed 20 g of spices daily.

DISCUSSION

Metals are not present in the natural structure of food, but can be transmitted to food in various ways. Due to the wear and tear of the machine parts during the grinding of spices in mills,

contamination with heavy metals may occur. In addition, heavy metals can be transported from these machines, tools and materials, packaging materials, which are in contact with foodstuffs such as spices. Spices are continuously consumed

in small amounts together with foods, so metals can accumulate in the human body and cause various health problems by consuming spices contaminated with heavy metals (Janitha et al., 1988). Therefore, routine checks and analysis of

spices should be performed regularly. There are many studies analyzing heavy metal content in spices. Comparison of Fe, Cu and Zn values in this study with other studies presented in Table 3.

Table3. Comparison heavy metal concentration in this study with previous studies.

Literature and sample location	Spices	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)
This study, Turkey (Van)	Black pepper	557.5	19.4	17.6
	Cumin	467	12.3	36.5
	Red pepper	122.5	11.9	11.9
Ansari et al. (2004), Pakistan (Multan)	Black pepper	155	14.3	5
	Cumin	482	17	43
	Red pepper	3708	141	22.8
Krejpcio et al. (2007), Poland	Black pepper	-	5.44	7.15
	Cumin	-	5.11	17.88
	Red pepper	-	7.07	14.20
Ibrahim et al.(2012), Iraq (Erbil)	Black pepper	390	19.2	29.4
	Cumin	222.3	9.3	44
	Red pepper	-	-	-
Umar and Zubair (2014), Nigeria (Abuja)	Black pepper	275	8.9	40
	Cumin	2401	32.6	5
	Red pepper	191	10.4	42.5
Seddigi et al. (2016), Saudi Arabia	Black pepper	144	10.5	7.5
	Cumin	84.8	6	19.4
	Red pepper	192	8.7	10.2
Bazargani-Gilani and Pajohi-Alamoti (2017), Iranian (Hamedan)	Black pepper	222.33	9.92	11.40
	Cumin	98.3	3.31	5.46
	Red pepper	56.79	8.38	9.53

Fe is an essential element for vital functions. But excess iron accumulation causes damage to the organisms. The balance of Fe-blood levels in the body is principally controlled by modulation of the absorption of dietary Fe in the proximal intestine (Özsürekci, 2009). On average, 2-6 grams of Fe are stored in the body. 65% of the body Fe is found in hemoglobin, 25% contained in an Fe store, 10% in the myoglobin and the remaining in a variety of enzymes (Diri, 2007). Fe causes toxicity in the body as the human body has no mechanisms for the excretion of Fe. Therefore, the balance of Fe is mediated through a balancing mechanism that regulates the Fe absorption and excretion (Özsürekci, 2009). In

this study, the level of Fe found in black pepper and cumin exceeds the maximum permissible limit recommended by WHO (Table 1). The high levels of Fe might be the result of the contamination during the grinding process. In previous studies, it was pointed out that spices are 3 to 5 times more contaminated with heavy metals in commercial grinders due to wear and tear of the machine parts of the mills (Janitha et al., 1988). Ibrahim et al. (2012) found higher Fe values in black pepper; Ansari et al. (2004), Singh et al. (2006) and Nkansah and Amoako (2010) found higher Fe values in cumin which were exceeding the maximum permissible limit. These results are in correlation with our study. In addition, Mubeen

et al. (2009) found that the level of Fe (144.5-1260 mg/kg) in the spices of two of the most popular Pakistani brands were higher compared to the other metals. The daily intake of Fe determined in this study exceeds the MRL standards recommended by WHO for black pepper and cumin (Table 2). Therefore, consuming these spices may pose a risk to health.

Cu is both an essential and toxic element for many living creatures. Cu has the greatest catalytic activity among all other elements. It reacts with proteins and accelerates the chemical reactions. It is also necessary for carbohydrate/lipid metabolisms. Though only a trace amount is sufficient for functioning; Cu intake in excess of the nutrient needs can be toxic (Aksoy, 2000; Şahan, 2003). Cu is found in various foods such as oilseeds, whole grains, liver and other organs, seafood (Temurci and Güner, 2006). However, the Cu levels in foods are gradually increasing as a result of the contamination due to various factors such as industrial operations or toxic pesticides (Vincevica-Gaile and Klavins, 2012). Intake of Cu at excess level is toxic and inhibits the functions of some enzymes in the body. This inhibition of vital activities of enzymes by Cu may cause liver dysfunction. It can cause liver necrosis and eventually result in death. In addition, symptoms such as epigastric pain, nausea, vomiting, and diarrhea are observed due to an excessive Cu intake. Excessive Cu levels may damage the brain, kidney, and cornea and also causes dementia by affecting the nervous system (Aksoy, 2000; Şahan, 2003; Temurci and Güner, 2006). Our study reveals that all values of Cu found in the spices fall short of the MRL standards recommended by WHO (Table 2). In other studies (Ansari et al., 2004; Krejpciove et al., 2007; Ibrahim et al., 2012; Umar and Zubair, 2014; Bazargani-Gilani and Pajohi-Alamoti, 2017); the Cu content in black pepper, cumin, and red pepper are similar to the values obtained in this study. However, the level of Cu reported by Ansari et al. (2004) is much higher than the value in this study and all other Cu values found in other studies (Table 3). It also exceeds the maximum permissible limit recommended by WHO.

Zn exists in every cell of the body and plays an important role in growth and development. Zn is an essential cofactor for more than 300 enzymes and has a regulatory role for their activities. However, high levels of Zn in the body affect the metabolism and interfere with activities of other metals (Nwoko and Mgbeahuruike, 2011). In this study, the Zn content found in the spices is below the maximum permissible limit recommended by WHO (Table 1). In earlier studies (Ansari et al., 2004; Krejpciove et al., 2007; Ibrahim et al., 2012; Umar and Zubair, 2014; Seddigi et al., 2016; Bazargani-Gilani and Pajohi-Alamoti, 2017), the levels of Zn found in black pepper, cumin and red pepper show correlation with the levels found in this study. Zn level in the spices may vary depending on the soil conditions, geographical location and cultural methods (Khan et al., 2014). Zn levels of spices determined in this study was below the MRL standards recommended by WHO (Table 2). So, it does not pose a risk to health.

When a comparison is generally made according to the location of the samples in Table 3, Fe, Cu, and Zn levels in the samples sold without packaging in herb stores and local shops in Van appear to be higher than the Fe, Cu and Zn levels in the samples obtained from Saudi Arabia and Iran.

The results in Table 2 showed that no risk from daily intake of this spices for Cu, and Zn if the human intake is about 20 g of spices per day.

CONCLUSION

As a result, while the levels of Cu and Zn determined in black pepper, cumin and red pepper are below the limits recommended by the WHO, they do not pose a health risk, whereas Fe levels in pepper and cumin that are determined above the WHO recommended limits may constitute a health risk. Therefore, routine analyzes of Fe, especially in pepper and cumin, are important for human health. On the other hand, since the levels of Cu and Zn determined in black pepper, cumin and red pepper are below the limits recommended by WHO, these spices can be considered as an alternative source of Cu and Zn.

REFERENCES

- Allen, S.E. (1986). Chemical analysis. In: Moore PD, Chapman SB, editors. *Methods in plant ecology*. Oxford, London: Blackwell Scientific Publication, 285-344.
- Aksoy, M. (2000). *Beslenme biyokimyası*. Hatipoğlu basım ve yayın san. Tic.Ltd.Şti., Ankara, Türkiye, s 622.
- Ansari, T.M., Ikram, N., Najam-ul-Haq, I., Fayyaz, Q., Ghafoor, I., Khalid, N. (2004). Essential trace metal (zinc, manganese, copper and iron) levels in plants of medicinal importance. *J Biol Sci*, 4(2), 95-99.
- ATSDR (2016). Minimal risk levels agency for toxic substances and disease registry (ATSDR) Retrieved from <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/mrllist.asp#17tag> (11.10.2018).
- Bazargani-Gilani, B., Pajohi-Alamoti, M. (2017). Evaluating of heavy metal contaminations in the most applicable food spices and flavors in Hamedan City. *Arch Hyg Sci*, 6(3):268-275.
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (2011). Procedural Manual, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome.
- Çağlarırnak, N., Hepçimeni A.Z. (2010). Effect of Heavy Metal Soil Pollution on Food Chain and Human Health. *Academic Food J*, 8 (2): 31-35.
- Diri, H. (2007). Demir eksikliği anemili kadın hastalarda ferik demir ve ferröz demir tedavilerinin karşılaştırılması. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi, Malatya. [in Turkish]
- Ibrahim, G., Hassan, L.M., Baban, S.O., Fadhil, S.S. (2012). Effect of heavy metal content of some common spices available in local markets in Erbil city on human consumption. *Rafidain J Sci*, 23(3):106-114.
- İzer, M. (1997). *Baharatın İzleri*. II. Baskı, Red house Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
- Janitha, P.P., Chaman, D.K.I., Samarajeewa, U.(1988). Iron contamination during grinding of spices. *J Natl Sci Found*, 16(1): 105-14.
- Jarup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull*, 68(1): 167-82.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. (2003). Metallerin çevresel etkileri, *Metallurji Dergisi*, 136, 47-53.
- Khan, N., Choi, J.Y., Nho, E.Y., Jamila, N., Habte, G., Hong, J.H., Hwang, I.M., Su Kim, K. (2014). Determination of minor and trace elements in aromatic spices by micro-wave assisted digestion and inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Food Chem*, 158:200-206.
- Krejpcio, Z., Król, E., Sionkowski, S. (2007). Evaluation of heavy metals contents in spices and herbs available on the Polish market. *Pol J Environ Stud*, 16(1): 97-100.
- Mubeen, H., Naeem, I., Taskeen, A., Saddiqe, Z. (2009). Investigations of heavy metals in commercial spices brands. *N Y Sci J*, 2: 20–26.
- Nkansah, M.A., Amoako, C.O. (2010). Heavy metal content of some common spices available in markets in The Kumasi Metropolis of Ghana. *AJSIR*, 1: 158–163.
- Nwoko, C.O., Mgbeahuruike, L. (2011). Heavy metal contamination of ready-to-use herbal remedies in South-Eastern Nigeria. *Pak J Nutr*, 10(10):959-964.
- Okçu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M., Pehlivan, M. (2009). The Effects of Heavy Metals on Plants. *Alinteri J Agric Sci*, 17 (B): 14-26.
- Öktüren Asri, F., Sönmez, S. (2006). The effect of heavy metal toxicity on plant metabolism. *Derim J*, 23 (2): 36-45.
- Özsürekcı, Y. (2009). Demir eksikliği anemisinde demirsulfat, demirhidroksipolimaltoz ve demir-çinko tedavilerinin karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi, Ankara. [in Turkish]
- Seddigi, Z.S., Kandhro, G.A., Shah, F., Danish, E., Soylak, M. (2016). Assessment of metal contents in spices and herbs from Saudi Arabia. *Toxicol Ind Health*, 32(2):260-269.
- Stresty, T.V.S., Madhava, R.K.V. (1999). Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of Pigeon Pea. *Environ Exp Bot*, 41(1): 3-13.

Şahan, Y., Başoğlu, F. (2003). Ağır metal iyonlarının insan sağlığına etkisi. *Dünya Gıda*, 8(3):70-76. [in Turkish]

Temurci (Usta), H., Güner, A. (2006). Ankara'da tüketime sunulan süt ve beyaz peynirde ağır metal kontaminasyonu. *Atatürk Üni J Vet Sci*, 1(2): 20-28. [in Turkish]

Umar, M.A., Zubair, O.O.S. (2014). Heavy metals content of some spices available within FCT-Abuja, Nigeria. *Int J Agric Food Sci*, 4(1): 66-74.

Vincevica-Gaile Z., Klavins, M. (2012). Transfer of metals in food Chain: An example with copper and lettuce. *Environ and Clim Tech*, 10:21-24.

Vural, H. (1993). Ağır metal iyonlarının gıdalarda oluşturduğu kirlilikler, *Çevre Dergisi*, 8: 3- 8. [in Turkish]

WHO (1984). Joint WHO Food standard program, Codex Alimentarius Commissions Contamination, 17-30.

WHO (1993). Evaluation of certain food additives and contaminants. Technical Report Series, Number 837, World Health Organisation, Geneva.

UN PARTİKÜL BOYUTUNUN EKMEĞİN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Sultan Arslan Tontul*, Hümeysra Çetin Babaoğlu

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 42130 Konya, Türkiye

Geliş / *Received*: 20.02.2019; Kabul / *Accepted*: 10.09.2019; Online baskı / *Published online*: 19.09.2019

Arslan-Tontul, S., Çetin-Babaoğlu, H. (2019). Un partikül boyutunun ekmeğin fiziksel özellikleri ve raf ömrü üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (5): 898-906 doi: 10.15237/gida.GD19045

Arslan-Tontul, S., Çetin-Babaoğlu, H. (2019). Effect of flour particle size on physical properties and shelf life of bread. GIDA (2019) 44 (5): 898-906 doi: 10.15237/gida.GD19045

ÖZ

Bu çalışmada farklı partikül boyutuna sahip unlar ile üretilen ekmeklerin depolanması sırasında meydana gelen fiziksel değişimlerin belirlenmesi ve bayatlamasının kinetik olarak modellenmesi amaçlanmıştır. Farinograf ve ekstensograf testleri sonucunda ekmeğin hamurlarının un partikül boyutunun azaltılmasının, hamurun reolojik özelliklerini geliştirdiği tespit edilmiştir. Ekmeğin kabuğunun L* parlaklık, 39.83 ile 53.28 değeri arasında değişmekle birlikte partikül boyutunun azaltılması ekmeğin parlaklık değerini düşürmüştür. Tekstür profil analizi sonucunda depolanan ekmeklerin sertlik değerlerinin yaklaşık olarak 2.7 kat arttığı ve en yüksek artışın ise 150 µm altı un partiküllerinden üretilen ekmeğin örneklerinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Depolama süresince ekmeklerde nem kaybı değerleri kontrol, 150-250 µm arası ve 150 µm altı örnekler için sırasıyla %14.92, 0.53 ve 6.72 olarak tespit edilmiştir. Ekmeğin bayatlamasının Avrami kinetik modele uygunluğunun değerlendirildiği hesaplamalarda ise 1.85 ile en yüksek n değerini ve 0.13 ile en düşük k değerini düşük partikül boyutlu unlar kullanılarak üretilen ekmeğin örneklerinin aldığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ekmeğin bayatlaması, bayatlama kinetiği, Avrami, partikül boyutu, tekstür

EFFECT OF FLOUR PARTICLE SIZE ON PHYSICAL PROPERTIES AND SHELF LIFE OF BREAD

ABSTRACT

In this study, it is aimed to determine the physical changes, occurring during the storage of the breads produced with different particle size of flours and kinetic modelling of staling. The farinograph and extensograph tests of the doughs indicated that reducing the particle size of flours improved the rheological properties of the dough. According to color results, the L* brightness of the bread crust ranged from 39.83 to 53.28 and the lowest value was determined in the bread produced by fine milled wheat flour. As a result of the texture profile analysis, the hardness values of the breads increased approximately 2.7 times and the highest increase was detected in the bread samples produced from fine milled wheat flour. Moisture loss during storage were 14.92, 0.53 and 6.72% for the control sample, breads produced with flour particle size of 150-250 µm and <150 µm, respectively. Avrami kinetic model suggested that the highest n value with 1.85 and the lowest k value with 0.13 were obtained from the bread samples produced with low particle size flours.

Keywords: Bread staling, Staling kinetic, Avrami, particle size, texture

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding author*

✉ sultan.arslan@selcuk.edu.tr,

☎ (+90) 332 241 0047

☎ (+90) 332 241 0108

GİRİŞ

Ekmek, ülkemiz başta olmak üzere birçok toplumda ucuz ve kolay ulaşılabilir olması ve besin öğelerini dengeli bir şekilde içermesi nedenleriyle temel besin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Ancak taze ekmeğin çok kısa olan raf ömrü (1-2 gün), ekmeğin tüketilebilirliğini doğrudan etkilemektedir.

Günümüzde ekmeğin bayatlama mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte başta nişasta granülünün kristalizasyonu olmak üzere nişasta-gluten interaksyonları ve ekmeğin içeriği nem göçü gibi birçok faktörün rol aldığı kompleks bir olay olarak tanımlanmaktadır (Fadda, Sanguinetti vd., 2014). Bayatlama fiziksel bir bozulma olup ürünün raf ömrünü doğrudan etkilemekte ve ekmeğin yenme kalitesini ciddi oranda azaltmaktadır. Bayatlama sonucu tüketilemeyen ekmeğin, yüksek miktarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Limanond vd., 2002; Smith ve Johansson, 2004). Toprak Mahsulleri Ofisi'nin verilerine göre günde yaklaşık 5 milyon ekmeğin çöpe atılmaktadır. 2010 yılında yapılan bir araştırmaya göre İngiltere'de yıllık olarak üretilen 39 milyon ekmeğin yaklaşık 10 milyonunun, bayatlama temelli fiziksel bozulmalar sonucu tüketilemeyerek israf edildiği bildirilmiştir (Amigo vd., 2016). Başka bir çalışmada ise Amerika Birleşik Devletleri, Meksika ve Latin Amerika ülkelerinde yıllık 450 milyon ton tortilla ekmeği üretilmekte ve bunun yaklaşık olarak %4'ü (18 milyon ton) bayatlama nedeniyle tüketilmemektedir (Limanond vd., 2002). Günümüzde gıda endüstrisi ve bilimi, ekmeğin bayatlamasını geciktirici katkı maddelerinin geliştirilmesi, proses basamaklarının iyileştirilmesi ve bu sayede israf kaynaklı para, enerji ve gıda kaybının azaltılması konuları üzerine yoğun çalışmalar yürütmektedir (Amigo vd., 2016).

Ekmek bayatlaması doğrudan nişasta retrogradasyonu ile ilişkili olup ilerleyen aşamalarda ise ortamda bulunan gluten ile interaksyonun artması sonucunda geri dönüşümsüz bir hal almaktadır. Nişasta, sulu ortamda ısıtıldığı zaman su alarak şişmekte ve belirli bir sıcaklık noktasından sonra jelatinize olmaktadır. Jelatinize olmuş nişasta erime

sıcaklığının altında bir dereceye kadar soğutulduğunda fiziksel yapısı bozulan amiloz ve amilopektin fraksiyonları yoğun bir şekilde kümeleşerek gıda matrisinin viskozitesinin artmasına ve jelin sıkışmasına neden olmaktadır. Bu olgunun tamamına birden retrogradasyon adı verilmekte olup gıda endüstrisi için büyük önem taşımaktadır (Atwell vd., 1988; Amigo vd., 2016).

Bayatlama ekmeğin içi ve dışında ayrı ayrı gerçekleşmektedir. Bayatlama boyunca ekmeğin içeriği sertlik kazanırken ekmeğin kabuğu ise tam tersine yumuşamaktadır. Ekmeğin kabuğu higroskopik özellikte birçok madde içerdiğinden hızlı nem çekme özelliğine sahiptir. Dolayısıyla bayatlama sırasında ekmeğin içerisinde bulunan su, sürekli ekmeğin kabuğuna difüze olmaktadır. Ekmeğin içerisinden kabuğa su geçişi, depolanmanın son zamanlarında artmakta ve biyopolimer ağ içerisindeki su miktarının azalmasıyla hızlanmaktadır (Ercan ve Özkaya, 1985). Nişasta granülünün amiloz fraksiyonunda gelişen retrogradasyon çok hızlı olup, neredeyse fırın çıkışından sonra bir kaç saatte tamamlanırken, bu süre amilopektin için haftaları bulabilmektedir (Leon vd., 2006).

Günümüzde, fazla miktarda üretimi yapılan ekmeğin gibi fırıncılık ürünleri ekonomiye önemli bir gelir katkısı ve iş gücü sağlamaktadır. Ekmeğin satın alınma tercihini etkileyen en temel özellik tazeliliği olduğundan, yenilebilir kalitesinin kaybedilmeden uzun bir raf ömrü sağlanması gıda bilimi ve endüstrisi açısından önemli bir konudur. Ekmeğin bayatlaması ile ilgili çalışmalar çok uzun yıllardır süregelmeyle birlikte unun partikül boyutunun bayatlama üzerine etkisinin araştırıldığı çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle jet değirmenlerde çok küçük mikron boyutuna öğütülen un örneklerinin ekmeğin kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir (Protonotariou vd., 2015; Vouris vd., 2018). Bu çalışmada 250-150 µ arası ve 150 µ üstü partikül boyutuna sahip unlar ile üretilen ekmeklerin depolanması sırasında meydana gelen fiziksel değişimlerin belirlenmesi ve bayatlamasının kinetik olarak modellenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Araştırmada kullanılan ekmeklik un (protein %12.2, yağ %1.5, kül %0.8) Söke Un Fabrikası'ndan (Aydın, Türkiye) temin edilmiştir. Ekmeklik un 250 ve 150 µ boyutundaki eleklerden (Retsch, Haan, Almanya) elenerek partikül boyutu ayarlanmıştır. Ekmek üretiminde kullanılan diğer hammaddeler (tuz, maya ve su) yerel marketlerden temin edilmiştir.

Yöntem

Ekmek Üretimi

Ekmek üretimi için 1000 g un, 40 g maya, 15 g tuz ve farinograf cihazında her bir un partikül boyutu için belirlenen miktarda su (kontrol 540 mL, 150-250 µ arası 530 mL ve 150 µ altı 550 mL) hamur yoğurma makinesine (Major, Kenwood, İngiltere) aktararak 5 dak yoğrulmuştur. Yoğrulduktan sonra makineden alınan hamur 30 dak kitle fermantasyonuna bırakılmıştır. Fermantasyon sonunda rol ekmek üretmek üzere 100 g ağırlığında hamurlar kesilerek, küresel şekil verilmiş ve 15 dak ara fermantasyon uygulanmıştır. Süre sonunda tekrar elle şekil verilerek havalandırılan hamurlar tavaya alınmış ve 30°C'de %80 nem altında 1 saat süre ile son fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon sonunda tavalarda 250°C'de döner ekmek pişirme fırınında (Fimak, Konya, Türkiye) 20 dak pişirilerek ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir. Pişirme sonunda 150 µ altı, 150-250 µ arası ve eleme yapılmamış un pasajı olarak (kontrol) toplamda üç farklı boyutta un kullanılarak ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir (Elgün ve Ertugay, 2002).

Hamurun reolojik özelliklerinin belirlenmesi

Farklı boyutlarda un kullanılarak hazırlanan ekmek hamurlarının su absorpsiyonu, gelişme süresi, stabilitesi ve yumuşama derecesi farinograf cihazı ile (Brabender OHG, Duisburg, Almanya); uzamaya karşı gösterdiği direnç, uzama kabiliyeti ve enerji değeri gibi diğer reolojik özellikleri ise ekstensograf cihazı (Brabender OHG, Duisburg, Almanya) ile belirlenmiştir (AACC, 2000).

Spesifik hacim analizi

Piştirilen ekmeklerin spesifik hacim değerleri, kolza tohumu ile yer değiştirme prensibine göre

ölçülen hacmin, ekmeğin ağırlığına oranlanması sonucu cm^3/g olarak hesaplanmıştır (Ho vd., 2013).

Renk analizi

Ekmeklerin rengi, renk ölçer (Chroma meter CR-400, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak, ekmek kabuğu ve içinde ayrı ayrı 3 farklı noktadan L^* , a^* ve b^* değerlerinin ölçülmesi ile belirlenmiştir.

Nem kaybı

Ekmek örneklerin nem kaybı değeri depolama başlangıcında (0. gün) ve sonunda (6. gün) alınan örneklerin kurumadde miktarlarının oranlanması ile % olarak hesaplanmıştır (Correa ve Ferrero, 2015).

Tekstür analizi

Ekmeklerin tekstür profil analizi (TPA), tekstür analiz cihazı (TA, Stable Microsystems, Godalming, Surrey, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Pişirme sonrasında ve 6 gün oda sıcaklığında depolanan ekmek örnekleri, 2.5 mm genişliğinde dilimlenmiş ve ekmek içerisinde sertlik, kohezif yapışkanlık, elastikiyet, sakızimsılık, çignenebilirlik ve esneklik özelliklerinde meydana gelen değişimler takip edilmiştir. Analiz sırasında 12.5 mm çapında silindirik prob ve 5 kg'lık yük hücresi kullanılmıştır. TPA test öncesi prob hızı 2 mm/s, test hızı 3 mm/s, test sonrası hızı 3 mm/s, bekleme süresi 5 s, tetik kuvveti 10 g ve deformasyon oranı ise %50 olacak şekilde ayarlanmıştır (Gambaro vd., 2002).

Bayatlama kinetiği

Ekmek örneklerinin bayatlama kinetiği, Avrami matematik modeli kullanılarak Eşitlik 1'de verilen formüle göre belirlenmiştir. Piştirilen ekmek örnekleri 6 günlük süre boyunca oda sıcaklığında depolanmış ve her depolama gününde TPA cihazı kullanılarak ekmek içi sıklık değerleri tespit edilmiştir. Analiz sırasında 12.5 mm silindirik prob ve 5 kg yük hücresi kullanılmıştır. TPA test hızı 1,7 mm/s ve deformasyon oranı %40 olacak şekilde ayarlanmıştır (AACC, 2000). Model sonunda hesaplanan k ve n değerlerinin düşük olması, ekmeklerin daha geç bayatladığı anlamına

gelmektedir (Armero ve Collar, 1998; Russell, 1983).

$$\theta = \frac{T_{\infty} - T_t}{T_{\infty} - T_0} = e^{-kt^n} \quad \text{Eşitlik (1)}$$

θ: Kristalizasyon derecesi

T₀: Pişirme sonunda ekmeklerin sıklık derecesi

T_t: Ekmeklerin t zamanındaki sıklık derecesi

T_∞: Depolama sonundaki sıklık değeri

k: Reaksiyon sabiti

n: Avrami katsayısı

İstatistiksel analizler

Ekmek üretimi iki tekerrürlü ve analizler ise iki paralel halinde yapılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen verilere varyans analizi ve önemli bulunan faktörlere ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar SAS istatistik programı ile gerçekleştirilmiş olup değerler ortalama ± standart sapma şeklinde düzenlenmiştir.

TARTIŞMA ve BULGULAR

Farklı un partikül boyutunun ekmek hamur reolojisi üzerine etkisi

Kontrol, 150-250 μ arası ve 150 μ altı un örnekleri ile hazırlanan ekmek hamurlarının farinograf ve

ekstensograf cihazında belirlenen reolojik özellikleri Çizelge 1’de verilmiştir. Farinograf değerleri incelendiğinde 150-250 μ arası partikül boyutuna sahip unlar ile hazırlanan hamur formülasyonunun, su absorpsiyon değerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Buna karşın hiç eleme yapılmamış kontrol unu ve daha küçük boyuttaki un formülasyonlarının su absorpsiyon değerleri benzer şekilde ölçülmüştür. Bu durumun nedeni ise partikül boyutunun küçülmesi sırasında nişasta granülünün daha fazla zedelenmesi ve artan yüzey alanı ile birlikte su tutma kapasitesinin de artmasıdır. Yapılan bir çalışmada tam buğday unu jet değirmenlerde öğütülerek farklı partikül boyutlarına sahip tam buğday unları elde edilmiş ve bu unların reolojik özellikleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda partikül boyutunun küçülmesiyle birlikte yüzey alanının arttığı ve bunun örneklerin su tutma kapasitesini artırıcı bir rol oynadığı bildirilmiştir (Protonotariou vd., 2015). Farklı öğütme teknikleri ile elde edilen ekmeklik unların partikül boyutu; unun su absorpsiyon yeteneği, zedelenmiş nişasta miktarı, jelleşme özellikleri ve hamurun reolojik özellikleri üzerine doğrudan etkili olmaktadır (Vouris vd., 2018).

Çizelge 1. Farklı un partikül boyutunun ekmek hamurunun reolojik özellikleri üzerine etkisi
Table 1. The effect of flour particle size on reological properties of bread dough

Un boyutu Flour particle size	Farinograf değerleri			Ekstensograf değerleri		
	Su absorpsiyonu (%) Water absorption (%)	Gelişme süresi (dk) Dough development time (min)	Stabilite (dk) Stability (min)	Enerji (cm ²) Area (cm ²)	Uzamaya karşı direnç (BU) Resistance to extension (BU)	Uzayabilirlik (mm) Extensibility (mm)
Kontrol	54.1±0.05 ^{ab}	2.2±0.05 ^a	4.2±0.15 ^b	130±0.0 ^a	1062±41 ^a	99±0.00 ^b
150-250 μ arası	53.2±0.10 ^b	1.7±0.00 ^b	11.1±0.05 ^a	111±1.5 ^b	832±37 ^b	105±1.50 ^b
150 μ altı	54.8±0.40 ^a	1.7±0.00 ^b	3.5±0.25 ^c	129±0.25 ^a	758±16 ^b	125±2.52 ^a

^a Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır. (P <0.05)

^a Values in the same column followed by different letters are significantly different (P <0.05)

Partikül boyutu hamur formülasyonlarının gelişme sürelerini etkilememiş olup bu süre, formülasyonunda 150-250 µ arası ve 150 µ altı un kullanılan hamurlar için 1.7 dk ve kontrol örneği için ise 2.2 dak olarak belirlenmiştir. Ayrıca 150-250 µ arası un kullanılarak hazırlanan ekmeğin hamurlarının yumuşama derecesinin daha düşük (54 BU) buna karşın stabilitesinin daha yüksek (11.1 dak) olduğu tespit edilmiştir. Diğer formülasyonlarda oransal olarak daha fazla su kullanılması hamurların stabilitesi üzerine olumsuz bir etkiye bulunmuştur. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, büyük un partikül boyutunun daha düşük su absorpsiyon değerine sahip olduğu buna karşın hamur stabilitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da tespit edilmiş olup Protonotariou vd. (2015), ileri derecede öğütülen tam buğday unlarının stabilite değerinin, kontrol örneklerine göre daha düşük olduğunu rapor etmiştir. Bu durumun ise ileri öğütme sonucu ortaya çıkan ısının gluten ağ yapısına zarar vermesinden ve protein yapısını zayıflatmasından kaynaklanabileceği ortaya konulmuştur. Moreira vd. (2010) kestane unu içeren hamur

formülasyonlarında hamur stabilitesinin un partikül boyutundaki artış ile doğru orantılı olarak azaldığını rapor etmiştir.

Ekstensograf verileri değerlendirildiğinde 150-250 µ arası boyuttaki unlar ile hazırlanan hamurların enerji değerinin, diğer örneklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Un partikül boyutunun azalması hamurların uzamaya karşı gösterdiği direnci azaltırken uzayabilme kapasitesini ise arttırmıştır. Böylece un partikül boyutunun azalması hamurun işlenebilirliğini ve elastikiyetini arttırmıştır. Maksimum direnç ise uzamaya karşı direnç ile benzer şekilde en yüksek kontrol örneğinde tespit edilmiştir.

Farklı un partikül boyutunun ekmeğin renk değerleri üzerine etkisi

Ekmeğin renk değerlerinin L*, a* ve b* renk değerlerindeki değişim Çizelge 2'de verilmiştir. Farklı un partikül boyutunun ekmeğin kabuğunun L* ve b* renk değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) bir etkisinin olduğu ancak a değeri üzerine önemli ($P > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Farklı un partikül boyutunun ekmeğin fiziksel özellikleri üzerine etkisi

Table 2. The effect of flour particle size on the physical properties of bread

Un boyutu Flour particle size	Spesifik hacim (cm ³ /g) Specific volume (cm ³ /g)	Ekmeğin kabuğunun renk değerleri Colour values of bread crust			Ekmeğin içi renk değerleri Colour values of bread crumb		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol	3.59±0.08 ^b	53.28±0.27 ^a	11.76 ± 0.39 ^a	28.22±0.27 ^a	71.84±0.43 ^a	-0.77±0.01 ^a	16.50 ± 0.33 ^a
150-250 µ arası	4.04±0.30 ^a	46.90±0.69 ^a	12.89 ± 0.64 ^a	25.16±0.16 ^{ba}	70.04±0.72 ^a	-1.07±0.07 ^a	16.33 ± 0.62 ^a
150 µ altı	3.25±0.24 ^c	39.83±2.48 ^b	12.42 ± 1.41 ^a	18.64±2.89 ^b	69.18±1.99 ^a	-1.09±0.11 ^a	15.81 ± 0.52 ^a

^a Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır. ($P < 0.05$)

^a Values in the same column followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$)

L* renk değeri 0 ile 100 arasında değişmekte ve gıdanın parlaklığı hakkında fikir vermektedir. Çalışmada üretilen ekmeğin renk değerlerinin kabuk rengi 39.83 ile 53.28 değeri arasında değişmekte olup en düşük L* değeri, 150 µ altında un partikül boyutuna sahip ekmeğin renk değerlerinde tespit edilmiştir. Partikül boyutunun küçülmesi ile birlikte nişasta zedelenmesi artmakta ve dekstrin gibi Maillard reaksiyonunu aktivitesi yüksek şekerler ortamında birikmektedir. Fırın sıcaklığında ekmeğin ortamında

bulunan serbest amino asitler ve şekerler Maillard reaksiyonlarına girerek esmer renkli melanoidin bileşiklerini oluşturmaktadır. Bu nedenle küçük partikül boyutuna sahip unlar ile üretilen ekmeğin kabukları daha koyu bir renge sahip olmaktadır. Yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş olup formülasyonda düşük partikül boyutlu un oranı arttıkça pişirilen ekmeğin L* değerinde bir düşüş tespit edilmiştir (Vouris vd., 2018).

b* renk değeri gıdaların sarı (+) ve mavi (-) renk yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir. Çalışmada üretilen ekmeğin b* renk değeri 18.64 ile 28.22 arasında değişmekte olup en düşük değer, 150 µ altında un partikül boyutuna sahip ekmeklerde tespit edilmiştir. Bu durumun ise yine parlaklık değerini etkileyen nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ekmeklerin a* renk değeri ise ortalama 12.36 olarak tespit edilmiştir. Protonotariou vd. (2015) partikül boyutu azalmasıyla birlikte ekmeklerin L* değerinin azaldığını, buna karşın kırmızılık ve sarılık değerlerinin arttığını tespit etmiştir.

Yapılan renk analizi sonucunda ekmeğin içi L*, a* ve b* değerlerinin, farklı un partikül boyutundan istatistiksel olarak önemli ($P > 0.05$) düzeyde etkilenmediği ve bu değerlerin ise sırasıyla 70.35, -0.98 ve 16.21 olduğu tespit edilmiştir.

Farklı un partikül boyutunun ekmeğin spesifik hacim değerleri üzerine etkisi

Ekmeğin örneklerinin spesifik hacim değerlerindeki değişim Çizelge 2'de verilmiştir. Un partikül boyutunun, ekmeklerin spesifik hacim değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($P < 0.01$) bir etkisinin bulunduğu tespit edilmiştir.

150 µ altında partikül boyutuna sahip un örnekleri ile üretilen ekmeklerin spesifik hacim değeri 3.25 cm³/g ile en düşük değeri alırken, daha büyük partikül boyutuna sahip un örnekleri ile üretilen ekmeklerin spesifik hacim değeri 4.04 cm³/g olarak tespit edilmiştir. Jet değirmenlerde

öğütülerek partikül boyutu küçültülen unların formülasyonda kullanılması ile ekmeğin spesifik hacim değerinin azaldığını rapor eden benzer çalışmalar mevcuttur (Protonotariou vd., 2015; Vouris vd., 2018). Bu durumun nedeni ise un partikül boyutunun küçülmesi ile birlikte su absorpsiyon değerinin artması ve sonuç olarak daha yüksek viskoziteye sahip ekmeğin hamurunun elde edilmesi olarak gösterilmektedir (Vouris vd., 2018). Tam buğday unu kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda bunun nedeninin kepek fraksiyonunun partikül boyutunun ileri düzeyde küçülmesi ve bu parçacıkların gluten arabinoksilan interaksiyonunu arttırmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Noort vd., 2010). Ayrıca glutensiz ekmeğin üretimini amaçlandığı bir başka çalışmada da daha küçük partikül boyutuna sahip pirinç ve mısır unu ile üretilen ekmeklerin gaz tutma kapasitesinin oldukça az olduğu bildirilmiştir (De la Hera vd., 2013; Hera vd., 2013).

Farklı un partikül boyutunun ekmeğin tekstürel özellikleri üzerine etkisi

Ekmeğin örneklerinin sertlik, esneklik, iç yapışkanlık, sakızimsılık, çiğnenebilirlik ve elastikiyet gibi tekstürel özelliklerine ait veriler Çizelge 3'te verilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre farklı un partikül boyutu ve depolama süresi ekmeğin sertlik, çiğnenebilirlik değerleri üzerine önemli ($P < 0.01$) bir etkide bulunurken elastikiyet, iç yapışkanlık ve esneklik değerlerini etkilememiştir ($P > 0.05$).

Çizelge 3. Farklı un partikül boyutunun depolama süresince ekmeğin tekstürel özellikleri üzerine etkisi

Table 3. The effect of flour particle size on the texture of bread during storage

Un boyutu Flour particle size	Depolama Storage	Sertlik (g) Hardness (g)	Elastikiyet Springiness	İç yapışkanlık Cohesiveness	Çiğnenebilirlik Chewiness	Esneklik Resilience
Kontrol	0. gün	822±44.86 ^{bB}	1.02±0.02 ^{aA}	0.82±0.00 ^{aA}	793±56 ^{bAB}	0.32±0.02 ^{aA}
	6.gün	2999±96.34 ^{aA}	0.96±0.00 ^{aA}	0.78±0.00 ^{bA}	2263±58 ^{aA}	0.33±0.01 ^{aA}
150-250 µ arası	0. gün	759±11.80 ^{bB}	1.11±0.14 ^{aA}	0.75±0.04 ^{aAB}	654±84 ^{bB}	0.27±0.00 ^{aA}
	6.gün	2335±85.26 ^{aB}	0.96±0.01 ^{aA}	0.74±0.02 ^{aA}	1669±7.1 ^{aB}	0.30±0.01 ^{aA}
150 µ altı	0. gün	1467±126 ^{bA}	0.98±0.00 ^{aA}	0.64±0.06 ^{aB}	919±1.0 ^{bA}	0.23±0.04 ^{aA}
	6.gün	3080±185 ^{aA}	0.88±0.02 ^{aA}	0.78±0.00 ^{aA}	2118±38 ^{aA}	0.36±0.04 ^{aA}

^a Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır. ($P < 0.05$). a-b, aynı un partikül boyutuna sahip unlar ile üretilen ekmeğin örneklerinin farklı günlerdeki tekstür parametresi ortalamalarına aittir. A-B, farklı un partikül boyutuna sahip unlar ile üretilen ekmeğin örneklerinin aynı günlerdeki tekstür parametresi ortalamalarına aittir.

^a Values in the same column followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$). a-b, within each column shows statistical differences between average of breads produced by same particle size with different sampling days. A-B, within each column shows statistical differences between average of breads produced by same sampling days with different particle size.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre 6 günlük depolama sonunda, 150-250 μ arası un partiküllerinden üretilen ekmek örneklerinin sertlik değeri, kontrol ve 150 μ altı un kullanılarak üretilen ekmeklere göre daha düşük olarak tespit edilmiştir. Buradan anlaşılacağı üzere un partikül boyutunun artması depolama süresince ekmeğin sertleşme oranını azaltmaktadır. Ayrıca, tüm ekmek çeşitlerinin sertlik değeri 6 günlük depolama süresince yaklaşık 2.7 katına çıkmıştır. Jet öğütme tekniği ile partikül boyutları 21-75 μ arasına küçültülen ekmeklik unlar ile yapılan bir çalışmada ekmek formülasyonunda düşük partikül boyutlu un oranının artmasıyla birlikte ekmek içi ve kabuğunun sertlik değeri artmış çiğnenabilirlik ve elastikiyet özellikleri ise kötüleşmiştir (Vouris vd., 2018). Yine jet öğütme ile farklı partikül boyutlarına sahip tam buğday ekmeklerinin tekstür ölçümleri sonucunda daha düşük boyuta sahip unlar ile elde edilen ekmeklerin sertlik değerinin kontrol örneklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Protonotariou vd., 2015). Depolama sırasında meydana gelen nişasta retrogradasyonu sonucu ürünün daha sert ve katı bir görünüm kazandığı bilinmektedir (Limanond vd., 2002).

Sertlik parametresi gibi depolama sonunda en düşük çiğnenabilirlik değerleri de 150-250 μ arası un partiküllerinden üretilen ekmek örneklerinde elde edilmiş olup bu değer 1669 g olarak tespit edilmiştir. Depolama süresince çiğnenabilirlik değerleri sırasıyla yaklaşık olarak 2.5 kat artış göstermiştir. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da tespit edilmiş olup Vouris vd. (2018) 5 günlük depolama boyunca ekmek örneklerinin sertlik ve çiğnenabilirlik değerlerinin süre ile doğru orantılı olarak depolama sonuna kadar artış gösterdiğini bildirmiştir. Taze ekmekte bulunan

amorf formdaki nişasta kristal formuna göre daha fazla su tutma kapasitesine sahip olup bu özellik ekmeğe yumuşaklık ve elastikiyet sağlamaktadır. Ancak bayatlama sırasında retrogradasyonla birlikte nişasta polimerinin su tutma kapasitesi azalmakta ve kristalleşerek yeniden düzenlenmektedir. Nişastanın kaybettiği bu su ise gluten ağı tarafından hapsedilmekte ve sonuç olarak ekmek içi sert elastik olmayan bir yapı kazanmaktadır (Ercan ve Özkaya, 1985).

Ekmek örneklerinin ortalama elastikiyet, iç yapışkanlık ve esneklik değerleri ise sırasıyla, 0.99, 0.75 ve 0.30 olarak tespit edilmiş olup depolama süresince de önemli bir değişim göstermemişlerdir.

Farklı un partikül boyutunun ekmeğin nem kaybı üzerine etkisi

Çizelge 4'de verilmiştir. Un partikül boyutu, ekmeklerin nem kaybını istatistiksel olarak önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkilemiştir (Çizelge 4). Depolama süresince ekmeklerde nem kaybı değerleri kontrol, 150-250 μ arası ve 150 μ altı örnekler için sırasıyla %14.92, 0.53 ve 6.72 olarak gerçekleşmiştir. Görüldüğü üzere en düşük nem kaybı 150-250 μ arası boyuta sahip un ile üretilen ekmeklerde gerçekleşmiş olup bütüncül yapısını koruyan nişasta polimeri, formülasyonda bulunan suyu hidrate ederek ekmek dışına salınımını sınırlamıştır. Jet değirmende farklı partikül boyutlarında öğütülen unlar ile yapılan ekmek denemelerinde, daha düşük boyuta sahip ekmeklerin su salınımının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Protonotariou vd., 2015). Yapılan bir başka çalışmada ekmek su içeriğinin, nişastanın düzenli yapısının bozulmasında önemli bir rol oynadığı ortaya konulmuştur (Guo vd., 2018).

Çizelge 4. Farklı un partikül boyutunun depolama süresince ekmeğin nem kaybı ve bayatlama kinetiği üzerine etkisi

Table 4. The effect of flour particle size on the moisture loss and staling kinetics of bread during storage

Un boyutu Flour particle size	Nem kaybı (%) Moisture loss (%)	Avrami model parametreleri Avrami model parameters				
		T_{∞}	T_0	n	k	R^2
Kontrol	14.91±2.03 ^a	3377.36	453.35	1.60 ^b	0.32 ^a	0.98
150-250 μ arası	0.53±0.04 ^c	2568.77	263.99	1.60 ^b	0.24 ^a	0.94
150 μ altı	6.72±0.66 ^b	4352.53	441.59	1.86 ^a	0.13 ^b	0.93

^a Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır. ($P < 0.05$)

^a Values in the same column followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$).

Farklı un partikül boyutunun ekmeğin bayatlama kinetiği üzerine etkisi

Depolama süresince ekmek içi sıklık değerlerindeki değişimler genellikle Avrami matematiksel modeli kullanılarak değerlendirilmektedir. Bu eşitlik belirli katı bir matrisde meydana gelen nişasta kristalizasyon derecesinin değerlendirilmesinde kullanılmakta olup devam eden kristalizasyon, zamanın üstel ters fonksiyonu olarak ifade edilmektedir (Armero ve Collar, 1998). T_0 değeri pişirme sonundaki ekmek örneklerinin sıklık değerini, T_∞ değeri depolama sonundaki ekmek örneklerinin sıklık değerini, k kristalizasyon oran sabitini, n Avrami model katsayısını ve R^2 ise modelin uyumluluğunu ifade etmektedir. Sonuçların modele uygulanması sonucunda elde edilen k değeri ekmek içinin sıklık oranını göstermekte olup bu değer düşük olması sertleşme sürecinin dolayısı ile bayatlamanın daha yavaş ilerlediğini ifade etmektedir (Amigo vd., 2016; Russell, 1983).

Non-linear regresyon analiz sonucunda elde edilen Avrami model parametreleri Çizelge 4'de verilmiştir. Depolama başında ve sonunda 150-250 μ arası un partiküllerinden üretilen ekmek örneklerinin sıklık değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Bu bulgu tekstür analiz sonuçları ve nem kaybı değerleri ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Avrami katsayıları incelendiğinde 150 μ altı un partiküllerinden üretilen ekmek örnekleri 1.85 değeri ile en yüksek n değerini alırken 0.13 ile en düşük k değerini almıştır. Diğer bir taraftan ise kontrol örneklerinin hem n hem de k değerlerinin yüksek olması hızlı bir nişasta kristalizasyonunun gerçekleştiğini göstermektedir. k değerinin 1'e yaklaşması bayatlamanın çok hızlı olduğunu ve hatta depolamanın ilk gününde gerçekleştiğini göstermektedir (Amigo vd., 2016).

Genellikle k ve n değerlerinin her ikisinin birden yüksek olduğu gözlenmez. Bu durum ekmek içi bayatlamasının çok hızlı olduğu anlamına gelmektedir (Armero ve Collar, 1998). Kinetik hesaplama sonucunda yüksek n değeri sağlayan örneğin k değeri genellikle düşüktür. Bunun tam tersi durumlarda ise o ekmek örneği yavaş bayatlama özelliğine sahip olmaktadır (Armero ve

Collar, 1998). Bu durumda 150 μ altı un örnekleri ile üretilen ekmekler hızlı bir kristalizasyon kinetiğine sahip iken 150-250 μ arası unlar ile üretilen ekmeklerin nişasta kristalizasyon oranı daha yavaş olarak tespit edilmiştir. α -amilaz ilavesinin, ekmeğin bayatlama süresini geciktirici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Avrami model sabitleri olan k değerinin 0.26 ila 1.25 arasında değiştiği bildirilmiştir (Amigo vd., 2016).

SONUÇLAR

Temel bir besin maddesi olarak kabul edilen ekmeğin fiziksel raf ömrünün oldukça kısıtlı olması tüketimini olumsuz yönde etkilemektedir. Her yıl milyonlarca adet ekmek herhangi bir mikrobiyal bozulma olmaksızın bayatlama sonucu tazeliğini kaybettiğinden çöpe atılarak israf edilmektedir. Bu nedenle fazla miktarda üretilen ve tüketilen ekmeğin raf ömrünün uzatılması ülke ekonomisi açısından da önemli bir konudur.

Tüm analiz verileri birlikte değerlendirildiğinde un partikül boyutunun azalmasının ekmek hamurunun su tutma kapasitesinin yanında diğer bazı reolojik özelliklerini geliştirdiği ancak hamur stabilitesini azalttığı belirlenmiştir. Ekmek bayatlamasının Avrami kinetik model sonuçlarına göre ise 150 μ altı un örnekleri ile üretilen ekmeklerde nişasta kristalizasyon hızının 150-250 μ arası un örnekleri ile üretilen ekmeklere kıyasla daha yüksek olduğu dolayısıyla bayatlamanın daha hızlı gerçekleştiği belirlenmiştir. Elde edilen bu verilerin ekmeklerin nem kaybı ve tekstür sonuçları ile de uyumlu olduğu değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak ekmek üretiminde kullanılacak olan unların aşırı düzeyde öğütülerek partikül boyutunun küçültülmesi ekmek bayatlama oranını arttırmaktadır. Bu nedenle bir taraftan bayatlama oranını azaltacak diğer bir taraftan ise ekmeğin alışlagelmiş renk ve hacim gibi kalite özelliklerini arttıracak optimum un partikül boyutu seviyelerinin belirlenmesini gerektiren ileri düzey çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

AACC. (2000). American Association of Cereal Chemists, Method 54-21.01, Method 54-10.01, Method 74-10.02, Method 44-19.01, Method 10-05.01. The Association, Minnesota, USA.

- Amigo, J. M., Alvarez, A. D., Engelsen, M. M., Lundkvist, H., Engelsen, S. B. (2016). Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic alpha-amylases. Part 1: Spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience. *Food Chem*, 208: 318-325.
- Armero, E., Collar, C. (1998). Crumb firming kinetics of wheat breads with anti-staling additives. *J Cereal Sci*, 28(2): 165-174.
- Atwell, W.A., Hood, L.F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., Zobel, H.F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, 33:306-311.
- Correa, M. J., Ferrero, C. (2015). A comparative study of commercial modified celluloses as bread making additives. *Int J Food Prop*, 18(4): 849-861.
- De la Hera, E., Talegón, M., Caballero, P., Gómez, M. (2013). Influence of maize flour particle size on gluten-free breadmaking. *J Sci Food Agri*, 93(4): 924-932.
- Elgün, A., Ertugay, Z. (2002). *Tabak işleme teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Yayınları*, Erzurum, 411 s.
- Ercan, R., Özkaya, H. (1985). Ekmeğin Bayatlaması. *Gıda*, 10(6): 335-340.
- Fadda, C., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Collar, C., Piga, A. (2014). Bread staling: Updating the view. *Comp Rev Food Sci Food Safety*, 13(4): 473-492.
- Gambaro, A., Varela, P., Gimenez, A., Aldrovandi, A., Fiszman, S. M., Hough, G. (2002). Textural quality of white pan bread by sensory and instrumental measurements. *J Texture Studies*, 33(5): 401-413.
- Guo, P., Yu, J. L., Wang, S. J., Wang, S., Copeland, L. (2018). Effects of particle size and water content during cooking on the physicochemical properties and in vitro starch digestibility of milled durum wheat grains. *Food Hydrocoll*, 77: 445-453.
- Hera, E. d. l., Martinez, M., Gómez, M. (2013). Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice bread. *LWT - Food Sci Tech*, 54(1): 199-206.
- Ho, L. H., Aziz, N. A. A., Azahari, B. (2013). Physico-chemical characteristics and sensory evaluation of wheat bread partially substituted with banana (*Musa acuminata* X *balbisiana* cv. *Awak*) pseudo-stem flour. *Food Chem*, 139(1-4): 532-539.
- Leon, A. E., Barrera, G. N., Perez, G. T., Ribotta, P. D., Rosell, C. M. (2006). Effect of damaged starch levels on flour-thermal behaviour and bread staling. *Eur Food Res Tech*, 224(2):187-192.
- Limanond, B., Castell-Perez, M. E., Moreira, R. G. (2002). Modeling the kinetics of corn tortilla staling using stress relaxation data. *J Food Eng*, 53(3):237-247.
- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M. D., Prieto, D. M. (2010). Influence of the particle size on the rheological behaviour of chestnut flour doughs. *J Food Eng*, 100(2): 270-277.
- Noort, M. W. J., van Haaster, D., Hemery, Y., Schols, H. A., Hamer, R. J. (2010). The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality – Evidence for fibre–protein interactions. *J Cereal Sci*, 52(1): 59-64.
- Protonotariou, S., Mandala, I., Rosell, C. M. (2015). Jet milling effect on functionality, quality and in vitro digestibility of whole wheat flour and bread. *Food Bioprocess Tech*, 8(6): 1319-1329.
- Russell, P. L. (1983). A kinetic-study of bread staling by differential scanning calorimetry and compressibility measurements - the effect of different grists. *J Cereal Sci*, 1(4): 285-296.
- Smith, P. R., Johansson, J. (2004). Influences of the proportion of solid fat in a shortening on loaf volume and staling of bread. *J Food Process Preserv*, 28(5): 359-367.
- Vouris, D. G., Lazaridou, A., Mandala, I. G., Biliaderis, C. G. (2018). Wheat bread quality attributes using jet milling flour fractions. *LWT-Food Sci Tech*, 92: 540-547.

SENSORY AND QUALITY ATTRIBUTES OF CAKE SUPPLEMENTED WITH SPINACH POWDER

Gülşah Çalışkan Koç¹, Tuğçe Erbakan², Elif Arıcı², Safiye Nur Dirim^{2*}

¹Department of Gastronomy and Culinary Arts, Alanya Hamdullah Emin Paşa University, Alanya, Turkey

²Department of Food Engineering, Ege University, 35100 Bornova, Izmir, Turkey

Received / Geliş: 21.02.2019; Accepted / Kabul: 02.09.2019 Published online / Online baskı: 19.09.2019

Çalışkan-Koç, G., Erbakan, T., Arıcı, E., Dirim, S.N. (2019). Sensory and quality attributes of cake supplemented with spinach powder. *GIDA* (2019) 44 (5): 907-918 doi: 10.15237/gida.GD19047

Çalışkan-Koç, G., Erbakan, T., Arıcı, E., Dirim, S.N. (2019). Ispanak tozu ile zenginleştirilmiş keklerin kalite parametreleri ile duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2019) 44 (5): 907-918 doi: 10.15237/gida.GD19047

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the production of functional cakes with enriched nutritional value and flavor with the addition of spinach powder (SP) to the formulation as a replacement for the wheat flour at different ratios. The addition of SP resulted in a significant decrease in the moisture content (26.63 - 28.96% for the batters and 12.75 - 22.33% for the cakes) and water activity (0.902 - 0.880 for the batters and 0.722 - 0.822 for the cakes) values ($P < 0.05$). The addition of SP caused a significant change in the color of the batters and cakes. The vitamin C content of the batters and cakes increased depending on the amount of SP ($P < 0.05$). The highest weight loss (14.83%) and cooking yield (89.40%) values were observed for the plain cake and cake with 10% SP, respectively, where this cake had the highest sensorial acceptability by the panelists.

Keywords: Cake, spinach powder, microwave, vitamin C, sensory analysis

İSPANAK TOZU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KEKLERİN KALİTE PARAMETRELERİ İLE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, kek formülasyonuna ıspanak tozu ilavesi ile zenginleştirilmiş besin değeri ve lezzetiyle yeni fonksiyonel bir kekin üretilmesidir. Mikrodalga kurutucuda kurutulmuş ıspanak tozu kek formülasyonuna buğday unuyla yer değiştirme prensibiyle farklı oranlarda eklenmiştir. Kek formülasyonuna ilave edilen ıspanak tozu miktarı arttıkça nem içeriği (kek hamurlarında % 26.63-28.96 ve keklerde % 12.75-22.33) ve su aktivitesi (kek hamurlarında 0.902-0.880 ve keklerde 0.722-0.822) değerlerinde azalma meydana geldiği gözlenmiştir ($P < 0.05$). Ispanak tozu ilavesi kek hamuru ve keklerin renk değerlerinde önemli bir değişime neden olmuştur. Ispanak tozu miktarına bağlı olarak C vitamini içeriğinde artış meydana geldiği görülmüştür ($P < 0.05$). En yüksek ağırlık kaybı (%14.83) ve pişme verimi (%89.40) sırasıyla sade kek ve %10 ıspanak tozu içeren keklerde gözlenmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre, %10 ıspanak tozu içeren keklerin panelistler tarafından en yüksek kabul edilebilirliğe sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kek, ıspanak tozu, mikrodalga, C vitamini, duyuşal analiz

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: nur.dirim@ege.edu.tr

☎:(+90) 232 311 3032

☎:(+90) 232 311 4831

INTRODUCTION

Cereal products are consumed daily by the majority of the world population. The tendency of consumers for functional products has resulted in an increase in the development of different and healthier cereal products (Ayadi et al., 2009). The health-enhancing characteristics of plants such as green leafy vegetables, herbs, edible flowers, etc. in providing important components has led to their use in food products (Lebesi and Tzia, 2011). Spinach contains phenolic compounds (like chlorophylls and carotenoids), fiber, vitamins (vitamin A, B complex, C, and K), and minerals (calcium, magnesium, potassium, iron, phosphorus, sodium, copper, sulfide, manganese, and zinc) (Toledo et al., 2003 and Çıtak Sönmez, 2009). For this reason, the use of spinach as a natural coloring agent and as a functional food ingredient, has a high potential for developing biologically active foods such as cakes. In addition, the consumption of leafy vegetables (spinach, cabbage, purslane, celery, etc) has been increasing especially as a result of changes in the consumer lifestyle. Spinach (*Spinacia oleracea* L.), which can be consumed as raw, boiled, canned, frozen, in bakery products, soups, etc. is a cool season annual vegetable (Ozkan et al., 2007, Cıtak and Sonmez 2009, and Çalışkan Koç and Dirim, 2017).

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and Turkish Statistical Institution (TUIK), the production of spinach is around 225.174, 222.177, 211.000, and 208.403 tons in Turkey from 2018 to 2015 respectively. Turkey rates fourth for spinach production in the World (FAOSTAT data: 2007 (Last accessed by Top 5 of anything: March 2015)).

Çalışkan Koç and Dirim (2017) reported that dried spinach in the form of powder is more feasible due to a long shelf life, mixing and dosing properties, and it can also be used as a food colorant and additive in different food formulations. Spinach powder can be obtained using several drying techniques such as: spray drying (Çalışkan Koç and Dirim, 2017 and 2018), microwave drying (Ozkan et al., 2007 and Dadali

et al., 2007), hot air drying (Watanabe et al., 2016), freeze drying (King et al., 2001), and combined microwave–fan-assisted convection drying (Karaaslan and Tunçer, 2008). Nowadays, practical and ready to easy cooking systems such as microwave drying is generally preferred by both producers and customers. At the same time, microwave drying has many unique features such as low energy consumption and a short processing time related to its selective and volumetric heating compared to the traditional drying techniques (Song et al., 2016).

The improvement of the functional properties of cakes can be accomplished using several agents, however, the addition of food materials to improve the properties of cakes is a more interesting and promising application. For the improvement of cake quality in some studies, replacement of undesirable constituents like sugar and fats has been tried or in other studies improvements in the nutritional composition and functional properties have been tried with the addition of food components either from the waste of the food processing industry or the unused parts of food materials. In recent years, the addition of dietary fiber, fat replacer, and by-products to the bakery product formulation have received increasing attention from researchers and the food industry due to their beneficial effects on human health and functionality in production. Therefore, the enrichment of bakery products such as cakes with fiber and plant-based ingredients may be one of the efficient ways utilized to improve the nutritional value and sensorial properties. There are many studies related to the addition of fiber for example carob fiber, rice bran, potato fiber, pear cactus fiber etc. to bakery product formulations such as bread (Wang et al., 2002, Kaack et al., 2006, and Guevara-Arauz et al., 2014). The aim of this study was to improve the taste and nutritional value of cake using microwave dried spinach powder, that includes valuable compounds, and to check the consumer acceptance of this product.

MATERIAL AND METHODS

Raw Materials

The following raw materials: Spinach, wheat flour (0.98 g/100 g fat, 76.31 g/100 g carbohydrate, 10.33 g/100 g protein, Ova Un San. ve Tic. A.Ş.), sugar (Keskin Kılıç Gıda San. ve Tic. A.Ş.), sunflower oil (Küçükbay Gıda San. ve Tic. A.Ş.), eggs (Keskinoğlu Gıda San. ve Tic. A.Ş.), baking powder (Dr. Oetker Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.), and milk (3.1 g/100 g fat, 47 g/100 g carbohydrate 3.1 g/100 g protein, Yörsan Gıda Mam. San. ve tic. A.Ş.) were obtained from a local supermarket in Izmir, Turkey.

Methods

Microwave Drying of the Spinach Pulp

The spinach (on the day of purchase) was washed, stalks were removed, and the spinach juice removed using a juice extractor (Premier PRJ-607, Turkey). The remaining spinach pulp (50 g corresponding to a 5mm thickness in the petri dish) were dried in a domestic microwave oven (Arçelik MD500, Turkey) at 540 W microwave power for 750s. The spinach powder was obtained by grinding the dried material obtained in a blender (Tefal Smart, MB450141, Turkey), and then the particle size was further reduced by sieving the powder through a 350 micron screen. The spinach powder was then stored in glass jars in the fridge at $4\pm 1^\circ\text{C}$ until further tests were carried out.

Preparation and Baking of Cakes

For the preparation of the cake batter, the sugar (78.97g, weight/weight (w/w)) and eggs (51.53g, w/w) were mixed using a mixer (Kitchen Aid, 5K45SS, USA) set at the medium speed of the mixer for three minutes. Then, the flour (49.20g, w/w), baking powder (3.33g, w/w), and the other ingredients (23.45g oil and 24.88g milk, w/w) were added to the mixture, and again mixed at medium speed for five minutes. The obtained spinach powder was added to the cake formulations by replacing the wheat flour at different ratios 0% (control, plain cake), 4%, 6%, 8%, and 10% of the total weight of cake batter (wet basis). In the last stage, 200 g of cake batter was weighed in a greased glass baking pan (22cm in diameter). Conventional baking was performed

in an electrical oven (Beko, OIM22301X, Turkey) at 180°C for 14 min (Ergün, 2012). The oven was preheated for 5 minutes before placing the cake samples in it.

Analysis Applied to the Spinach Powder, Cake Batters, and Cakes

The moisture content of the spinach powder, cake batters, and cakes were determined according to AOAC (Method no: 930.15, 2000). Water activity and color (CIE LAB, L^* , a^* , and b^*) values were measured using a Testo-AG 400, German water activity measurement device ($25\pm 2^\circ\text{C}$) and a Minolta CR-400 Colorimeter, Japan (calibrated with a white standard plate), respectively. The percent weight loss (WL %) of the cakes during baking was calculated by using Equation (1):

$$WL (\%) = \frac{W_{cake} - W_{batter}}{W_{batter}} \times 100 \quad (1)$$

where w denotes weight (g).

Percent cooking yield (CY%) of the cakes during baking was calculated using Equation (2):

$$CY (\%) = \frac{W_{cake}}{W_{batter}} \times 100 \quad (2)$$

In order to measure symmetry, uniformity, and the volume index values, the cakes were cooled for 1h and then cut in half from the center and an analysis was performed using the cake measuring template method as described in the American Association of Cereal Chemists (AACCI Method no:10-91.01, 2000). This method takes the size of pans used for the cake production into account and determines these values in terms of millimeters. The vitamin C content values of the cake samples were determined according to Hışıl (2007). The indication principle of the vitamin C value is based on extraction with 10% oxalic acid and afterwards the addition of 2, 6-dichlorophenolindophenol solution. The absorbance was measured at 518 nm by a Varian Cary 50 uV/Vis spectrophotometer.

Sensory Evaluation of Cakes

In this study, the sensory evaluation, aimed to determine the effect of intensity and the

acceptability of spinach powder in the cake formulation in terms of color, aroma, flavor, texture (spongy and elastic structure), porosity (spongy structure), odor, hardness (mouth feel and toughness), and general acceptability ratings. The scoring sensory tests were conducted by 10 panelists among the staff and students of the Department of Food Engineering (Ege University, İzmir, Turkey). Cakes were evaluated on the basis of overall acceptance. A five-point scale ranging from 1 (dislike extremely) to 5 (like extremely) was used for the evaluation of the quality parameters.

Statistical Analysis

All experiments were performed in duplicate and measurements were performed in triplicate. All data points shown in graphs represent the mean of the triplicate analysis. Statistically significant differences between samples were determined using ANOVA (analysis of variance, F-test for

multiple samples or two samples with $\alpha = 0.05$, SPSS 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Significant differences are indicated by different letters when the p-value was below 0.05.

RESULTS and DISCUSSION

The moisture content and water activity values of the microwave dried spinach powder were found to be: $3.28 \pm 0.01\%$ (wet basis) and 0.102 ± 0.01 , respectively. The values of water activity between 0.20 and 0.40 ensures the stability of the product while in storage against browning and hydrolytical reactions, oxidation, and enzymatic activity (Quek et al., 2007). For this reason, the microwave-dried spinach powder along with the low water activity values can be acceptably stable for long-term storage. The results of the analysis of moisture content and water activity for cake batters and cakes with different amounts of spinach powder are given in Table 1, respectively.

Table 1. The moisture content (% , wet basis) and water activity values of the cake batters and cakes (n=3)

Amount of Spinach Powder Addition (as g/100 g of Total Weight)	Cake Batter		Cake	
	Moisture Content (%)	Water Activity (a_w)	Moisture Content (%)	Water Activity (a_w)
Control	28.24 ± 1.10^b	0.902 ± 0.004^c	22.33 ± 0.50^d	0.822 ± 0.022^d
4	28.96 ± 0.12^b	0.894 ± 0.009^b	16.40 ± 1.15^c	0.768 ± 0.004^c
6	28.70 ± 0.33^b	0.902 ± 0.014^c	13.24 ± 1.19^b	0.731 ± 0.031^b
8	27.80 ± 0.06^a	0.890 ± 0.005^b	13.72 ± 1.50^b	0.735 ± 0.007^b
10	26.63 ± 0.35^a	0.880 ± 0.006^a	12.75 ± 3.43^a	0.722 ± 0.071^a

^{a-d} different letters in the same column indicate significant differences between average values ($P < 0.05$).

The moisture content of cakes is important for the sensory properties of cake (sometimes crumbly cakes are not well accepted by the consumer) and microbial safety (high moisture can increase the microbial activity and leave the cake sticky, Oliveira et al., 2016). Significantly higher moisture content and water activity values were obtained from the plain cake batters and cakes when compared to the cake batters and cakes with spinach powder ($P < 0.05$, Table 1.). The moisture content values of the cake batters and cakes decreased according to the increasing amount of spinach powder, however, this

decrease was not found to be significant for the cake batters with 0%, 4%, and 6% spinach powder ($P > 0.05$). A further increase in the amount of spinach powder (beyond 6%) resulted in a significant decrease in the moisture content of the cake batter ($P < 0.05$). Since the wheat flour has a higher moisture content ($10.88 \pm 0.05\%$ (wet basis)) when compared to the spinach powder ($3.28 \pm 0.01\%$), the replacement of the wheat flour with the spinach powder caused a significant decrease in the moisture content of both the batter and cake ($P < 0.05$). The moisture contents of cakes with spinach powder ($12.75 \pm 3.43\%$ -

16.40±1.15%) were found to be lower when compared to cake with orange flour (wheat flour + 12.5% orange flour, 25.55%), cake with passion fruit flour (wheat flour + 20% passion fruit flour, 27.50%) and cake with an orange flour and passion flour blend (wheat flour + 10% passion fruit flour associated to 6.25% orange flour, 31.49%, Oliveira et al., 2016). In addition, Oliveira et al. (2016) reported that cake with orange flour has a lower moisture content compared to plain cake (27.91%), whereas, the higher moisture content values were obtained for cake with passion flour and cake with the orange flour and passion flour blend. Different cake formulations, additives, the water holding capacity of the additives, baking conditions, etc. may be the reason for the differences.

Similar to the moisture content values, the water activity values of cake batters and cakes generally and significantly decreased depending on the increasing replacement ratio ($P < 0.05$) and the lowest water activity values were observed from the cake with 10% spinach powder. The baking process caused around a 20.93% (plain cake), 43.37% (4% spinach powder addition), 53.87% (6% spinach powder addition), 50.65% (8% spinach powder addition), and 52.12% (10% spinach powder addition) moisture loss for the cake batter.

The color values of spinach powder were measured to be as $L^* = 51.78 \pm 0.66$, $a^* = -6.59 \pm 0.08$, and $b^* = 22.16 \pm 0.32$. The color values of the cake batters, crust, and crumb (L^* , a^* , and b^*) of the cake samples are shown in Figure 1.

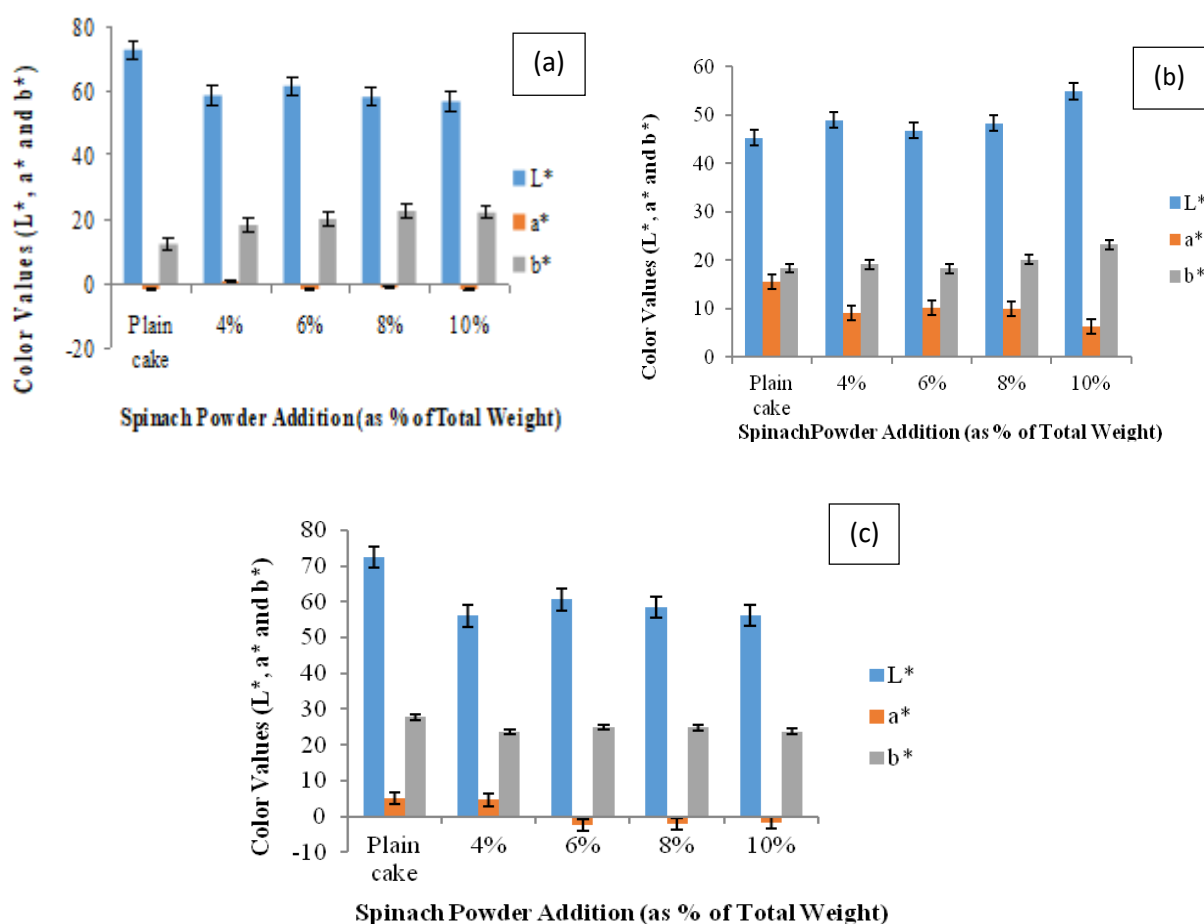


Figure 1. Color Values of Cake Batters (a), Crust (b), and Crumb (c) that containing different amount of spinach powder

The baking process alters the surface properties of the food and subsequently changes light reflection and product color. In addition, chemical reactions such as oxidation take place during baking due to heat effect. These reactions cause changes in the colour parameters from lighter yellow to darker yellow (Croguennec, 2016 and Soleimanifard et al., 2018). Besides, the effect of the baking process, the addition of spinach powders to the cake formulation also caused a significant difference in the color values of the batters and cakes ($P < 0.05$). In addition, significant differences were observed between the crust and crumb of the plain cake and cakes with spinach powder ($P < 0.05$). The brightness values of the cake batters and crumb significantly decreased depending on the increasing amount of spinach powder ($P < 0.05$). It may be due to the darker color (lower L^* value) of the spinach powder compared to the wheat flour. The a^* values of the cake batters were generally found to be in the negative scale which indicates the green color except for the batter with 4% spinach powder. While the green color (negative a^* values) of spinach was not found to be effective on the crust color, the a^* values of the cake crumb attained negative values beyond the addition of 6% spinach powder. Generally, similar to the L^* values, the addition of spinach powder to the cake formulation resulted in a significant decrease in the a^* values of the cake batters, crust, and crumb. Galla et al., (2017) reported that the color values of biscuits decreased depending on the increasing amount of hot air-dried (55 ± 2 °C for 8 h.) spinach powder ($L^* = 55.36$, $a^* = -3.35$, $b^* = 13.91$). The color values of the control biscuit, biscuit with 5%, 10%, and 15% spinach powder are $L^* = 66.15$, $a^* = 11.86$, and $b^* = 33.95$, $L^* = 47.96$, $a^* = 1.52$, and $b^* = 14.26$, $L^* = 42.07$, $a^* = 0.40$, and $b^* = 5.58$, and $L^* = 40.74$, $a^* = 0.61$, and $b^* = 4.42$, respectively. In addition, the biscuits have a dark color instead of green color which may be due to the browning of the spinach carbohydrates during baking. Similarly, in this study, the lower L^* values of the spinach cakes may be due to the browning of the spinach powder during baking. The b^* values of the cake batters significantly increased according to the increasing amount of spinach powder ($P < 0.05$), while the b^* values of

the cake crust and crumb generally were not significantly affected with the additional spinach amount ($P > 0.05$). Kim et al., (2001) studied the dextrin addition to the yellow cake formulation and they reported that the L^* value of the cake with octenyl succinylated amylopectin (OSAD) was significantly higher than the control cake, whereas, all cake with Maltodextrin (MD, MD+ amylopectin (AD), and MD+OSAD) exhibited significantly lower values ($P < 0.05$). The ΔE values of the cake containing MD were significantly higher than the control and the cake with AD or OSAD ($P < 0.05$). Moreover, a greater darkness and yellowness were observed in the cake with MD and it was possibly caused by the browning reactions during baking.

Vitamin C is the least stable vitamin and easily oxidized to form a free radical. The most harmful factors affecting vitamin C are the availability of oxygen, prolonged heating in the presence of oxygen, and exposure to light (Klein and Kurilich, 2000). Thermal processes can be used in food processing techniques to prolong the shelf life of the food products or to prepare the final food product for consumption, but directly reduced the vitamin C content in the food products. Food processing techniques such as soaking, drying, cooking, etc. have a mainly negative affect on the vitamin C content in food products such as bread, cake, biscuit, etc. (Leskova et al., 2006 and Rakcejeva et al., 2011). Thus, the determination of the vitamin C content in food can be crucial to optimize the desired process time to minimize the vitamin content losses. The vitamin C results for the cake batters and cakes with spinach powder are given in Figure 2. According to the results, the vitamin C content of the cake batters and the cakes with spinach powder were found in the range between 0.018 ± 0.003 and 0.033 ± 0.001 (mg/100g). The vitamin C contents of the cakes were significantly increased proportionally to the amount of the spinach powder addition ($P < 0.05$), whereas, in the cake batter, the vitamin C content was not significantly affected ($P > 0.05$). Nursal and Yücecan, (2000) stated that the vitamin C loss for spinach after the cooking process (cooking for 5 minutes) decreased to 58% compared to the fresh or uncooked spinach. In another study, Ilow

et al., (1995) determined vitamin C losses as 53.3% for the conventional cooking process. According to the vitamin C results, the maximum vitamin loss was found in the plain cake as 38.05% and the vitamin C loss for cakes with spinach powder were lower than the plain cake and in the range between 15.84 - 21.57%. It can

be said that the spinach powder and the cake formulation matrix were adjusted positively and the addition of spinach powder to the cake formulation provides the vitamin C retention for better quality cakes and more valuable cereal products.

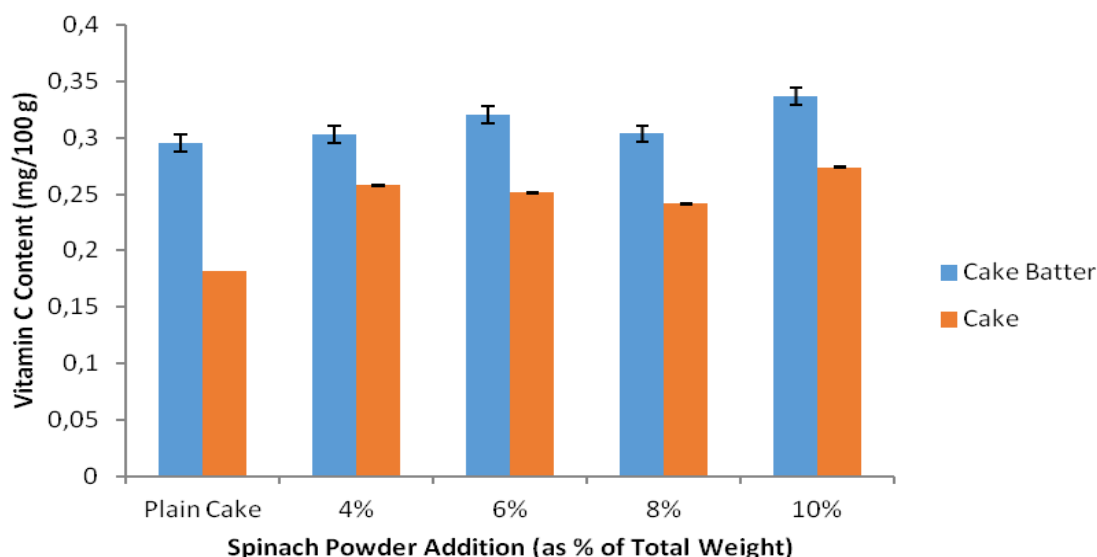


Figure 2. Vitamin C content of cakes (mg/100g)

Weight loss, cooking yield, symmetry, uniformity, and the volume index values of cakes

Weight loss is one of the main parameters which indicates the cake quality (Kahraman et al., 2008). The weight loss of cakes ranged between 10.51% and 14.83% (Table2). The weight loss of the control cake was found to be higher than the other cakes. It might be due to the higher moisture content of the plain cake batter or water holding capacity of the spinach powder. Because the addition of spinach powder increased the total solid content of the cake batter. In addition, the high fiber content of spinach which is related to a higher water holding capacity may be the reason for the lower amount of weight loss. Similarly, Gomez et al., (2007) reported that the yellow layer cakes containing hydrocolloids had lower moisture losses compared to the control cakes. Aydogdu et al., (2018) also reported that a higher amount of lemon fiber prevented the moisture

loss of cakes when compared to the control cake due to the high water holding capacity of the lemon fiber. In addition, the weight loss of the cakes with spinach was found to be higher than pea, oat, apple, and lemon fiber-enriched cake (4.50 - 5.35%, Aydogdu et al., 2018), white layer cake (5.6 - 7.7%, Kahraman et al., 2008), and rice cakes (7.70 -10.7%, Turabi et al., 2008). According to the findings of this study, it can also be stated that spinach powder is an important additive in order to prevent moisture loss from the cake during baking. For this reason, it may be used in the cake formulation in order to reduce weight loss instead of gums. The cooking yield (%) of cakes ranged between 85.17% and 89.40% and generally increased depending on the increased amount of spinach powder. It may be due to binding a significantly greater amount of water using spinach compared to wheat flour. As a result, higher water retention resulted in higher cooking yield which is desired for cakes.

The symmetry, uniformity, and volume index values of the cakes are given in Table 2. The effect of replacing spinach powder with wheat flour in cake formulations on symmetry and uniformity (except for cake with 4% spinach powder) index values of the cakes were found to be statistically insignificant ($P > 0.05$). All symmetry index values were found to be in the positive scale which implies that cakes principally rise in their central part. In addition, the symmetry index gives an idea about gas retention in the final baking phase (Gomez et al., 2008). In this study, the higher symmetry index values which are the expected behavior of the cakes is the rise in the central part and was observed from the cake with 10% spinach powder. The volume index values of samples ranged between 82.00 - 95.00mm, however, the addition of spinach to the cake formulation did not show a clear trend on the volume index values. The volume index value of plain cake was generally found to be higher than cakes with spinach except for the cake with 10% spinach powder. Hera et al., (2012) reported that cakes with a low volume show a low symmetry

index. Similarly, in this study, the cake with 10% spinach powder has both higher symmetry and volume index values compared to other powders. Hera et al., (2012) also reported that there are some factors which are effective on the final volume of the cakes such as starch gelatinization, gas loss during processing, and possible structure collapse after baking. In this study, the replacement of wheat flour with spinach powder may have resulted in a lower starch gelatinization due to the low starch content of the spinach compared to wheat flour. Similarly, Seyhun et al., (2005) reported that the volume index of cake with pre-gelatinized starch added was found to be higher when compared to other cakes (control cake and cake with corn, potato, waxy corn or amylo maize starch), because the development of the structure and volume of the cakes can easily be completed during baking due to its already gelatinized structure. Among the spinach cakes, the highest volume index was observed as 95.00 mm in the cake with %10 spinach powder. It means that the cake had a desired convex shape.

Table 2. Weight loss, cooking yield, symmetry, uniformity, and volume index values of cakes (n=3)

Amount of Spinach Powder Addition (as % of Total Weight)	Weight Loss (%)	Cooking Yield (%)	Symmetry Index (mm)	Uniformity Index (mm)	Volume Index (mm)
Control	14.83±0.91 ^d	85.17±0.94 ^a	2.50±0.35 ^a	0.50±0.01 ^a	87.50±3.54 ^b
4	12.45±0.36 ^b	87.55±0.36 ^b	2.50±0.70 ^a	0.25±0.07 ^a	80.50±3.54 ^a
6	12.47±0.67 ^b	87.53±0.67 ^b	2.50±0.35 ^a	0.50±0.01 ^a	87.50±3.54 ^b
8	13.19±0.20 ^c	86.81±0.20 ^a	2.50±0.21 ^a	0.50±0.07 ^a	82.00±0.00 ^a
10	10.51±0.44 ^a	89.40±0.44 ^c	3.50±0.71 ^a	0.50±0.07 ^a	95.00±1.41 ^c

a-d different letters in the same row indicate significant differences between average values $P < 0.05$.

Sensory Analysis

Consumer research is one of the key applications for goods companies in order to make product decisions, such as the development and marketing of new products, the reformulation of existing products, the acceptance of suppliers and processes, and the establishment of quality control specifications. According to Mercier et al., (2016), the sensory evaluations showed that enrichment levels below 10% generally do not affect consumer acceptance, but higher enrichment levels significantly decrease it. For this reason, in this study, the spinach

concentration was kept under 10%. Sensory evaluation data of the cakes are shown in Figure 3.

The sensory evaluation was used for the determination of the main sensory attributes of the spinach cake. The sensory evaluation based on the determination of the cake quality and general consumer acceptability showed that the cake with 10% spinach powder had greater acceptance by panelists and the sensory properties of the cake such as color, flavor, aroma, and overall acceptability were found to be greater than the

other cakes. Although the flavor and aroma of the cake with 10% spinach powder had the highest scores, the odor of this cake was not desired by the panelists. According to the higher aroma scores of cakes with 10% spinach powder, it can also be stated that cake preserved the pleasant and characteristic aroma of spinach. The differences between the color, flavor, porosity, and texture scores were not found to be statistically significant ($P > 0.05$), however, the aroma score of the cake with 10% spinach powder and the aroma score of plain cake and cake with 6% spinach powder were found to be significantly lower compared to the other cakes ($P < 0.05$). In addition, the hardness scores of cakes with spinach powder were found to be significantly higher compared to the plain cake ($P < 0.05$). The desired structure and texture of the cake is provided by starch gelatinization.

The reason for higher hardness scores of cakes with spinach may be due to the low starch content of spinach compared to wheat flour. It may also be stated that after baking, and thus after starch gelatinization, the cake with spinach was not sufficiently formed to the desired cake structure by the panelists. In addition, the lower moisture content of the cake with spinach powder compared to the plain cake may also be the reason for higher hardness scores. Galla et al., (2017) reported that the biscuits with 5% hot air dried spinach powder (55 ± 2 °C for 8 h., 8.60% moisture content) was more acceptable compared to the biscuits with 10% and 15% spinach powder and the flavor scores decreased as the spinach powder increased and bitterness was noticed as an aftertaste in the biscuits with 15% spinach powder.

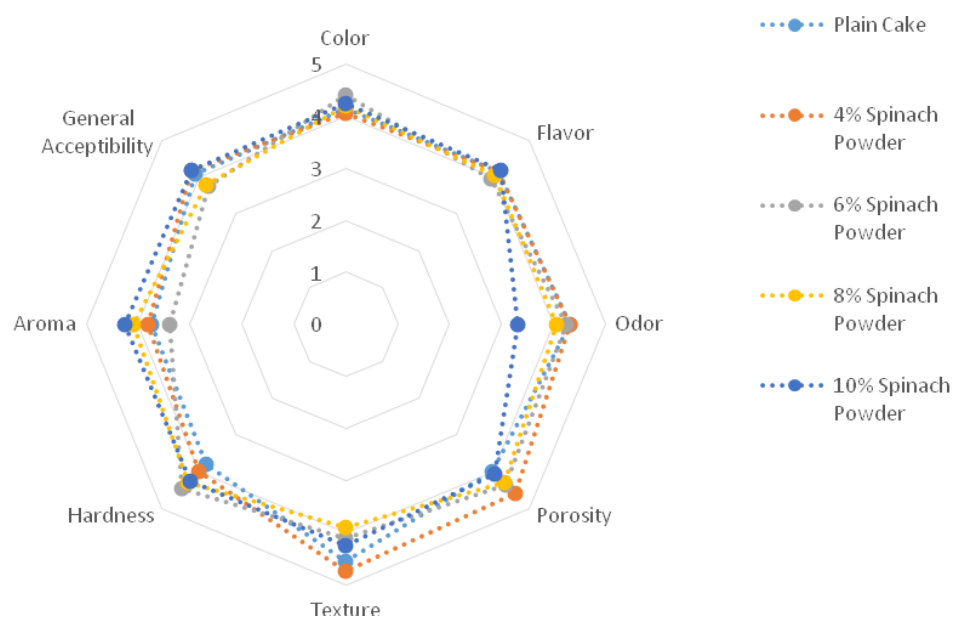


Figure 3. Results of sensory evaluations

Conclusion

In this study, the cakes with an alternative and improved formulation with the addition of microwave dried spinach powder were produced. The addition of spinach powder to the cake formulation resulted in a significant decrease in the moisture content and water activity values of both cake batters and cakes. The L^* and a^* values

of cake batters and crumb generally decreased depending on the increasing amount of spinach powder. The addition of the spinach powder to the cake formulation resulted in a decrease in weight loss (10.51 - 14.83%), whereas, there was an increase in the cooking yield (85.17 - 89.40%) which is also desired for cakes. This may be due to the water binding properties of spinach. The

cake with 10% spinach powder has both higher symmetry and volume index values compared to other powders which show the development of desired structure and volume. The results showed that there is a significant enhancement in the vitamin C content of cake made with spinach powder ($P < 0.05$). The cake with 10% spinach powder had the highest rating (4.25 for color, 4.20 for flavor, 4.25 for aroma, and 4.20 for overall acceptability) compared to the other samples. As a result of this study, it can be stated that the addition of spinach powder to the cake formulation will be a solution to increase the vitamin C content, cooking yield, symmetry and uniformity index values, color, flavor, aroma, and overall acceptability scores of the cakes.

REFERENCES

- AACC (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Method 10-91. *AACC (Am Assoc Cereal Chem)*, St. Paul, Minnesota.
- AOAC(2000). Official methods of analysis. 17th Ed. Gaithersburg, MD, US A: *Association of Official Analytical Chemists*.
- Ayadi, M. A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., Attia, H. (2009). Cladodes from *Opuntia ficus-indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Ind Crop Prod*, 30(1), 40-47, doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.01.003.
- 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.
- Croguennec, T. (2016). Non-Enzymatic Browning. In: *Handbook of Food Science and Technology 11*, (Eds.): Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P. and Brule, G. John Wiley and Sons, United Kingdom, PP. 133-157.
- Çalışkan Koç, G., Dirim, S.N. (2017). Spray Drying of Spinach Juice: Characterization, Chemical Composition, and Storage. *J Food Sci*, 82(12), 2873-2884, doi.org/10.1111/1750-3841.13970.
- Çalışkan Koç, G., Dirim, S. N. (2018). Spray dried spinach juice: powder properties. *J Food Meas Charact*, 1-15, doi.org/10.1007/s11694-018-9781-9.
- Citak, S., Sonmez, S. (2009). Mineral contents of organically and conventionally grown spinach (*Spinaceaoleracea* L.) during two successive seasons. *J Agric Food Chem* 57(17), 7892-7898, doi: 10.1021/jf900660k.
- Dadali, G., Demirhan, E., Özbek, B. (2007). Color change kinetics of spinach undergoing microwave drying. *Dry Technol*, 25(10), 1713-1723, doi.org/10.1080/07373930701590988.
- Ergün Kadriye, (2012). Dondurularak kurutulmuş kivi püresi tozu kullanılarak hazırlanan keklerde pişirme yöntemi ve formülasyonun kalite kriterlerine etkisinin incelenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 174 syf.
- Galla, N. R., Pamidighantam, P. R., Karakala, B., Gurusiddaiah, M. R., Akula, S. (2017). Nutritional, textural and sensory quality of biscuits supplemented with spinach (*Spinaciaoleracea* L.). *Int J Gastron Food Sci*, 7, 20-26, doi.org/10.1016/j.ijgfs.2016.12.003.
- Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C. M., Pando, V., Fernández, E. (2008). Studies on cake quality made of wheat–chickpea flour blends. *LWT-Food Sci Technol*, 41(9), 1701-1709, doi.org/10.1016/j.lwt.2007.11.024.
- Gomez, M., Ronda, F., Caballero, P. A., Blanco, C. A., Rosell, C. M. (2007). Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocoll*, 21(2), 167-173, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.03.012
- Guevara-Arauz JC, Ba'rcenas DG, Ortega-Rivas E et al (2014) Effect of fiber fractions of prickly pear cactus (nopal) on quality and sensory properties of wheat bread rolls. *J Food Sci Technol* 52:2990–2997. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1341-7>.
- Hera, E., Ruiz-París, E., Oliete, B., Gómez, M. (2012). Studies of the quality of cakes made with wheat-lentil composite flours. *LWT-Food Sci*

- Technol*, 49(1), 48-54, doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.009.
- Hışıl, Y. (2007). The Analysis of Instrumental Food Analysis Laboratory. Izmir: Ege University Engineering Department Academic Press. 41 p.
- Ilow, R., Regulska-Ilow, B., Szymczak, J. (1995). Assesment of vitamin C losses in conventionally cooked and microwave-processed vegetables. *Bromatol Chem Toksykol*, 28, 317-322.
- Kaack K, Pedersen L, Laerke HN, Meyer A (2006) New potato fibre for improvement of texture and colour of wheat bread. *Eur Food Res Technol*, 224:199–207. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0301-5>.
- Kahraman, K., Sakıyan, O., Ozturk, S., Koksel, H., Sumnu, G., Dubat, A. (2008). Utilization of Mixolab® to predict the suitability of flours in terms of cake quality. *Eur Food Res Technol*, 227(2), 565-570, doi.org/10.1007/s00217-007-0757-y.
- Karaaslan, S. N., Tuncer, I. K. (2008). Development of a drying model for combined microwave–fan-assisted convection drying of spinach. *Biosyst Eng*, 100(1), 44-52, doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.12.012.
- Kim, H. Y. L., Yeom, H. W., Lim, H. S., & Lim, S. T. (2001). Replacement of shortening in yellow layer cakes by corn dextrins. *Cereal Chem*, 78(3), 267-271. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.3.267>
- King, V. A. E., Liu, C. F., Liu, Y. J. (2001). Chlorophyll stability in spinach dehydrated by freeze-drying and controlled low-temperature vacuum dehydration. *Food Res Int*, 34(2-3), 167-175, doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00148-4.
- Klein, B. P., Kurilich, A. C. (2000). Processing effects on dietary antioxidants from plant foods. *HortScience*, 35(4), 580-584.
- Lebesi, D. M., Tzia, C. (2011). Effect of the addition of different dietary fiber and edible cereal bran sources on the baking and sensory characteristics of cupcakes. *Food Bioprocess Tech*, 4(5), 710-722, doi.org/10.1007/s11947-009-0181-3.
- Lešková, E., Kubíková, J., Kováčiková, E., Košická, M., Porubská, J., Holčíková, K. (2006). Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *J Food Compos Anal*, 19(4), 252-276, doi.org/10.1016/j.jfca.2005.04.014.
- Mercier, S., Moresoli, C., Mondor, M., Villeneuve, S., Marcos, B. (2016). A Meta-Analysis of Enriched Pasta: What Are the Effects of Enrichment and Process Specifications on the Quality Attributes of Pasta?. *Compr Rev Food Sci F*, 15(4), 685-704, doi.org/10.1111/1541-4337.12207.
- Nursal, B., Yücecan, S. (2000). Vitamin C losses in some frozen vegetables due to various cooking methods. *Food/Nabrung*, 44(6), 451-453, doi.org/10.1002/1521-3803.
- Oliveira V. R., Preto, L. T., Schmidt H. O., Komerowski, M., Silva, V. L., Rios, A. O. (2016). Physicochemical and sensory evaluation of cakes made with passion fruit and orange residues. *Journal Of Culinary Science & Technology*, 14; (2), 166–175. doi.org/10.1080/15428052.2015.1102787.
- Ozkan, I. A., Akbudak, B., Akbudak, N. (2007). Microwave drying characteristics of spinach. *J Food Eng*, 78(2), 577-583, doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.10.026.
- Quek, S. Y., Chok, N. K., Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chem Eng Process*, 46(5), 386-392, doi.org/10.1016/j.ccep.2006.06.020.
- Rakcejeva, T., Galoburda, R., Cude, L., Strautniece, E. (2011). Use of dried pumpkins in wheat bread production. *Procedia Food Science*, 1, 441-447, doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.068.
- Seyhun, N., Sumnu, G., & Sahin, S. (2005). Effects of different starch types on retardation of staling of microwave-baked cakes. *Food Bioprod Process*, 83(1), 1-5, doi: 10.1205/fbp.04041.
- Soleimanifard, S. Shahedi, M., Emam-Djomeh, Z., Askari, G.R. (2018). Investigating Textural and Physical Properties of Microwave Baked Cupcake. *J Agr Sci Tech-Iran*, 20: 265-276.
- Song, Z., Jing, C., Yao, L., Zhao, X., Wang, W., Mao, Y., Ma, C. (2016). Microwave drying

performance of single-particle coal slime and energy consumption analyses. *Fuel Process Technol*, 143, 69-78, doi.org/10.1016/j.fuproc.2015.11.012.

Toledo, M. E. A., Ueda, Y., Imahori, Y., Ayaki, M. (2003). L-ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinaciaoleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. *Postharvest Biol Tec*, 28(1), 47-57, doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00121-7.

Turabi, E., Sumnu, G., Sahin, S. (2008). Optimization of baking of rice cakes in infrared-microwave combination oven by response surface methodology. *Food Bioprocess Tech*, 1(1), 64-73, doi.org/10.1007/s11947-007-0003-4.

Wang J, Benedito C, Rosell CM (2002) Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chem*, 79:221–226 [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00135-8)

Watanabe, T., Orikasa, T., Shono, H., Koide, S., Ando, Y., Shiina, T., Tagawa, A. (2016). The influence of inhibit avoid water defect responses by heat pretreatment on hot air drying rate of spinach. *J Food Eng*, 168, 113-118,doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.014.

DETERMINATION OF THE FOAMING AND EMULSIFYING PROPERTIES OF LYOPHILIZED WHOLE QUAIL EGG, EGG YOLK AND EGG WHITE

Serap Duraklı Velioglu*

Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Tekirdag Namik Kemal University, Tekirdag, Turkey

Received / Geliş: 31.07.2019; Accepted / Kabul: 07.09.2019 Published online / Online baskı: 26.09.2019

Duraklı Velioglu, S. (2019). Determination of the foaming and emulsifying properties of lyophilized whole quail egg, egg yolk and egg white. GIDA (2019) 44 (5): 919-931 doi: 10.15237/gida.GD19113

Duraklı Velioglu, S. (2019). Liyofilize bıldırcın yumurtası, yumurta beyazı ve yumurta sarısının köpük oluşturma ve emülsifikasyon özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2019) 44 (5): 919-931 doi: 10.15237/gida.GD19113

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the foaming and emulsifying properties of lyophilized whole quail egg, egg yolk and egg white. The microstructural properties of oil-in-water emulsions of egg powders were determined and rheological properties of mayonnaise-like product produced using egg yolk powder were investigated. The highest foaming capacity was recorded for egg white powder at all pH levels. Egg yolk powder at 1% dispersion level had the highest emulsion activity index value ($P<0.05$). Micrographs of scanning electron microscope (SEM) proved that the finest emulsion was prepared using egg yolk powder. Mayonnaise-like product produced using egg yolk powder exhibited gel-like structure ($G'>G''$) with shear thinning behavior. Quail egg yolk powder was successfully used in production of a product having acceptable rheological properties. Consequently, it was shown that lyophilized quail egg powders had potential to be used as alternative foaming and/or emulsifying agents in food products.

Keywords: Quail egg, lyophilization, emulsion, scanning electron microscopy, rheology

LİYOFİLİZE BILDIRCIN YUMURTASI, YUMURTA BEYAZI VE YUMURTA SARISININ KÖPÜK OLUŞTURMA VE EMÜLSİFİKASYON ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZ

Bu çalışmanın amacı liyofilize edilmiş bıldırcın yumurtası, yumurta beyazı ve yumurta sarısının köpük oluşturma ve emülsifikasyon özelliklerini araştırmaktır. Liyofilize bıldırcın yumurtası tozlarının suda yağ emülsiyonlarının mikroyapısal özellikleri belirlenmiş, yumurta beyazı tozu kullanılarak üretilen mayonez benzeri ürüne ait reolojik özellikler araştırılmıştır. En yüksek köpük oluşturma kapasitesi, tüm pH değerlerinde yumurta beyazı ile elde edilmiştir. En yüksek emülsiyon aktivite endeksi değeri, %1 dispersiyon düzeyinde yumurta sarısı tozu ile elde edilmiştir ($P<0.05$). Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile elde edilen görüntüler, en iyi emülsiyonun yumurta sarısı tozu ile elde edildiğini kanıtlamıştır. Liyofilize bıldırcın yumurtası sarısı ile üretilen mayonez benzeri ürünün kayma incelenmesi davranışı sergilediği ve jel benzeri yapı ($G'>G''$) oluşturduğu belirlenmiştir. Liyofilize bıldırcın yumurtası sarısı, kabul edilebilir reolojik özelliklere sahip mayonez benzeri ürün üretiminde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Sonuç olarak, liyofilize bıldırcın yumurtası tozlarının, gıda ürünlerinde köpük oluşturma ve/veya emülsiyon oluşturma alternatif bileşen olarak kullanılabilme potansiyelinin mevcut olduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bıldırcın yumurtası, liyofilizasyon, emülsiyon, taramalı elektron mikroskobu, reoloji

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ svelioglu@nku.edu.tr

☎ + 90 (282) 250 2166

☎ + 90 (282) 250 9929

INTRODUCTION

Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) is a domesticated small bird and commercially used for egg and meat production due to its fast growth and laying rate, rapid sexual maturity, and low feed requirements compared to other raised birds such as chicken, turkey and duck (Panda and Singh 1990; Rahman et al. 2016). The quail products are not accepted as a food source worldwide, but they are becoming more popular as conventional food in Europe and Asia. Having high content of protein with low fat and cholesterol along with the high mineral and vitamin content makes quail egg not only a good source of nutrients but also a potential ingredient for industrial food applications (Segura-Campos et al. 2013). The high protein content of quail egg proves that it can serve as an emulsifier or a binder in various food processing applications (Tokusoglu, 2006; Duraklı Velioglu et al. 2018; Segura-Campos et al. 2013). In the literature, there are studies investigating the functional properties of chicken and quail egg components (Segura-Campos et al., 2013; Öztürk et al. 2016; Orishagbemi et al. 2017) and quail egg was reported to exhibit superior functional properties than chicken egg (Kudre et al., 2018). There are also studies about the effect of processing on the functionality of egg components (Huang et al., 2016), since the processes such as heat treatment, drying, freezing and thawing applied to egg could alter the functional properties such as foaming, gelling and emulsifying by means of structural unfolding of the proteins and also lipoproteins (Thierau et al. 2014). However, the studies about the functionality of quail egg is still limited and to the best of our knowledge, microstructure and rheological properties of oil-in-water emulsions produced using lyophilized quail egg were not studied. Therefore, the aim of the present study was to investigate the foaming and emulsifying properties of lyophilized whole quail egg, egg white and egg yolk. For this aim determination of the aforementioned functional properties along with the microstructural properties of oil-in-water emulsions of lyophilized quail egg powders and rheological properties of mayonnaise-like product produced using egg yolk powder was

accomplished. Additionally, proximate composition of the samples was determined.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of egg powders

A total of 240 eggs from Japanese quail were obtained from quail coops of Department of Animal Science, Namık Kemal University, Tekirdag, Turkey. All eggs were stored at 4°C until the analysis. Eggs were deshelled manually and egg white, egg yolk and whole egg were obtained in liquid form and collected in polyethylene sample containers. The vitelline membrane was removed at the separation step of the egg yolk. Then, as a pretreatment, all the liquid samples were stored at -80°C in freezer (TSU700, Thermo Fisher Scientific, OH, USA) for 24 h. The samples were lyophilized using a laboratory freeze dryer (Alpha 2-4 LDPlus, Christ GmbH, Germany) at a temperature of -76°C and pressure of 0.001 mbar. The samples were used without defatting. Dried and powdered samples were stored at -20°C for further analysis.

Proximate composition

Total protein, ash, moisture and fat analysis of the samples were done according to the AOAC official methods 954.01, 923.03, 925.09 and 920.39, respectively (Horwitz, 1997).

Water and fat absorption capacities

Both water absorption capacity (WAC) and fat absorption capacity (FAC) analyses were done according to the methods described by Segura-Campos (2013) and Lili et al. (2015) with slight modifications. One gram (W) sample and 10 ml distilled water or corn oil were mixed in pre-weighed 15 ml centrifuge tube using a vortex for 1 min at room temperature. Sample was left to stand for 30 min at 30°C in an incubator. The initial volume of the mixture (V_1) was recorded. Tubes were centrifuged at a speed of 2500 g for 20 min. The supernatant volume (V_2) was recorded. Equation 1 was used for calculation of water and fat absorption capacities. The results were given as ml of water per gram of sample and ml of oil per gram of sample for water and fat absorption capacity, respectively.

$$WAC/FAC = \frac{V_1 - V_2}{W} \quad (1)$$

Emulsifying properties

The method described by Kudre et al. (2018) was used for determination of emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of samples with slight modifications. Corn oil (6 ml) and egg powder suspensions (1%, 2% and 3%, 18 ml) were homogenized with homogenizer (T25 Ultra-Turrax, IKA-Werke GmbH, Staufen, Germany) at 10000 rpm for 2 min. One ml emulsion was diluted with 99 ml 0.1% SDS solution. After mixing with vortex for 20 s, initial absorbance of the mixture (A_0) and the absorbance at 10th min (A_{10}) were read at 500 nm using a spectrophotometer (Optizen POP UV-Vis, Mecasys Co. Ltd., Daejeon, Korea). Equation 2 and 3 were used for calculation of EAI and ESI:

$$EAI (m^2/g) = \frac{(2 \times 2.303 \times A \times DF)}{(l \times \Phi \times C)} \quad (2)$$

$$ESI (min) = \frac{A_0}{(A_0 - A_{10})} \times \Delta t \quad (3)$$

where DF is the dilution factor of the emulsion (100), l is the path length of spectrophotometer cuvette (m), Φ is the oil volume fraction, C is the protein concentration in aqueous phase (g/m^3) and Δt is 10 min.

Foaming properties

Foaming capacity (FC) and foam stability (FS) were investigated according to the methods described by Segura-Campos et al. (2013) and Kudre et al. (2018) with slight modifications. A 50 ml solution prepared with 3% sample and distilled water was blended at 5000 rpm for 5 min using homogenizer. The pH value of the solution was adjusted to 2, 3, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 and 12 and the analysis was repeated for every single pH value. FC was calculated using the foam volume at the 30th second. FS values were calculated using the foam volumes recorded at the 30th and 60th min after homogenization. Equation 4 and 5 were used for calculation:

$$FC(\%) = (V_f/V_0) \times 100 \quad (4)$$

$$FS(\%) = (V_t/V_0) \times 100 \quad (5)$$

where, V_f is the final volume of the foam at the 30th second after homogenization, V_0 is the volume of protein dispersion at the beginning of the analysis (50 ml) and V_t is the volume of the foam recorded at the 30th and 60th min after homogenization.

Color analysis

Color measurements (L^* , a^* , b^* values) of the powdered samples and the emulsions were performed using a colorimeter (Chroma meter CR-5, Konica Minolta, Japan). The sample was filled in a Petri dish avoiding any gap. Three replicate measurements were performed and the average of the results was used. In the *Lab* color space, L^* , a^* and b^* values indicate the lightness, red/green and yellow/blue coordinates, respectively.

Microscopic analysis of emulsions

Emulsions of egg yolk, egg white and whole egg powders with corn oil were prepared. Total emulsion was composed of 1.3% egg powder, 23.7% distilled water and 75% corn oil for every single emulsion. Powdered sample was rehydrated using distilled water and during homogenization process at 7000 rpm with homogenizer, corn oil was added at a speed of 0.2 ml/sec. Fine emulsions were stored at +4°C until microscopic analysis. Micrographs of the emulsions were obtained using scanning electron microscopy (FEI-SEM QUANTA FEG 250, Thermo Fisher Scientific, Oregon, USA). Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEMTM) mode with gaseous secondary electron detector (GSED) was used in order to avoid breakage of emulsion. Emulsions were cooled down to 5°C on peltier cooling stage and the images were captured at this temperature. The chamber had a pressure of 100-150 Pa and the micrographs with maximum resolution were saved.

Rheological measurements of the mayonnaise-like products

The quail egg yolk powder was utilized in the production of mayonnaise-like product. Fresh egg yolk was used in order to produce a control sample. The mayonnaise-like products were prepared according to the formulation of Huang et al. (2016) with slight modifications. 0.67 g salt, 1.3 g sugar, 5 g egg yolk powder and 10 ml water was mixed at low speed (3000 rpm) for 1 min., and then the oil was added drop-wise during the blending at high speed (10000 rpm) using homogenizer. Vinegar was added at the last step and blended again for 1 min. The mayonnaise-like products produced using egg yolk powder and fresh quail egg yolk were coded as A and B, respectively. The rheological properties of the mayonnaise-like products were determined using Discovery Hybrid Rheometer-2 (TA Instruments, DE, USA). 40 mm standard peltier parallel-plate configuration was used as the geometry. The measurements were conducted at a 1100 μm gap distance at 25 °C. Flow curves were obtained at a controlled shear rate which increased linearly in the 0.1-100 1/s shear range, then decreased linearly to 0 1/s in a total duration of 100 s (Huang et al. 2016). Herschel-Bulkley rheological model was used to determine the flow behavior characteristics as shown in Equation 6:

$$\tau = \tau_0 + k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (6)$$

where, τ , τ_0 , k , $\dot{\gamma}$ and n represent shear stress (Pa), yield stress (Pa), consistency index ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$), shear rate (s^{-1}) and flow index, respectively (Stokes and Telford 2004). Herschel-Bulkley model parameters and R^2 values were determined by the TA instrument software (TA Instruments, DE, USA).

Oscillation tests were performed for the measurement of structure without deformation (Kurt and Genccelep 2018). Firstly, the linear viscoelastic range was determined using strain sweep (0.001-100%) at a frequency of 1.0 Hz. Within the linear viscoelastic range, the frequency sweep test was performed within a frequency range of 0 and 400 rad/s at 25°C. The storage modulus (G') and loss modulus (G'') values were recorded and plotted as a function of angular

frequency. Temperature sweep test was conducted by using a constant strain of 0.1% within the linear viscoelastic range at a frequency of 10 rad/s. The test was performed over a temperature range between 30 to 80°C with increments of 2°C/min. The storage modulus (G') and loss modulus (G'') values were recorded and plotted as a function of temperature.

Statistical analysis

All analyses were done in duplicate. The data obtained from the analysis were subjected to ANOVA and Duncan multiple test was used to show differences between the mean values using the software PASW Statistics 18.0.0 (IBM, New York City, New York, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Proximate composition

The proximate composition of lyophilized egg yolk, egg white and whole egg is reported in Table 1. As expected, the highest protein content was found in egg white powder as 92.8% and this finding was compatible with the findings reported by Segura-Campos et al. (2013) and Kudre et al. (2018) for dried egg white. The protein content of whole egg powder was found as 41.0% which was lower than the finding reported for whole quail egg (50.8%) by Tokusoglu (2006). The lipid content of egg white powder (0.7%) found in this study was in general agreement with the values present in literature. The egg yolk and whole egg powders used in the present study included 52% and 39% lipids, because in the present study these powders were not subjected to additional defatting step. However, in their study, Kudre et al (2018) defatted the egg yolk and whole egg samples using hexane after the lyophilization step. The other slight differences in proximate composition may be due to the different feeding practices and welfare conditions of the birds used as material in different researches.

Water and fat absorption capacities of egg powders

Egg white powder showed significantly high water absorption capacity (7.21 ml/g) compared with yolk (2.84 ml/g) and whole egg powder (4.50 ml/g) ($P < 0.05$). The result could be explained by

the previous finding of this study as the more the protein content in egg white powder, the higher the water absorption ability of the sample. Additionally, the high water absorption capacity can be related with the exposure of polar groups in egg white protein which have significant effect on the amount of absorbed water (Lili et al. 2015). The samples of the present study showed better water absorption capability than that of reported by Segura-Campos et al. (2013). The reason of this

difference may be the dehydration technique they used over 65°C which caused more damage on egg proteins in the meaning of water absorption ability. On the other hand, there was no significant difference between oil absorption capacities of the powdered samples which were measured as 2.21, 2.70 and 2.22 ml/g for egg yolk, egg white and whole egg powder, respectively ($P>0.05$).

Table 1. Proximate composition of lyophilized quail egg white, egg yolk and whole egg and color values of these powdered samples and emulsions prepared using these samples

Sample	L^*	a^*	b^*	Protein [% w/w]	Lipid [% w/w]	Moisture [% w/w]	Ash [% w/w]
<i>Sample in powder form</i>							
Egg white	91.67±0.26 ^a	-1.50±0.08 ^c	16.90±0.22 ^c	92.8±0.4 ^a	0.7±0.0 ^c	2.8±0.1 ^a	3.1±0.1 ^c
Egg yolk	87.30±0.19 ^b	9.35±0.17 ^b	34.62±0.33 ^a	37.9±6.4 ^b	52.0±2.0 ^a	1.0±0.0 ^c	5.1±0.3 ^a
Whole egg	79.95±0.33 ^c	12.88±0.14 ^a	32.33±0.33 ^b	41.0±2.7 ^b	39.0±3.2 ^b	2.0±0.1 ^b	4.2±0.0 ^b
<i>Emulsions</i>							
Egg white	80.73±0.24 ^c	-1.86±0.02 ^c	14.14±0.12 ^c	-	-	-	-
Egg yolk	88.96±0.16 ^a	-0.14±0.00 ^b	15.10±0.02 ^b	-	-	-	-
Whole egg	84.52±0.02 ^b	0.26±0.00 ^a	15.86±0.02 ^a	-	-	-	-

The results are given as mean values ± standard errors (SE). Different letters in the column indicate significant differences ($P<0.05$).

Emulsifying properties

Different proteins and protein sources have been investigated for their functional properties and behaviors in model foods and emulsions, and the functionality of proteins is mostly evaluated in oil-in-water emulsions (Mao and Hua 2012; Kurt and Gencelep 2018). In these type emulsions, the coating of oil droplets and minimal remaining in the dispersed phase are the indicator properties of successful emulsifiers (Foegeding 2015).

Fig. 1a presents the EAI and ESI values of the quail egg powder samples at different dispersion levels (1, 2 and 3%). It can be seen from the figure that the EAI values differ with the dispersion levels used. The results showed that at 1% dispersion level, egg yolk powder had the highest EAI value ($P<0.05$). At 2% dispersion level, there were no significant difference between EAI values of egg yolk and whole egg powders ($P>0.05$). The EAI of egg yolk and egg white powders decreased as the level increased from 1%

to 3%. On the contrary, EAI value of whole egg powder increased with an increase in powder level in emulsion. It is reported that at low protein concentrations, protein migration takes place in a diffusion controlled manner, and this enables the proteins to unfold and localize at the oil-water interface in the emulsions. Conversely, at high protein concentrations, the proteins accumulate in aqueous phase causing a decrease in EAI. This is explained by the activation energy barrier at higher protein concentrations which blocks the protein migration to take place in diffusion controlled manner (Kudre et al. 2018). The result of the present study for EAI of egg white powder at 1% level (24.04 m^2g^{-1}) was compatible with the finding of Kudre et al. (2018) which was reported as 22.51 m^2g^{-1} for lyophilized quail egg white sample. However, the EAI values for egg yolk (26.30 m^2g^{-1}) and whole egg (20.49 m^2g^{-1}) samples of the present study were lower than their findings which were reported as 33.03 m^2g^{-1} and 26.64 m^2g^{-1} for egg yolk and whole egg powders, respectively

(Kudre et al. 2018). These differences in egg yolk and whole egg powder samples may be because of the additional defatting step they used. Using the defatting step, they obtained products having higher protein content affecting the emulsifying properties. Moreover, the structural unfolding of lipoproteins as well as proteins in the egg yolk samples used in the present study may cause the differences in emulsifying properties of the

samples. Also the freezing and thawing conditions could affect the emulsifying properties (Huang et al., 2016). In addition, EAI is a function of oil volume, amount of protein and the procedure and equipment used in emulsion production, hence the differences between the results found in literature are explicable (Pearce and Kinsella 1978).

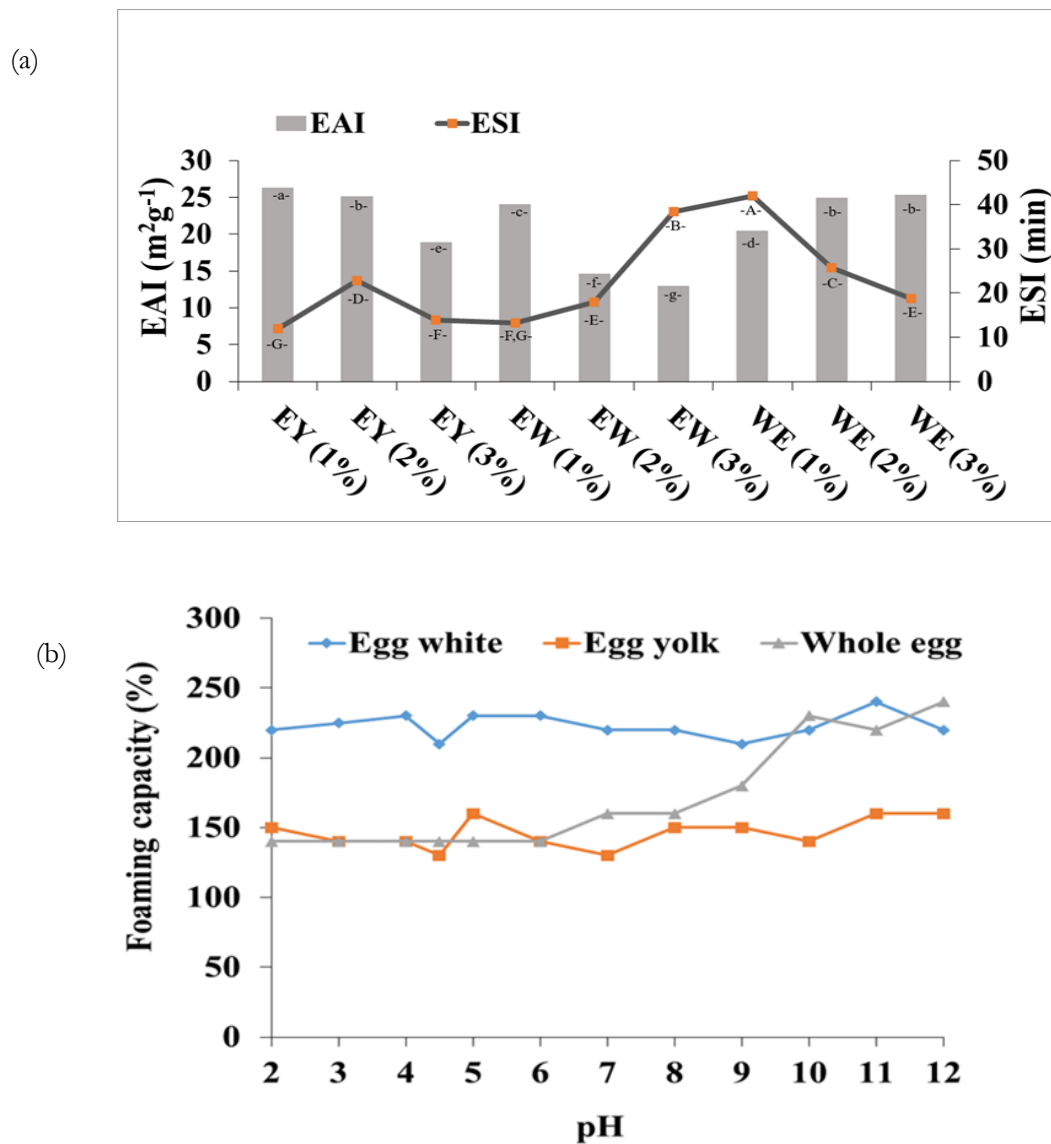


Fig 1(a) Emulsifying properties of the lyophilized egg yolk (EY), egg white (EW) and whole egg (WE) samples: Emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) values (Different lowercase letters indicate the significant differences in EAI values. Different uppercase letters indicate the significant differences in ESI values ($P < 0.05$)). (b) Foaming properties at different pH levels

As known, an emulsion is not stable evermore and, oil and water phases show affinity for separation. That is why the results for ESI value is time depending. In the present study, 10 min time interval was used for ESI measurement and the results are given in Fig. 1a. The ESI values reported by Lili et al. (2015) and Kudre et al. (2018) were higher than the results of the present study. However, it was found that ESI increased with the increase in dispersion level for egg white powder as also reported by Kudre et al. (2018). The same tendency was not observed for egg yolk and whole egg powders. The ESI value decreased slightly at 3% level of egg yolk powder. The ESI values for whole egg powder also decreased with the increase in dispersion level, and these can be because of the differences in the protein content of the products used in this study. Kudre et al. (2018) reported partial protein denaturation through drying as a factor which had a positive effect on the emulsifying properties by means of increasing the molecular flexibility and superficial hydrophobicity. The differences in the process conditions used and the differences in the composition could be effective on the emulsifying properties of the samples.

Foaming capacity and foam stability

Foaming properties were investigated at different pH values for all samples. Foaming ability of the egg proteins depends on their localization at the air-water interface and homogenous distribution in the dispersion. While the solubility of egg powders is a pH dependent manner due to the isoelectric point of individual proteins existing in the sample, it is expected that the solubility is the lowest or not at or near the isoelectric point (Lili et al. 2015). As expected, the highest foaming capacity was recorded for egg white powder as shown in Fig. 1b. There are several proteins in egg with different isoelectric points. The major protein in egg white is ovalbumin and it has low solubility at its isoelectric point, pH 4.5. The decrease in FC at pH 4.5 could be explained by the isoelectric point of ovalbumin. While the results of the present study were compatible with the results expressed by Kudre et al. (2018), sharp decreases were not recognized in foaming capacity with the increase in pH levels as reported

by Segura-Campos et al. (2013). FC values measured in the present study verified that foam formation occurs in an isoelectric point dependent manner and decreases at pH 4.5 and 9.0 which are the isoelectric points of ovalbumin and lysozyme, respectively (Rao et al. 2013).

Foam stability values for egg white, egg yolk and whole egg powders at 30 and 60th min and different pH levels are seen in Fig 2. The FS values of egg white powder were generally higher than that of egg yolk and whole egg. The highest FS value was measured as 200% at pH 11. Hoppe (2010) reported that ovomucin, one of the major proteins in egg white, has long carbohydrate chains which may increase the foam stability with high water retention ability. In the same study, it was found that the foam stability at pH 9.11 was higher than that of pH 6. On the contrary, Segura-Campos (2013) reported a decrease in FS value with the increase of pH. The results of the present study for FS were significantly higher than the results found by Lili et al. (2015). In their study, FS values for egg white protein produced by both spray drying and freeze drying methods were approximately 30%. The difference between the findings could be explained by the denaturation effect of spray drying on egg proteins and/or the measurement of FS value.

Color values of the samples

The color parameters (L^* , a^* , b^*) of powdered samples and emulsions are given in Table 1. As expected, L^* value of egg white powder was the highest such as the b^* value of egg yolk powder. The differences were significant for every color parameter in sole sample group ($P < 0.05$). L^* value of the emulsion containing egg yolk powder was higher than that of other samples. This was probably because of the high fat content of the egg yolk. It was reported that higher fat content and smaller fat droplets in the emulsion result in high L^* values because of the good refraction of light (Thaiudom and Khantarat 2011).

Microscopic structure of emulsions

The most critical point in microscopic analysis of emulsion is the use of cooling stage at 5°C that avoids the coalescing of oil droplets. SEM

micrographs showed that the emulsification ability of egg yolk (Fig. 3a) was better than whole egg (Fig. 3b) and egg white (Fig. 3c). As reported by Buxmann et al. (2010), if the role of every single egg yolk component is considered separately, egg yolk proteins determine the emulsifying activity. As can be seen from Fig 3a, the distribution of oil droplets in the emulsion prepared with egg yolk powder was homogenous and there was a smooth structure. On the other

hand, the emulsion prepared with egg white powder had many oversized and deformed oil droplets which were expected to be unstable in shelf life of such an emulsion. There was a moderate surrounding effect of proteins in the emulsion prepared with whole egg powder and this finding proved that the whole egg powder could also be preferred in the preparation of an emulsion.

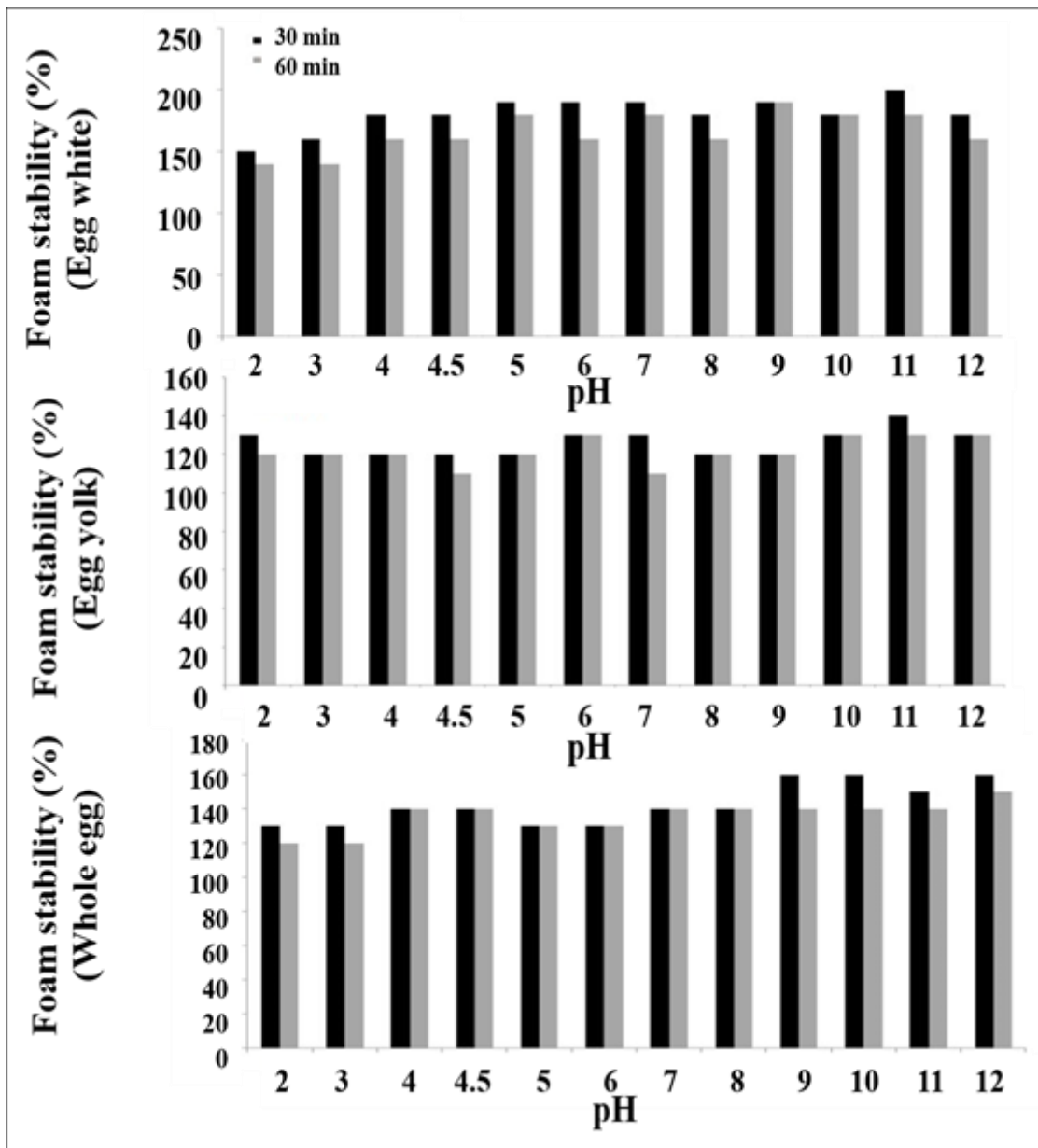


Fig 2 Foam stability of lyophilized egg yolk, egg white, and whole egg samples

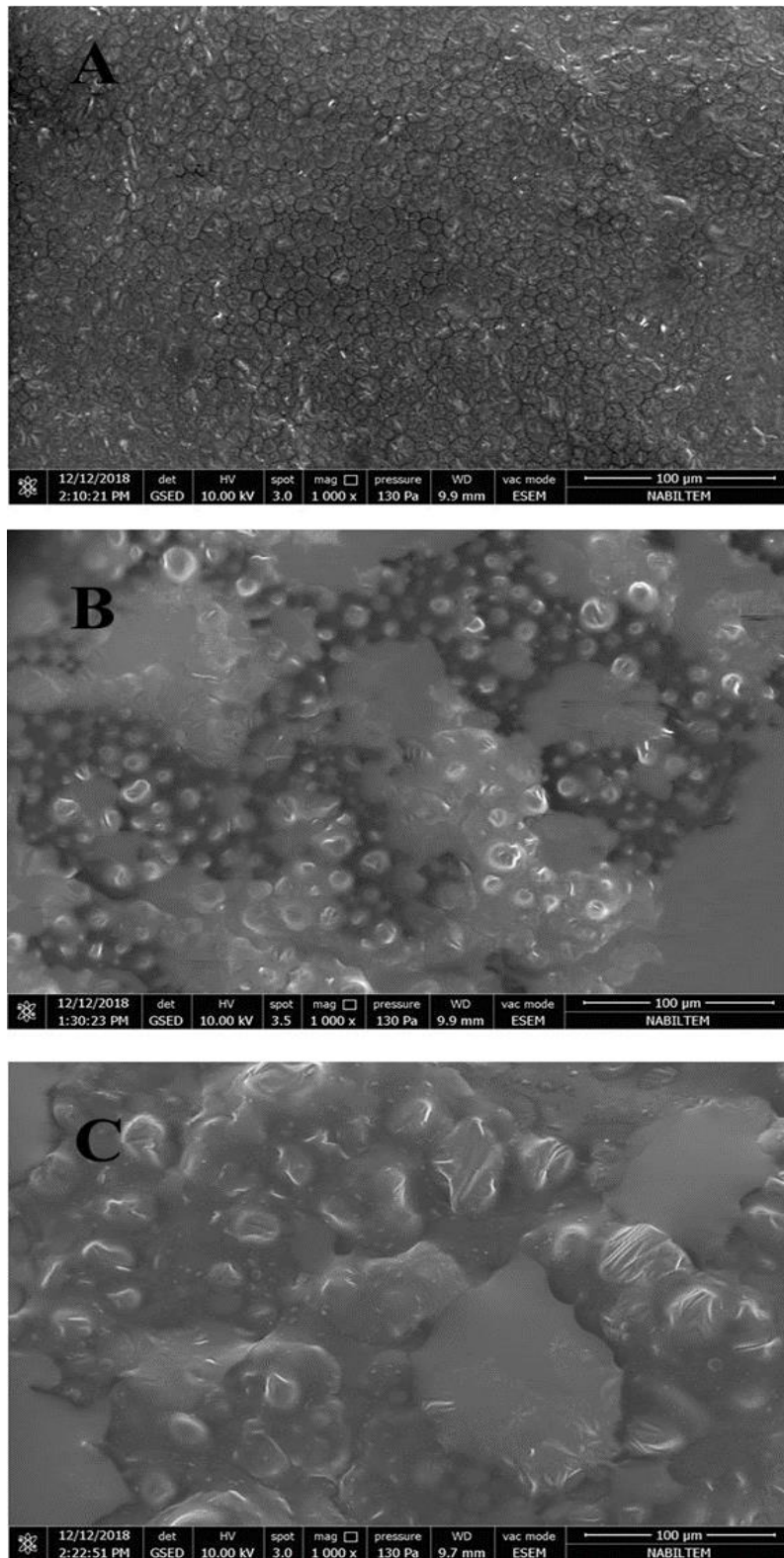


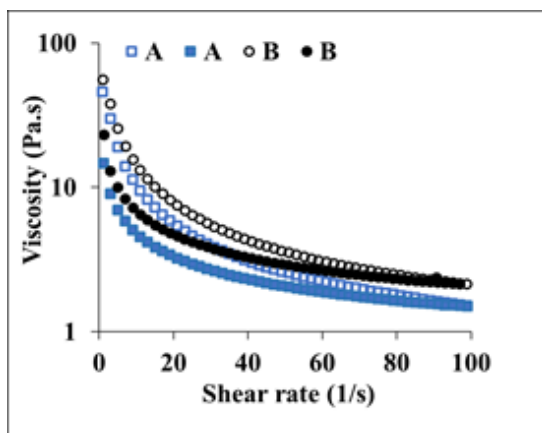
Fig 3 Micrographs of the emulsions prepared with egg yolk (a), whole egg (b) and egg white (c) powder

Rheological properties of the mayonnaise-like products produced using egg yolk powder

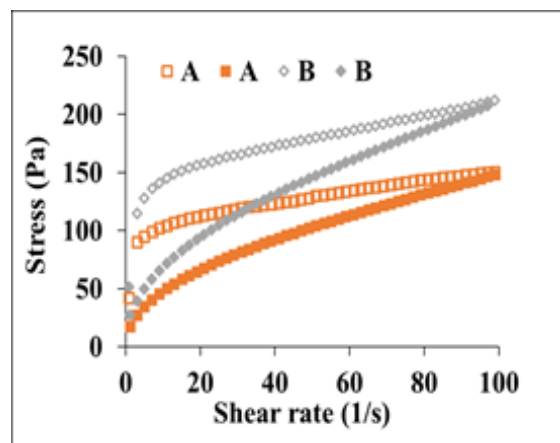
Typical flow curves for mayonnaise-like samples were obtained as seen in Fig. 4a and 4b. The experimental data fitted the Herschel-Bulkley model well having high R^2 values (0.998 for sample A and 0.995 for sample B). For Sample A and B, n values were 0.57 and 0.52, respectively. When the consistency index values (4.76 and 8.71 Pa.sⁿ for A and B) were compared, control sample could be seen as the emulsion with higher viscosity. The change of viscosity of the mayonnaise samples with the increase in shear rate is seen in Fig. 4a. The higher the shear rate, the lower the viscosity value indicating a non-Newtonian flow behavior. As expected, flow behavior of products like mayonnaise display shear-thinning response, probably because of the breaking up of oil droplet clusters with applied shear (Liu et al. 2018).

In case of emulsions like mayonnaise, there is a critical level of stress that must be reached to flow. This value is called as yield stress and is of great importance in processing and stability of the

product (Stokes and Telfor, 2004). It is also a useful parameter for the prediction of sensory values of products like mayonnaise (Stern et al. 2001). Yield stress values for the upward flow curves were 85.22 and 113.39 Pa for sample A and B, respectively. The yield stress value of sample A was lower than that of control sample (B) showing that the control sample could stand more stress than sample A. This is probably because of the freeze drying process of the egg yolk. Freezing and thawing processes were reported to be effective on the emulsifying properties of egg yolk by Huang et al. (2016). In the literature, there is no study about the rheological properties of the emulsions of the quail eggs. Nevertheless, the yield point of 85.22 Pa is comparable with the values reported in the literature for mayonnaise-like products produced using frozen chicken egg yolk (15-32.4 Pa) (Huang et al. 2016), fresh chicken egg yolk (42.2- 62.9 Pa) and lyophilized chicken egg yolk granules (45.4 Pa) (Laca et al. 2010a). Stern et al. (2001) also reported yield stress values of 43-190 Pa and 94-116 Pa for traditional and light mayonnaise samples containing 2% egg yolk.



(a)



(b)

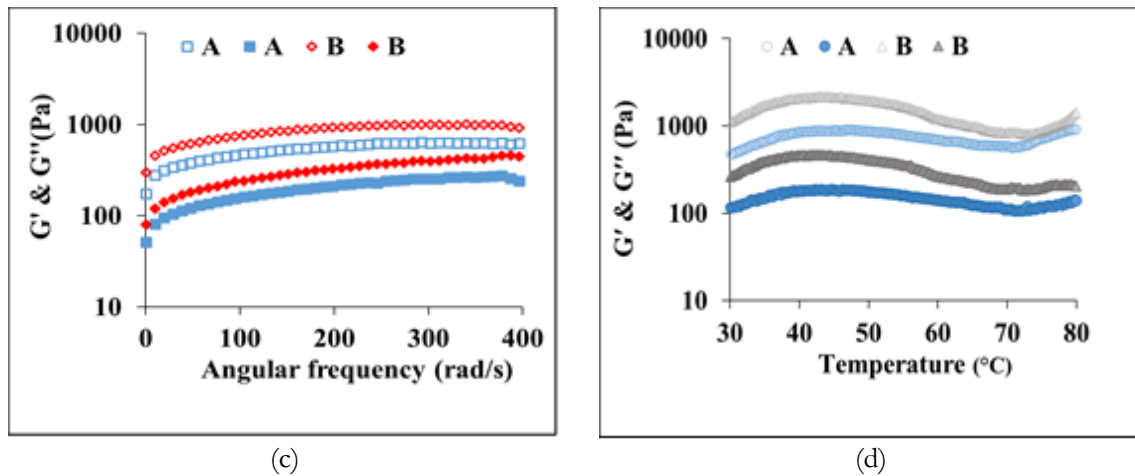


Fig 4 Change of viscosity (a) and stress (b) values of the mayonnaise-like samples with shear rate (*Empty symbols and the full symbols represent the upward and downward curve values*), Change of Storage (G'), and Loss (G'') modulus of the mayonnaise-like samples with frequency (c) and temperature (d) (*Empty symbols represent storage modulus (G') and full symbols represent loss modulus (G'') values. A: mayonnaise-like sample produced using freeze-dried quail egg yolk. B: mayonnaise-like sample produced using fresh quail egg yolk*)

Within the linear viscoelastic range, the strain value of 0.1% was selected to be used in frequency sweep test. According to the results of the frequency tests (Fig. 4c) both of the samples showed a viscoelastic behavior. G' always was higher than G'' throughout the frequency range studied. Fig. 4c also shows the frequency dependency of G' and G'' values. Hence, the mayonnaise-like products produced using quail egg yolk samples showed gel-like behavior (Thaiudoma and Khantara, 2011). Such behavior was also reported for mayonnaise samples studied in the literature (Laca et al, 2010a). It is known that G' of an emulsion is a good indicator of the emulsion's solid-like character originating from the network structure of the emulsion. Hence, it can be concluded that the viscoelastic property of sample A is lower than that of control sample indicating a less solid-like mayonnaise sample showing a weaker structure which can be easily broken under shear stress (Huang et al. 2016). This difference could be attributed to the effect of freezing conditions. The lyophilization process of the quail egg yolk used in the production of the mayonnaise-like product could be effective on the viscoelastic behavior of the product.

The temperature dependence of G' and G'' values of the mayonnaise-like products produced using

quail egg yolks were presented in Fig. 4d. All the values started to decrease around 40°C until around 70°C, and then increased. It is obvious that at high temperatures the denaturation of egg yolk proteins occurred. G' value of sample A started to increase after 70°C, and that of the sample B started to increase after 73°C. This point was reported to be the indication of the transition from a liquid-like state to a solid-like state (Laca et al. 2010b). Huang et al. (2016), reported this point between 57.5 - 67°C for the mayonnaise-like products produced using stored frozen chicken egg yolks. The difference could be because of the different raw materials and process conditions used.

CONCLUSION

Foaming and emulsifying properties of lyophilized whole quail egg, egg white and egg yolk were investigated in this study. Lyophilized quail egg white, egg yolk and whole egg had different properties in the meaning of emulsification, foaming and water binding. The highest protein content was found in egg white powder and this resulted to the highest water absorption ability. While the egg white powder was superior in foaming capacity, egg yolk and whole egg powder was good in emulsion formation. SEM analysis of the emulsions

prepared with the samples showed that the microscopic structure of the emulsion produced using egg yolk powder was the most homogenous one. Quail egg yolk powder was successfully used in the production of mayonnaise-like product having acceptable rheological properties. As a result, quail egg powders obtained by lyophilization technique could serve as alternative components in food industry. Further research could be conducted about the usage of lyophilized quail egg powders in different food products.

REFERENCES

- Buxmann, W., Bindrich, U., Strijowski, U., Heinz, V., Knorr, D., Franke, K. (2010). Influencing emulsifying properties of egg yolk by enzymatic modification with phospholipase D. Part 2: Structural changes of egg yolk due to incubation. *Coll Surf B Biointerfaces* 76: 192-198, doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.10.035.
- Duraklı Velioglu, S., Baytur, S., Özdiñç, N. (2018). Emulsion capacity of lyophilized quail eggs. The 4th Symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus”, 19-21 April, Kyrenia, Northern Cyprus, 360 p.
- Foegeding, E.A. (2015). Food protein functionality-A new model. *J Food Sci* 80: C2670-C2677, doi: 10.1111/1750-3841.13116.
- Hoppe, A. (2010). Examination of egg white proteins and effects of high pressure on select physical and functional properties. MSc thesis, University of Nebraska, the USA.
- Horwitz, W. (1997). Official methods of analysis, 17th Ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA
- Huang, L., Wang, T., Han, Z., Meng, Y., Lu, X. (2016). Effect of egg yolk freezing on properties of mayonnaise. *Food Hydrocoll* 56: 311-317, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.12.027.
- Kudre, T.G., Bejjanki, S.K., Kanwate, B.W., Sakhare, P.Z. (2018). Comparative study on physicochemical and functional properties of egg powders from Japanese quail and white Leghorn chicken. *Int J Food Prop* 21: 956-971, doi: 10.1080/10942912.2018.1466320.
- Kurt, A., Genccelep, H. (2018). Enrichment of meat emulsion with mushroom (*Agaricus bisporus*) powder: Impact on rheological and structural characteristics. *J Food Eng* 237: 128-136, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.05.028.
- Laca, A., Saenz, M.C., Paredes, B., Diaz, M. (2010a). Rheological properties, stability and sensory evaluation of low-cholesterol mayonnaises prepared using egg yolk granules as emulsifying agent. *J Food Eng* 97: 243-252, doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.10.017.
- Laca, A., Paredes, B., Diaz, M. (2010b). A method of egg yolk fractionation. Characterization of fractions. *Food Hydrocoll* 24: 434-443, doi:10.1016/j.foodhyd.2009.11.010.
- Lili, L., Huan, W., Guangyue, R., Xu, D., Dan, L., Guangjun, Y. (2015). Effects of freeze-drying and spray drying processes on functional properties of phosphorylation of egg white protein. *Int J Agric Biol Eng* 8: 116-123.
- Liu, X., Guo, J., Wan, Z.L., Liu, Y.Y., Ruan, Q.J., Yang, X.Q. (2018). Wheat gluten-stabilized high internal phase emulsions as mayonnaise replacers. *Food Hydrocoll* 77: 168-175, doi:10.1016/j.foodhyd.2017.09.032.
- Mao, X., Hua, Y. (2012). Composition, structure and functional properties of protein concentrates and isolates produced from walnut (*Juglans regia* L.). *Int J Mol Sci* 13: 1561-1581, doi: 10.3390/ijms13021561.
- Orishagbemi, C.O., Ichado, I.B., Sanda, M.E. (2017). Physical, functional and sensory properties of foam mat dehydrated whole egg powder. *J Sci Res Rep* 15: 1-7, doi: 10.9734/JSRR/2017/33305.
- Öztürk, B., Urgan, M., Serdaroglu, M. (2017). Egg white powder-stabilised multiple (water-in-olive oil-in-water) emulsions as beef fat replacers in model system meat emulsions. *Sci Food Agric* 97: 2075-2083, doi: 10.1002/jsfa.8012.
- Panda, B., Singh, R.P. (1990). Developments in processing quail meat and eggs. *World Poultry Sci J* 46: 219-234, doi: 10.1079/WPS19900022.
- Pearce, K.N., Kinsella, J.E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a

- turbidimetric technique. *J Agr Food Chem* 26: 716–728, doi: 10.1021/jf60217a041.
- Rahman, A.N.A., Hoque, N., Talukder, A.K., Das, Z.C. (2016). A survey of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) farming in selected areas of Bangladesh. *Vet World* 9: 940-947, doi: 10.14202/vetworld.2016.940-947.
- Rao, Q., Kamdar, A.K., Labuz, T.P. (2013). Storage stability of food protein hydrolysates-A review. *Crv Rev Food Sci* 56: 1169-1192, doi: 10.1080/10408398.2012.758085.
- Segura-Campos, M., Perez-Hernandez, R., Chel-Gurerero, L., Castellanos-Ruelas, A., Gallegos-Thintore, S., Betancur-Ancona, D. (2013). Physicochemical and functional properties of dehydrated Japanese quail (*Coturnix japonica*) egg white. *Food Nutr Sci* 4: 289-298, doi: 10.4236/fns.2013.43039.
- Stern, P., Valentova, H., Pokorny, J. (2001). Rheological properties and sensory texture of mayonnaise. *Eur J Lipid Sci Technol* 103: 23-28.
- Stokes, J.R., Telford, J.H. (2004). Measuring the yield behavior of structured fluids. *J Non-Newtonian Fluid Mech* 124: 137-146, doi:10.1016/j.jnnfm.2004.09.001.
- Thaiudom, S., Khantarat, K. (2011). Stability and rheological properties of fat-reduced mayonnaises by using sodium octenyl succinate starch as fat replacer. 11th International Congress on Engineering and Food, Quebec City, Canada. 315-321.
- Thierau, S. R., Keil, H., Seuss-Baum, I., Hensel, O. (2014). Effects of Heat Treatment and Freeze-Drying on the Protein and Lipoprotein Structures of Egg Yolk as Determined Using Differential Scanning Calorimetry (DSC). *Agric Commun*, 2(3): 27-37.
- Tokuşoğlu, Ö. (2006). The quality properties and saturated and unstaturated fatty acid profiles of quail egg: the alterations of fatty acids with process effects. *Int J Food Sci Nutr*, 7-8: 537–545, doi: 10.1080/09637480601049725.



PERFORMANCE OF EINKORN (*Triticum monococcum* L.) FLOUR IN THE MANUFACTURE OF TRADITIONAL TURKISH NOODLE

Hacer Levent*

Karamanoğlu Mehmetbey University, Health Sciences Faculty, Department of Nutrition and Dietetics, Karaman, 70100, Turkey.

Received / Geliş: 11.04.2019; Accepted / Kabul: 13.09.2019 Published online / Online baskı: 26.09.2019

Levent, H. (2019). Performance of einkorn (*Triticum monococcum* L.) flour in the manufacture of traditional Turkish noodle. GIDA (2019) 44 (5): 932-942 doi: 10.15237/gida.GD19068

Levent, H. (2019). Geleneksel Türk eriştesi üretiminde siyez ununun (*Triticum monococcum* L.) performansı. GIDA (2019) 44 (5): 932-942 doi: 10.15237/gida.GD19068

ABSTRACT

Wheat flour used in traditional Turkish noodle formulation was replaced with einkorn wheat flour (EWF) at 0, 20, 40, 60, 80 and 100% levels. The effects of EWF on some properties of noodle samples were evaluated. The use of EWF resulted in significant increases in the ash, protein, total phenolic content and antioxidant activity of noodle ($P<0.05$). Volume and weight increase values increased as EWF ratio increased. The lowest cooking loss value (5.85%) was obtained in noodle containing 100 EWF%. Ca, Fe, Cu and Mg contents of noodle samples increased 1.41, 3.27, 1.45 and 2.66 times at 100% EWF compared to control sample. The use of 100% EWF decreased the taste and chewiness scores of cooked noodle. Considering the physicochemical, sensory properties and cooking quality of the samples, it can be concluded that the EWF can be used successfully up to 60% level in the Turkish noodle formulation.

Keywords: Turkish noodle, einkorn, antioxidant, total phenolic, mineral

GELENEKSEL TÜRK ERIŞTESİ ÜRETİMİNDE SIEYZ UNUNUN (*Triticum monococcum* L.) PERFORMANSI

ÖZ

Geleneksel Türk eriştesi formülasyonunda kullanılan buğday unu, % 0, 20, 40, 60, 80 ve 100 oranında einkorn buğday unu (EBU) ile yer değiştirmiştir. EBU'nun erişte örneklerinin bazı özellikleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir. EBU kullanımı, eriştenin kül, protein, toplam fenolik madde içeriğinde ve antioksidan aktivitede önemli ($P<0.05$) artışlara neden olmuştur. EBU oranı arttıkça hacim ve ağırlık artışı değerleri de artış göstermiştir. En düşük pişirme kaybı değeri (%5.85), %100 EBU içeren eriştede elde edilmiştir. Erişte örneklerinin Ca, Fe, Cu ve Mg içeriği kontrol örneğine göre %100 EBU'da 1.41, 3.27, 1.45 ve 2.66 kat artmıştır. %100 EBU kullanımı, pişmiş eriştenin tat ve çiğneme puanlarını azaltmıştır. Örneklerin fizikokimyasal, duyu özellikleri ve pişme kaliteleri dikkate alındığında, Türk eriştesi formülasyonunda EBU'nun %60 seviyesine kadar başarıyla kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Türk eriştesi, einkorn, antioksidan, toplam fenolik, mineral

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: hacerlevent@hotmail.com

☎:(+90) 338 226 2131

☎:(+90) 338 226 2134

INTRODUCTION

Many types of noodles are produced in the world. In its simplest form, wheat noodles are a type of pasta prepared from dough containing flour, water and salt. Noodle raw materials, especially flour, have a great impact on the quality of the final product. Both protein content and protein quality of wheat flours affect the properties of noodle (Park and Baik, 2004). Color, cooking properties, texture and taste are quality parameters that influence consumer acceptance. Dry pasta must have an attractive appearance while cooked pasta must meet consumer criteria for good yellow color retention, smooth surface, pleasant flavor, firmness and stickiness with minimal cooking losses (Sisson et al., 2005; Brandolini et al., 2018).

Traditional Turkish noodles are produced mainly from wheat flour, egg and salt. Milk, whey powder and other additives can be added into noodle formulation in some regions of Turkey. The production stages of Turkish noodles include mixing, sheeting of dough, pre-drying, cutting and drying (Özkaya et al., 2001; Bilgiçli, 2009). Turkish noodles can be enriched with various protein sources, dietary fiber and micronutrients to improve their nutritional properties. In the literature, some cereal flours (Aydın and Gocmen, 2011), pseudo cereals (Bilgiçli, 2009; Bilgiçli, 2014), legume flours (Demir et al., 2010; Bilgiçli et al., 2011; Bilgiçli, 2013), cereal and legume brans (Ertaş, 2014; Yılmaz Tuncel et al., 2017; Kaya et al., 2018), wheat germ and β glucan (Aktaş et al., 2015), some fruit seed flour (Koca et al., 2018), chia flour (Levent, 2017), dairy by products (Aktaş and Türker, 2015), flaxseed (Yüksel et al., 2018), apple fiber (Yüksel and Gurbuz, 2019) have been used for enrichment of the Turkish noodles.

Einkorn (*Triticum monococcum* L.) is one of the ancient wheat cultivated in Turkey, Balkan countries, southern Italy, Germany, Switzerland, southern France, Spain and Morocco (Hidalgo and Brandolini, 2014). The hulled wheat einkorn was domesticated approximately 10000 years ago in the Karacadağ region of Turkey (Heun et al., 1997; Løje et al., 2003; Hidalgo and Brandolini,

2014). Einkorn kernels are rich source of proteins, lipids (generally unsaturated fatty acids), fructans, minerals especially zinc and iron compared to durum bread and bread wheat. It also contains carotenoids, tocols, conjugated phenolics, alkylresorcinols and phytosterols with high antioxidant content (Hidalgo and Brandolini, 2014; Fogarasi et al., 2015). Einkorn is generally more resistant to drought, diseases and suitable to be grown in environmentally friendly organic farming (Løje et al., 2003; Fogarasi et al., 2015). It is important for developing new or special foods such as bakery products, baby foods or enriched foods with high contents of protein, dietary fibre, carotenoids and tocols (Hidalgo and Brandolini, 2008; Hidalgo and Brandolini, 2014; Nakov et al., 2016). In general, it is believed that einkorn wheat is not suitable for bakery products due to its poor rheological properties and difficulties of dough handling (Corbellini et al., 1999). The high protein, carotenoid and tocol content has led to increased interest in einkorn wheat and its perfect flour composition plays a key role in the prevention of pathologies such as cancer, diabetes and chronic inflammatory diseases (Hidalgo et al., 2006; Nakov et al., 2016; Brandolini et al., 2018). Einkorn is reported to be not only a promising special food source, but also an ideal species for genetic research on wheat quality (Corbellini et al., 1999).

In the literature, einkorn wheat flour was used in some cereal products. In a study, the bread-making quality of einkorn wheats were evaluated by Borghi et al. (1996). Most of the einkorn flours were reported to produce sticky dough; but about one-third gave an acceptable dough and produced bright yellow colored breads with volumes similar to, or better than bread wheat.

Abdel-Aal et al. (1997), evaluated the einkorn in terms of kernel, milling and baking properties and reported that einkorn flour had low sedimentation values, weak Mixograph curves and low loaf volumes with no bromate response. In a study evaluating 24 einkorn lines, cookies made with einkorn flour had higher diameter and lower thickness than those made with soft wheat flour. In the same study, it was reported that all samples analyzed for breadmaking ability showed

some stickiness, but it was possible to handle the dough at different bread making stages (Corbellini et al., 1999).

In another research, einkorn wheat flour was used in pasta production. They reported that dry einkorn pasta differs in most of the properties including dimensions, carotenoid content, color and image analysis parameters from durum wheat pasta. In general, einkorn pasta had similar technological properties but was reported to have a better nutritional value compared to durum wheat pasta (Brandolini et al., 2018).

Nakov et al. (2018) investigated the effect of enrichment on wheat cookies at 0, 30, 50, 70 and 100% levels with whole meal einkorn flour. Einkorn-enriched cookies were reported to have better physico-chemical properties than control cookies. In the same study, ash, protein, polyphenols, carotenoids, antioxidant activity and β -glucan content of biscuits were reported to be increased.

There is not much information about the use of einkorn flour in Turkish noodle production. For that reason, the aim of this study was to evaluate the possibility of using EWF in Turkish noodle production and its effect on physicochemical, sensory and cooking quality of end product.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The ingredients refined wheat flour (0.56% ash, 13.8% moisture and 10.4% protein), egg, salt were

purchased from local markets in Karaman, Turkey. EWF (1.67 ash%, 17.74% moisture and 11.12% protein) obtained by grinding the grain after separation of the grain husk was purchased from Sümerbank Gıda, Kastamonu, Turkey. Vital wheat gluten (Amygluten) was provided by Sinerji Food Chemical, Istanbul, Turkey. Transglutaminase enzyme (Probind TX, 90-125 U/g) was obtained from FMI Food and Chemical, İzmir, Turkey.

Methods

Noodle production

The formulations used in the preparation of noodles are given in Table 1. Refined wheat flour was replaced with EWF at levels of 0, 20, 40, 60, 80 and 100% in noodle formulation. Vital wheat gluten and transglutaminase enzyme were used to improve dough properties. Control samples were made only with refined wheat flour without any replacement. Noodle samples were prepared according to the method given by Özkaya et al. (2001) with some modification. Noodle ingredients were kneaded in the Kitchen-aid mixer (Artisan Series, Greenville, OH, USA) for 6 min and the dough was allowed to rest at room conditions for 30 min. The dough pieces were thinned and cut into a noodle strip with noodle machine (Shule Pasta Machine, China) and dried in drying cabinet (Nüve KD-200, Ankara, Turkey) at 50 °C for 18 h. After drying, the final moisture content of the product was maximum 10%.

Table 1. Experimental design of Turkish noodle prepared with Einkorn wheat flour (EWF)

	Ratio (%)					
	0	20	40	60	80	100
Refined wheat flour	100	80	60	40	20	0
EWF	0	20	40	60	80	100
Whole-egg	20	20	20	20	20	20
Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vital wheat gluten	0	2	4	6	8	10
Transglutaminase	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

Chemical analysis

The AACC methods were used to determine ash (method 08-01), protein (method 46-12) and fat (method 30-25) (AACC, 1990). To determine the

mineral content, the dried sample (0.3 g) was placed in the burning vessel and 5 mL HNO₃ + 5 mL H₂SO₄ added. The samples were incinerated in a microwave oven (MARS 5, CEM

Corporation, USA). The solution was diluted with distilled water to 100 mL. Mineral analysis (Ca, Fe, Cu and Mg) was determined with an inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES, Varian Vista Model, Australia) (Bubert and Hagenah, 1987).

Total phenolic content (TPC) was determined spectrophotometrically using Folin-Ciocalteu reagent. Powdered samples (2 g) were extracted for 2 h with 10 mL solvent (methanol/HCl/water, 8:1:1, v/v/v) at room temperature (25 °C). After extraction, the samples were centrifuged for 10 min at 3000 rpm with a NF 800R Centrifuge (Nüve, Turkey). The methanolic extract (0.1 mL) was mixed in a test tube with 1.5 mL of saturated sodium carbonate solution and 0.5 mL of diluted Folin-Ciocalteu reagent and filled with water up to 10 mL. The mixture was allowed to stand at room temperature for 2 h and then the absorbance was measured at 760 nm by using spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan). Gallic acid was used as the reference standard and TPC was expressed in milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per kg dry weight (Gao et al., 2002; Beta et al., 2005).

Antioxidant activity (AA) was determined according to the modified method of Wronkowska et al. (2010), using a 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) as the free radical. Ground samples (1g) were extracted with 10 mL 80% aqueous methanol (10 mL) and centrifuged at 3000 rpm for 10 min. The DPPH solution was prepared freshly by mixing 10 mg of DPPH with 25 mL of 80% methanol. Exactly 100 µL of the supernatant was reacted with DPPH solution (250 µL) and 80% methanol (2 mL). After 20 minutes incubation of the mixture at room temperature in the dark, the absorbance was measured at 517 nm against the blank. The blank consisted of 80% methanol and the reagent solution without 80% methanolic extract added. AA was calculated as percentage of discoloration:

$$AA\% = [1 - (\text{Abs sample}_{t=20}/\text{Abs control}_{t=0})] * 100 \quad (\text{Eq.1})$$

Cooking properties

Noodles were evaluated in terms of volume increase (VI), weight increase (WI) and cooking loss (CL) values. For determination of the changes in volume, weight and cooking losses, 10g of noodle was cooked for 18 min in 300 mL of distilled water. After draining and waiting for 2 min for the remaining water was removed, uncooked and cooked samples were put into a graduated cylinder with specific amount of water, the increase in volume was determined. VI was calculated as the percentage difference in uncooked and cooked noodles volume divided by the volume of uncooked noodles. The WI was determined as the percentage difference in weight of uncooked and cooked noodle divided by the weight of uncooked noodle. To determine the CL, cooking water was evaporated and dried to dryness in an oven at 105 °C for 12 h in pre-weighed erlenmeyer flask.

Color measurement

The color of noodle samples was assessed in terms of L* (brightness/darkness), a* (redness/greenness) and b*(yellowness/blueness) values by using chromometer (Model CR 400, Minolta Camera, Osaka, Japan). Chroma (C*) and hue angle (hue) values were calculated according to the following equations (Francis, 1998).

$$\text{Chroma (C*)} = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}. \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Hue angle (hue)} = \arctan [b^*/a^*] \quad (\text{If } a > 0 \text{ and } b > 0) \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\text{Hue angle (hue)} = (\arctan [b^*/a^*] + 180^\circ) \quad (\text{If } a < 0 \text{ and } b > 0) \quad (\text{Eq. 4})$$

Sensory analysis

Sensory analyses were performed in raw and cooked noodles. For cooked noodle preparation, 100 g noodle samples were simmered in 500 ml unsalted water for 18 min and drained for removing excess water. Noodle samples were served to 14 panelists (male and female) at to evaluate the surface smoothness, speck, crack, appearance and overall acceptability of uncooked noodle and taste, odor stickiness, chewiness and overall acceptability of cooked noodle on five-

point scale where 1-dislike extremely, 3-acceptable and 5-like extremely. The samples were coded with letters and served to the panelists at random to guard against any bias.

Statistical analysis

The data were reported as mean \pm standard deviation and analysed by using statistical software JMP 8.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Tukey's Honestly Significant Difference was used to differentiate between the mean values. Significant differences were based on a $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical properties of noodle samples

Chemical compositions of noodle samples are given in Table 2. The use of EWF increased the ash and protein content of noodle samples from

1.15% to 1.69% and from 13.04% to 16.47%, respectively. The fat content of noodle samples varied between 2.34% and 2.72% but with the use of EWF, the increase in fat content of noodle samples was not significantly different from each other ($P > 0.05$). Increased amount of EWF in the noodle formulation increased the total phenolic content values and antioxidant activity of noodle samples significantly ($P < 0.05$). The higher ash and protein content of EWF than refined wheat flour affected the ash and protein content of end product. Similarly, the high ash and protein content of einkorn flour was reported by Abdel-Aal et al. (1995), Brandolini et al. (2008), Ertop and Atasoy (2019). The ash, protein and fat content of noodle samples were found to be 1.69%, 16.47% and 2.72% at 100% EWF, respectively.

Table 2. Chemical compositions of noodle samples prepared with EWF

EWF Ratio (%)	Ash (%) [*]	Protein (%) [*]	Fat (%) [*]	Total phenolic content (mg GAE/kg) [*]	Antioxidant activity (Inhibition %) [*]
0	1.15 \pm 0.03 ^d	13.04 \pm 0.14 ^e	2.34 \pm 0.11 ^a	641.36 \pm 4.58 ^f	18.39 \pm 0.38 ^f
20	1.27 \pm 0.01 ^d	13.88 \pm 0.17 ^d	2.43 \pm 0.17 ^a	764.45 \pm 4.06 ^e	25.48 \pm 0.17 ^e
40	1.41 \pm 0.04 ^c	14.57 \pm 0.10 ^c	2.54 \pm 0.14 ^a	873.82 \pm 3.48 ^d	30.84 \pm 0.28 ^d
60	1.50 \pm 0.01 ^{bc}	15.12 \pm 0.18 ^c	2.60 \pm 0.18 ^a	998.55 \pm 4.12 ^c	38.62 \pm 0.37 ^c
80	1.58 \pm 0.04 ^{ab}	15.84 \pm 0.13 ^b	2.68 \pm 0.10 ^a	1108.93 \pm 5.83 ^b	46.74 \pm 0.45 ^b
100	1.69 \pm 0.03 ^a	16.47 \pm 0.11 ^a	2.72 \pm 0.16 ^a	1209.72 \pm 4.45 ^a	55.81 \pm 0.16 ^a

^{*}Results are dry-weight basis; Th

Nakov et al. (2018) reported that ash, protein, total polyphenols, antioxidant activity, total carotenoids and β -glucans increased when whole wheat einkorn flour was used in biscuit production. The total phenolic content and antioxidant activity of the noodle samples increased from 641.36 mg GAE/kg (control) to 1209.72 mg GAE/kg (100% EWF) and from 18.39% (control) to 55.81% (100% EWF), respectively. Brandolini and Hidalgo (2011) reported that einkorn kernels have higher protein and antioxidant (carotenoids and tocopherols) content than other wheats. Whole grain einkorn products are considered to be good sources of phenolic antioxidants (Abdel-Aal and Hucl, 2014). The antioxidant activity of einkorn wheat is due to the presence of antioxidants belonging to the group of hydrophilic and lipophilic compounds, such as

polyphenols, carotenoids, phytosterols (Lachman et al., 2012; Nakov et al., 2016). Antioxidant activity values of noodle samples increased with the increasing EWF levels and showed the same tendency as total phenolic content. Similarly, the antioxidant activity of cereal products was reported to correlate with the content of phenols occurring in these cereals (Zieliński and Kozłowska, 2000; Lachman et al., 2012).

Mineral contents of noodle samples are given in Table 3. Ca, Fe and Mg contents of noodle samples increased significantly with the increasing level of EWF ($P < 0.05$). The usage of 100% of EWF increased Ca, Fe and Mg contents of noodle samples from 31.57 mg/100g, 1.21 mg/100g and 51.92 mg/100g to 44.58 mg/100g, 3.96 mg/100g and 138.47 mg/100g, respectively. The higher

mineral content of the EWF may have increased the mineral content of the noodle samples. Erba et al. (2011) studied the trace elements and minerals of whole meal flours of einkorn and bread wheats and reported that einkorn varieties exhibited higher Zn (7.18 mg/100g), Fe (5.23 mg/100g), Mn (4.65 mg/100g), Cu (0.90 mg/100g), Mg (151.2 mg/100g) and P (541.1

mg/100g) concentration than bread wheat. Megyeri et al. (2014), reported that the most of the einkorn genotypes examined have significantly higher trace element and antioxidant contents than the control wheat variety. Also einkorn has more than three times more β -carotene than wheat variety.

Table 3. Mineral contents (mg/100g) of noodle samples prepared with EWF*

EWF Ratio (%)	Ca	Fe	Cu	Mg
0	31.57±0.58 ^f	1.21±0.04 ^f	0.35±0.06 ^a	51.92±0.38 ^f
20	34.12±0.40 ^e	1.80±0.13 ^e	0.37±0.07 ^a	68.84±0.89 ^e
40	36.24±0.65 ^d	2.35±0.09 ^d	0.41±0.03 ^a	88.67±0.41 ^d
60	39.05±0.54 ^c	2.77±0.03 ^c	0.44±0.04 ^a	105.71±0.71 ^c
80	41.94±0.48 ^b	3.41±0.04 ^b	0.48±0.10 ^a	119.35±0.42 ^b
100	44.58±0.37 ^a	3.96±0.07 ^a	0.51±0.07 ^a	138.47±0.54 ^a

*Results are dry-weight basis; The means with the different letter in column are significantly different ($P < 0.05$); EWF: Einkorn wheat flour

Cooking properties of noodle samples

The cooking properties of the dried pasta depend on both the raw material properties and the processing conditions (De Noni and Pagani, 2010). The amount and quality of protein is the most important factor influencing the characteristics of cooked pasta (Brandolini et al., 2018).

Cooking properties of noodles as VI, WI and CL are given in Table 4. Increased EWF levels caused a significant increase in VI values ($P < 0.05$) and the highest value (282.2%) was obtained at 100%

EWF. WI values also increased with the use of EWF in the noodle formulation and ranged between 154.2% and 191.2%. In a study, einkorn flours were used by Brandolini et al. (2018) in short-cut pasta production and it was reported that all samples recorded a sharp weight increase after 10 min of cooking, indicating intense water uptake in the early stages of cooking. In the same study, dimensional changes of pasta during cooking were observed by image analysis and it was determined that all parameters showed significant increases over time.

Table 4. Cooking properties of noodle samples prepared with EWF

EWF Ratio %	VI (%)	WI (%)	CL (%)
0	175.4±2.33 ^f	154.2±1.56 ^d	9.04±0.24 ^a
20	200.7±2.21 ^e	176.1±1.10 ^c	8.71 ±0.35 ^a
40	222.1±1.36 ^d	179.2±2.47 ^c	7.36±0.40 ^b
60	250.3±1.78 ^c	182.9±1.78 ^{bc}	7.19±0.16 ^b
80	271.4±2.16 ^b	187.5±2.16 ^{ab}	6.42±0.24 ^{bc}
100	282.2±1.56 ^a	191.2±1.64 ^a	5.85±0.20 ^c

The means with the different letter in column are significantly different ($P < 0.05$); EWF: Einkorn wheat flour; VI: Volume increase; WI: Weight increase; CL: Cooking loss

The CL values ranged from 5.85% to 9.04%, while the 100% EWF revealed the lowest value compared to the control. Noodles should

maintain its integrity during cooking, with a minimum loss of solid into the cooking water during boiling (Wu and Corke, 2005). The starch

granules and protein behave in a completely different way during cooking of pasta. The starch granules swell rapidly and tend to disperse and become partially soluble. On the contrary, proteins become completely insoluble and coagulate, forming a net-like structure. The starch components will remain trapped in the protein network. If the netlike structure is not strong or its formation delayed the starch granules are not trapped and will swell up easily. In this case, a portion of the gelatinized and soluble material will pass into cooking water. As a result, the product is considered sticky (Pagani et al., 2007). In this study, decreasing tendency of cooking loss values with increasing EWF level may be due to a higher degree of cross-linking of protein which is capable of holding starch components in the noodle structure with the combined effect of transglutaminase and vital gluten. An optimally cross-linked protein network encapsulates starch particles in the network, limiting starch swelling and subsequent leaching (Delcour et al., 2012). Brandolini et al. (2018) reported that pasta samples prepared with einkorn wheat exhibited lower cooking losses than control due to their high protein content, that which leads to the formation of a well-structured and compact

protein network which prevent solid losses into cooking water.

Color values of noodle samples

Noodle color is the most important feature affecting consumer perception. The color values of the noodle samples are given in Table 5. Compared to control noodle, the use of EWF in the noodle formulation decreased the brightness (L^*) values of noodle samples. In general, the redness values of the samples containing EWF were higher than the control. The use of EWF increased b^* and C^* except for noodles containing 20% EWF compared to the control. In the study of Nakov et. al. (2018), einkorn flour was used in cookie production at 0%, 30%, 50%, 70% and 100% levels and L^* values were reduced by increasing the amount of einkorn flour in the cookie formulation. In the same study, it was reported that einkorn addition led to reddish and yellow tinges in cookie samples. Similarly, Brandolini et al. (2018) used einkorn flours in pasta formulations and observed significant differences ($P < 0.05$) for the parameters L^* and a^* : the einkorn spaghetti was less bright (50.9 ± 1.79) and with a higher red index (8.5 ± 0.16) than samples prepared with the durum wheat semolina.

Table 5. Color values of noodle samples prepared with EWF

EWF Ratio %	L^*	a^*	b^*	C^*	hue
0	83.52 ± 0.56^a	1.13 ± 0.11^b	18.88 ± 0.22^d	18.91 ± 0.21^d	86.56 ± 0.36^a
20	79.98 ± 0.42^b	1.85 ± 0.19^a	19.17 ± 0.16^{cd}	19.26 ± 0.14^{cd}	84.47 ± 0.60^b
40	78.27 ± 0.28^b	1.75 ± 0.15^a	21.48 ± 0.28^a	21.55 ± 0.26^a	85.35 ± 0.46^{ab}
60	77.94 ± 0.46^{bc}	1.66 ± 0.10^a	20.59 ± 0.31^{ab}	20.66 ± 0.32^{ab}	85.38 ± 0.22^{ab}
80	76.14 ± 0.57^{cd}	1.92 ± 0.14^a	20.60 ± 0.19^{ab}	20.69 ± 0.21^{ab}	84.69 ± 0.33^b
100	75.32 ± 0.73^d	1.65 ± 0.07^{ab}	20.05 ± 0.26^{bc}	20.12 ± 0.26^{bc}	85.30 ± 0.25^{ab}

The means with the different letter in column are significantly different ($P < 0.05$); EWF: Einkorn wheat flour

Sensory analysis

Sensory analyses results of raw and cooked noodle samples are presented in Figure 1 and Figure 2. Raw (uncooked) noodle samples containing 20%, 40% and 60% EWF had similar sensory scores in terms of surface smoothness, speck, crack and appearance with the control sample. In comparison with control, surface smoothness, speck, appearance and overall acceptability scores decreased in 80% and 100% EWF samples. Taste, odor, stickiness, chewiness

and overall acceptability scores of cooked noodles up to 100% EWF level were not statistically different from each other ($P > 0.05$, Figure 2). Noodle samples containing 100% EWF had the lowest taste and chewiness scores among cooked noodle samples. The taste and chewiness score may have decreased due to the use of EWF in whole flour form. Emeksizoglu (2016) used different EWF in noodle production and reported that the samples had low scores in terms of taste and aroma.

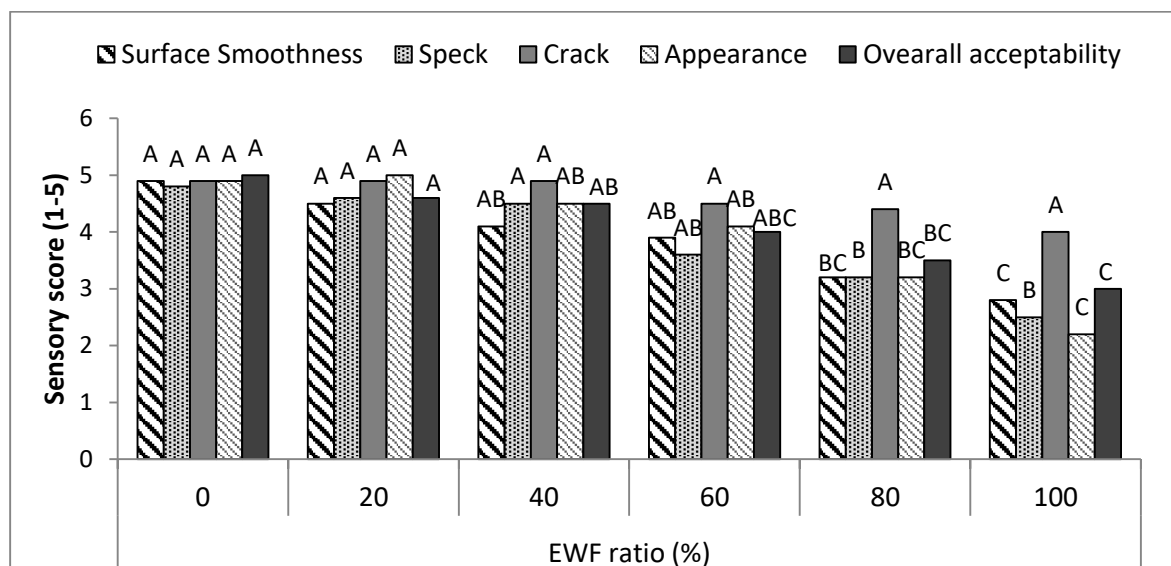


Figure 1. Sensory properties of raw (uncooked) noodle samples (EWF:Einkorn wheat flour)

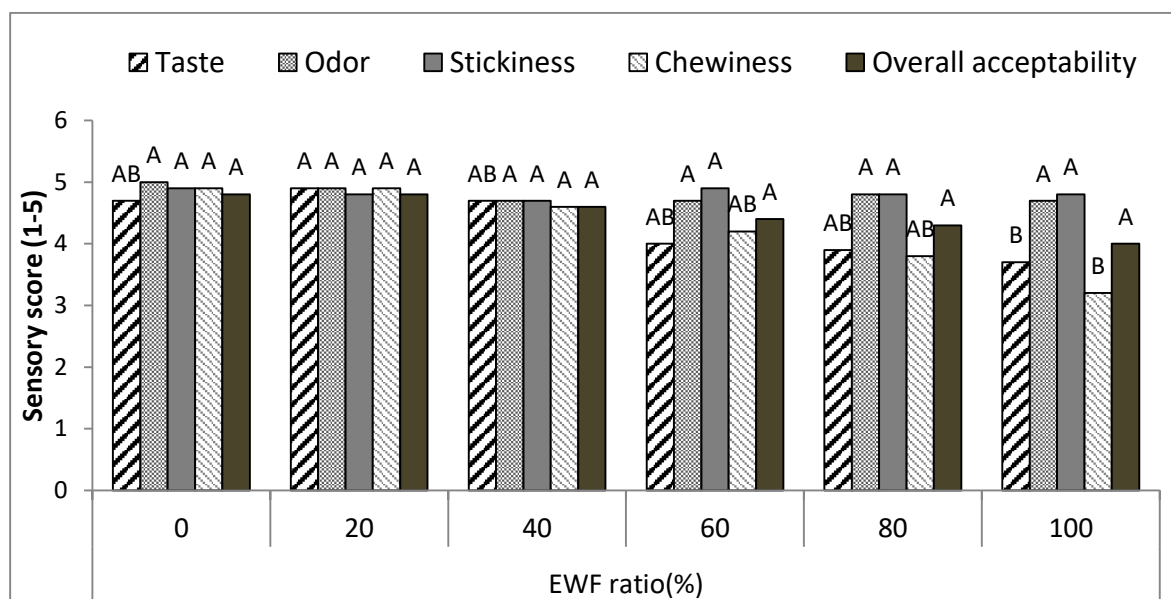


Figure 2. Sensory properties of cooked noodle samples (EWF:Einkorn wheat flour)

CONCLUSIONS

In the present study, physicochemical, sensory properties and cooking quality of Turkish noodle prepared with different levels of EWF were investigated. EWF usage improved the ash, protein, total phenolic content and antioxidant activity of noodle samples prepared with refined wheat flour. VI, WI values increased and CL values decreased with the usage of EWF in Turkish noodle formulation. The highest increase

in the mineral content of noodle was determined in the Fe and Mg compared to control. The addition of EWF (100%) decreased the brightness and increased yellowness and chroma values of noodle samples. The use of EWF in noodle formulation did not cause any negative effect on cooked noodles up to 100%, but the use of EWF in raw noodles after 60% reduced surface smoothness, speck, appearance and overall acceptability scores. From the results of this

study, it can be concluded that 60% EWF can be used without any negative effect on sensory quality in Turkish noodle formulation with the aid of vital wheat gluten and transglutaminase enzyme.

REFERENCES

- AACC (1990). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 8th ed. St Paul, U.S.A.
- Abdel-Aal, E.S.M., Hucl, P., Soulski, F.W. (1995). Compositional and nutritional characteristics of spring einkorn and spelt wheats. *Cereal Chem*, 72: 621-624.
- Abdel-Aal, E.S.M., Hucl, P., Sosulski, F.W., Bhirud, P. R. (1997). Kernel, milling and baking properties of spring-type spelt and einkorn wheats. *J Cereal Sci*, 26(3): 363-370, doi: 10.1006/jcrs.1997.0139.
- Abdel-Aal, E.S.M., Hucl, P. (2014). Einkorn: a functional wheat for developing high-lutein whole grain baked products. *Cereal Foods World*, 59(1): 5-10.
- Aktaş, K., Bilgiçli, N., Levent, H. (2015). Influence of wheat germ and β -glucan on some chemical and sensory properties of Turkish noodle. *J Food Sci Technol*, 52(9): 6055-6060, doi: 10.1007/s13197-014-1677-z.
- Aktaş, K., Türker, S. (2015). Utilisation of dairy by-products and β -glucan in erişte production. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 7(5): 809-818, doi: 10.3920/QAS2014.0437
- Aydin, E., Gocmen, D. (2011). Cooking quality and sensorial properties of noodle supplemented with oat flour. *Food Sci and Biotechnol*, 20(2): 507-511, doi: 10.1007/s10068-011-0070-1.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E. and Sapiststein, H.D.(2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chem*, 82(4): 390-393, doi: 10.1094/CC-82-0390.
- Bilgiçli, N. (2009). Effect of buckwheat flour on cooking quality and some chemical, antinutritional and sensory properties of erişte, Turkish noodle. *Int J Food Sci Nutr*, 60(sup4):70-80, doi: 10.1080/09637480802446639.
- Bilgiçli, N., Demir, M. K., Etaş, N., Herken, E. N. (2011). Effects of gluten and emulsifier on some properties of erişte prepared with legume flours. *Int J Food Sci Nutr*, 62(1): 63-70, doi: 10.3109/09637486.2010.506433.
- Bilgiçli, N. (2013). Some chemical and sensory properties of gluten-free noodle prepared with different legume, pseudocereal and cereal flour blends. *J Food Nutr Res*, 52(4): 251-255.
- Bilgiçli, N. (2014). Effect of pseudocereal flours on some chemical properties and phytic acid content of noodle. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(2): 175-181, doi: 10.3920/QAS2013.0257.
- Borghini, B., Castagna, R., Corbellini, M., Heun, M., Salamini, F. (1996). Breadmaking quality of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*). *Cereal Chem*, 73(2): 208-214.
- Brandolini, A., Hidalgo, A., Moscaritolo, S. (2008). Chemical composition and pasting properties of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) whole meal flour. *J Cereal Sci*, 47(3): 599-609, doi: 10.1016/j.jcs.2007.07.005
- Brandolini, A., Hidalgo, A. (2011). Einkorn (*Triticum monococcum*) flour and bread. In: *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention*, Preedy, V.R, Patel, V.B. Watson, R.R. (ed.), Academic Press, the UK, pp. 79-88.
- Brandolini, A., Lucisano, M., Mariotti, M., Hidalgo, A. (2018). A study on the quality of einkorn (*Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*) pasta. *J Cereal Sci*, 82: 57-64, doi: 10.1016/j.jcs.2018.05.010.
- Bubert H, Hagenah WD (1987). Detection and measurement. In: *Inductively coupled plasma emission spectroscopy*, Boumans PWJM (ed.), Wiley, New York, pp. 536-567.
- Corbellini, M., Empilli, S., Vaccino, P., Brandolini, A., Borghini, B., Heun, M., Salamini, F. (1999). Einkorn characterization for bread and cookie production in relation to protein subunit

- composition. *Cereal Chem*, 76(5): 727-733, doi: 0.1094/CCHEM.1999.76.5.727.
- De Noni, I., Pagani, M. A. (2010). Cooking properties and heat damage of dried pasta as influenced by raw material characteristics and processing conditions. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 50(5): 465-472, doi: 10.1080/10408390802437154.
- Delcour, J.A., Joye, I.J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review Food Sci Technol*, 3: 469-492, doi: 10.1146/annurev-food-022811-101303.
- Demir, B., Bilgiçli, N., Elgün, A., Demir, M.K. (2010). Effects of chickpea flours and whole egg on selected properties of erişte, Turkish noodle. *Food Sci Technol Res*, 16(6): 557-564, doi: 10.3136/fstr.16.557.
- Emeksizoglu, B. (2016). The investigation of some quality properties of einkorn (*Triticum monococcum* L.) wheat cultivated in Kastamonu and its using in noodles and bazlama, Ph. D. Dissertation, Ondokuz Mayıs University, Turkey, 165 p.
- Erba, D., Hidalgo, A., Bresciani, J., Brandolini, A. (2011). Environmental and genotypic influences on trace element and mineral concentrations in whole meal flour of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*). *J Cereal Sci*, 54(2): 250-254, doi: 10.1016/j.jcs.2011.06.011.
- Ertaş, N. (2014). Reutilisation of rice byproduct: study on the effect of rice bran addition on physical, chemical and sensory properties of erişte. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(2): 249-255, doi: 10.3920/QAS2013.0252.
- Ertop, M.H., Atasoy, R. (2019). Comparison of physicochemical attributes of einkorn wheat (*Triticum monococcum*) and durum wheat (*Triticum durum*) and evaluation of morphological properties using scanning electron microscopy and image analysis. *J Agr Sci*, 25(1): 93-99.
- Fogarasi, A. L., Kun, S., Tankó, G., Stefanovits-Bányai, É., Hegyesné-Vecseri, B. (2015). A comparative assessment of antioxidant properties, total phenolic content of einkorn, wheat, barley and their malts. *Food Chem*, 167:1-6, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.084.
- Francis, F.J., (1998). Colour analysis, In: *Food analysis*, Nielsen SS (ed), An Aspen Publishers, Maryland, Gaithersburg, USA.
- Gao, L., Wang, S., Oomah, B.D., Mazza, G. (2002). Wheat quality: antioxidant activity of wheat millstreams. In: *Wheat Quality Elucidation*, Ng, P., Wrigley, C.W. (eds.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 219-233.
- Heun, M., Schäfer-Pregl, R., Klawan, D., Castagna, R., Accerbi, M., Borghi, B., Salamini, F. (1997). Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. *Science*, 278(5341):1312-1314, doi: 10.1126/science.278.5341.1312.
- Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C., Piscozzi, R. (2006). Carotenoids and tocopherols of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum* L.). *J Cereal Sci*, 44(2): 182-193, doi: 10.1016/j.jcs.2006.06.002.
- Hidalgo, A., Brandolini, A. (2008). Protein, ash, lutein and tocopherols distribution in einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) seed fractions. *Food Chem*, 107(1): 444-448, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.08.009.
- Hidalgo, A., Brandolini, A. (2014). Nutritional properties of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.). *J Sci Food Agric*, 94(4): 601-612, doi: 10.1002/jsfa.6382.
- Kaya, E., Tuncel, N.Y., Tuncel, N.B. (2018). Utilization of lentil, pea, and faba bean hulls in Turkish noodle production. *J Food Sci Technol*, 55(5): 1734-1745, doi: 10.1007/s13197-018-3086-1.
- Koca, I., Tekguler, B., Yilmaz, V. A., Hasbay, I., Koca, A. F. (2018). The use of grape, pomegranate and rosehip seed flours in Turkish noodle (erişte) production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1): e13343, doi: 10.1111/jfpp.13343.
- Lachman, J., Orsák, M., Pivec, V., Jírů, K. (2012). Antioxidant activity of grain of einkorn (*Triticum*

- monococcum* L.), emmer (*Triticum dicoccum* Schuebl [Schrank]) and spring wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Plant, Soil and Environment*, 58(1): 15-21, doi: 10.17221/300/2011-PSE.
- Levent, H. (2017). Effect of partial substitution of gluten-free flour mixtures with chia (*Salvia hispanica* L.) flour on quality of gluten-free noodles. *J Food Sci Technol*, 54(7): 1971-1978, doi: 10.1007/s13197-017-2633-5.
- Loje, H., Møller, B., Laustsen, A. M., Hansen, Å. (2003). Chemical composition, functional properties and sensory profiling of einkorn (*Triticum monococcum* L.). *J Cereal Sci*, 37(2): 231-240, doi: 10.1006/jcrs.2002.0498.
- Megyeri, M., Mikó, P., Molnár, I., Taborská, J., Pálfi, X., Dulai, S., Rapi, S. (2014). Functional compounds of einkorn and emmer genotypes. *International Congress Diversity Strategies for organic and low input agricultures and their food system*, 7-9 July, France, 155 p.
- Nakov, G., Stamatovska, V., Necinova, L., Ivanova, N., Damyanova, S. (2016). Nutritional properties of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.)—review. In *55th Annual Science Conference of Ruse University*, Bulgaria, pp: 381 – 384.
- Nakov, G., Brandolini, A., Ivanova, N., Dimov, I., Stamatovska, V. (2018). The effect of einkorn (*Triticum monococcum* L.) whole meal flour addition on physico-chemical characteristics, biological active compounds and in vitro starch digestion of cookies. *J Cereal Sci*, 83: 116-122, doi: 10.1016/j.jcs.2018.08.004.
- Özkaya, B., Özkaya, H., Büyükkiz, E. (2001). The cooking properties of, Eriste (Turkish noodle) produced by traditional methods. *Getreide Mehl und Brot*, 55(2):120–125.
- Pagani, M.A., Lucisano, M., Mariotti, M. (2007). Traditional Italian products from wheat and other starchy flours. In: *Handbook of Food Products Manufacturing*, Hui, Y.H. (chief ed.), Wiley Interscience, A John Wiley & Sons, Inc. Publication, USA, pp. 327-388.
- Park, C.S., Baik, B.K. (2004). Relationship between protein characteristics and instant noodle making quality of wheat flour. *Cereal Chem*, 81(2): 159-164, doi: 10.1094/CCHEM.2004.81.2.159.
- Sissons, M.J., Egan, N.E., Gianibelli, M.C. (2005). New insights into the role of gluten on durum pasta quality using reconstitution method. *Cereal Chem*, 82(5): 601-608, doi: 10.1094/CC-82-0601.
- Wu, J., Corke, H. (2005). Quality of dried white salted noodles affected by microbial transglutaminase. *J Sci Food Agric*, 85(15): 2587-2594, doi: 10.1002/jsfa.2311.
- Wronkowska, M., Zielińska, D., Szawara-Nowak, D., Troszyńska, A., Soral-Śmietana, M., (2010). Antioxidative and reducing capacity, macroelements content and sensorial properties of buckwheat enhanced gluten-free bread. *Int J Food Sci Technol*, 45(10): 1993–2000, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02375.x
- Yılmaz Tuncel, N., Kaya, E., Karaman, M. (2017). Rice bran substituted Turkish noodles (erişte): textural, sensorial, and nutritional properties. *Cereal Chem*, 94(5): 903-908, doi: 10.1094/CCHEM-12-16-0289-R.
- Yüksel, F., Akdoğan, H.B., Çağlar, S. (2018). Determination of physicochemical, sensory, cooking properties and fatty acid composition of noodles enriched with flaxseed. *The Journal of Food*, 43(2): 222-230, doi: 10.15237/gida.GD17051.
- Yuksel, F., Gurbuz, M. (2019). Physicochemical, Textural, Cooking and Sensory Properties of Traditional Turkish Homemade Noodle Enriched with Apple Fiber. *Academic Food Journal*, 17(1): 16-22, doi: 10.24323/akademik-gida.543992.
- Zieliński H., Kozłowska H. (2000): Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J Agric Food Chem*, 48: 2008–2016, doi: 10.1021/jf990619o.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Ekşi Karaağaç, H., Özgül Uçurum, H. *Investigation of phenolic composition of organically-grown strawberry and blueberry* / Organik olarak yetiştirilen çilek ve yabanmersini meyvelerinin fenolik bileşiminin incelenmesi.....794-801
- Göğüş, N., Tari, C. *Effect of substrate concentration and scale up on the polygalacturonase production* / Substrat konsantrasyonu ve ölçek büyütmeyen poligalakturonaz üretimine etkisi802-809
- Unal Turhan, E., Erginkaya, Z., Benli, H., Buket Akın, M., Agcam, E. *The effects of microencapsulated L. rhamnosus and storage on biogenic amine amount of sucuk* / Sucuğun biyojen amin miktarı üzerine depolamanın ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un etkisi.....819-825
- Mercan Yücel, U., Atasoy, N. *Determination of Fe, Cu and Zn content in some spices sold without packaging in Van* / Van ilinde ambalajsız olarak satışa sunulan bazı baharat çeşitlerinde Fe, Cu ve Zn düzeylerinin belirlenmesi.....889-897
- Çalışkan Koç, G., Erbakan, T., Arıcı, E., Dirim, S. N. *Sensory and quality attributes of cake supplemented with spinach powder* / Ispanak tozu ile zenginleştirilmiş keklerin kalite parametreleri ile duyuşal özelliklerinin belirlenmesi907-918
- Duraklı Velioglu, S. *Determination of the foaming and emulsifying properties of lyophilized whole quail egg, egg yolk and egg white* / Liyofilize bıldırcın yumurtası, yumurta beyazı ve yumurta sarısının köpük oluşturma ve emülsifikasyon özelliklerinin belirlenmesi.....919-931
- Levent, H. *Performance of einkorn (Triticum monococcum L.) flour in the manufacture of traditional Turkish noodle* / Geleneksel Türk eriştesi üretiminde siyez ununun (*Triticum monococcum* L.) performansı932-942

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Demircan, A., Palabıyık, İ., Demirci, A. Ş. *İnulin içerikli jelly tipi yumuşak şekerleme üretimi ve bileşen optimizasyonu* / *Production of inulin containing jelly type soft confectionery and optimization of ingredients*759-769
- Mutlu, C., Arslan Tontul, S., Candal, C., Erbaş, M. *Bazı tahıl benzeri ürünlerin glutensiz kek üretiminde kullanımı* / *Usage of some pseudocereals in the gluten-free cake production* 770-780
- Hendek Ertop, M., Atasoy, R. *Farklı tahıl ve bakliyat unları ile üretilen tarhanaların fizikokimyasal, reolojik ve duyuşal nitelikleri* / *Physicochemical, rheological and sensory properties of tarhana samples produced by different cereal and pulse flours*.....781-793
- Dudak, F. C. *Resveratrol yüklü selüloz asetat liflerinin karakterizasyonu* / *Characterization of resveratrol loaded cellulose acetate fibers*810-818
- Aydın, F., Ardıç, M. *Farklı illerden toplanan sıkma peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri* / *Determination of microbiological and chemical properties of sikma cheeses collected from different provinces*826-836
- Atalar, İ. *Aglomerasyon işleminin yoğurt tozunun nem sorpsiyon izotermi ve termodinamik özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of agglomeration process on the moisture sorption isotherms and thermodynamics properties of yogurt powder*.....837-848
- Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. *Ezine eski kaşar peynirinin karakteristik bazı özellikleri* / *Some characteristic properties of Ezine aged kasar cheese*.....849-860
- Özenirler, Ç., Mayda, N., Gençay Çelemlı, Ö., Özkök, A., Sorkun, K. *Paketli balların botanik orijin tespiti ve mikroskopik analizleri: Etiket bilgileri ile içerik uyumluluğunun karşılaştırılması* / *Botanic origin detection and microscopic analysis of packaged honeys: Comparison of content with label information*.....861-865
- Kasap, M., Tuncer, Y. *Fermente sucuktan izole edilen mundtisin KS üreticisi Enterococcus mundtii YB6.30 suşunun teknolojik özellikleri ve güvenlik değerlendirmesi* / *Technological properties and safety evaluation of mundtisin KS producer Enterococcus mundtii YB6.30 strain isolated from fermented sucuk*.....866-880
- Oraloğlu, Z., İşcan, G. *Karabaşotu çaylarında kâfur miktar tayini* / *Camphor quantification in topped lavender herbal teas*.....881-888
- Arslan Tontul, S. Çetin Babaoğlu, H. *Un partikül boyutunun ekmeğın fiziksel özellikleri ve raf ömrü üzerine etkisi* / *Effect of flour particle size on physical properties and shelf life of bread*898-906