

## İçerikten / From the content



**Antioxidant Properties of Roasted Whole-Grain, Oilseed and Nut Snacks and Effect of Roasting Process on These Properties**

*Kavrulmuş Tüm Tane Çerez Gıdaların Antioksidan Özellikleri ve Kavurma İşleminin Etkileri*



**Production and Characterization of Plant Protein Concentrates from Shells of Kidney Bean, Pea and Cowpea and Their Effects on Freezing and Freeze Drying of Kiwi Puree**

*Barbunya, Bezelye ve Börülce Kabuklarından Bitkisel Protein Konsantresi Üretimi ve Karakterizasyonu ile Kivi Püresinin Donması ve Dondurularak Kurutulması Üzerine Etkileri*



**Bacteriological, Physicochemical, and Melissopalynologic Properties of Some Turkish Honeys**

*Bazı Türk Ballarının Bakteriyolojik, Fizikokimyasal ve Melissopalinolojik Analizi*



**Endüstriyel Dondurma İşlemi ve in vitro Gastrointestinal Sindirim Sırasında Taze Fasulyenin Fenoliklerinde, Flavonoidlerinde ve Antioksidan Kapasitesinde Meydana Gelen Değişimler**

*Changes in Green Bean Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Capacity during Industrial Freezing Process and in vitro Gastrointestinal Digestion*



**Glutensiz Bisküvi Unu Formülasyonunun Yanıt Yüzey Yöntemi Kullanılarak Optimizasyonu**

*Optimization of Gluten-Free Cookie Flour Formulation by Using Response Surface Methodology*



**Buğday Unu Renginin Yatık Tarayıcı Kullanılarak Belirlenmesi**

*Determining Color of Wheat Flour Samples Using a Flatbed Scanner*



**Fermentasyon Süresinin Kombu Çayı Mikrobiyotası ve Canlılık Oranları Üzerine Etkileri**

*Effect of Fermentation Time on Bio-Viability of Kombucha Tea*



**Afyonkarahisar İli Semt Pazarlarında Satılan Süzme (Kese) Yoğurtların Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri**

*Chemical and Microbiological Properties of Strained Yoghurts Sold in Afyonkarahisar (Turkey) Local Bazaars*

# KANSERDEN KORUNMADA GIDALAR ve BESLENME



**SIDAS MEDYA**

[sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com) • [www.gidakitaplari.com](http://www.gidakitaplari.com)

# SİDAS MEDYA

[www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com)  
<http://dergipark.gov.tr/akademik-gida>

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL  
**AKADEMİK GIDA**<sup>®</sup>  
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

• Cilt/Volume:17 • Sayı/Number:2 • Yıl/Year:2019

[www.akademikgida.com](http://www.akademikgida.com)  
<http://dergipark.gov.tr/akademik-gida>

**ACADEMIC FOOD JOURNAL**  
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

**AKADEMİK GIDA®**  
**ACADEMIC FOOD JOURNAL**

**Akademik Gıda®** dergisi Gıda Bilimi ve Teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Araştırma Notu ve Editöre Mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilmektedir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanmaktadır. Dergide Türkçe veya İngilizce olarak hazırlanmış makaleler yayınlanmaktadır.

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Oğuz Gürsoy  
(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**Editörler / Editors**

Özer Kınık (Ege Üniversitesi)  
Ramazan Gökçe (Pamukkale Üniversitesi)  
Yusuf Yılmaz (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**Teknik Editörler / Technical Editors**

Kübra Kocatürk (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)  
Hande Özge Güler (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu**

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

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

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

Akademik Gıda 17 (2) (2019)  
**İÇİNDEKİLER / CONTENTS**

■ Editörden / Editorial

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

- Antioxidant Properties of Roasted Whole-Grain, Oilseed and Nut Snacks and Effect of Roasting Process on These Properties** / Kavrulmuş Tüm Tane Çerez Gıdaların Antioksidan Özellikleri ve Kavrurma İşleminin Etkileri / Aysun Oğuz, Abdulvahit Sayaslan 149-156
- Production and Characterization of Plant Protein Concentrates from Shells of Kidney Bean, Pea and Cowpea and Their Effects on Freezing and Freeze Drying of Kiwi Puree** / Barbunya, Bezelye ve Börülce Kabuklarından Bitkisel Protein Konsantresi Üretimi ve Karakterizasyonu ile Kivi Püresinin Donması ve Dondurularak Kurutulması Üzerine Etkileri / Gülşah Kızılalp, Safiye Nur Dirim 157-166
- Bacteriological, Physicochemical, and Melissopalynologic Properties of Some Turkish honeys** / Bazı Türk Ballarının Bakteriyolojik, Fizikokimyasal ve Melissopalinolojik Analizi / Nur Bozbeyoglu, Seher Arslan, Aykut Guvensen, Nazime Mercan Dogan 167-175
- Endüstriyel Dondurma İşlemi ve in vitro Gastrointestinal Sindirim Sırasında Taze Fasulyenin Fenoliklerinde, Flavonoidlerinde ve Antioksidan Kapasitesinde Meydana Gelen Değişimler** / Changes in Green Bean Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Capacity during Industrial Freezing Process and in vitro Gastrointestinal Digestion / Senem Kamiloğlu 176-184
- Glutensiz Bisküvi Unu Formülasyonunun Yanıt Yüzey Yöntemi Kullanılarak Optimizasyonu** / Optimization of Gluten-Free Cookie Flour Formulation by Using Response Surface Methodology / Fatma Hayıt, Hülya Gül 185-192
- Buğday Unu Renginin Yatık Tarayıcı Kullanılarak Belirlenmesi** / Determining Color of Wheat Flour Samples Using a Flatbed Scanner / Farhan Alfin, Tuğba Yazıcı Çakıroğlu 193-199
- Fermentasyon Süresinin Kombu Çayı Mikrobiyotası ve Canlılık Oranları Üzerine Etkileri** / Effect of Fermentation Time on Bio-Viability of Kombucha Tea / Nurcan Değirmencioğlu, Elif Yıldız, Yasemin Şahan, Metin Gültaş, Ozan Gürbüz 200-211
- Afyonkarahisar İli Semt Pazarlarında Satılan Süzme (Kese) Yoğurtların Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri** / Chemical and Microbiological Properties of Strained Yoghurts Sold in Afyonkarahisar (Turkey) Local Bazaars / Gökhan Akarca, Oktay Tomar 212-216
- Chlorella protothecoides Mikroalg Yağının Karakterizasyonu, Biyoaktif Özellikleri ve Antifungal Etkinliği** / Characterization, Bioactive Properties and Antifungal Activity of Chlorella protothecoides Microalgae Oil / Azime Yılmaz 217-225
- Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Sade Lokum Çeşitlerinin Depolama Süresince Enstrümental Doku Özellikleri** / Instrumental Textural Properties of Plain Turkish Delight Samples Prepared with Different Formulations during Storage / Kemal Demirağ, Gülşah Çetin 226-231
- Derleme Makaleler / Review Papers
- Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları, Gıdaların Akrilamid İçeriği ve Sağlık Üzerine Etkileri** / Mechanisms of Acrylamide Formation in Foods, Acrylamide Content of Foods and Its Effect on Human Health / Nizam Mustafa Nizamioğlu, Sebahattin Nas 232-242
- Nar Meyvesi (Punica granatum L.) ile Farklı Nar Ürünlerinin Antioksidan Özellikleri** / Antioxidant Properties of Pomegranate Fruit (Punica granatum L.) and Different Pomegranate Products / Sema Özmert Ergin 243-251
- Süt Endüstrisi Atık Sularının Arıtılmasında Aktif Çamur Prosesinin Kullanımı** / Use of Activated Sludge Process in Dairy Wastewater Treatment / Elif Ayşe Anlı, Tuba Şanlı 252-259
- Geleneksel Bir Meyve Çerezi: Pestil** / A Traditional Fruit Snack: Fruit Leather / Osman Onur Kara, Erdoğan Küçüköner 260-268
- Probiyotik ve Prebiyotiklerin Bağırsak-Beyin Aksına Etkisi** / Effect of Probiotics and Prebiotics on Gut-Brain Axis / Merve Özer, Gonca Özyurt, Şebnem Telliöğlü Harsa 269-280
- Fermente Sosis Formülasyonlarında Uygulanan Yenilikçi Yaklaşımlar** / Novel Approaches on Fermented Sausage Formulations / Meltem Serdaroğlu, Gamze İpek 281-290
- Pastacılık Ürünlerinde Probiyotiklerin Kullanım Potansiyeli** / Potential Usage of Probiotics in Pastry Products / İlkın Yücel Şengün, Ceren Kutlu 291-299
- Ekmeğe ve Bazı Tahıl Ürünlerinde Ochratoxin A Bulunurluğu ve Toksik Etkileri** / Presence of Ochratoxin A in Bread and Some Cereal Products and Its Toxic Effects / Sultan Mehtap Büyüker 300-305

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

**Sahibi**

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

**Genel Yayın Yönetmeni**

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

**Baş Editör**

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
ogursoy@yahoo.com

**Editörler**

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

**Reklam Müdürü**

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

**Hukuk Danışmanı**

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

**Abone Sorumlusu**

Halil SOLAK

**Grafik Tasarım**

Sidas Medya Tasarım Grubu

**Yönetim Yeri**

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz  
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 17

Sayı: 84

Nisan - Mayıs - Haziran 2019

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİME-DYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli  
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 17. yayın yılının ikinci sayısı ile sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 10 araştırma ve 8 derleme çalışması olmak üzere toplam 18 makale yer almaktadır.

Dergimiz 2017 yılı birinci sayısından itibaren <http://www.academicfoodjournal.com> adresinin yanı sıra TÜBİTAK ULAKBİM çatısı altında, Türkiye'de yayımlanan akademik dergiler için elektronik ortamda barındırma ve editöryal süreç yönetimi hizmeti sunan DergiPark'ta, <http://dergipark.gov.tr/akademik-gida> adresinde yayımlanmaya başlamıştır. Ancak dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne 2020 yılında geçilmesi planlanmaktadır. Dergimizin tüm arşivine DergiPark üzerinden erişiminin sağlanması için gerekli çalışmalar TÜBİTAK ULAKBİM tarafından yapılmakta olup, bu çalışmaların kısa bir süre içerisinde tamamlanması beklenmektedir. Söz konusu çalışmalarla birlikte dergimizde yayımlanan makalelerin ulaşılabilirliğinde de önemli düzeyde artış olması beklenmektedir.

Dergimizle ilgili bir diğer yenilik makalelerin sonunda yer alan kaynaklar bölümünde kaynakların gösteriminde kısaca APA (American Psychological Association) olarak bilinen Amerika Psikoloji Derneği yazım stiline kullanılacak olmasıdır. Dergimize makale gönderecek meslektaşlarımızın bu durumu dikkate almasını ve güncellenen yazım kuralları sayfalarımızı takip etmesini rica ediyoruz.

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

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

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

Saygılarımızla.

**Oğuz Gürsoy**  
Baş Editör

**Özer Kınık**  
**Ramazan Gökçe**  
**Yusuf Yılmaz**  
Editörler

## BİLİMSEL ETKİNLİKLER

### 4<sup>th</sup> International Conference on Food and Biosystems Engineering

30 Mayıs-2 Haziran 2019 tarihleri arasında Yunanistan'da (Agia Pelagia, Heraklion Crete Island, Greece) dördüncüsü düzenlenecek olan Gıda ve Biyosistem Mühendisliği Uluslararası Konferansı ile ilgili detaylı bilgilere <http://www.fabe.gr> adresinden ulaşılabilir.

### The 9<sup>th</sup> International Symposium EuroAliment: Innovative Minds for Future Food

Galati Dunarea de Jos Üniversitesi Gıda Bilimi ve Mühendisliği Fakültesi tarafından 5-6 Eylül 2019 tarihleri arasında Galati'de (Romanya) bu yıl dokuzuncusu düzenlenecek olan EuroAliment sempozyumu ile ilgili detaylı bilgilere [http://www.euroaliment.ugal.ro/euro-aliment\\_2019.htm](http://www.euroaliment.ugal.ro/euro-aliment_2019.htm) adresinden ulaşılabilir.

### III. International Joint Science Congress of Materials and Polymers

Kimyagerler Derneği öncülüğünde çok sayıda kuruluşun katkısı ve işbirliği ile üçüncüsü 12-14 Eylül 2019 tarihleri arasında Kosova'da düzenlenecek olan kongre ile ilgili bilgilere <http://iscmp.org/> adresinden ulaşılabilir.

### IDF Dünya Süt Zirvesi 2019

Uluslararası Sütçülük Federasyonu tarafından bu yıl İstanbul'da (Hilton İstanbul Bomonti Hotel & Conference Center) gerçekleştirilecek Dünya Süt Zirvesi hakkındaki detaylı bilgilere <https://idfwds2019.com/> adresinden ulaşılabilir.

### 1.Uluslararası/ 11. Ulusal Gıda Mühendisliği Kongresi




Gıda Mühendisleri Odası tarafından iki yılda bir düzenlenen Gıda Mühendisliği Kongresi, bu yıl Gıda Mühendisleri Odası Yönetim Kurulu tarafından uluslararası kongreye dönüştürülmüştür. 1.Uluslararası/11.Ulusal Gıda Mühendisliği Kongresi bu yıl 7-9 Kasım 2019 tarihlerinde Antalya'da (Aska Lara Resort & SPA) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.foodengcongress.org/tr> adresinden ulaşılabilir.

### 7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi

Gıda Güvenliği Derneği tarafından düzenlenen Uluslararası Gıda Güvenliği Kongrelerinin yedincisi 4-5 Haziran 2020 tarihlerinde İstanbul'da (Grand Cevahir Hotel Convention Center) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguvenglikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.



## Antioxidant Properties of Roasted Whole-Grain, Oilseed and Nut Snacks and Effect of Roasting Process on These Properties

Aysun Oğuz<sup>1</sup> , Abdulvahit Sayaslan<sup>2</sup>  <sup>1</sup>Gaziosmanpaşa University, Graduate School, Food Engineering Program, Tokat<sup>2</sup>Karamanoğlu Mehmetbey University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Karaman

Received (Geliş Tarihi): 21.03.2018, Accepted (Kabul Tarihi): 14.04.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): sayaslan@kmu.edu.tr (A. Sayaslan)

☎ +90 338 226 2000 / 5006 📠 +90 338 226 2214

### ABSTRACT

In this research, the antioxidant properties of unroasted and roasted snacks such as hazelnut, pistachio, peanut, sunflower seed, pumpkin seed, chickpea, corn and wheat were determined using Trolox® (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) equivalent antioxidant capacity (TEAC), ferric-reducing antioxidant power (FRAP) and Folin-Ciocalteu total phenolic methods, besides their acrylamide contents. Variations were detected in the total antioxidant capacity (TAC) and total phenolic (TP) contents of roasted snacks, which were obtained from at least four different processing plants. Although antioxidant capacity tests produced different values for snacks, a significant and positive correlation ( $r^2=0.91$ ,  $P<0.01$ ) was found between TEAC and FRAP results. Similarly, significant and positive correlations were obtained between TP contents and TEAC ( $r^2=0.91$ ,  $P<0.01$ ) and FRAP ( $r^2=0.94$ ,  $P<0.01$ ) values. Among snack foods, roasted sunflower seed had the highest mean TAC and TP content (TEAC 46.6  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 63.9  $\mu\text{mol TE/g}$  and TP 1021.5 mg GAE/100 g), followed by roasted pistachio (TEAC 28.9  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 22.3  $\mu\text{mol TE/g}$  and TP 530.5 mg GAE/100 g) and roasted corn (TEAC 5.6  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 10.6  $\mu\text{mol TE/g}$  and TP 178.0 mg GAE/100 g). The TAC of remaining snacks (TEAC 2.4-3.3  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 2.9-5.7  $\mu\text{mol TE/g}$ ) and their TP contents (37.2-265.1 mg GAE/100 g) were lower and somewhat comparable. The TAC and TP contents of hazelnuts and peanuts decreased significantly ( $P<0.05$ ) upon roasting, while those of sunflower seed, pumpkin seed, corn and wheat were influenced to a lesser extent. Acrylamide contents of roasted snacks were low ( $<290.9 \mu\text{g/kg}$ ).

**Keywords:** Antioxidant, Grain, Nut, Roasting, Snack food

### Kavrulmuş Tüm Tane Çerez Gıdaların Antioksidan Özellikleri ve Kavrurma İşleminin Etkileri

#### ÖZ

Bu çalışmada, kavrulmamış (ham) ve kavrulmuş fındık, Antep fıstığı, yer fıstığı, ayçiçeği çekirdeği, kabak çekirdeği, nohut, mısır ve buğday çerezlerinin antioksidan özellikleri, Trolox® (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC), demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ve Folin-Ciocalteu toplam fenolik madde yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca, tahıl ve baklagil esaslı çerezlerin akrilamid içerikleri de belirlenmiştir. Her biri en az dört farklı işletmeden temin edilen kavrulmuş çerezlerin toplam antioksidan kapasite (TAC) ve toplam fenolik madde (TP) içeriklerinde kaynaklarına göre farklılıklar saptanmıştır. Antioksidan kapasite testleri (TEAC ve FRAP) farklı rakamsal değerler vermekle birlikte, TEAC ve FRAP değerleri arasında önemli bir korelasyon ( $r^2=0.91$ ,  $P<0.01$ ) bulunmuştur. Çerezlerin toplam fenolik madde (TP) içerikleri ile TEAC ( $r^2=0.91$ ,  $P<0.01$ ) ve FRAP ( $r^2=0.94$ ,  $P<0.01$ ) değerleri arasında da önemli korelasyonlar tespit edilmiştir. Çerez gıdalardan kavrulmuş ayçiçeği çekirdeği en yüksek TAC ve TP değerleri sağlamış (TEAC 46.6  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 63.9  $\mu\text{mol TE/g}$ , TP 1021.5 mg GAE/100 g), bunu kavrulmuş Antep fıstığı (TEAC 28.9  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 22.3  $\mu\text{mol TE/g}$ , TP 530.5 mg GAE/100 g) ve kavrulmuş mısır (TEAC 5.6  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 10.6  $\mu\text{mol TE/g}$ , TP 178.0 mg GAE/100 g) takip etmiştir. Diğer

çerezlerin TAC (TEAC 2.4-3.3 µmol TE/g, FRAP 2.9-5.7 µmol TE/g) ve TP içerikleri (37.2-265.1 mg GAE/100 g) daha düşük ve birbirleriyle benzer bulunmuştur. Fındık ve yer fıstığının TAC ve TP içerikleri kavurma işlemiyle önemli oranda ( $P < 0.05$ ) düşerken, ayçiçeği çekirdeği, kabak çekirdeği, mısır ve buğdayın TAC ve TP içerikleri daha az etkilenmiştir. Çerez gıdaların akrilamid içerikleri ise oldukça düşük ( $< 290.9$  µg/kg) düzeyde bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, Hububat, Kuru yemiş, Kavurma, Çerez gıda

## INTRODUCTION

Most foods contain health-promoting antioxidant phytochemicals, namely tocopherols, ascorbic acid, carotenoids, phenolics, flavonoids and sterols, all of which, along with human self-defense enzymes, protect consumers against harmful effects of oxidative stress [1, 2]. It has been well documented that oxidative stress plays a key role in the etiology of many degenerative chronic diseases, including certain cancers, coronary heart diseases and even diabetes [3, 4]. It is, therefore, important to consume plant foods that are rich in dietary antioxidants, such as fruits and vegetables [1, 5], whole-grain cereals and legumes [5, 6] and certain nuts and oilseeds [7-10]. Additionally, Maillard reaction products that occur during heat-processing of foods, i.e. roasting of snack foods, were shown to possess antioxidant activities [11], although a probable human carcinogen, acrylamide, was also formed [12, 13]. Since food processing technologies significantly alter contents and compositions of phytochemicals in foods [14], minimally processed foods, specifically roasted whole-grain cereals, legumes, oilseeds and nuts, are of nutritional advantages over fully processed cereal-based extruded or otherwise expanded snack foods [15].

Roasted whole-grain snack foods of corn, wheat and chickpea, roasted nuts (hazelnut, pistachio etc.) and oilseeds (peanut, sunflower seed, pumpkin seed etc.) constitute a major share of snack foods in Turkey and neighboring countries [9, 10, 15-17]. Hazelnut, pistachio, peanut and sunflower seeds are rich sources of tocopherols and phenolics [8, 9, 18-20]. Among legumes, chickpea is plentiful in isoflavonoid antioxidants [21]. Cereal grains of corn and wheat, however, are abundant sources of phenolics, carotenoids and tocopherols [22].

Although there is a vast amount of literature on antioxidants of raw or unroasted nuts, oilseeds, cereals and legumes [19, 23, 24], limited research is available on their roasted snack foods. Arcan and Yemenicioğlu [25] determined that roasted hazelnut had reduced antioxidant capacity and total phenolics, due mainly to skin removal of hazelnut during roasting process. Jogihalli and coworkers [26] found that microwave roasting of chickpea resulted in significant increases in total phenolics (8.0-27.9 mg GAE/g) and antioxidant activities (22.9-46.7%). Krings and Berger [27] verified that ethanol extracts of wheat and hazelnut contained respectively 22.2 and 45.5 µg/mL of total phenolics. Oboh and colleagues [28] determined that roasting of yellow and white corns resulted in a marked reduction in phenolic contents and antioxidant capacities.

Roasting is a dry-heat process, in which moisture contents of roasted materials range from 15 to 20% and roasting temperatures from 100 to 200°C [29]. Due to elevated temperatures in roasting, such physicochemical reactions as Maillard, caramelization, pyrolysis and expansion take place, resulting in desirable color, flavor and texture [26]. Roasting of nuts, oilseeds, cereals and legumes in snack food production are often time performed by traditional methods and varies extensively by producers [15, 17]. In general, hazelnut is first deshelled and heated at 100-120°C for 5-30 min to remove outer skin, which is also called "whitening". Deskinning hazelnut is then roasted at 120-160°C for 5-20 min to develop sensory properties [30]. Pistachio and peanut are processed into snack foods in a similar manner to hazelnut, except for that pistachio is roasted without deshelling. As for sunflower and pumpkin seeds, a two-stage process is widely practiced. Nondeshelled seeds are slightly wetted, salted and roasted at 150-175°C for 10-15 min. In the production of nondehulled roasted corn, sweet corn with 15-20% moisture is preferred and roasted at 120-150°C for 3-5 min. Like nondehulled roasted corn, wheat is also roasted at 120-150°C for 3-5 min to obtain roasted wheat snack with acceptable texture and flavor [15]. Of the legumes, chickpea is used to produce two types of roasted snack foods that are known as "leblebi", namely nondehulled roasted chickpea [white leblebi] and dehulled roasted chickpea (yellow leblebi) [17]. White leblebi is produced using thin-hulled Kabuli-type chickpea, where it is first immersed for 1-2 min in boiling water, which contains low levels of sodium bicarbonate and titanium dioxide as expanding and whitening agents, respectively. Upon resting at room temperature for 10-30 min, the chickpea is roasted at 120-130°C for 1-2 min [16, 17]. Yellow leblebi production however involves a series of heat-moisture treatments and dehulling process prior to roasting. For this purpose, thick-hulled Kabuli-type chickpea with 15-18% moisture is heated at 60-90°C for 10-30 min and then rested for 2-3 weeks in cotton bags at room temperature. This heat-moisture treatment process is repeated twice or three times. Roasting process is also performed in two stages. The first roasting is carried out 100-110°C for 2-5 min prior to removal of hull by abrasion. The second or last roasting is usually performed at retail market prior to consumption at 130-150°C for 1-2 min to develop desired color, flavor and crunchy texture [17].

The purpose of this study was to determine total antioxidant capacities (lipophilic plus hydrophilic) and total phenolic contents of roasted snack foods commonly consumed in Turkey. Additionally, effects of roasting process on antioxidant capacities of certain snack foods and acrylamide contents of legume- and cereal-based roasted snacks were determined.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

A total of nine different roasted snack foods, namely hazelnut, pistachio, peanut, sunflower seed, pumpkin seed, white chickpea (white leblebi), yellow chickpea (yellow leblebi), corn and wheat, were used in the study. Except for roasted wheat samples, which were of home-made sources, all roasted snacks were collected from five different major snack producers in Turkey. Additionally, unroasted raw samples of snack foods were acquired, when available, prior to roasting to study effects of roasting process on antioxidants. A grand total of 44 roasted snacks and 7 unroasted raw samples were separately analyzed. Roasted and unroasted samples were stored at 4°C until analysis. Prior to analysis, shelled snacks (pistachio, sunflower seed and pumpkin seed) were deshelled manually. All snack foods and unroasted raw samples were then milled with a hammer mill (Polymix PX-MFC, Kinematica AG, Luzern, Switzerland) to pass through a 1-mm screen. All analyses were conducted on deshelled edible parts of ground snacks. All chemicals were of analytical grade and purchased from Sigma and Merck (Ankara, Turkey).

### Extraction of Antioxidants

Ground roasted snacks and raw materials were subjected to a two-step sequential extraction procedure to recover both hydrophilic and lipophilic antioxidants (total antioxidants). For this purpose, extraction procedure of Saura-Calixto and Goni [31] was followed by modifying sample to solvent ratio. Ground sample (0.5 g, dry basis) and 10 mL of acidified methanol/water mixture (50/50, v/v; pH 2) were combined in a 15-mL centrifuge tube and shaken at 100 rpm in a shaking water bath (Memmert WB-22, Schwabach, Germany) at 25°C for 1 hour. The tube was then centrifuged (Hettich EBA 200S, Schwabach, Germany) at 2500xg for 10 min. Upon collection of 5 mL of hydrophilic extract, the remaining supernatant was carefully drained. In the second step of extraction, 10 mL of acetone/water mixture (70/30, v/v) was added to the pellet remaining in the tube, shaken in the water bath (25°C, 100 rpm) for 1 hour, centrifuged (2500xg, 10 min) and 5 mL of lipophilic extract was collected. Hydrophilic and lipophilic extracts were then combined, vortexed and immediately sampled for total antioxidant capacity and total phenolic assays.

### Determination of Total Antioxidant Capacity

Total (hydrophilic plus lipophilic) antioxidant capacities (TAC) of snacks and raw materials were determined by employing Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC) and ferric-reducing antioxidant power (FRAP) tests. TEAC was conducted by the method of Pellegrini and coworkers [32]. Briefly, an equal mixture of 7 mM aqueous ABTS and 2.45 mM aqueous potassium persulfate was stored in a dark place at room temperature for 16 hours to yield ABTS radical cation (ABTS<sup>•+</sup>). Absorbance of ABTS<sup>•+</sup> stock solution at 734 nm was adjusted to 0.700±0.200 with methanol in advance of analysis. ABTS<sup>•+</sup> working solution (3 mL)

and snack extract (100 µL) were combined in a spectrometer cuvette, left at room temperature for 15 min and absorbance at 734 nm (Perkin Elmer Lambda 265 UV/Vis, USA) was recorded. Based on the standard curve of Trolox® solutions, TEAC of samples were calculated as “µmol TE/g sample”. FRAP values of snacks and raw samples were measured by Benzie and Strain [33]. First, 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6), 20 mM aqueous ferric chloride solution and 10 mM aqueous TPTZ solution were mixed at 10/1/1 ratio to obtain the FRAP working solution. Then, FRAP working solution (3 mL) and snack extract (100 µL) were combined in a spectrometer cuvette, left at room temperature for 30 min and absorbance at 593 nm was recorded. Using the standard curve of Trolox® solutions, FRAP of samples were calculated as “µmol TE/g sample”.

### Determination of Total Phenolic Contents

Total phenolic (TP) contents of snacks and raw materials were determined using Folin-Ciocalteu phenol reagent by Singleton and colleagues [34]. In brief, Folin-Ciocalteu reagent (250 µL, 2 N), snack extract (250 µL) and 5.5 mL of distilled water were first mixed in a 15-mL centrifuge tube and stored at room temperature for 8 min. Then, 2.5 mL of 7% aqueous sodium carbonate and 5 mL of distilled water were added to the tube, mixed well and stored at room temperature for 2 hours. The absorbance was read at 750 nm. Based on the standard curve of gallic acid solutions, TP contents of samples were calculated as “mg GAE/100 g sample”.

### Determination of Acrylamide Contents

Roasted chickpea, corn and wheat snacks were analyzed for their acrylamide contents. Extraction of acrylamide from samples was performed by slightly modifying the method of Cavalli and coworkers [35]. For this purpose, ground snack sample (1.0 g, dry basis (db)) and 7.0 mL of 10 mM formic acid were combined in a 15-mL centrifuge tube. The tube was first mixed in shaking water bath (50°C, 100 rpm) for 30 min and then centrifuged at 6000 rpm for 30 min. An aliquot (2-3 mL) was sampled by syringe from aqueous phase of the tube. The extract was first subjected to clean-up procedure using solid-phase extraction cartridge (Isolute Multimode SPE cartridge, Biotage, Hengoed, UK) and then filtered through a 0.22-µm nylon filter. Acrylamide in snack food extract was separated and quantified on an HPLC system (Perkin Elmer 200 series, Waltham, MA, USA) using IonPac ICE-AS1 - 4x250 mm column (Dionex, Sunnyvale, CA, USA). HPLC conditions were as follows [35]: column temperature of 30°C, mobile phase of acetonitrile/water (30/70, v/v) containing 3.0 mM formic acid, mobile phase running rate of 0.15 mL/min, UV detector set at 202 nm. Using the standard curve of acrylamide solutions, acrylamide content of sample was calculated as “µg/kg sample”.

### Statistical Analysis

TEAC, FRAP, TP and acrylamide data, collected from unroasted and roasted snack foods of different origin,

were subjected to the one-way analysis of variance and means were compared by the Duncan's multiple comparison test using SPSS software (Lead Technologies, Charlotte, NC, USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Total Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Roasted Snack Foods

Total (hydrophilic and lipophilic) antioxidants capacities, determined by TEAC and FRAP methods, and total phenolic (TP) contents of roasted snack foods are listed in Table 1. The large variations in minimum and maximum values of TAC and TP contents of snack foods indicated that TAC and TP contents of roasted snacks varied significantly by their sources. TEAC and FRAP antioxidant capacity tests on snack foods produced somewhat different values; yet they were quite in agreement with each other (Table 1) and showed a strong positive correlation (Figure 1). Similar correlations were also established on white beans [36]. Furthermore, the results of TEAC and FRAP antioxidant tests correlated strongly with TP contents, indicating that phenolics were of major contributors to TAC of roasted snacks.

Except for roasted sunflower seed, pistachio and corn snacks, TAC and TP contents of snack foods are lower and comparable to each other (Table 1). For healthy nutrition, it is recommended that adults consume 60 mg of vitamin-C (ascorbic acid) and 12 mg of vitamin-E (mainly tocopherols), sum of which corresponds to 400  $\mu\text{mol TE}$  by TEAC and 580  $\mu\text{mol TE}$  by FRAP [31]. Given a typical portion size of 30 g for snack foods, the results indicate that roasted sunflower seed and pistachio could respectively provide almost three times and twice more antioxidant capacities than sum of the recommended vitamin-C and vitamin-E. Other roasted snacks, however, could only supply about one-fifth of the antioxidant capacity provided by the sum of those antioxidant vitamins.

Of the nuts, roasted pistachio samples had much higher average TAC (TEAC 28.9  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 22.3  $\mu\text{mol TE/g}$ ) and TP contents (530.5 mg GAE/100 g) than those of roasted hazelnut samples (TEAC 2.6  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP 3.9  $\mu\text{mol TE/g}$ , TP 138.5 mg GAE/100 g). Hazelnut was determined to be rich in tocopherols and phenolic antioxidants [8, 18, 37, 38], whereas pistachio is an affluent source of phenolic anthocyanidins, flavonoids and lutein [20, 38].

Table 1. Total antioxidant capacity, total phenolics and acrylamide contents of roasted snack foods

Type of snack food	Snack food (n= number of samples)	Moisture content (%)	Total antioxidant capacity (TAC)		Total phenolic (TP) content (mg GAE/100g) <sup>a</sup>	Acrylamide content ( $\mu\text{g/kg}$ ) <sup>a</sup>
			Trolox-equivalent antioxidant capacity - TEAC ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) <sup>a</sup>	Ferric-reducing antioxidant power - FRAP ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) <sup>a</sup>		
		Mean $\pm$ sd (min - max)	Mean $\pm$ sd (min - max)	(Mean $\pm$ sd (min - max))	Mean $\pm$ sd (min - max)	Mean $\pm$ sd (min - max)
Nuts	Roasted hazelnut (n=5)	1.7 $\pm$ 0.1 b <sup>b</sup> (1.2 - 2.1)	2.6 $\pm$ 0.4 a (1.8 - 4.2)	3.9 $\pm$ 0.4 a (3.2 - 5.3)	138.5 $\pm$ 15.1 abc (110.0 - 188.1)	- <sup>c</sup>
	Roasted pistachio (n=5)	1.8 $\pm$ 0.2 b (1.2 - 2.5)	28.9 $\pm$ 10.8 c (13.0 - 71.1)	22.3 $\pm$ 8.3 c (11.1 - 54.4)	530.5 $\pm$ 121.3 d (361.2 - 1006.7)	-
Oil seeds	Roasted peanut (n=5)	1.8 $\pm$ 0.1 b (1.5 - 2.4)	2.4 $\pm$ 2.2 a (1.8 - 3.1)	4.6 $\pm$ 0.3 a (3.8 - 5.2)	265.1 $\pm$ 30.1 c (162.3 - 350.1)	-
	Roasted sunflower seed (n=5)	0.7 $\pm$ 0.2 a (0.5 - 0.9)	46.6 $\pm$ 1.2 d (43.7 - 49.8)	63.9 $\pm$ 0.8 d (63.6 - 66.2)	1021.5 $\pm$ 13.3 e (988.6 - 1064.0)	-
	Roasted pumpkin seed (n=5)	2.0 $\pm$ 0.2 b (1.6 - 2.5)	2.8 $\pm$ 0.2 a (2.3 - 3.3)	2.9 $\pm$ 0.1 a (2.7 - 3.2)	37.2 $\pm$ 3.5 a (24.4 - 45.5)	-
	Roasted dehulled chickpea (yellow leblebi) (n=5)	2.7 $\pm$ 0.3 bc (1.3 - 3.8)	2.7 $\pm$ 0.2 a (2.1 - 3.0)	4.1 $\pm$ 0.2 a (3.6 - 4.5)	98.5 $\pm$ 6.8 ab (76.4 - 114.4)	< LOD <sup>d</sup>
Legumes	Roasted nondehulled chickpea (white leblebi) (n=5)	4.1 $\pm$ 0.1 c (3.7 - 4.5)	3.1 $\pm$ 0.2 a (2.3 - 3.7)	3.9 $\pm$ 0.1 a (3.6 - 4.3)	85.4 $\pm$ 4.1 ab (79.6 - 101.3)	<LOQ <sup>e</sup>
Cereals	Roasted nondehulled corn (n=5)	4.4 $\pm$ 0.1 c (3.4 - 4.8)	5.6 $\pm$ 0.5 b (4.5 - 7.0)	10.6 $\pm$ 0.7 b (9.4 - 12.5)	178.0 $\pm$ 10.6 bc (158.3 - 206.5)	126.1 $\pm$ 92.3 (59.7 - 231.4)
	Roasted nondehulled wheat (n=4)	4.0 $\pm$ 0.3 bc (2.1 - 4.6)	3.3 $\pm$ 0.6 a (1.8 - 4.9)	5.7 $\pm$ 0.8 a (3.9 - 7.7)	81.3 $\pm$ 14.0 ab (48.3 - 117.0)	193.9 $\pm$ 137.3 (<LOQ - 290.9)

<sup>a</sup>Dry-matter basis. <sup>b</sup>Different letters within a column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). <sup>c</sup>Not analyzed. <sup>d</sup>LOD: Limit of detection (59.6  $\mu\text{g/kg}$ ). <sup>e</sup>LOQ: Limit of quantitation (17.9  $\mu\text{g/kg}$ )

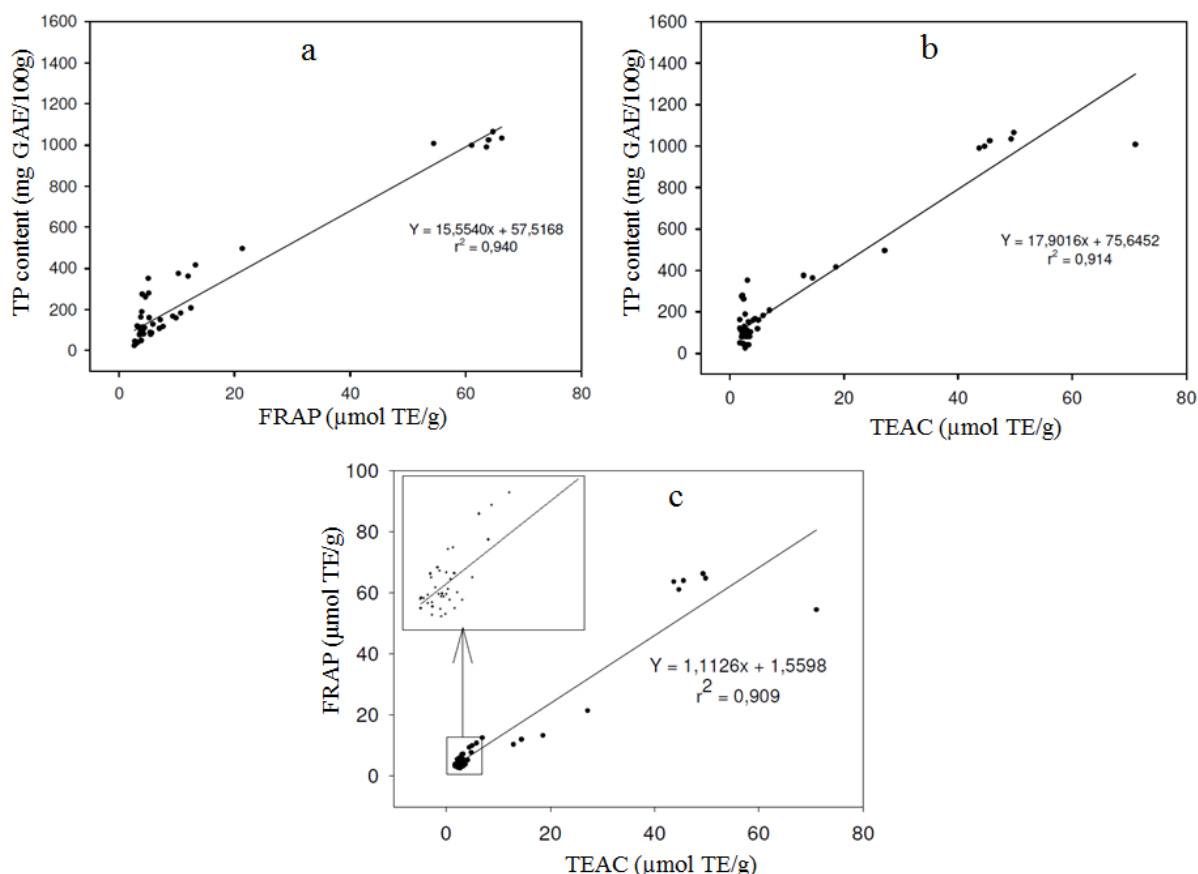


Figure 1. Correlations between (a) total phenolic (TP) content and ferric-reducing antioxidant power (FRAP), (b) TP content and Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC) and (c) FRAP and TEAC of roasted snack foods

Among the roasted oilseeds of peanut, sunflower seed and pumpkin seed (Table 1), samples of sunflower seed had the highest TAC and TP contents. Kosinska and Karamac [39] also determined that roasted sunflower seed had much higher TAC (TEAC 43  $\mu\text{mol TE/g}$ ) and TP content (1480 mg GAE/100 g) than sesame seed, pumpkin seed and soybean. Sunflower seed is a well-known source of tocopherols [7]. Of the oilseeds, roasted peanut samples contained comparable levels of TAC and TP to that of roasted hazelnut. Peanut is reported to be rich in tocopherols, phenolic flavonoids, especially isoflavones [38, 40]. Like hazelnut, phenolic procyanidins are concentrated in the skin of peanut [41]. As for pumpkin seed samples, they had the least TP contents (Table 1), which is consistent with the finding of Kosinska and Karamac [39]. The common antioxidants of pumpkin seed are carotenoids, namely zeaxanthin,  $\beta$ -karoten, kryptoxanthin and lutein [42].

Chickpea, a leguminous grain, is used to produce two types of roasted snacks foods: nondehulled roasted chickpea (white leblebi) and dehulled roasted chickpea (yellow leblebi) [15, 17]. Although raw materials and processing methods are quite different, both types of chickpea snack in this study had lower and comparable TAC and TP contents (Table 1). It was reported that isoflavones,  $\beta$ -carotene and tocopherols are among the major antioxidant compounds of chickpea [21].

Of the two cereal-based snacks investigated in the study, roasted non-dehulled corn samples had higher levels of TAC and TP than roasted wheat snacks. TAC and TP contents of roasted corns were also much higher than those of the roasted chickpea snacks, indicating that roasted corn is the best in terms of antioxidant potential among grain-based roasted snack foods. Both corn and wheat are rich sources of phenolic antioxidants; however, corn kernel contains more carotenoids and tocopherols than wheat grain [22].

### Effects of Roasting on Total Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents

Samples were collected for seven snack raw materials prior to roasting process and their TAC and TP contents were compared with those of their roasted snacks. As seen in Table 2, TAC and TP contents of hazelnut and peanut decreased significantly ( $P < 0.05$ ) upon roasting, while those of sunflower seed, pumpkin seed, corn and wheat varied to a lesser extent.

Raw hazelnut sample in this study had quite a high TEAC value of 30.4  $\mu\text{mol TE/g}$ , which is comparable to the value of 29.0  $\mu\text{mol TE/g}$  obtained by Shahidi and Alaşalvar [37]. Roasting caused a reduction of 85-95% in TAC and 50-80% in TP contents of hazelnut and peanut (Table 2). The decrease in TAC and TP contents of hazelnut was somewhat caused by the heat treatment during roasting and, to a major extent, by removal of

skin, which is rich in phenolic antioxidants [8, 18]. Similarly, TAC and TP reductions in peanut could also be resulted from heat treatment and unavoidable skin removal during roasting process. Shahidi and Alaşalvar [37] found that hazelnut skin contained 3-5 times more phenolics and antioxidants than hazelnut cotyledons. Arcan and Yemenicioğlu [25] determined that roasted hazelnut had reduced antioxidant capacity and total phenolics, due mainly to skin removal of hazelnut during roasting process.

As opposed to nuts and oilseeds, however, roasting did not markedly alter TAC and TP contents of roasted chickpea, corn and wheat (Table 2). This result is fairly in harmony with the findings of Jogihalli and coworkers [26] that microwave roasting of chickpea resulted in significant increases in total phenolics (8.0-27.9 mg GAE/g) and antioxidant activities (22.9-46.7%). Overall, the results of roasting study imply that reductions in TAC and TP contents of certain snack foods, i.e., hazelnut and peanut, were a primary consequence of skin removal rather than heat treatment during roasting process.

Table 2. Effects of roasting process on total antioxidant capacity and total phenolic contents of snack foods

Source of snack food	Unroasted or Roasted	Total antioxidant capacity (TAC)		Total phenolic (TP) content (mg GAE/100g) <sup>a</sup>
		Trolox-equivalent antioxidant capacity - TEAC ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) <sup>a</sup>	Ferric-reducing antioxidant power - FRAP ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) <sup>a</sup>	
Hazelnut	Unroasted	30.4 $\pm$ 2.1 b <sup>b</sup>	26.4 $\pm$ 2.7 b <sup>b</sup>	488.1 $\pm$ 6.7 b <sup>b</sup>
	Roasted	2.3 $\pm$ 0.1 a	3.4 $\pm$ 0.5 a	116.9 $\pm$ 2.0 a
Peanut	Unroasted	38.9 $\pm$ 6.9 b	29.1 $\pm$ 2.9 b	780.6 $\pm$ 42.8 b
	Roasted	3.1 $\pm$ 0.2 a	5.1 $\pm$ 0.6 a	350.1 $\pm$ 10.0 a
Sunflower seed	Unroasted	53.6 $\pm$ 5.6 b	66.7 $\pm$ 3.3 a	1089.7 $\pm$ 24.5 b
	Roasted	43.7 $\pm$ 3.7 a	63.6 $\pm$ 5.0 a	988.6 $\pm$ 11.2 a
Pumpkin seed	Unroasted	2.8 $\pm$ 0.4 b	2.7 $\pm$ 0.3 a	31.1 $\pm$ 0.13 a
	Roasted	2.3 $\pm$ 0.2 a	2.8 $\pm$ 0.3 a	45.5 $\pm$ 3.4 b
Dehulled chickpea (yellow leblebi)	Unroasted	3.4 $\pm$ 0.4 b	3.8 $\pm$ 0.3 a	89.3 $\pm$ 9.2 a
	Roasted	2.1 $\pm$ 0.2 a	3.6 $\pm$ 0.5 a	76.4 $\pm$ 3.4 a
Nondehulled corn	Unroasted	3.7 $\pm$ 0.3 a	11.1 $\pm$ 1.1 a	236.6 $\pm$ 4.3 b
	Roasted	4.5 $\pm$ 0.7 a	9.4 $\pm$ 0.5 a	166.3 $\pm$ 6.8 a
Nondehulled wheat	Unroasted	2.8 $\pm$ 0.3 a	6.4 $\pm$ 0.6 a	161.5 $\pm$ 16.3 b
	Roasted	3.3 $\pm$ 0.4 a	5.5 $\pm$ 0.6 a	78.8 $\pm$ 3.4 a

<sup>a</sup>Dry-matter basis. <sup>b</sup>Different letters within the same snack type in the same column indicate significant difference (P<0.05).

### Acrylamide Contents of Roasted Grain-Based Snacks

Acrylamide, a probable human carcinogen, is known to occur in carbohydrate-rich foods that were subjected to heat processing, such as frying, baking and roasting [43]. Although acrylamide contents of many foods around the world have been heavily investigated, limited research is available on such traditional foods as roasted snacks [12, 13]. Cereal and legume-based roasted snacks of leblebi, corn and wheat were analyzed for acrylamide in this study. As listed in Table 1, roasted dehulled and nondehulled chickpea snacks contained acrylamide levels, respectively, below the limit of detection (LOD: 59.6  $\mu\text{g/kg}$ ) and limit of quantitation (LOQ: 17.9  $\mu\text{g/kg}$ ) of the HPLC-UV method. Roasted corn and wheat snacks contained acrylamide levels ranging respectively from 59.7-231.4  $\mu\text{g/kg}$  (mean 126.1  $\mu\text{g/kg}$ ) and <LOQ-290.9 (mean 193.9  $\mu\text{g/kg}$ ). Ölmez and coworkers [13] determined that roasted chickpea snacks contained 10-33  $\mu\text{g/kg}$  acrylamide, whereas roasted corns had acrylamide levels of 100-288  $\mu\text{g/kg}$ . Koh [44] found that severely roasted corn contained acrylamide levels ranging from 116 to 400  $\mu\text{g/kg}$ . The acrylamide contents of roasted grains obtained in our study are quite in agreement with the findings of Koh [44] and

Ölmez and coworkers [13]. To the best of our knowledge, there is no study on acrylamide content of roasted wheat; however, heavily roasted barley, which is used in the production of traditional tea-like extracts in Korea and Japan, was reported to have acrylamide contents ranging from 116 to 600  $\mu\text{g/kg}$  [44, 45].

### CONCLUSIONS

The roasted snacks included in the study showed large variations in TAC and TP contents by their sources, indicating that raw material properties and/or roasting process differed by the producers. Although TEAC and FRAP antioxidant capacity tests produced slightly different values for a given snack, they exhibited a strong correlation. Additionally, there were strong correlations between TP contents of snack foods and their TEAC or FRAP antioxidants capacities, which demonstrate that phenolic compounds are major contributors to TAC of snack foods. Of the snack foods, roasted sunflower seed contained the highest level of TAC and TP contents, followed by roasted pistachio and corn snacks. Other snacks (roasted hazelnut, peanut, pumpkin seed, chickpea and wheat) had lower levels of TAC and TP contents with comparable values. It was determined that roasting process caused a significant

reduction in TAC and TP contents of hazelnut and peanut, due mainly to skin removal and partly to heat process during roasting. TAC and TP contents of other snacks (sunflower seed, pumpkin seed, chickpea, corn, wheat) were however slightly influenced by roasting process, probably because no anatomical parts were removed during roasting process. A typical portion of roasted sunflower seed (30 g) is likely to provide TAC three times more than the daily recommended amounts of 60 mg vitamin-C plus 12 mg vitamin-E, while a portion of roasted pistachio and corn can respectively deliver about 150% and 50% of TAC supplied by sum of vitamin-C and vitamin-E. The rest of the roasted snacks, however, can only provide one-fifth of the TAC supplied by vitamin-C plus vitamin-E.

The study shows that most of the traditionally roasted snack foods are rich sources of health-promoting antioxidants. However, other nutritional attributes of snack foods, such as total fat, dietary fiber, digestion rates etc., should be taken into consideration in proper selection of snack foods. In this respect, preference of roasted chickpea, corn or wheat might be an appropriate choice, as they are low-fat, high-fiber and slowly digested snacks [15] with moderate levels of antioxidant capacities.

## REFERENCES

- [1] Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-The millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 703-725.
- [2] Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Rio, D.D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133, 2812-2819.
- [3] Lee, J., Koo, N., Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 21-33.
- [4] Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 275-295.
- [5] Miller, H.E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., Kanter, M. (2000). Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of American College of Nutrition*, 19, 312S-319S.
- [6] Kahlon, T.S., Smith, G.E. (2004). Health benefits of grains, fruits, and vegetables and the USDA food guide pyramid. *Cereal Foods World*, 49, 288-291.
- [7] Hall, C. (2001). Sources of natural antioxidants: Oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. In: *Antioxidants in Food - Practical Applications*. Edited by J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, CRC Press, New York, NY, pp. 159-209.
- [8] Alaşalvar, C., Karamac, M., Amarowicz, R., Shahidi F. (2006). Antioxidant and antiradical activities in extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut green leafy cover. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4826-4832.
- [9] Çağlar, A., Tomar, O., Vatanserver, H., Ekmekçi, E. (2017). Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 15(4), 436-447.
- [10] Karaosmanoğlu, H., Üstün, N.Ş. (2017). Organik ve konvansiyonel fındıkların (*Corylus avellana* L.) bazı fiziksel özellikleri. *Akademik Gıda*, 15(4), 377-385.
- [11] Lee, K.G., Shibamoto T. (2002). Toxicology and antioxidant activities of non-enzymatic browning reaction products - Review. *Food Reviews International*, 18, 151-175.
- [12] Şenyuva, H.Z., Gökmen, V. (2005). Survey of acrylamide in Turkish foods by an in-house validated LC-MS method. *Food Additives and Contaminants*, 22, 204-209.
- [13] Ölmez, H., Tuncay, F., Özcan, N., Demirel, S. (2008). A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 564-568.
- [14] Şensoy, I. (2014). A Review on the relationship between food structure, processing, and bioavailability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 902-909.
- [15] Sayaslan, A., Akarçay, E., Tokatlı, M. (2016). Kavrulmuş mısır, buğday ve nohut (leblebi) çerezlerinin beslenme açısından önemli karbonhidrat fraksiyonları. *Akademik Gıda*, 14, 284-292.
- [16] Köksel, H., Sivri, D., Scanlon, M.G., Bushuk, W. (1998). Comparison of physical properties of raw and roasted chickpeas (leblebi). *Food Research International*, 31, 659-665.
- [17] Coşkun, Y., Karababa, E. (2004). Leblebi, A roasted chickpea product as a traditional Turkish snack food. *Food Reviews International*, 20, 257-274.
- [18] Yurttaş, H.C., Schafer, H.W., Warthesen, J.J. (2000). Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus* spp) phenolics. *Journal of Food Science*, 65, 276-280.
- [19] Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R.L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4026-4037.
- [20] Seeram, N.P., Zhang, Y., Henning, S.M., Lee, R., Niu, Y., Lin, G., Heber, D. (2006). Pistachio skin phenolics are destroyed by bleaching resulting in reduced antioxidative capacities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7036-7040.
- [21] Wodd, J.A., Grusak, M.A. (2007). Nutritional value of chickpea. In: *Chickpea Breeding and Management*. Edited by S.S. Yadav, CAB International, New York, NY, pp. 101-142.
- [22] Dykes, L., Rooney, L.W. (2007). Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*, 52, 105-111.
- [23] Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6182-6187.
- [24] Halvorsen, B.L., Holte, K., Myrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold,

- A.B., Hafner, K., Baugerod, H., Andersen, L.F., Moskaug, J.Q., Jacobs, D.R., Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Nutrient Requirements*, 132, 461-471.
- [25] Arcan, I., Yemenicioğlu, A. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 184-188.
- [26] Jogihalli, P., Singh, L., Sharanagat, V.S. (2007). Effect of microwave roasting parameters on functional and antioxidant properties of chickpea (*Cicer arietinum*). *LWT-Food Science and Technology*, 79, 223-233.
- [27] Krings, U., Berger, R.G. (2001). Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chemistry*, 72, 223-229.
- [28] Oboh, G., Ademiluyi, A.O., Akindahunsi, A.A. (2010). The effect of roasting on the nutritional and antioxidant properties of yellow and white maize varieties. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 1236-1242.
- [29] Singh, L., Varshney, J.G., Agarwal, T. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chemistry*, 199, 768-781.
- [30] Özdemir, M. (2001) Mathematical Analysis of Color Changes and Chemical Parameters of Roasted Hazelnuts. PhD Thesis. İstanbul Technical University, Institute of Science and Technology, Department of Food Engineering, İstanbul, Turkey.
- [31] Saura-Calixto, F., Goni, I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94, 442-447.
- [32] Pellegrini, N., Re, R., Yang, M., Rice-Evans, C.A. (1999). Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying the 2, 2'-azobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic) acid radical cation decolorization assay. *Methods in Enzymology*, 299, 379-389.
- [33] Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- [34] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [35] Cavalli, S., Maurer, R., Höfler, F. (2003). Fast Determination of Acrylamide in Food Samples. Dionex Application Note 409, Sunnyvale, CA.
- [36] Orak, H.H., Karamac, M., Orak, A., Amarowicz, R. (2016). Antioxidant potential and phenolic compounds of some widely consumed Turkish white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66, 253-260.
- [37] Shahidi, F., Alaşalvar, C. (2004). Fındık ve Fındık Yan Ürünlerinde Fitokimyasal Maddeler ve Biyoaktif Bileşikler. Fındık Tanıtım Grubu Araştırma Sonuç Raporu, Ankara, Turkey. [www.ftg.org.tr/files/downloads/findikta-fitokimyasal-maddeler-ve-bioaktifle.doc](http://www.ftg.org.tr/files/downloads/findikta-fitokimyasal-maddeler-ve-bioaktifle.doc).
- [38] Blomhoff, R., Carlsen, M.H., Andersen, L.F., Jacobs, Jr. D.R. (2006). Health benefits of nuts: Potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96, S52-S60.
- [39] Kosinska, A., Karamac, M. (2006). Antioxidant capacity of roasted health-promoting products. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15/56, 193-198.
- [40] Isanga, J., Zhang, G.N. (2007). Biologically active components and nutraceuticals in peanuts and related products: Review. *Food Reviews International*, 23, 123-140.
- [41] Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I., Dai, J. (2006). Peanut skin procyanidins: Composition and antioxidant activities as affected by processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 364-371.
- [42] Parry, J., Hao, Z.G., Luther, M., Su, L., Zhou, K.Q., Yu, L.L. (2006). Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 83, 847-854.
- [43] Arvanitoyannis, I.S., Dionisopoulou, N. (2014). Acrylamide: Formation, occurrence in food products, detection methods, and legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 708-733.
- [44] Koh, B.K. (2006). Determination of acrylamide content of food products in Korea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2587-2591.
- [45] Ono, H., Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M., Yada, H., Ishizaka, M., Kobayashi, H., Yoshida, M. (2003). Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. *Food Additives and Contaminants*, 20, 215-220.



## Production and Characterization of Plant Protein Concentrates from Shells of Kidney Bean, Pea and Cowpea and Their Effects on Freezing and Freeze Drying of Kiwi Puree

Gülşah Kızılalp , Safiye Nur Dirim  

Department of Food Engineering, Ege University, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 10.05.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 24.07.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [nur.dirim@ege.edu.tr](mailto:nur.dirim@ege.edu.tr) (S.N. Dirim)

☎ 0 232 311 30 32 📠 0 232 311 48 31

### ABSTRACT

In this study, protein concentrates (PCs) were obtained from the shells of kidney bean (KPC), pea (PPC) and cowpea (CPC) by using alkaline extraction followed by isoelectric precipitation and freeze drying. Among PCs, CPC had significantly the highest protein (41.22%) and the lowest dry matter (93.52%) contents. The protein content of KPC was 19.20% while PPC had a content of 25.48%. The ash content of CPC was the lowest (0.005%). Considering the color values of PCs, the highest L\* and a\* color values were 44.25 and 0.36 for KPC, respectively and the highest b\* value was 0.39 for CPC. The highest total color change ( $\Delta E$ ) was calculated as 30.23 for PPC. Among functional properties, KPC had the highest water (2.26 g/g) and oil holding capacity (3.60 g/g) values. PPC had the highest emulsion capacity (54.28%), stability (51.43%), and foaming capacity (47.63%) values. CPC showed the highest solubility value (99.23%). Based on the results of differential scanning calorimetry (DSC) analysis, CPC displayed a lower denaturation temperature ( $T_d$ ) and heat of transition ( $\Delta H$ ). With the addition of the PCs (in 0, 1, 2, 4, and 6% of total weight), the duration for the freezing of kiwi puree with a 6% PC (KPC, PPC, and CPC) was the lowest. On the other hand, a clear effect of adding protein to kiwi puree on behavior of freeze drying was not observed.

**Keywords:** Kidney bean, Pea, Cowpea, Protein concentrate, Freeze drying

### Barbunya, Bezelye ve Börülce Kabuklarından Bitkisel Protein Konsantresi Üretimi ve Karakterizasyonu ile Kivi Püresinin Donması ve Dondurularak Kurutulması Üzerine Etkileri

#### Öz

Bu çalışmada, barbunya, bezelye ve börülce kabuklarından izoelektrik noktada çöktürme yöntemi kullanılarak protein konsantreleri elde edilmiştir. Elde edilen protein konsantreleri arasında, börülce kabuğu protein konsantresi en yüksek protein ve en düşük kurumadde içeriğine sahiptir (sırasıyla %41.22 ve 93.52). Barbunya kabuğu protein konsantresinin protein değeri %19.20 ve bezelye kabuğu protein konsantresinin ise %25.48'dir. Börülce kabuğu protein konsantresinin kül değeri en düşük olarak bulunmuştur (%0.005). Renk değerleri dikkate alındığında, en yüksek L\* değeri 44.25 olarak barbunya kabuğu protein konsantresi için, en yüksek a\* değeri 0.36 olarak barbunya kabuğu protein konsantresi için ve en yüksek b\* değeri 0.39 olarak bezelye kabuğu protein konsantresi için ölçülmüştür. En yüksek toplam renk değişim değeri ( $\Delta E$ ) 30.23 olarak bezelye kabuğu protein konsantresi için hesaplanmıştır. Fonksiyonel özellikler incelendiğinde ise, barbunya kabuğu protein konsantresi en yüksek su ve yağ tutma kapasitesine (sırasıyla 2.26g/g ve 3.60 g/g), bezelye kabuğu protein konsantresi en yüksek emülsiyon kapasitesi ve stabilitesine (sırasıyla %54.28 ve %51.43) ve köpük oluşturma kapasitesine (%47.63) sahiptir. Börülce kabuğu protein konsantresi en yüksek çözünürlük değerini göstermiştir (%99.23). Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) analizine göre, börülce kabuğu protein konsantresi en düşük denatürasyon sıcaklığı ( $T_d$ ) ve geçiş ısı ( $\Delta H$ )

değerine sahiptir. Protein konsantrelerinin eklenmesiyle (toplam ağırlığın %0, 1, 2, 4, 6 oranında), %6 oranında protein konsantresi (barbunya, bezelye ve börülce kabuğu protein konsantresi) eklenen kivi pürelere donma faz süresi, diğer oranlara göre daha kısa bulunmuştur. Diğer taraftan, kivi püresine protein konsantresi eklemenin dondurarak kurutma davranışı üzerine net bir etkisi gözlenmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Barbunya, Bezelye, Börülce, Protein konsantresi, Dondurarak kurutma

## INTRODUCTION

Food waste is a serious problem with growing human population and industrialization in the recent years. It causes economic losses, environmental problems, sanitary conformities and social implications [1]. Food wastes can be recovered as a cheap source of valuable components by the possibilities of the current technology such as production of biofuels, recovery of them as protein, phenols, antioxidants, dietary fibers, pectin and flavonoids [2].

Legumes are known as the second most important source of human food after cereals. They are a cheap source of proteins and other nutrients such as minerals, starch, vitamins, polyphenols, and dietary fibre [3]. They are also serious food waste sources in industry. For example, approximately half of a pea is shell. This loss can not be ignored in industry.

Plant based proteins have a great importance in human nutrition because of the consumption less than necessary. Hence, studies have increased about plant based proteins in time. Due to anxiety about deficiency of animal protein sources with growing world population, there has been a continuous search for legumes as new protein sources to utilization as both nutritional supplements and functional food ingredients [4]. Plant proteins which are obtained particularly from grain legumes have been used as ingredients in food products for many years in food industry because of their valuable amino acid contents. Protein concentrates which are obtained from legumes are used as ingredients in food systems such as in cake mix, pudding, sausage [5]. In the literature, many studies have given that protein concentrates are obtained from different legumes such as cowpea [5], barley [6], lentil [3], chickpea [7], and kidney bean [8].

Kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) is the most grown and consumed one among the legumes [9]. It can be used in crude ingredient of canned, dry, and fresh consumption in the food systems [10]. It is a good source of proteins. It includes 20-30% protein which has valuable amino acid composition [11]. Pea (*Pisum sativum*) is a legume of increasing significance in the world markets [12]. It is rich in protein content and shows miscellaneous functionalities [13]. It contains approximately 25% protein which is higher in levels of lysine and tryptophan [14]. The cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp.*) is a widely consumed and nutritious legume. It is durable to high temperatures and drought [15], and has a rich nutritious profile. A mature cowpea includes 24.8% protein content [16].

Freezing and freeze drying are important methods for the long-term preservation of foods but they have some disadvantages such as long and expensive processes [17]. Because of this reason, the use of several drying agents is a crucial point in freeze drying and it is aimed to reduce the total time and energy loss in the studies.

The objective of this study is to have a contribution to waste management by obtaining protein concentrate from the shells of kidney bean, pea, and cowpea and investigate the effect of protein concentrate on the freezing and freeze drying of kiwi puree by adding the obtained protein concentrates to the kiwi puree.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Kidney beans, peas, and cowpeas as the raw materials were purchased from local markets in Izmir (Turkey). The shells were separated from grains, washed and dried in a conventional oven at 70°C for 1 hour to be half dried. After that, they were stored at -24°C until utilized for protein extraction. All the chemicals are the high quality (Sigma-Aldrich); the DSC pans (TA, Tzero Pan) and the dialysis sacks (Sigma-Aldrich) were used.

### Preparation of Protein Concentrates

The shells of kidney bean, pea, and cowpea (500 g) were blended using a home type blender (Tefal Smart, MB450141, Turkey) with the addition of 0.05 M Tris buffer solution (1000 mL) which has a pH of 8.5 at 25°C. For this purpose, 4.36 g of Trizma Base and 2.21 g of Trizma HCl were dissolved in 1000 mL of distilled water. The resulting blend was centrifuged at 3500 g for 30 min (Hettich, Universal 320R, Germany) to ensure required phase separation for protein isolation. The liquid phase was taken and brought to a pH 4.5 with the addition of HCl and NaOH according to the initial pH and centrifugation process was repeated. The precipitate was gathered and solubilized again in around 5-10 mL in the buffer solution. The obtained solution was put into dialysis sacks (Sigma-Aldrich) which have a pore size of 12000 Da and width of 35 mm and dialyzed in deionized water for 6 hours to purify. Then, the solution was concentrated with the addition of polyethylene glycol (5%, v/v). Lastly, the freeze drying process was performed in a pilot scale freeze dryer (Armfield, FT 33 Vacuum Freeze Drier, England), under vacuum (13.33 Pa absolute pressure) at -48°C condenser temperature for 9 hours to obtain the protein concentrates.

## Preparation of Kiwi Puree for Freezing and Freeze Drying

Fresh kiwi fruits were purchased from a local market in Izmir (Turkey). They were peeled, crushed, and pureed with a home type blender (Tefal Smart, MB450141, Turkey). The obtained protein concentrates from the shells of the kidney bean, pea, and cowpea were added to the kiwi puree at 0, 1, 2, 4, and 6% proportions (w:w). Samples were frozen at -24°C in a freezer (Vestel, Turkey) by placing 16 g into a glass test tube (diameter is 16 mm, height is 100 mm). Thermocouples were placed in the bottom of the test tube. Freezing graphs as temperature versus time were plotted using the data obtained with a datalogger (PP222, USB Data Logger, Pico Technology). The control sample did not include any protein concentrates. The initial temperature was 20°C for all samples.

The obtained protein concentrates from the shells of the kidney bean, pea, and cowpea were added to the kiwi puree at 0, 1, 2, 4, and 6% ratios (w:w). Samples were frozen in a freezer (Vestel, Turkey) in a layer of 3 mm in the petri dishes at -24°C for 24 hours, then, freeze dried in a pilot scale freeze dryer (Armfield, FT 33 Vacuum Freeze Drier, England) under vacuum (13.33 Pa absolute pressure) at -48°C condenser temperature for 9 hours. After drying, the powder products were obtained.

## Determination of Protein, Dry matter, and Ash Contents

The protein (N\*6.25) and dry matter contents of the KPC, PPC, and CPC were determined according to the AOAC method [18]. The ash contents of the samples were determined using a standard method [19].

## Measurement of Colour Values

The colour parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) of the KPC, PPC, and CPC were measured using a Minolta CR-400 Colorimeter, Japan. The device was calibrated with white standard plate before all the measurements. The results were expressed as the average of six measurements in accordance with the CIE Lab. System. The  $L^*$  value measures the lightness value which ranges between 0 and 100, the  $a^*$  value symbolizes color ranging from red (+) to green (-) and the  $b^*$  value also represents color ranging from yellow (+) to blue (-). The total color change value ( $\Delta E$ ) was calculated using Equation 1. In the Equation (1), the  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  values were measured on the protein concentrates and the  $L_0^*$ ,  $a_0^*$ , and  $b_0^*$  values were measured on the shells.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

## Determination of Thermal Properties

Thermal properties of KPC, PPC, and CPC were determined with DSC (Perkin Elmer DSC-8000) system in Food Engineering Department of Ege University.

Approximately 0.1 mg sample were placed into aluminium pans. The pans were hermetically sealed. The DSC was calibrated (indium) and an empty aluminium pan was used as reference. Pans were heated at a rate of 5°C/min from -20°C to 120°C. Denaturation temperature ( $T_d$ ) and enthalpy change ( $\Delta H$ ) were calculated using the software of device.

## Determination of Functional Properties

### Determination of Solubility Values

Solubility value of KPC, PPC, and CPC were determined according to Cano-Chauca et al. [20]. For this purpose, 1 g of sample was added to 100 mL of distilled water. It was mixed with magnetic stirrer for 5 min and centrifuged at 3000 rpm for 5 min. Then, 25 mL of the solution was taken, dried at 105°C in the oven for 5 hours and the result as the weight of dry sample of the concentrate was given as percentage compared to total sample.

### Determination of Water and Oil Holding Capacity (WHC and OHC) Values

WHC value was measured by using the method described by Rodríguez-Ambriz et al. [21]. For this purpose, 100 mg of each protein sample were mixed with 1000  $\mu$ L of distilled water by using a magnetic stirrer in a 50 mL beaker. The protein suspension was then centrifuged at 1800 g for 20 minutes at 20°C. The supernatant was decanted, and the tube was drained at 45° angle for 10 min. The water holding capacity value was expressed as water (g) retained by protein sample divided by the amount of (g) protein sample.

The method described by Lin and Zayas [22] was used to determine OHC value. For this purpose, 100 mg of protein sample was mixed with a vortex in 1000  $\mu$ L of sunflower oil for 30 s. The emulsion was incubated at room temperature (about 20°C) for 30 min, and then centrifuged at 13,600 g for 10 min at 25°C. The supernatant was decanted and drained at a 45° angle for 20 min. The oil holding capacity value was expressed as oil (g) retained by protein sample divided by the amount of (g) protein sample.

### Determination of Emulsion Capacity (EC) and Stability (ES) Values

The emulsion capacity (EC) and emulsion stability (ES) of KPC, PPC, and CPC were determined by using the method of Wu [23]. For this purpose, 0.5 g of each protein sample was dissolved in 10 mL of distilled water. pH was adjusted to 7 with 1 N HCl and 1 N NaOH and 10 ml of sunflower oil was added. The sample was mixed with magnetic stirrer for 1 min. Then, it was centrifuged for 15 min at 3000 g. Emulsion layer (mL) and total tube volume (mL) were recorded from centrifuge tube. EC values were calculated according to the Equation (2). After that, the tube containing the emulsion has been waited at 80°C for 30 min in water bath. Then, fast cooling was done under running water

for 5 minutes. Then, the sample was centrifuged for 5 minutes at 3000xg. The remaining emulsion layer (mL) and total volume (mL) were also recorded and ES values were calculated according to the Equation (3).

$$EC=100*(\text{Emulsion layer (ml) / Total volume (mL)}) \quad (2)$$

$$ES=100*(\text{Remaining Emulsion layer (mL) / Total volume (mL)}) \quad (3)$$

#### Determination of Foaming Capacity (FC) Values

FC was determined according to the method of Sathe and Salunkhe [24]. For this purpose, 2 g of each protein sample were mixed with 100 mL of distilled water in a 250 mL beaker for 5 min at high speed. The sample was rested 4 hours. The total volume was recorded and calculated according to the Equation (4).

$$FC = \left( \frac{\text{volume after whipping} - \text{volume before whipping}}{\text{volume before whipping}} \right) * 100 \quad (4)$$

#### Determination of Moisture Ratio (MR) Values

KPC, PPC, and CPC were added to the kiwi puree at 0, 1, 2, 4, 6% proportions. The samples were freeze dried in a pilot scale freeze dryer (Armfield, FT 33 Vacuum Freeze Drier, England). Mass losses were taken at 1 hour interval. Moisture ratio (MR) of samples was calculated according to the Equation (5).

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (5)$$

Where the  $M_t$ ,  $M_0$ , and  $M_e$  are the moisture contents at any time, initial, and equilibrium moisture contents (kg water / kg dry matter), respectively.

#### Statistical Analysis

The obtained results were expressed as mean values  $\pm$  standard error. The results were tested with the SPSS

20.0 package program (SPSS Inc., USA) at 95% confidence interval with an ANOVA test.

## RESULTS and DISCUSSION

### Protein, Ash, and Dry Matter Contents

The protein, ash and dry matter content values of the KPC, PPC, and CPC are shown in Table 1. The protein content values of KPC, PPC, and CPC were found as 19.20% (db), 25.48% (db), and 41.22% (db), respectively. Evaluating the results, CPC demonstrated the highest protein content value among the samples evaluated. The protein content value was comparable to that reported for cowpea protein concentrates which are obtained with the same method from cowpea kernels as 92% (db) [25]. When the results are compared with the results in the literature, it can be stated that a high amount of protein content also exist in the shells of cowpea. When comparing the results of KPC and PPC with the results given by Shevkani et al. [8], protein contents of the protein concentrates from the kernel of kidney bean and pea were determined as 85.3%(db) and 92.8%(db). These results show that, with the same method of protein concentration technique almost a quarter portion of the proteins can be obtained from the shells where in fact they are usually discarded as waste. When ash content values were analyzed, the values of KPC, PPC, and CPC were observed as 0.011%, 0.008%, and 0.005%, respectively. The lowest ash content value was found for CPC. When the ash content values of the protein concentrates obtained with the same method were examined in the literature, the results were given as 4.5%, 3.8% and 4.4% for protein concentrates from the kernel of kidney bean, pea [8] and cowpea [25]. The low ash content demonstrates that the isolation efficiency is high, and it is removed from the unwanted additives. Therefore, the low ash content is expressed a positive impact [26]. The isolation efficiency of the protein concentrates from the shells is higher than that of kernels.

Table 1. Chemical composition and color values of protein concentrates from the shells of kidney bean (KPC), pea (PPC), and cowpea (CPC).

Parameter	KPC	PPC	CPC
Protein% (db)	19.20 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	25.48 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	41.22 $\pm$ 0.45 <sup>c</sup>
Ash% (db)	0.011 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup>	0.008 $\pm$ 0.000 <sup>b</sup>	0.005 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>
Dry matter (%)	94.02 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	94.69 $\pm$ 0.14 <sup>c</sup>	93.52 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>
CIE Color L*	44.25 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	42.10 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	36.35 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
CIE Color a*	0.36 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.34 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.35 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>
CIE Color b*	0.37 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.37 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>
Total Color Change ( $\Delta E$ )	24.74	30.23	21.97

Values are mean  $\pm$  SD. Means with similar superscript in a column did not differ significantly ( $P > 0.05$ ). db: dry matter basis

When the dry matter content values were examined, the values of KPC, PPC, and CPC were found as 94.02%, 94.69%, and 93.52%, respectively. PPC showed the highest dry matter content value among the samples evaluated. These results are comparable to the results given as 94.0% for protein concentrate from cowpea by Frota et al. [25], in the literature. These results show

that, with the same isoelectric precipitation method and freeze drying of the protein concentrates, similar results can be obtained.

## Color Values

The measured color values of KPC, PPC, and CPC are also given in Table 1. The  $L_0^*$  values of the shells of kidney bean, pea, and cowpea were determined as 19.51, 53.42, and 14.38, respectively. The  $L^*$  values (brightness) for KPC, PPC, and CPC were measured as 44.25, 42.10, and 36.35, respectively. According to these, the brightness value of KPC was the highest among the samples evaluated while the highest value was measured for shell of pea. The results show that the protein concentration process increased the brightness value of the KPC and CPC and decreased the brightness value of the PPC.

The  $a_0^*$  values of the shells of kidney bean, pea, and cowpea were measured as 0.37, -3.82, and 0.36, respectively. The  $a^*$  values of KPC, PPC, and CPC were observed as 0.36, 0.34, and 0.35, respectively. It can be stated that, the protein concentration process did not significantly influenced the greenness values of KPC and CPC, but diminished the greenness value of the PPC as can be understood by the increase in  $a^*$  value.

The  $b_0^*$  values of the shells of kidney bean, pea, and cowpea were measured as 0.32, 28.09, and 0.43, respectively. The  $b^*$  values of KPC, PPC, and CPC were observed as 0.37, 0.37, and 0.39, respectively. According to these results, the effect of the protein concentration process on the yellowness value is as follows: the value increased for KPC, reduced for CPC and dramatically reduced for PPC.

While calculating the  $\Delta E$  values, the color values of the shells were assumed as reference value. The  $\Delta E$  values of KPC, PPC, and CPC were computed as 24.74, 30.23, and 21.97, respectively. If the total color change value ( $\Delta E$ ) is more than 2, people can be perceived this change visually [27]. The  $\Delta E$  values of the protein concentrates in this study are more than 2, thus, this change can be perceived visually. It can be stated that, the effect of the method for obtaining the protein concentrate impressed the color values of the samples of PPC at higher amounts, then, KPC and CPC.

## Thermal Properties

Differential scanning calorimetry (DSC) was used to observe the changes in thermal stability of the protein concentrates. The thermal stability of the proteins represents their resistance to aggregation in response to heating [5]. In this study, the protein concentrates were heated from  $-20^\circ\text{C}$  to  $120^\circ\text{C}$  at heating rate of  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ . and the DSC thermograms are obtained. DSC thermograms are given in Figure 1. According to these thermograms, denaturation temperature of KPC, PPC, and CPC were found as  $50.26^\circ\text{C}$ ,  $50.65^\circ\text{C}$ , and  $44.96^\circ\text{C}$ , respectively. Among the evaluated samples, CPC has the lowest denaturation temperature. The denaturation temperatures were comparable to that reported for kidney bean, pea, and cowpea protein concentrates which are obtained with the same method

from kernels as  $91.0^\circ\text{C}$  and  $83.8^\circ\text{C}$  [8], and  $87.29^\circ\text{C}$  [5], respectively. The thermal stability of the proteins depends on polar and non-polar components. If non-polar components are in higher proportions, thermal stability will be higher ( $T_d$  is higher) [28]. Therefore, it can be stated that, non-polar components of the protein concentrates from kernels are higher when comparable with literature and the results of this study. The transition heat or enthalpy change ( $\Delta H$ ) provides information about the proportion of denatured protein during process [29].  $\Delta H$  of KPC, PPC and CPC were found as  $71.04 \text{ J/g}$ ,  $65.15 \text{ J/g}$ , and  $37.14 \text{ J/g}$ , respectively. According to these results, proportion of denatured protein of CPC was the lowest among the evaluated samples.

## Functional Properties

Functional properties of the proteins are a considerable issue in food processing. It is known that the proteins increase the solubility, water and oil holding capacity, emulsion capacity and stability, and foam capacity of the products when added [30]. The protein concentrate is selected according to which functional property of the food is to be developed. For example; while high water and oil holding capacity are preferred in sausages, bread and cakes, high emulsification and foaming property is preferred for salad dressings, soups, candies, frozen desserts and cakes [31;32].

Protein solubility values of KPC, PPC, and CPC were calculated as 99.22%, 99.13%, and 99.23%, respectively (Table 2). The solubility values of all protein concentrates were similar and were not significantly different from each other ( $P>0.05$ ). When the DSC thermograms of the protein concentrates were examined, the denaturation temperature of CPC found as the lowest one. Therefore, non-polar components of CPC were the lowest. It can be stated that, polar components of CPC were the highest and solubility value in water of CPC was found the highest value. When the percentages of the solubility values of samples were considered, it can be stated that, the protein concentrates which have high solubility values can be used in most of the food formulations.

WHC/OHC is capability of the proteins to hold water/oil against gravity [8]. Water holding capacity values of the KPC, PPC, and CPC were observed as  $2.26 \text{ g/g}$ ,  $1.08 \text{ g/g}$ , and  $1.85 \text{ g/g}$ , respectively (Table 2). The KPC showed the highest water holding capacity value among the samples evaluated. Evaluating the results obtained from KPC, and PPC, these values can be compared with the results given by Shevkani et al. [8], Fernández-Quintela et al. [33], and Mune and Sogi [34] where the WHC value of the protein concentrates from kernels of kidney bean, pea and cowpea as  $2.6 \text{ g/g}$ ,  $1.7 \text{ g/g}$ , and  $2.45 \text{ g/g}$ , respectively. These results show that WHC values of the protein concentrates from kernels and shells of kidney bean, pea, and cowpea were similar when the same method of protein concentration technique was used.

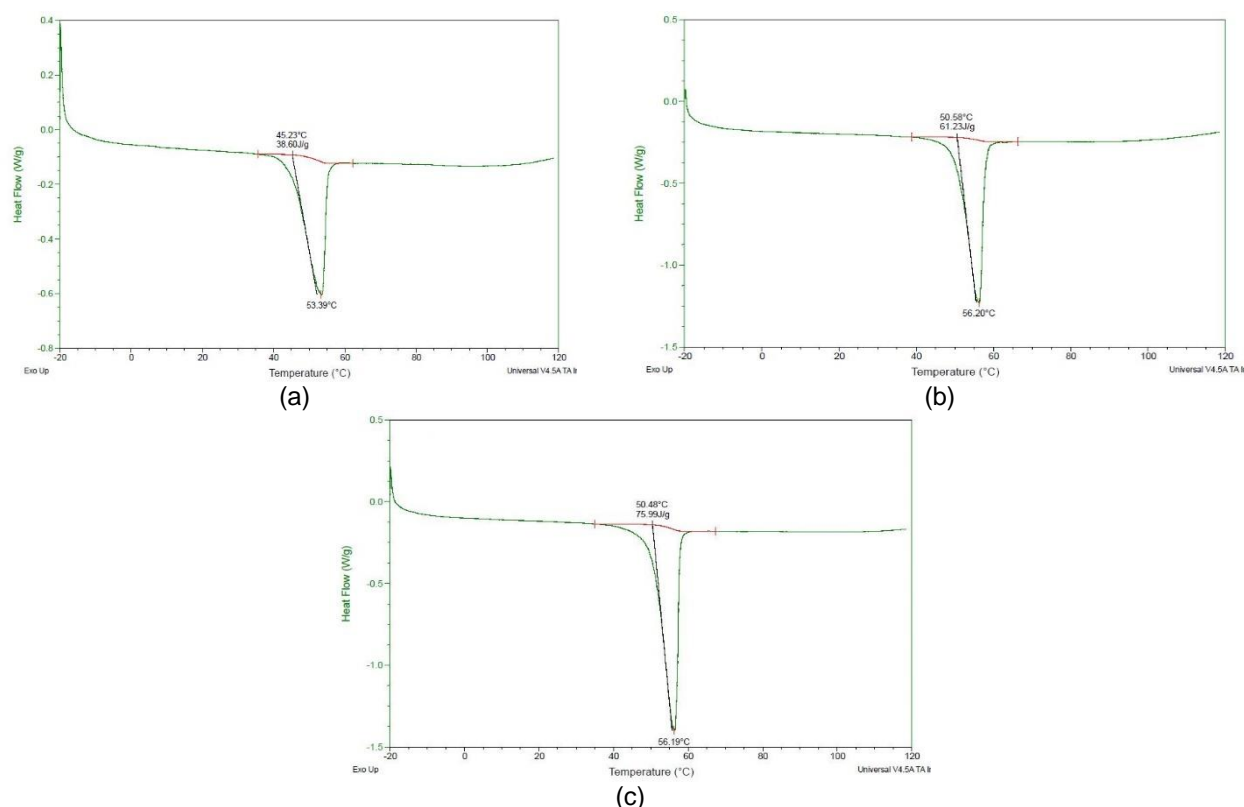


Figure 1. DSC thermograms of the protein concentrates (a) KPC (b) PPC (c) CPC

Table 2. Functional properties of the protein concentrates from the shells of kidney bean (KPC), pea (PPC), and cowpea (CPC).

Parameter	KPC	PPC	CPC
Solubility (%)	99.22±0.07 <sup>a</sup>	99.13±0.19 <sup>a</sup>	99.23±0.14 <sup>a</sup>
WHC (g water/ g protein)	2.26±0.02 <sup>c</sup>	1.08±0.01 <sup>a</sup>	1.85±0.06 <sup>b</sup>
OHC (g oil/ g protein)	3.60±0.02 <sup>a</sup>	3.47±0.03 <sup>a</sup>	3.37±0.28 <sup>a</sup>
EC (%)	51.43±0.00 <sup>a</sup>	54.28±0.00 <sup>b</sup>	45.71±0.00 <sup>c</sup>
ES (%)	45.71±0.00 <sup>a</sup>	51.43±0.00 <sup>b</sup>	45.71±0.00 <sup>c</sup>
FC (%)	27.87±0.65 <sup>b</sup>	47.63±0.55 <sup>c</sup>	19.88±0.55 <sup>a</sup>

Values are mean ± SD. Means with similar superscript in a column did not differ significantly ( $P>0.05$ ). WHC, water holding capacity; OHC, oil holding capacity; EC, emulsion activity; ES, emulsion stability; FC, foaming capacity.

Oil holding capacity value of the KPC, PPC, and CPC were determined as 3.60 g/g, 3.47 g/g, and 3.37 g/g, respectively (Table 2). The KPC showed the highest oil holding capacity value among the samples evaluated. The oil holding capacity value was comparable to that reported for kidney bean protein concentrates which are obtained with the same method from kernels as 5.8 g/g [8]. OHC value of the protein concentrates from shells is equal almost one and half times of protein concentrates obtained from shells. The OHC value of PPC is comparable to the result given as 1.2 g/g for pea protein concentrate from kernels by Fernández-Quintela et al. [33]. It shows that OHC value of the protein concentrate from shells is higher than from kernels. The result for CPC is also comparable to the results given as 1.95 g/g for cowpea protein concentrate from kernels by Mune and Sogi [34]. It also shows that OHC value of the protein concentrate from shells is higher than from kernels.

Emulsion capacity and stability value of KPC, PPC, and CPC were found as 51.43% and 45.71%, 54.28% and 51.43%, 45.71% and 45.71%, respectively (Table 2). PPC has the highest emulsion activity and stability value among the samples evaluated.

Foaming capacity values of KPC, PPC, and CPC were observed as 27.87%, 47.63%, and 19.88%, respectively (Table 2). PPC has the highest foaming capacity value among the samples evaluated. Evaluating the results obtained from KPC and PPC, these values can be compared with the results given by Shevkani et al. [8] where the foaming capacity value of the kernel of kidney bean and pea protein concentrates as 103% and 110%. These results show that with the same method of protein concentration technique while almost a quarter portion of the value can be obtained from the shells of kidney bean, a half portion of the value can be obtained from the shells of pea.

### Effect of Concentrates on Freezing Behavior of Kiwi Puree

In this part, the effect of the protein concentrates on the freezing behavior of kiwi puree were determined. The test tubes were placed in the tube holder therefore the test tube has no contact with any surface in the freezer. The measurements were obtained from bottom of the test tube. The data have been recorded as temperature versus time. In order to make a standard interpretation, the value of the temperature difference ( $\Delta T$ ) for the freezing period was decided as 0.6°C. That means, the freezing phase considered during the time where the temperature difference was below 0.6°C.

In the first part, temperature measurements were obtained at different amounts (1%, 2%, 4%, and 6%) for KPC. According to these measurements, the freezing duration for the kiwi puree with 1% proportion of KPC was found as 20 min, with 2% proportion of KPC was found as 15 min and with 4 and 6% proportions of KPC were found as 10 min. In the second part, temperature measurements were obtained at different amounts (1%, 2%, 4%, and 6%) for PPC. According to the results, the freezing duration for the kiwi puree with 1% proportion of PPC was observed as 10 min, with 2% proportion of PPC was observed as 5 min. However, the freezing duration for the kiwi puree with 4%, and 6% proportions of PPC were could not detected since the value of the temperature difference ( $\Delta T$ ) was above 0.6°C. It shows that the duration of freezing was assumed to be very rapid. In the third part, temperature measurements were obtained at different amounts (1%, 2%, 4%, and 6%) for CPC. The freezing duration for the kiwi puree with the 1, 2, 4, and 6% proportions of CPC were also could not detected since the value of temperature difference ( $\Delta T$ ) was above 0.6°. It also shows that the duration of freezing was assumed to be very rapid.

### Effect of Concentrates on Freeze Drying of Kiwi Puree

The drying behaviour of the freeze drying process of kiwi puree was observed from the mass loss in samples. Mass loss was performed gravimetrically at 1 hour interval by using a scales with 0.01 precision. Samples were dried until reaching the constant weight and the total drying time was determined as 9 hours. According to the literature, similar results were given by Caliskan et al. [35] for freeze drying of kiwi puree as 9 hours. The moisture ratio (MR) were calculated of the samples. The freeze drying behaviour of plain kiwi puree is given in Figure 2 (a). It was taken as reference to examine the behavior of the freeze drying of added protein to kiwi puree.

In the first part of the experiments, the drying curves of the addition of KPC to the kiwi puree were obtained and are shown in Figure 2 (b). According to this figure, it can be stated that, the firstly, moisture ratio reduced and then became constant with time. The value of the moisture ratio for the kiwi puree with 2%, 4% and 6% proportions of KPC was found as lower compared to 1% proportion of KPC.

In the second part of the experiments, the drying curves of the addition of PPC to the kiwi puree were obtained and are shown in Figure 2 (c). According to this figure, it can be stated that, the firstly, moisture ratio reduced and then became constant with time. The value of the moisture ratio for the kiwi puree with 4% proportion of PPC was found as lower compared to the other proportions.

In the third part of the experiments, the drying curves of the addition of CPC to the kiwi puree were obtained and are shown in Figure 2 (d). According to this figure, firstly, moisture ratio reduced and then became constant with time. The value of the moisture ratio for the kiwi puree with 2% proportion of CPC was found as lower compared to the others.

### Functional Properties of Powders of Kiwi Puree Samples

Fresh kiwi fruits have very short shelf-life because of their perishable feature. Hence, to extend their shelf life apply different drying process in the food industry such as freeze drying process. After freeze drying process, the product is form of powder and this form can be utilized as in pudding, instant tea, and dry mixture formulations. In this study, KPC, PPC, and CPC were added to the fresh kiwi puree and freeze dried. Then, functional properties (water and oil holding capacity, emulsion capacity and stability and foaming capacity) of the samples were examined and given in Table 3. WHC values of the kiwi purees increased as the protein proportion increased for KPC, PPC, and CPC. When the samples were evaluated among themselves, the water holding capacity values of the samples that was prepared at 6% proportion KPC, PPC and CPC were the highest according to other proportions. When the protein concentrates were evaluated, water holding capacity value of PPC was the highest, then KPC, and CPC, generally.

Evaluating the results of OHC values, the OHC values of the kiwi purees increased as the protein proportion increased for all protein concentrates. Comparing the results obtained, the oil holding capacity values of the samples that was prepared at 6% proportion KPC, PPC and CPC were the highest according to other proportions. According to the results, oil holding capacity value of CPC was the highest, then KPC, and PPC, generally.

Emulsion capacity and stability values of kiwi purees were observed. Comparing the results obtained, the emulsion capacity and stability values of the samples that was prepared at 6% proportion KPC, PPC and CPC were the highest according to the other proportions. According to the results, emulsion capacity and stability value of KPC was the highest, then CPC, and PPC, generally.

Foaming capacity values were not determined since the plain kiwi puree and samples that prepared with protein concentrates did not exhibit any foam features.

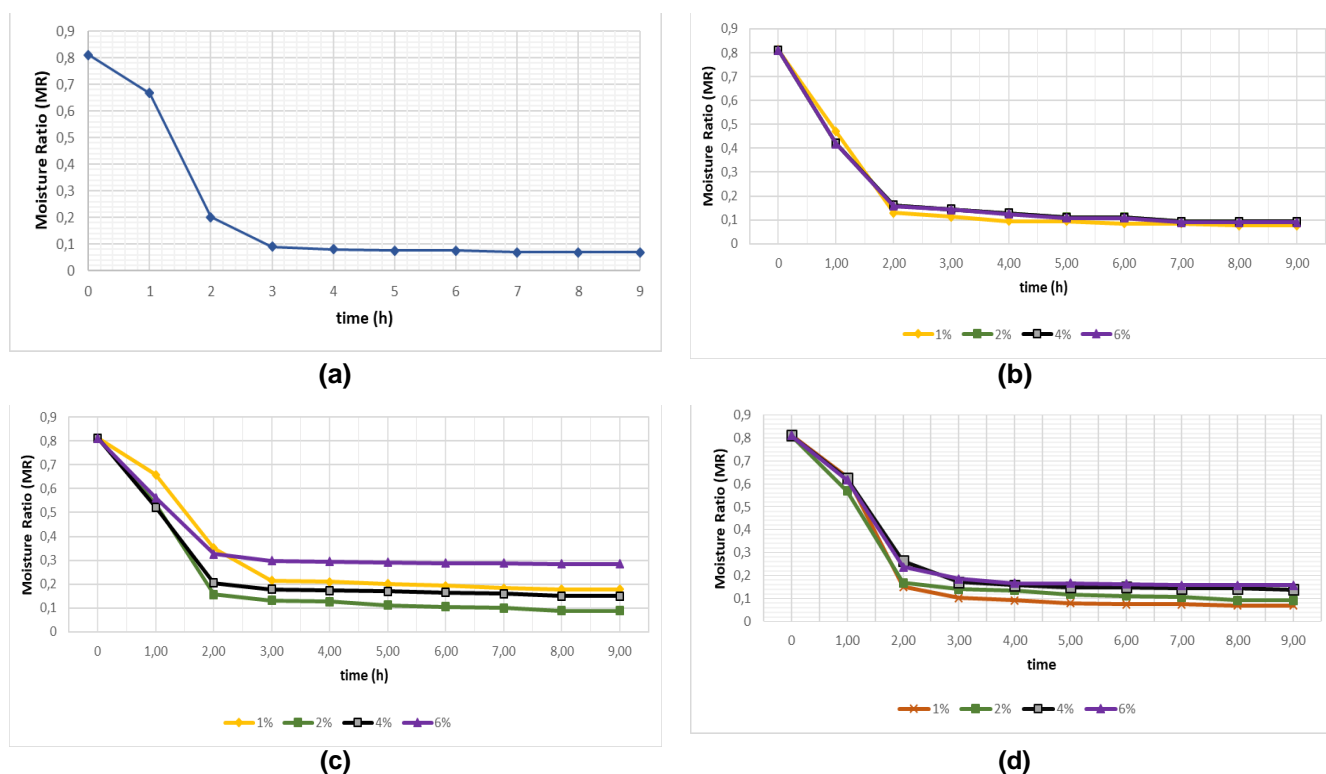


Figure 2. Variation of moisture ratio (MR) with time of freeze drying of the plain kiwi puree and addition of protein concentrates to the kiwi puree (a) kiwi puree, (b) KPC, (c) PPC and (d) CPC

Table 3. Functional properties of the kiwi puree with addition of KPC, PPC, and CPC at 1, 2, 4, 6% proportions

Kiwi puree		WHC (g/g)	OHC (g/g)	EC (%)	ES (%)
		2.19±0.03 <sup>ayn</sup>	3.78±0.06 <sup>aym</sup>	161.03±0.87 <sup>bitn</sup>	80.00±0.00 <sup>azn</sup>
KPC	1%	2.24±0.03 <sup>a</sup>	4.18±0.05 <sup>c</sup>	133.41±0.81 <sup>a</sup>	79.71±0.72 <sup>a</sup>
	2%	2.55±0.02 <sup>b</sup>	4.46±0.21 <sup>b</sup>	200.93±0.85 <sup>c</sup>	80.28±0.62 <sup>a</sup>
	4%	2.60±0.05 <sup>a</sup>	4.74±0.03 <sup>e</sup>	200.88±0.64 <sup>c</sup>	90.80±0.77 <sup>b</sup>
	6%	2.83±0.01 <sup>b</sup>	5.87±0.03 <sup>d</sup>	200.92±0.53 <sup>c</sup>	90.83±0.82 <sup>b</sup>
PPC	1%	1.94±0.10 <sup>z</sup>	3.56±0.03 <sup>x</sup>	111.37±0.55 <sup>x</sup>	55.45±0.75 <sup>x</sup>
	2%	2.62±0.09 <sup>z</sup>	4.69±0.08 <sup>t</sup>	114.60±0.76 <sup>y</sup>	57.97±0.75 <sup>y</sup>
	4%	2.72±0.11 <sup>t</sup>	5.42±0.05 <sup>t</sup>	133.92±0.81 <sup>z</sup>	80.42±0.89 <sup>t</sup>
	6%	2.98±0.12 <sup>gx</sup>	5.48±0.03 <sup>z</sup>	160.85±0.86 <sup>t</sup>	83.90±0.66 <sup>z</sup>
CPC	1%	1.58±0.03 <sup>l</sup>	4.52±0.11 <sup>k</sup>	114.28±0.74 <sup>m</sup>	57.05±0.85 <sup>m</sup>
	2%	2.32±0.06 <sup>l</sup>	5.04±0.15 <sup>l</sup>	160.87±0.80 <sup>n</sup>	80.79±0.72 <sup>n</sup>
	4%	2.63±0.12 <sup>m</sup>	5.64±0.13 <sup>l</sup>	160.65±0.74 <sup>n</sup>	80.03±0.80 <sup>n</sup>
	6%	2.70±0.05 <sup>k</sup>	5.70±0.24 <sup>n</sup>	200.92±0.87 <sup>k</sup>	89.76±0.63 <sup>k</sup>

Values are mean ± SD. Means with similar superscript in a column did not differ significantly ( $P>0.05$ ). a-e Different letters in the same row indicate significant difference between averages of KPC at  $P<0.05$ . x-t Different letters in the same row indicate significant difference between averages of PPC at  $P<0.05$ . k-n Different letters in the same row indicate significant difference between averages of CPC at  $P<0.05$ .

## CONCLUSION

In this study, protein concentrates from the shells of kidney bean, pea, and cowpea were obtained by using the method of isoelectric precipitation and freeze drying. The protein content values of the KPC, PPC, and CPC were found as 19.20% (db), 25.48% (db), and 41.22% (db), respectively. Depending on the results, CPC showed the highest protein content value and the lowest ash content value among the samples evaluated. When the dry matter values of the KPC, PPC, and CPC were examined, the values were observed as 94.02%,

94.69%, and 93.52%, respectively. On the comparison of the color values, KPC had the highest brightness value and the lowest greenness value (44.25 and 0.36, respectively). While the brightness value of KPC and CPC increased and that of PPC decreased with the protein concentration process. The yellowness value for CPC was the highest value among the samples evaluated. The total color change values ( $\Delta E$ ) were computed as 24.74, 30.23, and 21.97 for KPC, PPC, and CPC, respectively. It means that the change on colour values for all of them can be observed easily. In the food industry, large amounts of wastes occur and



the shells of the selected legumes are one of these wastes. The wastes are usually sold as fertilizer or animal feed. Depending on all the given results, it can be stated clearly that, the high amounts of protein in the waste shells contributed in the scope of sustainability awareness. The freezing duration of the kiwi puree with 4% and 6% proportions of KPC were observed as 10 minutes which was the shortest. There was a reduction in the duration of freezing with the increased protein concentrate, therefore, the protein concentrates can be used to decrease the duration of the freezing phase of foods. The addition of protein to kiwi puree did not show a clear effect on freeze drying behavior. Considering the functional properties of the samples containing the protein concentrates, the samples where 6% proportion was added had the highest water holding capacity value

(2.98 g/g) for PPC, where 6% proportion was added had the highest oil holding capacity value (5.70 g/g) for CPC, and where 2% and 6% proportions were added had the highest emulsion capacity and stability value (200.93% and 90.83%, respectively) for KPC. For the future studies, different methods can be performed to increase the protein yield during the concentration process, such as ultrafiltration, microwave supported extraction, and combined systems and also different drying methods.

## ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Ege University (Project Code is FYL-2018-20413).

## REFERENCES

- [1] Eriksson, M., Strid, I., Hansson, P.A. (2015). Carbon footprint of food waste management options in the waste hierarchy—a Swedish case study. *Journal of Cleaner Production*, 93, 115-125.
- [2] Galanakis, C.M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 68-87.
- [3] Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., Romero, A. (2016). Pea, chickpea and lentil protein isolates: physicochemical characterization and emulsifying properties. *Food Biophysics*, 11(1), 43-51.
- [4] Ragab, D.M., Babiker, E.E., Eltinay, A.H. (2004). Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry*, 84(2), 207-212.
- [5] Horax, R., Hettiarachchy, N.S., Chen, P., Jalaluddin, M. (2004). Preparation and characterization of protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp.*). *Journal of Food Science*, 69(2), 114-118.
- [6] Bilgi, B., Çelik, S. (2004). Solubility and emulsifying properties of barley protein concentrate. *European Food Research and Technology*, 218(5), 437-441.
- [7] Kaur, M., Singh, N. (2007). Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum L.*) cultivars. *Food Chemistry*, 102(1), 366-374.
- [8] Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., Rana, J.C. (2015). Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 43, 679-689.
- [9] Wani, I. A., Sogi, D.S., Wani, A.A., Gill, B.S. (2017). Physical and cooking characteristics of some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(1), 7-15.
- [10] Eşref, I., Halil, Ü. (2007). Moisture-dependent physical properties of white speckled red kidney bean grains. *Journal of Food Engineering*, 82(2), 209-216.
- [11] Sathe, S.K. (2002). Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(2), 175-223.
- [12] Tian, S., Kyle, W.S., Small, D.M. (1999). Pilot scale isolation of proteins from field peas (*Pisum sativum L.*) for use as food ingredients. *International Journal of Food Science & Technology*, 34(1), 33-39.
- [13] Choi, W.S., Han, J.H. (2001). Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. *Journal of Food Science*, 66(2), 319-322.
- [14] McKay, K., Schatz, B.G., Endres, G. (2003). *Field pea production*. NDSU Extension Service.
- [15] Ehlers, J.D., Hall, A.E. (1997). Cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp.*). *Field Crops Research*, 53(1-3), 187-204.
- [16] Kabas, O., Yilmaz, E., Ozmerzi, A., Akinci, I. (2007). Some physical and nutritional properties of cowpea seed (*Vigna sinensis L.*). *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1405-1409.
- [17] Huang, L.L., Zhang, M., Mujumdar, A.S., Sun, D.F., Tan, G.W., Tang, S. (2009). Studies on decreasing energy consumption for a freeze-drying process of apple slices. *Drying Technology*, 27(9), 938-946.
- [18] AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC. (18th ed). (W. Horwitz, Dü.) Gaithersburg, Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists International.
- [19] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC. (17th ed). (W. Horwitz, Dü.) Gaithersburg, Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists International.
- [20] Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.
- [21] Rodríguez-Ambriz, S.L., Martínez-Ayala, A.L., Millán, F., Davila-Ortiz, G. (2005). Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3), 99-107.
- [22] Lin, C.S., Zayas, J.F. (1987). Functionality of defatted corn germ proteins in a model system: fat binding capacity and water retention. *Journal of Food Science*, 52(5), 1308-1311.

- [23] Wu, Y.V. (2001). Emulsifying activity and emulsion stability of corn gluten meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(13), 1223-1227.
- [24] Sathe, S.K., Salunkhe, D.K. (1981). Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris L.*) proteins: emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. *Journal of Food Science*, 46(1), 71-81.
- [25] Frota, K.M.G., Mendonça, S., Saldiva, P.H.N., Cruz, R.J., Arêas, J.A.G. (2008). Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. *Journal of Food Science*, 73(9), H235-H240.
- [26] Turkoglu, T. (2017). *Havuç ve patates sebzelerinden ve bunların atıklarından bitkisel protein elde edilmesi ve elde edilen proteinlerin bir örnek gıdaya uygulanması*. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. İzmir.
- [27] Saraç, Ş., Saraç, D., Yüzbaşıoğlu, E. (2006). Üç farklı renk skalasının renk farklılıkları yönünden kolorimetrik olarak incelenmesi. *Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 23(2), 85-90.
- [28] Arntfield, S.D., Murray, E.D. (1981). The influence of processing parameters on food protein functionality I. Differential scanning calorimetry as an indicator of protein denaturation. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 14(4), 289-294.
- [29] Ghribi, A.M., Gafsi, I.M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179-188.
- [30] Firatligil-Durmus, E., Evranuz, O. (2010). Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*). *LWT-Food Science and Technology*, 43(2), 226-231.
- [31] Kinsella, J.E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56 (3Part1), 242-258.
- [32] Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W., Rao, R.M. (1999). Solubilized wheat protein isolate: functional properties and potential food applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1340-1345.
- [33] Fernández-Quintela, A., Macarulla, M.T., Del Barrio, A.S., Martínez, J.A. (1997). Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain. *Plant Foods for Human Nutrition*, 51(4), 331-341.
- [34] Mune, M.A., Sogi, D.S. (2015). Functional Properties of Protein Concentrates of Cowpea and Bambara Bean Involving Different Drying Techniques. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2304-2313.
- [35] Caliskan, G., Ergun, K., Dirim, S.N. (2015). Freeze drying of kiwi (*Actinidia deliciosa*) puree and the powder properties. *Italian Journal of Food Science*, 27(3), 385-396.

## Bacteriological, Physicochemical, and Melissopalynologic Properties of Some Turkish honeys

Nur Bozbeyoglu<sup>1,4</sup> , Seher Arslan<sup>2</sup> , Aykut Guvensen<sup>3</sup> , Nazime Mercan Dogan<sup>4</sup>  ✉

<sup>1</sup>Department of Plant and Animal Production, Tavas Vocational School, Pamukkale University, Denizli, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Pamukkale University, Denizli, Turkey

<sup>3</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Ege University, Izmir, Turkey

<sup>4</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences and Arts, Pamukkale University, Denizli, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 03.08.2018, Accepted (Kabul Tarihi): 14.04.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [nmercan@pau.edu.tr](mailto:nmercan@pau.edu.tr) (N. Mercan Doğan)

☎ +90 258 296 36 72 📠 +90 258 296 35 35

### ABSTRACT

The bacteriological, physicochemical, and melissopalynological properties of some Turkish honey samples obtained from beekeepers and markets were investigated in this study. *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Paenibacillus larvae*, *Bacillus* spp., total mesophilic and coliform bacteria were screened to determine bacterial populations in honeys. Total coliform bacteria, *Shigella* spp., and *Salmonella* spp. were not found. Furthermore, *Clostridia*, *Bacillus* and *Paenibacillus* were in low levels in most of the honey samples. For all samples, the contents of hydroxymethylfurfural (HMF), electrical conductivity, total acidity, ash, moisture, brix, total protein and invert sugar were varied from 0.71 to 175.18 mg/kg, 0.19 to 1.69 mS/cm, 23.00 to 46.46 meq/kg, 0.03% to 0.89%, 13.1% to 19.4%, 80.78% to 85.08%, 0.13% to 0.18%, 54.55% to 71.52%, respectively. As a result of the melissopalynological analyses, 52 different pollen species were found. Pollen taxa found in large numbers of honeys were as follows; *Castanea sativa*, *Centaurea*, Asteraceae, Brassicaceae, Ericaceae and Fabaceae. According to the results, honey samples tested in this study were good in bacteriological quality. But, we proposed that collaboration of producers and microbiologists is needed to further improve bacteriological quality.

**Keywords:** Bacteriological analysis, Melissopalynological analysis, Physicochemical analysis, Turkish honeys

### Bazı Türk Ballarının Bakteriyolojik, Fizikokimyasal ve Melissopalinolojik Analizi

#### Öz

Bu çalışmada arıcılardan ve pazarlardan alınan bazı Türk ballarının bakteriyolojik, fizikokimyasal ve melissopalinolojik özellikleri araştırılmıştır. Ballarda bakteri popülasyonunu belirlemek için *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Paenibacillus larvae*, *Bacillus* spp., toplam mezofilik ve koliform bakterileri taranmıştır. Test edilen örneklerin tümünde toplam koliform bakteri, *Shigella* spp. ve *Salmonella* spp. bulunamamıştır. Ayrıca, örneklerin çoğunda *Clostridia*, *Bacillus* ve *Paenibacillus* düşük seviyelerde bulunmuştur. Tüm örneklerin hidroksimetilfurfural (HMF), elektriksel iletkenlik, toplam asitlik, kül, nem, brix, toplam protein ve invert şeker içeriği sırasıyla; 0.71-175.18 mg/kg, 0.19-1.69 mS/cm, 23.00-46.46 meq/kg, %0.03-%0.89, %13.1-%19.4, %80.78-%85.08, %0.13-%0.18 ve %54.55-%71.52 aralığındadır. Melissopalinolojik analizler sonucunda 52 farklı polen türü bulunmuştur. Ballarda çok sayıda bulunan polen taksonları; *Castanea sativa*, *Centaurea*, Asteraceae, Brassicaceae, Ericaceae ve Fabaceae. Sonuçlara göre, çalışmada test edilen bal örneklerinin bakteriyolojik kalitesi iyidir. Ancak, mikrobiyolojik kaliteyi daha da iyileştirmek için üreticilerin ve mikrobiyologların işbirliği gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyolojik analiz, Melissopalinolojik analiz, Fizikokimyasal analiz, Türk balları

## INTRODUCTION

Honey is an important research topic because of the numerous health benefits and biological properties. Its biological importance is often associated with properties such as high osmotic pressure, low water activity, hydrogen peroxide; lysozyme, high sugar content, and high acidity. Because of these properties, the microorganisms cannot survive in honey. Although honey possesses unsuitable environment for microbial growth, the microbial contamination in honey is known [1-3]. While the primer sources of contamination are dust, air, pollen, soil and nectar, the seconder sources are human, insects, equipments, containers, wind, dust and water. Honey is also an important food and energy sources due to its rich content. For example, it contains fructose, glucose, sucrose, minerals and proteins. The chemical and physical properties of honey are related to its quality. The contents of protein, moisture, the values of hydroxymethylfurfural (HMF), pH, diastase, electrical conductivity, dioxin analysis, trace element levels of honeys and menaquinones (vitamin K2 homologues) are known [4-7]. Phenolic and flavonoid content have described in Turkish honeys from different botanical and geographical origins [8, 9]. The environmental factors such as vegetation or geographic situation change the properties of honey. Also, these properties can vary according to the type of honey. So, pollen analysis is important with regard to give information about the plant source of honey [9-11]. In addition to, the physicochemical features of honey are known very well [2, 12, 13]. Nevertheless, there is a little paper about microbial contamination in honey and most of these studies are focused on *Clostridium* spp. [2, 5, 14]. Honey analyses are done to prove quality, botanical and geographical origins of honeys. For these purposes, the melissopalynology, biological and physicochemical analyses are the most common methods. In our study, we were detected the properties of physicochemical and melissopalynological and the bacterial contaminations in honeys obtained from beekeepers and markets in Turkey. According to the literature, bacteriological analyses of Turkish honeys have not been investigated in detail. Main purpose of this present study was to reveal the bacteriological profile in our samples. We detected *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Bacillus* spp., *Paenibacillus* larvae and *Clostridium* spp. Diastase activity, acidity, electrical conductivity, moisture, brix, ash content, total protein and invert sugar of all honey samples was determined. The sugar composition of two honey samples was analysed by HPLC. Also, melissopalynological properties were investigated to obtain information about the plant sources of honey samples.

## MATERIALS and METHODS

### Honey Samples

We analysed twenty two honey samples in our study. They were purchased from beekeepers (D-coded) and

markets (T-coded) in 2012-2013 (Table 1). The names of companies (T-coded) were not given.

### Bacteriological Analysis

Plate count agar (PCA, Merck) and violet red bile agar (VRB, Merck) were used to detect aerobic mesophilic and total coliform bacteria, respectively. Mesophilic bacteria were incubated at  $30\pm 2^\circ\text{C}$  and total coliforms were also grown at  $35\pm 2^\circ\text{C}$  [5]. *Shigella* spp., *Salmonella* spp. and *Bacillus* spp. isolation were performed by Iurlina and Fritz [5]. *Paenibacillus larvae* was also isolated in honeys [15]. For isolation of spores of *Clostridium* spp., 20 g of honey was diluted with 100 mL sterile distilled water. After it was centrifuged at  $7168-11200\times g$  for 30 min in  $20^\circ\text{C}$ , the sediment was mixed in about 2 mL sterile water. Suspension was heated at  $80^\circ\text{C}$  for 15 min and was spread onto Sulfite polymyxin sulfadiazin (SPS, Difco) agar. Plates were incubated under anaerobic conditions at  $30\pm 2^\circ\text{C}$  for 7-10 days and black colonies recorded as these microorganisms [16]. Microbial counts were recorded as colony-forming units per gram of honey (cfu/g) in all manipulations.

### Physicochemical Analysis

Diastase activity (Schade method), acidity, and electrical conductivity were detected by International honey commission method and HMF was also measured by UV-spectrophotometer (284-336 nm) [17]. The contents of moisture and brix were measured using Mettler Toledo RM40 refractometer [13]. Ash content (%) was calculated according to the described by Bogdanov [1] and Anonymous [18]. Total protein was determined by the method of modified Lowry [19]. Determination of invert sugar was performed by TS 3036 [20]. The value of pH was measured with WTW Inolab pH meter. The sugar composition of the samples was detected via HPLC. The samples were randomly selected. HPLC analysis of honeys was carried out at the TÜBİTAK Marmara Research Center Food Institute Instrumental Analysis Lab.

### Melissopalynological Analysis

Melissopalynological analysis, plant origin and pollen content of honeys were determined as follows: After 10 g honey samples were mixed with 20 mL distilled water. The tubes were covered with parafilm and heated at  $40-45^\circ\text{C}$  for 10-15 min. The samples were centrifugated at  $3388-4032\times g$  for 10 min. The supernatant was carefully decanted, and then the sediment was treated with glycerin-gelatin mixture. Finally, this preparation on slides was examined under microscope [21, 22]. We followed up various palynological sources in the diagnosis of pollen of honey samples [23, 24]. Especially, 300 pollen reference preparations belonging to the most visited plants by honey bees were used in our study.

Table 1. The sources of honey purchased from beekeepers

Sample	Source	Type	Year
D1	Mesudiye/DATÇA	Flower honey	2012
D2	Mesudiye/DATÇA	Flower honey	2012
D6	Çelikhhan/MALATYA	Flower honey	2012
D7	Marmaris/MUĞLA	Flower honey	2012
D10	Babadağ/DENİZLİ	Flower honey	2012
D11	Burhaniye/AYDIN	Flower honey	2012
D12	Kuyucak/AYDIN	Flower honey	2012
D16	Çelikhhan/MALATYA	Flower honey	2013
D17	Datça/MUĞLA	Flower honey	2013
D19	KASTAMONU	Flower honey	2013
D20	BARTIN	Flower honey	2013
D22	SİVAS	Flower honey	2013

## RESULTS and DISCUSSION

### Bacterial Detection

Honey, which is a bee product, has both health and economic value. While the economic value of honey is related to its chemical content, the importance of health is due to its microbiological content. As known, the factors such as the concentrated sugar, acidity, pH and other antimicrobial characters of honey inhibited microorganisms. But, some microorganisms resistant under conditions and survive in honey. Especially, if honey is not properly packaged, it will absorb moisture from the environment and will be perfectly suitable for supporting microbial growth. The results are presented in Table 2. According to the bacteriological analysis results, total coliforms were negative in all samples. In our all samples, *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. were absent, too. The presence of coliform bacteria is considered an indication of pollution in foods and water. This result indicated that all honey samples were good quality. These results are in good agreement with the observations of Malika et al. [25] and Gomes et al. [26]. Presence of these bacteria was detected by some researchers [5, 26, 27]. For instance, Iurlina and Fritz [5] reported the coliform contamination in one sample. Total mesophilic bacteria were commonly used as a reference shelf-life parameter for food products. On the other hand, it has been claimed that the contamination of total mesophilic aerobic bacteria may have occurred during harvesting and extraction of honey [3]. Total mesophilic bacteria were detected in all tested samples (Table 2). Therefore, the hygiene conditions must be controlled during harvesting. In contrast of our results, Iurlina and Fritz [5] reported that the contamination for aerobic mesophiles (average 244 cfu/g) counts were high. In foods, presence of spore forming bacteria such as *Bacillus* spp, *Clostridium* spp. and sulfite-reducing *Clostridia* spp. is another indicator for contamination from soil or air [2, 27]. Actually the spores of *Clostridia* spp. and *Bacillus* spp. may be found at low levels in honeys. Kokuba et al. detected *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. alvei* and *C. perfringens* in honeys [28]. Shakoori et al. found *B. subtilis* in all samples; *B. circulans*, *B. brevis*, *B. coagulans* in three samples and *B. alvei* in two samples [29]. Moreover, *B. cereus* and

*Enterococcus faecium* were reported by Lopez and Alippi, and Ibarra et al., respectively [30, 31]. Gomes et al. screened microbiological properties of commercial honeys from Portugal and found low microbial contamination [26]. It was reported that Argentina honey samples were contaminated with sulphite-reducing *Clostridia* spp. [2]. The presence of high levels of these bacteria in honey is serious health problem for human especially children. Especially, it is not desirable to have coliform spores in honey for infants less than one year of age. In our present study, while the spore contamination of *Clostridia* spp., *Bacillus* spp. and *Paenibacillus* spp. were found low levels in most of samples, spores of these bacteria weren't detected in some samples (D6, D11 and D16). *Paenibacillus larvae* species is an important disease agent that effect on honeybees [32]. The spores of *P. larvae* were detected in all samples except five honeys (D10, D11, D12, T2 and T7).

The contamination of *P. larvae* was recorded in honey by some researchers [28, 32, 33]. This data was shown that the sanitary of bee colonies must be controlled carefully by honey makers. In brief, we considered that tested honeys in this study were good in bacteriological quality. Our findings confirmed earlier findings of Tornuk et al. [3]. In other words, the level of contamination in tested Turkish honeys was limited levels. But, hygiene conditions during harvesting were not at the desired level. We considered that the improvement of microbiological quality will happen with the cooperation of producers and microbiologists.

### pH

Honey pH influences the stability and shelf-life and the low pH also inhibits microbial growth [35]. For this reason, the pH of honey is important physical properties. The pH values of honeys were ranged from 3.14 to 4.78 (Table 3). In general, honeys obtained from markets were in more acidic properties than honeys obtained from beekeepers. These pH values were in parallel with the findings of Tornuk et al. [3], Silva et al. [34] and Kayacier and Karaman [35].

Table 2. The results of bacteriological analysis of honeys (cfu/g)

	Honeys	Total mesofilic	<i>Bacillus</i> sp.	<i>P. larvae</i>	<i>Clostridium</i> sp.	Coliform bacteria	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Shigella</i> sp.
BEEKEEPERS	D1	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	D2	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	D6	<10	<10	<10	Negative	Negative	Negative	Negative
	D7	<10	<10	<10	0.75 x 10 <sup>1</sup>	Negative	Negative	Negative
	D10	<10	Negative	Negative	0.50 x 10 <sup>1</sup>	Negative	Negative	Negative
	D11	<10	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
	D12	<10	Negative	Negative	<5	Negative	Negative	Negative
	D16	<10	<10	<10	Negative	Negative	Negative	Negative
	D17	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	D19	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	D20	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	D22	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
MARKETS	T2	<10	Negative	Negative	<5	Negative	Negative	Negative
	T3	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T4	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T7	<10	Negative	Negative	<5	Negative	Negative	Negative
	T8	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T14	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T15	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T16	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T17	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative
	T18	<10	<10	<10	<5	Negative	Negative	Negative

### Hydroxymethylfurfural (HMF) Contents

(HMF is derived from dehydration of certain sugars and it is practically absent in fresh food. But the levels of HMF in sugar-containing foods are influenced by several factors such as heat-treatments like drying or cooking, time of heating, pH, and floral sources. Therefore, it can be used as an indicator for freshness and excess heat-treatment [22, 36]. It can be found in low amounts in honey. According to TS 3036 [20] HMF value of honey should be no more than 40 mg/kg. But, the HMF content of some tested honeys in present study (D7, D10, D12, T2, T3, T4, and T7) was found to be higher more than 40 mg/kg (Table 3). We considered that these samples have been stored for a long time or exposed through heat processing. The range of HMF contents of other honeys analysed in our study was between 0.71 and 175.18 mg/kg. Yılmaz and Yavuz [37] reported a lower HMF range for Turkish honeys (0.0-20.4 mg/kg).

### Electrical Conductivity, Ash Content and Acidity of Honeys

The electrical conductivity, ash content and acidity indicate the difference between honeys with different floral origins, mineral content and shelf-life of honey [8, 38]. Feas et al. [39] have posited that the ash content gives a direct measure of inorganic residue after carbonisation, while electric conductivity measures all ionizable organic and inorganic substances. The electrical conductivity values ranged from 0.66 to 0.24 mS/cm for market honeys, while the electrical conductivity values for beekeepers honeys were between 1.69 and 0.19 mS/cm (Table 3). Codex

Alimentarius declared that total acidity levels should be 50 meq/kg [38]. For market honeys, free acidity values ranged from 14.4 to 29.7 meq/kg; the lactone acidity was between 6.0 and 30.6 meq/kg while total acidity levels varied between 27.33 to 46.46 meq/kg. Total acidity, lactone and free acidity of honeys collected from beekeepers were ranged from 23.00 to 45.97, 3.00 to 26.60, and 17.00 to 29.00 meq/kg, respectively. As known, acidity increases the antioxidant activity of honey and decreases growth of microorganisms. However, several factors such as organic acids, floral and geographical origin cause difference in acidity values [40]. In our study, total acidity levels of honeys were within the allowed limits (50 meq kg<sup>-1</sup>). Moreover, our results were similar to those of Tornuk et al. [3]. Ash content of honeys is low and depends on floral type. In our study, ash content of selected honeys from markets and beekeepers varied from 0.06% to 0.30% and 0.03% to 0.89%, respectively.

### Moisture and Brix Content

Moisture content determines quality and storage properties in honey processing industries. Therefore, it is an indicator of honey freshness, shelf-life and resistance against yeast fermentation [36]. The moisture values of all honey samples were ranged from 11.9 to 13.1% (Table 3). On the other hand, the moisture percentage of all samples was within the limits specified by the Codex Alimentarius [38]. In our study, the brix content of all samples was found as 79.09-86.02% (Table 3). These results were in agreement with previous reports [2, 35, 41].

Table 3. The results of physicochemical analysis of honeys

HONEY	HMF (mg/kg)	Moisture (%)	Ash amount (%)	Total protein (%)	pH	Acidity (meq/kg)				Electrical Conductivity (mS/cm)	Free acidity Brix	Invert sugar (%)
						Free acidity	Lactone acidity	Total acidity	Free acidity			
D1	15.75±0.20	13.3±0.10	0.43±0.02	0.18±0.02	4.16±0.01	22.0±2.00	11.0±1.00	33.00±3.00	0.89±0.04	84.87±0.03	57.78±0.38	
D2	36.40±2.68	13.9±0.10	0.17±0.01	0.17±0.01	3.85±0.01	29.0±1.00	16.0±4.00	45.33±3.00	0.44±0.02	84.28±0.05	59.04±0.76	
D6	13.15±0.30	13.1±0.10	0.04±0.01	0.16±0.01	3.37±0.01	18.0±0.00	7.00±1.00	25.00±1.00	0.20±0.01	85.08±0.04	67.96±0.21	
D7	62.37±1.00	16.1±0.20	0.34±0.02	0.16±0.01	4.15±0.01	28.0±2.00	6.00±2.00	34.67±0.70	0.74±0.04	82.10±0.05	54.55±0.15	
D10	96.87±0.45	15.5±0.00	0.10±0.01	0.18±0.00	3.50±0.05	28.0±2.00	13.0±2.00	41.00±1.00	0.32±0.01	82.78±0.01	67.56±0.06	
D11	36.38±0.40	13.9±0.10	0.09±0.00	0.15±0.00	3.38±0.02	22.0±2.00	4.67±0.30	26.33±0.30	0.30±0.00	84.33±0.03	67.10±0.07	
D12	173.80±1.00	14.6±0.00	0.03±0.01	0.18±0.00	3.14±0.02	17.0±1.00	3.00±1.00	23.00±1.00	0.19±0.01	83.60±0.03	66.42±0.19	
D16	1.17±0.01	14.3±0.00	0.17±0.02	0.16±0.01	3.80±0.02	24.0±0.15	22.0±0.00	45.97±0.10	0.43±0.03	83.74±0.04	69.94±0.08	
D17	2.19±0.01	14.7±0.40	0.39±0.02	0.16±0.00	4.78±0.01	17.0±0.02	26.6±0.10	43.60±0.10	0.82±0.04	83.38±0.14	54.91±0.65	
D19	2.68±0.02	15.9±0.10	0.26±0.01	0.19±0.01	3.66±0.01	17.0±0.02	25.6±0.10	42.60±0.02	0.60±0.02	82.34±0.06	67.55±0.33	
D20	0.71±0.01	15.4±0.50	0.89±0.02	0.19±0.01	4.63±0.01	19.0±0.03	20.4±0.10	39.40±0.10	1.69±0.03	82.84±0.19	56.29±0.37	
D22	2.68±0.03	19.4±0.10	0.08±0.01	0.17±0.01	3.35±0.01	19.0±0.04	25.3±0.10	44.40±0.02	0.28±0.02	83.07±0.23	65.50±0.16	
T2	175.18±1.00	15.8±0.10	0.13±0.01	0.16±0.01	3.52±0.05	17.9±0.50	14.9±3.70	32.80±1.40	0.36±0.01	82.44±0.10	63.02±0.23	
T3	85.93±1.91	15.2±0.20	0.09±0.01	0.16±0.01	3.38±0.04	25.0±2.00	11.0±2.00	36.00±0.00	0.30±0.01	83.05±0.02	63.42±1.60	
T4	66.78±1.02	14.6±0.00	0.18±0.01	0.16±0.00	3.76±0.05	19.0±2.00	9.9±1.30	28.93±0.27	0.45±0.01	83.57±0.05	59.67±0.39	
T7	88.84±0.05	17.7±0.10	0.17±0.01	0.13±0.00	3.40±0.02	29.7±0.50	10.0±1.00	39.33±0.67	0.44±0.02	80.57±0.07	65.06±0.17	
T8	19.23±0.05	15.1±0.10	0.30±0.01	0.14±0.00	3.84±0.05	21.0±1.00	6.0±0.00	27.33±0.67	0.66±0.02	83.27±0.06	59.70±0.45	
T14	10.88±0.01	16.2±0.20	0.14±0.01	0.17±0.01	3.86±0.01	14.4±0.30	30.6±0.60	44.92±0.52	0.38±0.02	82.68±0.44	65.02±0.74	
T15	29.35±0.00	16.2±0.30	0.16±0.07	0.16±0.01	3.52±0.01	20.9±0.14	25.0±0.50	45.90±0.46	0.41±0.01	82.05±0.11	71.52±1.09	
T16	32.12±0.03	16.8±0.00	0.14±0.01	0.16±0.00	3.78±0.02	16.9±0.20	25.7±0.30	42.61±0.01	0.39±0.01	81.51±0.03	65.41±0.36	
T17	19.70±0.01	17.5±0.20	0.06±0.01	0.16±0.00	3.96±0.02	16.4±0.03	27.5±0.10	43.93±0.04	0.24±0.02	80.78±0.21	66.34±0.51	
T18	13.13±0.01	16.5±0.10	0.25±0.01	0.17±0.00	3.80±0.01	21.1±0.10	25.4±0.40	46.46±0.05	0.58±0.02	82.39±0.45	56.67±0.68	

## Total Protein

Protein contents of all samples were determined as 0.13-0.19% (Table 3). In general, the results were within the range established by TS 3036 [20]. However, the present study results corroborated the report of Küçük et al. [13]. Honey contains about 0.2% protein and also possesses various enzymes such as  $\alpha$ -amylase, invertase, catalase, glucose oxidase, and phosphatase, which is related to plant origin, pollen and nectar [41]. In other words, the protein content of honey indicates the floral origine.

## Invert Sugar and Sugar Composition

Sugar composition depends mainly on the origin of nectar, geographical origin, processing, and storage. Sucrose can be hydrolyzed by acid or the enzyme invertase, yielding an equimolar mixture of glucose and fructose. This mixture is called invert sugar. The inverted sugar is sweeter than sucrose [41, 42]. The invert sugar contents of commercial and natural honeys also were varied from 53.59% to 71.52% and 49.70% to 69.94%, respectively (Table 3). This results were similar to the invert sugar values obtained by Yardibi and Gümüş [42] and Kahraman et al. [43]. Invert sugar value (fructose and glucose) of the honey depends on the origin of the nectar [44] and invert sugar should be a minimum of 60% according to TS 3036 for flower honey [20]. In present study, 9 of 18 (50%) of commercial samples and 10 of 22 (45.45%) of natural samples were above this limit. The sugar composition of D6, D14 and D16 samples was also quantified and characterized by HPLC. The composition of D6 and D16 was slightly same. Sucrose, fructose, glucose and maltose were detected. Samples were composed mainly of glucose and fructose (Table 4).

## Melissopalynological Analysis

Honey is classified by the floral source of the nectar from which it is made. The melissopalynological analysis can be determined pollen type and quantity, honey quality, botanical and geographical origin of honey,

whether or not a fake [44]. Hence, the pollen analysis in honey is very important for determining the primary floral source. In general, numerous pollen types were detected in tested honeys (Table 5). While the botanical families such as Apiaceae, Fabaceae, Asteraceae, Brassicaceae, *Centaurea*, Ericaceae, Lamiaceae, Rosaceae, Poaceae, and Cistaceae were identified in honeys from beekeepers, the botanical families of honeys from markets were Apiaceae, Fabaceae, Asteraceae, Brassicaceae, *Centaurea*, Ericaceae, Lamiaceae and Amaranthaceae. About 52 different pollen taxa were found in samples. The richest pollen diversity was detected in flower honey samples T7. Identified pollen species, *Centaurea*, Asteraceae, Brassicaceae, Lamiaceae and Fabaceae were detected as the seconder taxa in most of honey samples. Pollens of *Citrus*, Brassicaceae, *Centaurea*, *Helianthus*, *Cistus*, *Erica*, Ericaceae, Lamiaceae, *Papaver*, *Pinus*, *Plantago*, Apiaceae, Fabaceae, *Ranunculus*, Amaranthaceae, *Echium*, *Eucalyptus*, *Daucus carota*, *Capparis*, *Astragalus*, *Arbutus*, *Anthemis*, *Morus*, *Lonicera*, *Rubus canescens*, and *Pistacia* were determined in minor amounts in some examples. Pollen taxa found in large numbers in flower honeys were as follows; *Castanea sativa*, *Centaurea*, Asteraceae, Brassicaceae, Ericaceae and Fabaceae. In our previous study, Amaranthaceae, *Trifolium*, *Trigonella*, Cyperaceae, *Zea mays*, *Papaver*, *Rumex*, *Trigonella*, Onopordum, and Apiaceae were found in pine honeys, while floral honey samples were characterized by *Erica*, *Centaurea*, *Helianthus annuus* and Apiaceae [10]. Maia is named as monofloral if honey contains pollen in quantities exceeding 45% on the remaining pollen identified [45]. Usually one or more secondary pollen types in relation to numerous minor pollens were identified in our samples except for some honeys. For example, the flower sample D19 and D20 contained one secondary pollen type (*Castanea sativa*), but it wasn't characterized by dominant pollen. Thus, it was defined as multifloral. On top of it, Gomes et al. [26] claimed that chestnut honey should contain 90% of *Castanea sativa* pollen. Ozkok et al. evaluated melissopalynological similarities of 28 monofloral honeys and they reported that botanical similarity of all honey samples was 62.6% [9].

Table 4. Sugar composition of honey samples (g/100 g)

Samples	Sucrose	Fructose	Glucose	Maltose
D6	0.16	41.99	31.91	1.64
D16	0.21	41.71	31.74	1.50



Table 5. The results of melissopalynologic analysis of honeys

HONEYS	Secondary pollen (16-45%)	Important minor pollen (3-15%)	Minor pollen (<3%)
D1	Cistus, Fabaceae	Centaurea, Asteraceae, Brassicaceae, Erica, Lamiaceae, Morus, Pistacia	Anthemis, Citrus, Poaceae, Helianthus, Plantago, Rosaceae, Apiaceae, Verbascum, Vitis, Washingtonia
D2	Cistus, Asteraceae	Centaurea, Brassicaceae, Lamiaceae, Fabaceae, Pistacia	Anthemis, Amaranthaceae, Cistaceae, Citrus, Daucus carota, Erica, Poaceae, Helianthus, Daucus carota, Ligustrum, Morus, Papaver, Pinus, Pistacia, Plantago, Ranunculus, Rosaceae, Rumex, Thymus, Apiaceae,
D6	Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae	Centaurea, Lamiaceae, Rosaceae	Cirsium, Cistaceae, Daucus carota, Echium, Poaceae, Morus, Phlomis, Plantago, Thymus, Verbascum,
D7			Anthemis, Capparis, Centaurea, Cistus, Citrus, Asteraceae, Brassicaceae, Daucus carota, Ericaceae, Genista, Poaceae, Helianthus, Lamiaceae, Fabaceae, Lonicera, Morus, Papaver, Plantago, Rosaceae, Rumex, Castanea sativa, Amaranthaceae, Cistus, Eucalyptus, Poaceae, Helianthus, Lamiaceae, Olea, Papaver, Pinus, Ranunculus, Rosaceae, Rumex, Thymus, Apiaceae, Verbascum, Vitis,
D10	Centaurea, Asteraceae, Fabaceae	Cistaceae, Brassicaceae, Morus, Polygonum	Helianthus, Papaver, Polygonum, Ranunculus, Vitis,
D11	Brassicaceae, Ericaceae	Capparis, Centaurea, Poaceae, Fabaceae, Plantago, Rosaceae, Apiaceae	Poaceae, Salix,
D12		Centaurea, Asteraceae, Fabaceae, Papaver, Rosaceae, Vitis	Anthemis, Cirsium, Cistaceae, Cistus, Daucus carota, Echium, Poaceae, Lamiaceae, Morus, Papaver, Plantago, Thymus, Verbascum,
D16	Asteraceae, Fabaceae	Centaurea, Brassicaceae, Rosaceae,	Anthemis, Capparis, Helianthus, Morus, Pinus, Plantago, Ranunculus, Rosaceae, Rubus canescens, Rumex, Urticaceae, Verbascum, Vitis, Washingtonia
D17	Asteraceae, Lamiaceae, Fabaceae	Centaurea, Brassicaceae, Apiaceae	Anthemis, Arbutus, Centaurea, Amaranthaceae, Cirsium, Cistus, Cotoneaster, Daucus carota, Diospyros lotus, Echium, Poaceae, Helianthus, Lonicera, Papaver, Pinus, Plantago, Ranunculus, Rhododendron, Rosa canina, Rubus canescens, Thymus, Urticaceae,
D19	Castanea sativa, Lamiaceae	Cistaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Fagus orientalis, Fabaceae,	Arbutus, Cirsium, Cistaceae, Cistus, Daucus carota, Fagus orientalis, Rhododendron,
D20	Castanea sativa, Asteraceae, Brassicaceae	Centaurea	Achillea, Echium, Papaver, Plantago, Ranunculus, Rosaceae, Apiaceae,
D22	Astragalus, Lamiaceae, Fabaceae	Centaurea, Asteraceae, Rubus canescens	Capparis, Amaranthaceae, Cistus, Echium, Eucalyptus, Geranium, Poaceae, Lamium, Papaver, Pistacia, Rosaceae, Rumex, Thymus, Apiaceae, Verbascum, Vitis
T2	Asteraceae, Fabaceae	Centaurea, Brassicaceae, Helianthus, Lamiaceae	Anthemis, Castanea sativa, Amaranthaceae, Cistus, Cyperaceae, Dipsacaceae, Echium, Poaceae, Helianthus, Jasminum, Lamiaceae, Morus, Polygonum, Ranunculus, Rosaceae, Rumex, Verbascum, Xanthium strumarium
T3	Centaurea, Asteraceae	Brassicaceae, Fabaceae, Papaver, Apiaceae	Xanthium strumarium
T4	Centaurea, Asteraceae, Brassicaceae	Cistus, Erica, Lamiaceae, Fabaceae	Anthemis, Poaceae, Helianthus, Morus, Pistacia, Plantago, Rosaceae, Thymus, Apiaceae, Verbascum, Vitis,
T7	Centaurea, Asteraceae, Brassicaceae	Cistus, Fabaceae	Anthemis, Capparis, Chenopodiaceae, Cyperaceae, Erica, Eucalyptus, Poaceae, Helianthus, Jasminum, Morus, Papaver, Pistacia, Plantago, Ranunculus, Rosaceae, Rumex, Apiaceae, Verbascum, Vitis, Xanthium strumarium
T8	Centaurea, Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae	Helianthus	Anthemis, Castanea sativa, Citrus, Echium, Ericaceae, Eucalyptus, Morus, Pinus, Thymus, Apiaceae, Vitis
T14	Asteraceae, Ericaceae	Centaurea, Brassicaceae, Echium, Eucalyptus, Helianthus, Lamiaceae, Lonicera, Morus	Achillea, Capparis, Amaranthaceae, Cistaceae, Ligustrum, Pinus, Washingtonia
T15	Centaurea, Fabaceae	Arbutus, Astragalus, Capparis, Brassicaceae, Daucus carota, Lamiaceae	Achillea, Amaranthaceae, Cirsium, Cistaceae, Echium, Ericaceae, Morus, Pistacia, Ranunculus, Plantago, Rosaceae, Rubus canescens, Apiaceae, Vitis, Washingtonia
T16	Astragalus, Centaurea	Capparis, Brassicaceae, Ericaceae	Achillea, Cistus, Daucus carota, Eucalyptus, Poaceae, Helianthus, Morus, Papaver, Pinus, Plantago, Rosa canina, Rubus canescens, Rumex, Apiaceae, Vitis
T17	Centaurea, Fabaceae	Amaranthaceae, Brassicaceae, Ericaceae, Pistacia	Achillea, Anthemis, Capparis, Cistus, Daucus carota, Echium, Erica, Eucalyptus, Poaceae, Papaver
T18	Astragalus, Centaurea,	Amaranthaceae, Asteraceae, Daucus carota, Ericaceae, Rubus canescens	Achillea, Arbutus, Castanea sativa, Cistus, Cotoneaster, Eucalyptus, Poaceae, Lonicera, Morus, Pinus, Ranunculus, Thymus, Urticaceae

## CONCLUSION

The result of analysis was showed that honey samples tested in study were good in bacteriological quality except for a few examples. Undoubtedly, quality and content of honeys will be different from each other due to many factors such as geographical origin, floral source, bee type, seasons, processing conditions, and storage period of honey. For high quality honey production, the education of beekeepers is very important. The standardization can be achieved by providing continuous training to the producers by experts.

## ACKNOWLEDGEMENT



We would like to thank to the Scientific Research Council of Pamukkale University, Turkey, for the research grant 2012FBE025.

## REFERENCES

- [1] Bogdanov, S. (1997). Charakterisierung von schweizer sortenhonigen. *Agrarforschung*, 4, 427-430.
- [2] Finola, M.S., Lasagno, M.C., Marioli, J.M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100(4), 1649-1653.
- [3] Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O.S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M., Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46, 124-131.
- [4] Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003). Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International*, 36, 183-191.
- [5] Iurlina, O., Fritz, R. (2005). Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 297-304.
- [6] Ozcan, M., Arslan, D., Ceylan, D.A. (2006). Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry*, 99, 24-29.
- [7] Kim, L., Brudzynski, K. (2018). Identification of menaquinones (vitamin K2 homologues) as novel constituents of honey. *Food Chemistry*, 249, 184-192.
- [8] Özkök, A., D'arcy, B., Sorkun, K. (2010). Total Phenolic Acid and Total Flavonoid Content of Turkish Pine Honeydew Honey. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(2), 65 - 71.
- [9] Ozkok, A., Ozenirler, C., Canlı D., Mayda, N., Sorkun K. (2018). Monofloral Features of Turkish Honeys According to Melissopalynologic, Total Phenolic and Total Flavonoid Content. *Gazi University Journal of Science*, 31(3), 713-723.
- [10] Mercan, N., Guvensen, A., Celik, A., Katircioglu, H. (2006). Antimicrobial activity and pollen composition of honey samples collected from different provinces in Turkey. *National Product Research*, 21(3), 187-195.
- [11] Patrignani, M., Fagúndez, G.A., Tananaki, C., Thrasylvoulou, A., Lupano, C.E. (2018). Volatile compounds of Argentinean honeys: Correlation with floral and geographical origin. *Food Chemistry*, 246, 32-40.
- [12] Terrab, A., Recamales, A.F., Hernanz, D., Heredia, F.J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88, 537-542.
- [13] Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100, 526-534.
- [14] Küplülü, Ö., Göncüoğlu, M., Özdemir, H., Koluman, A. (2006). Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey. *Food Control*, 17, 222-224.
- [15] Hornitzky, M.A.Z., Clark, S. (1991). Culture of *Bacillus larvae* from bulk honey samples for the detection of American foulbrood. *Journal of Apicultural Research*, 30, 13-16.
- [16] Midura, T.F., Snowden, R., Wood, R.M., Arnon, S.S. (1979). Isolation of *Clostridium botulinum* from honey. *Journal of Clinical Microbiology*, 9, 282-283.
- [17] IHC (International Honey Commission) (2002). Harmonised Methods of the International Honey Commission. 1-62.
- [18] Anonymous (1995). Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th Edition, ed. P. Cunniff. AOAC International, Arlington, Virginia, USA.
- [19] Hartree, E.F. (1972). Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*, 48, 422-427.
- [20] TS 3036 (Turkish Standard) (2002). 1. Edition, March.
- [21] Maurizio, A. (1951). Pollen analysis of honey. *Bee World*, 32, 1-5.
- [22] Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. (1978). International Commission for bee botany of IUBS: Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59, 139-157.
- [23] Sorkun, K. (2007). Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları. Ankara, Palme Yayınları.
- [24] Lieux, M.H. (1972). A melissopalynological study of 54 Louisiana (USA) honeys. *Rev. Paleobotany and Palynology*, 13(2), 95-124.
- [25] Malika, N., Mohamed, F., Chakib, E.A. (2005). Microbiological and Physicochemical properties of Moroccan honey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7, 773-776.
- [26] Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 544-548.
- [27] Monetto, A.M., Francavilla, A., Rondini, A., Manca, L., Siravegna, M., Fernandez, R. (1999). A study of botulinum spores in honey. *Anaerobe*, 5, 185-186.

- [28] Kokubo, Y., Jinbo, K., Kaneko, S., Matsumoto, M. (1984). Prevalence of spore-forming bacteria in commercial honey. *Annual Report of the Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health*, 35, 192-196.
- [29] Shakoori, F.R., Ali, N.M., Mughal, M.S., Shakoori, A.R. (2003). Microbiological analysis of honey of *Apis mellifera*. *Proceedings of Pakistan Congress of Zoology*, 23, 237-242.
- [30] López, A.C., Alippi, A.M. (2007). Phenotypic and genotypic diversity of *Bacillus cereus* isolates recovered from honey. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 175–184.
- [31] Ibarguren, C., Raya, R.R., Apella, M.C., Audisio, M.C. (2010). *Enterococcus faecium* Isolated from Honey Synthesized Bacteriocin-Like Substances Active against Different *Listeria monocytogenes* Strains. *The Journal of Microbiology*, 48(1), 44-52.
- [32] de Graff, D.C., Vandekerchove, D., Dobbelaere, W., Peeters, J.E., Jacobs, F.J. (2001). Influence of the proximity of American foulbrood cases and apicultural management on the prevalence of *Paenibacillus larvae* spores in Belgian honey. *Apidologie*, 32, 587–599.
- [33] Dumen, E., Akkaya, H., Oz, G.M., Sezgin, F.H. (2013). Microbiological and parasitological quality of honey produced in İstanbul. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37, 602-607.
- [34] Silva, L.R., Videira, R., Monteiro, A.P., Valentão, P., Andrade, P.B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93, 73–77.
- [35] Kayacier, A., Karaman, S. (2008). Rheological and some physicochemical characteristics of selected Turkish honeys. *Journal of Texture Studies*, 39(1), 17–27.
- [36] Yıldız, O., Sahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, O., Kolaylı, S. (2010). Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. *Akademik Gıda*, 9, 44-51.
- [37] Yılmaz, H., Yavuz, O. (1999). Content of Some Trace Metals in Honey from South-Eastern Anatolia. *Food Chemical*, 65(4), 475–476.
- [38] Codex Alimentarius (2001). Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12-1981. Codex Alimentarius Commission. Rev. 1(1987). Rev. 2(2001).
- [39] Feás, X., Pires, J., Iglesias, A., Estevinho, M.L. (2010). Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3462–3470.
- [40] Isla, M.I., Craig, A., Ordóñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomon, V., Maldonado, L. (2011). Physico chemical and bioactive properties of honey from Northwestern Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1922-1930.
- [41] da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323.
- [42] Yardibi, M.F., Gumus, T. (2010). Some physico-chemical characteristics of honeys produced from sunflower plant (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 707–712.
- [43] Kahraman, T., Buyukunal, S.K., Vural, A., Altunatmaz, S.S. (2010). Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, 123, 41–44.
- [44] Terzi E. (2009). Bilecik ve çevresinde üretilen ballarda bulunan polenlerin araştırılması. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Turkey.
- [45] Maia, M. (1999). Contribuição para a caracterização do mel do Parque Arqueológico do Vale do Côa. Rel. final de Estágio. UTAD, 77p.

## Endüstriyel Dondurma İşlemi ve *in vitro* Gastrointestinal Sindirim Sırasında Taze Fasulyenin Fenoliklerinde, Flavonoidlerinde ve Antioksidan Kapasitesinde Meydana Gelen Değişimler

Senem Kamiloğlu  

Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Turanköy, 16540, Kestel, Bursa

Geliş Tarihi (Received): 10.06.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 25.07.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [senem@mvsm.com.tr](mailto:senem@mvsm.com.tr) (S. Kamiloğlu)

☎ 0 224 383 36 01 📠 0 224 383 31 23

### ÖZ

Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris*) fenolik bileşen içeriği yüksek olan bir sebze olup, antioksidan içeriği ve aktivitesi bakımından zengin olan ve yaygın tüketilen sebzeler içerisinde sınıflandırılmaktadır. Bu çalışmada taze fasulyenin endüstriyel dondurulma işlemi sırasında çeşitli üretim basamaklardan alınan numunelerde toplam fenolik maddede, toplam flavonoid maddede ve toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimleri belirlemek ve hammadde, atık ve dondurulmuş ürün için sırasıyla ağız, mide ve bağırsak sindirimi aşamalarından oluşan standartlaştırılmış *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak fenoliklerin, flavonoidlerin ve antioksidan kapasitenin biyoerişilebilirliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimler spektrofotometrik yöntemlerle tespit edilmiş olup, toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde ABTS, CUPRAC, DPPH ve FRAP olmak üzere 4 farklı metot kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar endüstriyel dondurma işleminin taze fasulyenin toplam fenolik ve flavonoid madde içeriğini korunduğunu ve atık olarak ayrılan yan ürünün toplam flavonoid madde içeriğinin ve antioksidan kapasitesinin hammaddeden yüksek olduğunu göstermiştir (sırasıyla %117 ve %97'ye kadar) ( $p < 0.05$ ). İlaveten, *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrasında dondurulmuş taze fasulyenin ve atık ürünün hammaddeye kıyasla sırasıyla %12–23, %143–148 ve %10–230 kadar daha fazla biyoerişilebilir toplam fenolik maddeye, toplam flavonoid maddeye ve toplam antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Sonuç olarak bu çalışma gıda işleminin polifenollerin biyoerişilebilirliğini etkileyebileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Phaseolus vulgaris*, IQF, Biyoerişilebilirlik, Polifenoller

### Changes in Green Bean Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Capacity during Industrial Freezing Process and *in vitro* Gastrointestinal Digestion

#### ABSTRACT

Green bean (*Phaseolus vulgaris*) contains high amounts of phenolic compounds, and it is classified as one of the widely consumed vegetables, which is rich in antioxidant content and activity. The aim of this study was to determine the changes in total phenolic content, total flavonoid content and total antioxidant capacity in the samples taken from various production steps of the industrial freezing process of green beans, and to evaluate the bioaccessibility of phenolics, flavonoids and antioxidant capacity for raw material, waste and frozen product using the standardized *in vitro* gastrointestinal digestion model simulating the digestion in the mouth, stomach and intestine, respectively. Total phenolic content, total flavonoid content and total antioxidant capacity were determined using spectrophotometric methods and for the evaluation of total antioxidant capacity 4 different methods including ABTS, CUPRAC, DPPH and FRAP were used. Results showed that the total phenolic and flavonoid contents of the fresh green beans were

preserved after industrial freezing process and their by-product that is separated as waste contains higher total flavonoid content and antioxidant capacity compared to raw material (117% and up to 97%, respectively) ( $p<0.05$ ). In addition, after *in vitro* gastrointestinal digestion, frozen green beans and waste contained 12–23%, 143–148% and 10–230% more bioaccessible total phenolics, flavonoids and antioxidant capacity, respectively compared to fresh green beans ( $p<0.05$ ). In conclusion, this study showed that food processing may affect the bioaccessibility of polyphenols.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, IQF, Bioaccessibility, Polyphenols

## GİRİŞ

Epidemiyolojik çalışmalar sebzelerce zengin bir diyetin kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve tip 2 diyabet gibi bazı kronik hastalıkların gelişme riskini azalttığı göstermiştir [1]. Sağlık üzerine söz konusu olan bu olumlu etkiler antioksidan özellik gösteren fenolik bileşenlerin varlığı ile ilişkilendirilmektedir [2]. Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris*) fenolik bileşen içeriği yüksek olan bir sebze olup, antioksidan içeriği ve aktivitesi bakımından zengin olan ve yaygın tüketilen ilk 10 sebze içerisinde sınıflandırılmıştır. Özellikle kuersetin ve kaempferol glikozitleri açısından önemli bir flavonoid kaynağıdır [3].

Dondurma işlemi, global olarak gıda endüstrisinde taze fasulye de dahil olmak üzere birçok sebze için gıda kalitesinin korunmasında en iyi yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir. Sıcaklık düşüşü ile sebzelerde hasat sonrası oluşan metabolik süreçlerin önlenmesinin yanı sıra, ürün kalitesini bozan mikrobiyolojik üreme hızı da yavaşlatılmaktadır [4]. Öte yandan, dondurma işlemi tek başına enzimatik reaksiyonları ve mikrobiyal üremeyi tamamen durdurmak için yeterli değildir ve bu nedenle ön işlem olarak haşlama yapılması gerekmektedir [5]. Literatürde daha önce yapılmış çalışmalar haşlama ve dondurma gibi işlemlerin sebzelerin fenolik bileşen miktarını ve antioksidan kapasitesini etkilediğini göstermiştir [4-6]. İlave olarak, taze fasulyenin endüstriyel dondurma işlemi esnasında kesim neticesinde açığa çıkan fasulye uçlarını ve saplarını içeren bir atık ürün oluşmaktadır. Sanayide oluşan bu tür atık ürünlerin bertarafı hem çevre üzerinde potansiyel bir olumsuz etki yaratmakta hem de üretici için büyük bir maliyet oluşturmaktadır. Bununla birlikte, yapılan araştırmalarda bazı endüstriyel atıkların fenolik bileşen kaynağı olarak kullanılabilirliği ortaya koyulmuştur [7, 8].

Son zamanlarda gastrointestinal koşulların simülasyonu için hızlı, güvenilir ve *in vivo* metotlarda olduğu gibi etik kaygılarla kısıtlaması olmayan *in vitro* sindirim yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. *In vitro* gastrointestinal sindirim modelleri fenolik bileşiklerin gıda matriksinden salınımının belirlenmesini ve vücutta emilmeden önce meydana gelen değişikliklerin değerlendirilmesini sağlamaktadır. Öte yandan, uygulanan modellerin koşullarındaki varyasyonlar farklı çalışmalarda elde edilen sonuçların birbirleri ile karşılaştırılmasını güçleştirmiştir [9]. Bu sorunu ortadan kaldırmak için, yakın zaman önce sırasıyla ağız, mide ve bağırsak sindirimi aşamalarından oluşan standartlaştırılmış ve pratik bir statik model önerilmiştir [10]. Bu model daha önce bazı gıdalarda dondurma işleminin fenolik bileşenlerinin biyoerişilebilirliğine

etkisini araştırmak için uygulanmıştır [11]. Bununla birlikte, bilindiği kadarıyla, daha önce yapılan çalışmalarda endüstriyel dondurma işleminin taze fasulyenin fenolik bileşenlerinin biyoerişilebilirliğine olan etkisi incelenmemiştir. İlave olarak, bitki bazlı gıdalarda fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini ve biyoyararlılığını arttırmaya yönelik gıda işleme stratejileri konusunda yapılmış güncel bir derleme [12], dondurma işleminin polifenollerin sindirime olan etkisini inceleyen çalışmaların sayısının artırılmasını desteklemiştir.

Yukarıda sunulan bilgiler dikkate alınarak bu çalışmanın amacı, (i) taze fasulyenin endüstriyel dondurulma işlemi sırasında çeşitli üretim basamaklardan alınan numunelerde toplam fenolik maddede, toplam flavonoid maddede ve toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimlerin belirlenmesi ve (ii) hammadde, atık ve dondurulmuş ürün için standartlaştırılmış *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak fenoliklerin, flavonoidlerin ve antioksidan kapasitenin biyoerişilebilirliklerinin değerlendirilmesidir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Antakya'da ticari olgunlukta hasat edilen Gina cinsi taze fasulyeler (*Phaseolus vulgaris*) Nisan 2018'de bir gıda işleme fabrikasında (Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Salihli, Manisa) Şekil 1'de verilen akım şemasına göre endüstriyel dondurma işlemine tabii tutulmuşlardır. Akım şeması üzerinde gösterilen 5 noktadan 3 farklı üretim günü numuneler toplanmış ve ertesi hafta soğuk zincirle laboratuvara nakledilinceye kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Numuneler, soğutulmuş değirmen (IKA, Almanya) kullanılarak sıvı azot içerisinde ince bir toz halinde öğütülmüş ve analizlerden önce  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır.

*In vitro* gastrointestinal sindirim için kullanılan  $\alpha$ -amilaz (*Aspergillus oryzae*'den), pepsin (domuz mide mukozasından), pankreatin (domuz pankreasından) ve safra Sigma-Aldrich'den (Almanya) temin edilmiştir. Spektrofotometrik analizlerde kullanılan diğer kimyasallar ve reaktifler de analitik saflık derecesinde olup aksi belirtilmediği takdirde aynı firmadan (Sigma-Aldrich) temin edilmiştir.

### Nem Tayini

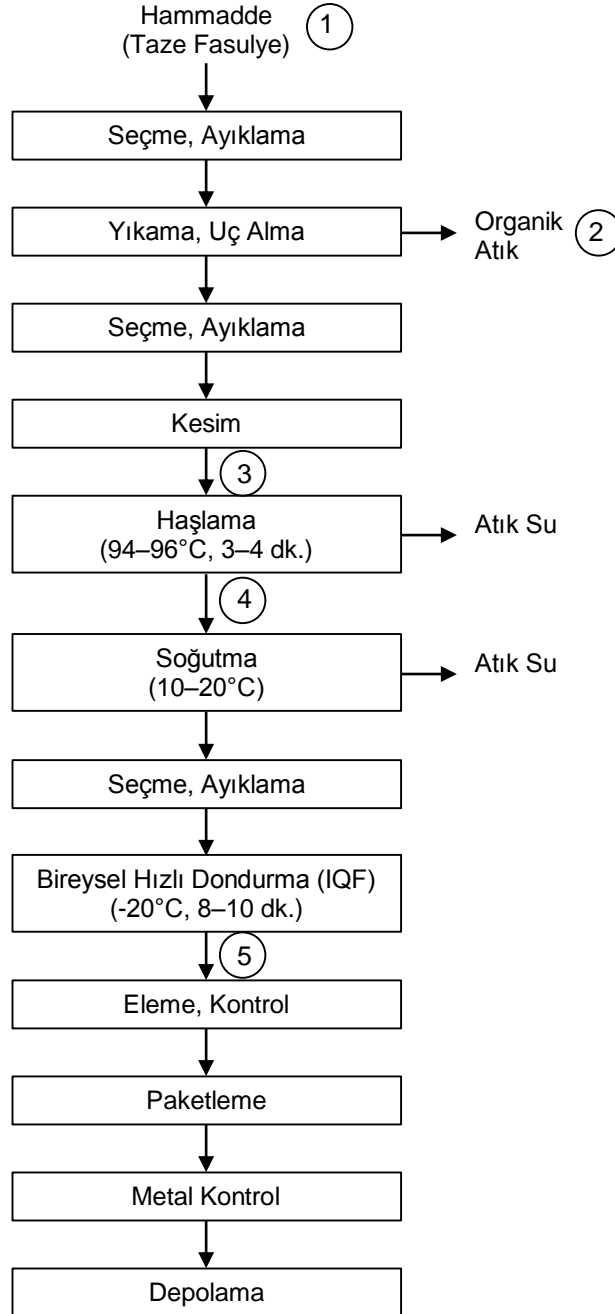
Numunelerin nem tayini Resmi Analitik Kimyacılar Derneği (AOAC) protokolünde belirtilen şekilde yapılmıştır [13].  $2.00\pm 0.01$  g numune önceden tartılmış alüminyum kaplara alınıp, nem içeriği dengeye

ulaşınca kadar etüv (Memmert, Almanya) içerisinde 105°C'de kurutulmuştur. Etüvden çıkarılan kaplar desikatörde soğumaya bırakılmış ve tekrar tartılmışlardır. Nem içeriği yüzde (%) olarak ifade edilmiştir.

### Ekstraksiyon

Sindirilmemiş numunelerin ekstraksiyon işlemi Kamiloglu ve Capanoglu'nun [14] çalışması referans alınarak yapılmıştır. 2.00±0.01 g numune 5 mL %0.1

formik asit içeren %75 metanol (Merck, Almanya) solüsyonu ile muamele edilmiştir. Sonrasında 15 dk. boyunca 20°C'ye soğutulmuş ultrasonik banyoda (VWR, ABD) tutulmuş ve akabinde 4°C'de 2700xg devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir (Hettich, Almanya). Üst faz ayrı bir tüpe alınarak, aynı işlemler bir kez daha tekrarlanmıştır. En sonunda iki üst faz birleştirilip, son hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar spektrofotometrik analizlere kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Taze fasulyenin endüstriyel dondurulma işleminin akım şeması. Analiz için toplanan numuneler: 1: Hammadde, 2: Atık, 3: Kesim sonrası, 4: Haşlama sonrası, 5: Dondurma sonrası.

### Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde miktarı Velioglu ve ark. [15] tarafından uygulanan şekilde tespit edilmiştir. 100 µL ekstrakta 0.75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildikten sonra karışım 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 0.75 mL %6 sodyum karbonat solüsyonu eklenmiş ve 90 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra, spektrofotometre (Optima, Japonya) ile 725 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Gallik asit standart eğrisi (lineer aralık: 10–400 ppm,  $R^2= 0.999$ ) kullanılarak örneklerin toplam fenolik madde miktarları belirlenmiş olup, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g kuru ağırlık (KA) olarak ifade edilmiştir.

### Toplam Flavonoid Madde Tayini

Toplam flavonoid madde miktarı Kim ve ark.'nın [16] çalışmasında tarif edilen şekilde belirlenmiştir. 1 mL ekstrakta 0.3 mL %5 sodyum nitrit solüsyonu ilave edilerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 0.3 mL %10 alüminyum klorür solüsyonu ilave edilmiş ve 1 dakika sonrasında karışıma 2 mL 1 M sodyum hidroksit eklenmiştir. Akabinde 2.4 mL saf su ilave edilmiş ve spektrofotometre ile 510 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Kuersetin standart eğrisi (lineer aralık: 10–400 ppm,  $R^2= 0.998$ ) kullanılarak örneklerin toplam flavonoid madde miktarları belirlenmiş olup, sonuçlar mg kuersetin eşdeğeri (KE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### ABTS Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini

ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)) metodu Miller ve RiceEvans'ın [17] çalışmasında belirtilen şekilde uygulanmıştır. ABTS stok solüsyonu (Applichem, Almanya) 50 mM pH 8 potasyum fosfat tamponu içerisinde 734 nm'de  $0.90 \pm 0.05$  absorpsiyon derecesine seyreltilmiştir. Daha sonra, 100 µL ekstrakta 1 mL ABTS-çalışma solüsyonu ilave edilip, 1 dakika inkübasyondan sonra spektrofotometre ile 734 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Trolox® standart eğrisi (lineer aralık: 1–100 ppm,  $R^2= 0.994$ ) kullanılarak örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri belirlenmiş olup, sonuçlar mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### CUPRAC Tayini

CUPRAC (Bakır (II) İyonu İndirgenme Antioksidan Kapasitesi) metodu Apak ve ark. [18] tarafından belirtilen şekilde uygulanmıştır. 100 µL ekstrakta sırasıyla 1 mL 10 mM bakır (II) klorür, 1 mL 7.5 mM neokuproin, 1 mL 1 M amonyum asetat ve 1 mL distile su ilave edilip, hacim 4.1 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra spektrofotometre ile 450 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Trolox® standart eğrisi (lineer aralık: 10–600 ppm,  $R^2= 0.997$ ) kullanılarak örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri belirlenmiş olup, sonuçlar mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodu Kumaran ve Karunakaran [19] tarafından belirtilen şekilde uygulanmıştır. 100 µL ekstrakta 2 mL 0.1 mM metanolde çözünmüş DPPH reaktifi ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra spektrofotometre ile 517 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Trolox® standart eğrisi (lineer aralık: 10–100 ppm,  $R^2= 0.999$ ) kullanılarak örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri belirlenmiş olup, sonuçlar mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### FRAP Tayini

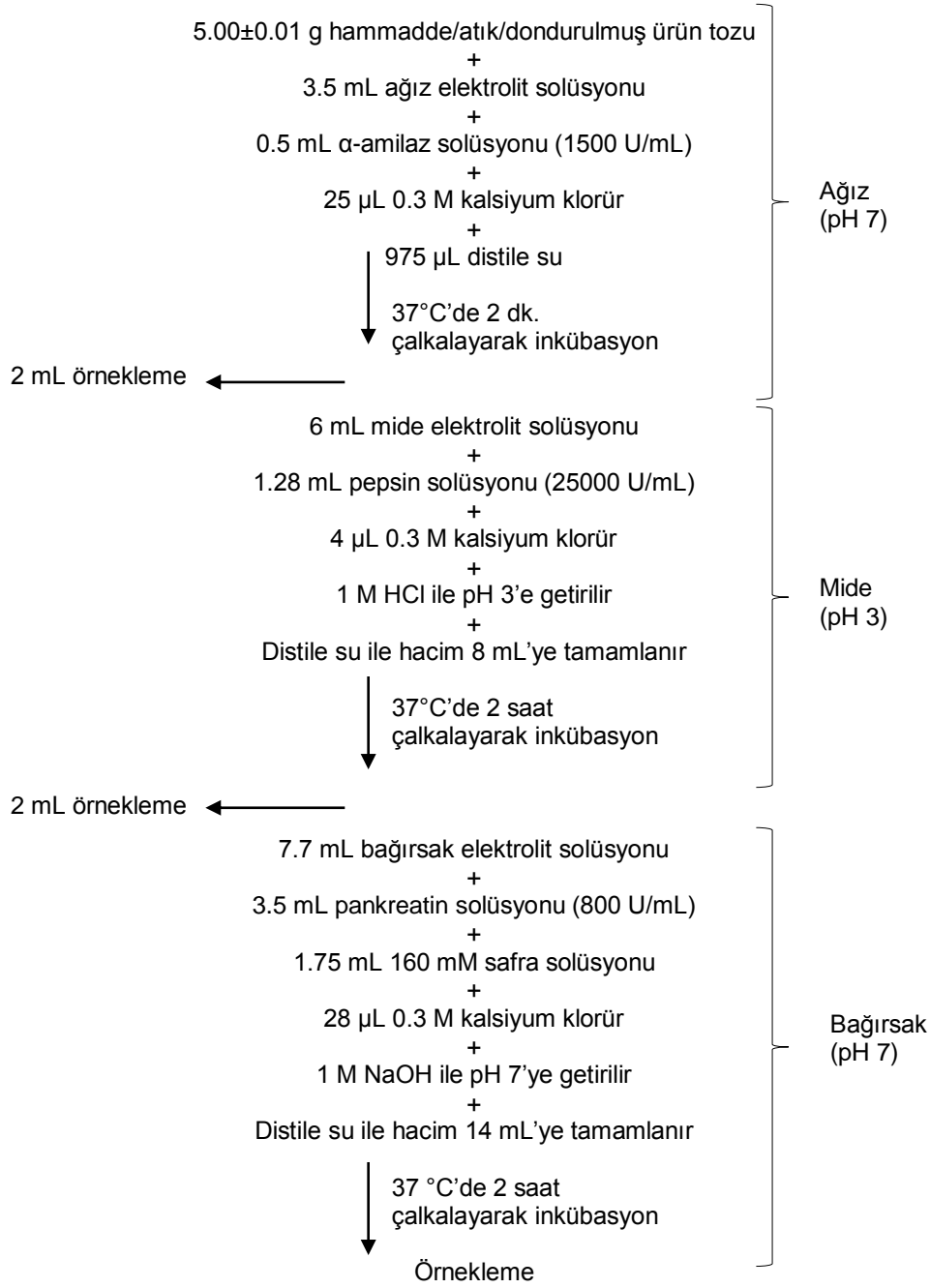
FRAP (Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç) metodu daha önce Benzie ve Strain'nin [20] çalışmasında belirtilen şekilde uygulanmıştır. 100 µL ekstrakta 900 µL FRAP reaktifi (10:1:1 oranlarında pH 3.6 asetat tamponu, 10 mM 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) solüsyonu ve 20 mM demir (III) klorür karışımı) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 4 dakika inkübasyondan sonra spektrofotometre ile 593 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Trolox® standart eğrisi (lineer aralık: 10–100 ppm,  $R^2= 0.991$ ) kullanılarak örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri belirlenmiş olup, sonuçlar mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### *In vitro* Gastrointestinal Sindirim

Minekus ve ark.'nın [10] çalışmasından uyarlanan *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli Şekil 2'de gösterilmiştir. Ağız, mide ve bağırsak sindirimi aşamalarından oluşan prosedür çalkalayıcı su banyosu (Mommert, Almanya) kullanılarak hammadde, atık ve dondurulmuş ürün için üç tekrarlı olarak uygulanmıştır. Kullanılan elektrolit solüsyonları Minekus ve ark.'ın [10] çalışmasında belirtilen şekilde hazırlanmıştır. İlaveten, taze fasulye numuneleri katılmadan aynı koşullar altında inkübasyonlar yapılmış ve elde edilen kör örnekler sindirim sıvılarından kaynaklanan etkileşimlerin düzeltilmesi için kullanılmıştır. Numune ve sindirim sıvılarını içeren ve homojen olarak toplanan örneklerin pH'sı formik asit ile 2'ye ayarlanmış ve 4°C'de, 23000xg hızında 5 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Üst fazlar ayrı bir tüpe alınarak analizlere kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Sonrasında bu örnekler toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antioksidan kapasite analizlerine tabi tutulmuş ve sonuçlar, örneklem miktarı içerisindeki örnek miktarı oranına göre hesaplanmıştır.

### İstatistiksel Analiz

Analizler 3 tekerrürlü olarak temin edilen numunelerde 3 paralelli ölçümler yapılarak gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Veriler SPSS yazılımı (IBM, ABD) kullanılarak tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabii tutulmuştur. Örnekler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır ( $p<0.05$ ). Analizler arası korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) Excel yazılımı (Microsoft, ABD) kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 2. *In vitro* gastrointestinal sindirim modeli

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Endüstriyel Dondurma İşlemi Basamaklarının Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Kapasiteye Etkileri

Endüstriyel dondurma işlemi sırasında taze fasulyenin nem miktarında meydana gelen değişimler Tablo 1'de verilmiştir. Hammadde için tespit edilen nem miktarı literatürle (%90.3) uyumlu olup [21], haşlama basamağı haricinde diğer üretim basamaklarında hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir. Haşlama basamağında nem miktarında meydana gelen %2 artışın ( $p<0.05$ ) haşlama suyunun ürün içine penetre

olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Numunelerin nem miktarlarındaki farklılıkları ortadan kaldırmak için, bu çalışmadaki tüm sonuçlar kuru ağırlık (KA) olarak ifade edilmiştir.

Taze fasulye hammaddesi için tespit edilen toplam fenolik madde içeriği (Tablo 1) literatürde daha önce belirtilen değerler (70.5–225.6 mg GAE/100 g KA) aralığındadır [22, 23]. Fasulyenin cinsi, olgunluğu, uygulanan tarımsal işlemler, ürün toplandıktan sonra fabrikaya ulaşıncaya kadar muhafaza edilen depo sıcaklığı ve süresi, oksijen veya ışık varlığı gibi koşullardaki farklılıklar fasulyenin fenolik bileşen içeriğini etkileyebilmektedir. Haşlama basamağında görülen %80 artış ( $p<0.05$ ) haricinde diğer tüm basamaklarda toplam



fenolik madde içeriği hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemsizdir. Haşlama neticesinde toplam fenolik madde miktarında görülen artışın ısı işlem nedeniyle hücre duvarı ve hücre altı bölümlerin yapısının

bozularak fenolik bileşenlerin serbest kalması ve böylece daha iyi ekstrakte edilmesinden kaynaklanıyor olması muhtemeldir [24].

Tablo 1. Taze fasulyenin endüstriyel dondurulma işlemi sırasında farklı üretim basamaklarında nem miktarında, toplam fenolik madde miktarında, toplam flavonoid madde miktarında ve toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimler

Analizler	Hammadde	Atık	Kesim	Haşlama	Dondurma
Nem miktarı (%)	91.5±0.2 b	91.9±0.2 ab	91.9±0.7 ab	93.5±1.3 a	91.9±0.3 ab
Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/100 g KA)	108.5±11.2 bc	107.2±7.1bc	94.0±10.3 c	194.9±23.7 a	144.3±21.0 b
Toplam flavonoid madde içeriği (mg KE/100 g KA)	426.9±71.5 b	924.9±199.2 a	374.5±91.8 b	601.1±148.4 b	557.3±80.5 b
ABTS (mg TE/100 g KA)	372.5±38.8 c	603.1±59.2 ab	458.8±92.4 bc	793.4±107.0 a	585.9±39.1 b
CUPRAC (mg TE/100 g KA)	323.5±33.0 b	638.8±62.8 a	460.9±42.2 ab	541.2±118.5 a	446.1±85.8 ab
DPPH (mg TE/100 g KA)	94.1±11.6 b	144.2±16.3 ab	78.2±15.1 b	207.9±51.9 a	158.5±40.7 ab
FRAP (mg TE/100 g KA)	32.3±8.7 c	63.7±11.4 bc	42.0±8.5 c	146.5±19.0 a	102.1±25.4 b

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekerrürlü ve 3 paraleli olarak yapılmış ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $p < 0.05$ ).

Taze fasulye hammaddesinin toplam flavonoid madde içeriği (Tablo 1) literatür ile uyumlu olup [25], endüstriyel dondurma işlemi basamaklarında görülen değişiklikler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Öte yandan, atık olarak ayrılan fasulye uç ve saplarının toplam flavonoid madde içeriğinin hammaddeye kıyasla %117 daha yüksek ( $p < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu, taze fasulyede bulunan flavonoidlerin fasulyenin uç ve sap kısımlarında yoğunlaştığını ve dolayısıyla atık olarak ayrılan bu endüstriyel yan ürünün iyi bir flavonoid kaynağı olduğunu ortaya koymuştur.

Endüstriyel dondurma işlemi basamaklarının taze fasulyenin toplam antioksidan kapasitesi üzerine olan etkileri 4 farklı metot (ABTS, CUPRAC, DPPH ve FRAP) kullanılarak incelenmiştir (Tablo 1). En yüksek toplam antioksidan kapasite miktarı ABTS ve CUPRAC metotları ile elde edilmiştir. Gözlenen bu durum ABTS ve CUPRAC metotları ile gıda maddelerinde bulunan hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar tespit edilebiliyorken, DPPH metodu ile sadece lipofilik antioksidanların ve FRAP metodu ile de sadece hidrofilik antioksidanların tespit edilebiliyor olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, FRAP metodu yavaş kinetik özelliklere sahip olan antioksidan bileşenlerin protokol süresi içinde (4 dk.) reaksiyona giremediğinden dolayı tespit edilemiyor olması nedeni ile de eleştirilmektedir [26]. Atık olarak ayrılan yan ürünün hammaddeye kıyasla %97'ye kadar ( $p < 0.05$ ) daha yüksek miktarda toplam antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Bu durum toplam flavonoid madde içeriği için elde edilen sonuçlarla paraleldir. Kesim basamağında görülen değişimler istatistiksel olarak önemsiz olmakla birlikte, haşlama sonrasında tüm metotlarda elde edilen sonuçlar hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemli artışların olduğuna işaret etmiş olup, bu artışlar ABTS, CUPRAC, DPPH ve FRAP metotları için sırası ile %113, %67, %121 ve %354 olarak tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Haşlama sonrası dondurma işleminde haşlamaya kıyasla azalmalar görülse de, dondurma sonrasında elde edilen toplam antioksidan kapasitenin hammaddeye kıyasla %38–216 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dondurma işlemi

sırasında buz kristallerinin oluşumu nedeniyle gıda matrisine zarar verilmektedir ve bu matrisin değişiklikleri hücre duvarı maserasyonuna neden olarak biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilebilirliğini arttırmaktadır. Fakat aynı zamanda oksidasyon ve bozulmaya karşı daha yüksek duyarlılık da oluşmaktadır [27]. Toplam antioksidan kapasite miktarındaki değişimlerin trendi toplam fenolik madde içeriği için elde edilen sonuçlarla uyumlu olup, özellikle FRAP metodu ile toplam fenolik madde içeriği arasında iyi bir korelasyon olduğu ( $R^2 = 0.873$ ) görülmüştür.

### ***In vitro* Gastrointestinal Sindirimin Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Kapasiteye Etkileri**

*In vitro* gastrointestinal sindirimin toplam fenolik madde içeriği üzerine etkileri Tablo 2'de verilmiştir. Ağız sindirimi sonrasında sindirilmemiş örneklerle kıyasla %63–72 daha düşük miktarda toplam fenolik madde içeriği elde edilmiştir. Görülen bu durum ağız sindirimi için uygulanan inkübasyon süresinin (2 dk.) fenolik bileşenlerin gıda matrisinden salınımı için yeterli olmamasından da kaynaklanıyor olabilir. Nitekim, 2 saat süren mide sindirimi simülasyonu sonrasında sindirilmemiş numunelerde bulunan toplam fenolik madde içeriğinin %93–130 kadarı açığa çıkmıştır. Mide sindirimi simülasyonundan sonra toplam fenolik madde içeriğinde görülen %30'a varan bu artış enzimatik hidroliz sonucunda gıda matrisine bağlı fenolik bileşenlerin serbest kalmasından kaynaklanıyor olabilir. *In vitro* bağırsak sindirimi toplam fenolik madde içeriğinde sindirilmemiş örneklerle kıyasla daha da fazla artışa neden olmuş olup (%18–44), bu durumun ilave ekstraksiyon süresi (artı 2 saat) ve/veya enzimlerin etkisi ile ilgili olduğu düşünülmektedir [28]. *In vitro* gastrointestinal sindirim sonucunda atık ve dondurulmuş ürün için elde edilen biyoerişilebilir toplam fenolik madde içeriği hammaddeye kıyasla %12–23 daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, gıda işleminin sindirim sırasında fenolik bileşiklerin matriksten salınımı etkilediğini göstermiş olup, sindirilmemiş örnekler için

tespit edilen değerlerin biyoerişilebilirlik değerlerinden farklı olabileceğine işaret etmiştir.

*In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında toplam flavonoid madde içeriğinde meydana gelen değişimler Tablo 2'de gösterilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği sonuçlarında olduğu gibi ağız sindirimi sonrasında sindirilmemiş örneklerle kıyasla daha düşük miktarlarda (%47–55) toplam flavonoid madde içeriği tespit edilmiştir. Bu durum daha önce bahsedildiği gibi ağız sindirimi için uygulanan inkübasyon süresinin flavonoidlerin gıda matrisinden salınımı için yeterli olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Yine toplam fenolik madde için elde edilen sonuçlarda olduğu gibi, mide sindirimi simülasyonu sonrasında toplam flavonoid madde değerleri ağız sindirimine kıyasla artış göstermiş

olup, sindirilmemiş numunelerde tespit edilen miktarların %47–83'üne kadar ulaşmıştır. Bağırsak sindiriminden sonra ise sindirilmemiş numunelerde bulunan toplam flavonoid madde içeriğinin %77–146 kadarı açığa çıkmış olup, atık ve dondurulmuş ürün için elde edilen biyoerişilebilir toplam flavonoid madde içeriği hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemli miktarda yüksek bulunmuştur (%143–148) ( $p < 0.05$ ). Literatürde daha önce yapılmış bazı çalışmalarda da dondurma işlemi sonucunda biyoerişilebilir polifenol miktarlarında artışlar görülmüş olup [11, 29], bu durum dondurma işlemi sırasında oluşan buz kristallerinin gıda matrisinde meydana getirdiği değişimlerin polifenollerin sindirim sırasındaki ekstrakte edilebilirliğini artırmasından kaynaklanıyor olabileceği öne sürülmüştür.

Tablo 2. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında taze fasulye ürünlerinin toplam fenolik madde miktarında, toplam flavonoid madde miktarında ve toplam antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler

Numune	Sindirilmemiş	Ağız	Mide	Bağırsak
Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/100 g KA)				
Hammadde	108.5±11.2 ABa	30.3±4.4 Cb	125.7±22.6 Aa	138.3±12.7 Ba
Atık	107.2±7.1 Bb	39.5±1.2 Bc	139.0±21.3 Aab	154.7±12.4 Aba
Dondurulmuş ürün	144.3±21.0 Aa	52.2±4.0 Ab	133.8±13.0 Aa	170.4±12.8 Aa
Toplam flavonoid madde içeriği (mg KE/100 g KA)				
Hammadde	426.9±71.5 Ba	236.9±13.7 Bbc	199.2±39.9 Cc	327.8±34.2 Bab
Atık	924.9±199.2 Aa	438.0±44.7 Aa	717.1±90.6 Aa	796.0±285.7 Aa
Dondurulmuş ürün	557.3±80.5 Bb	303.2±11.3 Bb	461.5±86.0 Bb	814.8±123.4 Aa
ABTS (mg TE/100 g KA)				
Hammadde	372.5±38.8 Bb	93.8±5.9 Bc	441.0±29.4 Bb	690.9±47.1 Ba
Atık	603.1±59.2 Ab	159.3±6.4 Ac	604.5±6.5 Ab	901.0±73.6 Aa
Dondurulmuş ürün	585.9±39.1 Ab	172.9±12.4 Ac	454.1±68.8 Bb	756.6±70.7 Aba
CUPRAC (mg TE/100 g KA)				
Hammadde	323.5±33.0 Ba	153.4±14.1 Cb	419.7±52.1 Aa	380.9±102.2 Ba
Atık	638.8±62.8 Aab	332.0±1.8 Ac	531.1±3.2 Ab	709.6±64.9 Aa
Dondurulmuş ürün	446.1±85.8 Ba	188.5±14.2 Bb	466.3±88.8 Aa	605.1±66.5 Aa
DPPH (mg TE/100 g KA)				
Hammadde	94.1±11.6 Ac	48.5±2.7 Bc	215.8±10.6 Bb	558.2±65.7 Ba
Atık	144.2±16.3 Abc	79.0±2.8 Ac	267.2±7.1 ABb	716.9±98.2 Aba
Dondurulmuş ürün	158.5±40.7 Ac	85.6±4.5 Ac	315.0±34.9 Ab	740.1±33.2 Aa
FRAP (mg TE/100 g KA)				
Hammadde	32.3±8.7 Bb	38.5±2.4 Bb	132.3±19.4 Ba	40.0±6.7 Bb
Atık	63.7±11.4 Abc	64.3±5.1 Ac	206.3±31.7 Aa	131.8±19.9 Ab
Dondurulmuş ürün	102.1±25.4 Aa	51.3±7.4 ABb	137.6±23.7 Ba	109.0±11.8 Aa

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekerrürlü ve 3 paralelli olarak temin edilen numunelerde yapılan ölçümlerin ortalama  $\pm$  standart sapma değerleridir. Satırlardaki küçük harfler ve sütunlardaki büyük harfler kendi aralarında istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $p < 0.05$ ).

*In vitro* gastrointestinal sindirimin toplam antioksidan kapasite üzerine olan etkileri genel olarak toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri için elde edilen sonuçlara benzerlik göstermiştir (Tablo 2). Ağız sindirimi simülasyonu sonrasında FRAP metodu hariç diğer tüm metotlarda sindirilmemiş örneklerden %45–75 kadar daha düşük miktarda toplam antioksidan kapasite miktarı tespit edilmiş olup, özellikle FRAP ve CUPRAC metotları ile toplam flavonoid madde içeriği arasında pozitif lineer ilişki tespit edilmiştir ( $R^2=0.809–0.900$ ). Mide sindirimi sonrasında tüm metotlarla tespit edilen toplam antioksidan kapasite miktarları ağız sindirimine kıyasla istatistiksel olarak önemli artışlar göstermiş olup, DPPH metodu için sindirilmemiş numunelerde tespit edilen değerlerden %85–129 kadar daha yüksek miktarlar bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bağırsak sindirimi

simülasyonundan sonra ise değişken sonuçlar elde edilmiş olsa da, genel olarak sindirilmemiş örneklerle kıyasla daha yüksek toplam antioksidan kapasite değerleri tespit edilmiş olup, ABTS ve DPPH metotları için %29–493 kadar istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür ( $p < 0.05$ ). İlaveten, atık ve dondurulmuş ürün için hammaddeye kıyasla %10–230 daha yüksek biyoerişilebilir toplam antioksidan kapasite elde edilmiştir. Mide ve bağırsak sindiriminden sonra toplam antioksidan kapasite ile toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri arasında daha ortalama bir ilişki görülmüştür ( $R^2 \leq 0.730$ ). Bu çalışmada uygulanan toplam antioksidan kapasite tayin metotlarının çalışma pH'ları göz önüne alındığında, FRAP metodunun (pH 3.6), midedeki antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için daha uygun bir metot olabileceği, CUPRAC ve DPPH

metotlarının (pH 7.0–8.0) ise ağız ve bağırsaktaki toplam antioksidan kapasitenin tayini için daha uygun olabileceği varsayılabilir. Sonuç olarak, tek bir antioksidan kapasite ölçüm metodu kullanarak gıdaların antioksidan kapasitesinin ölçülmesi ile tatmin edici bir değerlendirme yapmanın mümkün olmayacağı görülmüştür. Bu nedenle toplam antioksidan kapasitenin tayininde farklı mekanizmalara sahip birden fazla metodun kullanılması önerilmektedir [30]. Ayrıca, toplam fenolik madde tayini için kullanılan Folin-Ciocalteu metodu sadece fenolik bileşenlere özgü olan bir test olmayıp, askorbik asit, sitrik asit, basit şekerler ve bazı amino asitler gibi indirgen bileşenleri de ölçerek, toplam fenolik madde içeriğinin gerçek değerinden farklı çıkmasına neden olabilmektedir [31]. Benzer şekilde toplam flavonoid madde tayini için kullanılan metod da sadece flavonoidlere özgü bir test olmayıp, flavonoidlerle birlikte, fenolik asitler de bu testte oldukça güçlü bir reaksiyon verirken, flavan-3-oller hariç birçok flavonoid bu teste zayıf reaksiyon vermektedir [32]. Tüm bunlar dikkate alındığında, ileride yapılacak çalışmalarda fenolik bileşiklerin miktarlarının tespiti için spektrofotometrik metodların yanı sıra daha spesifik sonuç veren kromatografik yöntemlerin de kullanılması tavsiye edilmektedir.

## SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar endüstriyel dondurma işleminin taze fasulyenin toplam fenolik ve flavonoid madde içeriğini korunduğunu ve atık olarak ayrılan yan ürünün toplam flavonoid madde içeriğinin ve antioksidan kapasitesinin hammaddeden yüksek olduğunu göstermiştir. İlaveten, *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrasında dondurulmuş taze fasulyenin ve atık ürünün hammaddeye kıyasla daha fazla biyoerişilebilir toplam fenolik maddeye, toplam flavonoid maddeye ve toplam antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Bu bulgular dikkate alındığında, endüstriyel dondurma işleminin, polifenollerin biyoerişilebilirliğini arttırmak için alternatif bir strateji olabileceği söylenilebilir. Ancak, bu çalışmada, sadece dondurma işleminin etkisi incelenmiş olup, ileriki araştırmalarda polifenollerin biyoerişilebilirliğinin artırılması için optimum koşulları belirlemek amacıyla depolama sırasında polifenollerdeki değişikliklerin de çalışılması gerekmektedir. Bununla birlikte, polifenollerin stabilitesini, biyoerişilebilirliğini ve biyoaktivitesini tam olarak anlamak için *in vivo* çalışmalara da ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- [1] Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M.J., Oberritter, H., Schulze, M. (2012). Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition*, 51(6), 637-663.
- [2] Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- [3] Abu-Reidah, I.M., Arráez-Román, D., Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Phytochemical characterisation of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by using high-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 24(2), 105-116.
- [4] Paciulli, M., Ganino, T., Pellegrini, N., Rinaldi, M., Zaupa, M., Fabbri, A., Chiavaro, E. (2015). Impact of the industrial freezing process on selected vegetables—Part I. Structure, texture and antioxidant capacity. *Food Research International*, 74, 329-337.
- [5] Mazzeo, T., Paciulli, M., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., Ganino, T., Pellegrini, N. (2015). Impact of the industrial freezing process on selected vegetables—Part II. Colour and bioactive compounds. *Food Research International*, 75, 89-97.
- [6] Baardseth, P., Bjerke, F., Martinsen, B.K., Skrede, G. (2010). Vitamin C, total phenolics and antioxidative activity in tip-cut green beans (*Phaseolus vulgaris*) and swede rods (*Brassica napus* var. *napobrassica*) processed by methods used in catering. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(7), 1245-1255.
- [7] Kamiloğlu, S., Ozkan, G., Isik, H., Horoz, O., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2017). Black carrot pomace as a source of polyphenols for enhancing the nutritional value of cake: An *in vitro* digestion study with a standardized static model. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 475-481.
- [8] Kamiloğlu, S. (2019). Bireysel Hızlı Dondurma İşlemi Basamaklarının Granny Smith Elmaların Polifenol İçeriği ve Antioksidan Kapasitesine Etkileri. *Akademik Gıda*, 17(1), 38-46.
- [9] Alminger, M., Aura, A.M., Bohn, T., Dufour, C., El, S., Gomes, A., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M., McDougall, G., Requena, T. (2014). *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 413-436.
- [10] Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Menard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124.
- [11] Kamiloğlu, S. (2019). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *Gıda*, 44(3), 409-418.
- [12] Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P. (2018). Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2531-2548.

- [13] AOAC. (1999). *Official Method of Analysis* (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- [14] Kamiloglu, S., Capanoglu, E. (2015). Polyphenol content in figs (*Ficus carica* L.): Effect of sun-drying. *International Journal of Food Properties*, 18(3), 521-535.
- [15] Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- [16] Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.
- [17] Miller, N.J., Rice-Evans, C. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radical Research*, 26(6), 195-199.
- [18] Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- [19] Kumaran, A., Karunakaran, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1), 109-114.
- [20] Benzie, I.F., Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- [21] USDA Food Composition Database. Available from: <http://ndb.nal.usda.gov>.
- [22] Patras, A., Tiwari, B., Brunton, N. (2011). Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 299-306.
- [23] Guillén, S., Mir-Bel, J., Oria, R., Salvador, M.L. (2017). Influence of cooking conditions on organoleptic and health-related properties of artichokes, green beans, broccoli and carrots. *Food Chemistry*, 217, 209-216.
- [24] Kaiser, A., Kammerer, D.R., Carle, R. (2013). Impact of blanching on polyphenol stability and antioxidant capacity of innovative coriander (*Coriandrum sativum* L.) pastes. *Food Chemistry*, 140(1-2), 332-339.
- [25] Gupta, S., Chatterjee, S., Vaishnav, J., Kumar, V., Variyar, P.S., Sharma, A. (2012). Hurdle technology for shelf stable minimally processed French beans (*Phaseolus vulgaris*): A response surface methodology approach. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2), 182-189.
- [26] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I., Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- [27] Oliveira, A., Alexandre, E.M., Coelho, M., Barros, R.M., Almeida, D.P., Pintado, M. (2016). Peach polyphenol and carotenoid content as affected by frozen storage and pasteurization. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 361-368.
- [28] Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1), 14-21.
- [29] Kamiloglu, S. (2019). Effect of different freezing methods on the bioaccessibility of strawberry polyphenols. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(8), 2652-2660.
- [30] Apak, R., Ozyurek, M., Guclu, K., Capanoglu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997-1027.
- [31] Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Ozkan, G., Apak, R. (2018). Evaluation of antioxidant activity/capacity measurement methods for food products. In *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*, R. Apak, E. Capanoglu, & F. Shahidi, Editors., Chicester, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd., p. 273-286.
- [32] Ho, Y.C., Yu, H.T., Su, N.W. (2012). Re-examination of chromogenic quantitative assays for determining flavonoid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2674-2681.

## Glutensiz Bisküvi Unu Formülasyonunun Yanıt Yüzey Yöntemi Kullanılarak Optimizasyonu

Fatma Hayıt<sup>1</sup> , Hülya Gül<sup>2</sup> <sup>1</sup>Bozok Üniversitesi, Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Yozgat<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 02.03.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 28.12.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): fatma.hayit@bozok.edu.tr (F. Hayıt)

☎ 0 354 290 30 02 📠 0 354 290 30 03

### ÖZ

Bisküvilik buğday unu bisküvi üretiminde en önemli hammaddedir. Fakat çölyak hastaları glutene karşı gösterdikleri intolerans nedeniyle buğday unundan yapılan bisküvileri tüketmemelidirler. Bu nedenle çalışmada mısır nişastası, mısır unu, pirinç unu ve patates nişastası kullanılarak uygun bir glutensiz bisküvi unu formülasyonu (GBUF) oluşturulması amaçlanmıştır. Bu bileşenlerin kullanım oranları yanıt yüzey metodundan yararlanılarak belirlenmiştir. GBUF deneme deseni oluşturulmadan önce formülasyonda kullanılacak bağımsız değişkenlerin alt ve üst limit miktarları, mısır unu ve pirinç unu ve mısır nişastası için sırasıyla; %5-20, %0-50 ve %0-30 olarak belirlenmiştir. GBUF'nda oranlar patates nişastası ile yüz birime tamamlanmıştır. Belirlenen bu değerler kullanılarak yanıt yüzey yöntemi ile Box Behnken metoduna göre GBUF deneme deseni oluşturulmuştur. Bağımlı değişkenler olarak genel kabul edilebilirlik, tekstürel sertlik, renk farkı (delta E) ve yayılma oranı seçilmiştir. Yapılan bu optimizasyon çalışmasından elde edilen verilere göre; %7 mısır nişastası, %8 mısır unu, %40 pirinç unu ve %45 patates nişastası karışımı kullanılarak kabul edilebilir kalitede glutensiz bisküvi üretilbileceği sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Box Behnken, Çölyak, Glutensiz bisküvi, Yanıt yüzey yöntemi

### Optimization of Gluten-Free Cookie Flour Formulation by Using Response Surface Methodology

#### ABSTRACT

Soft wheat flour is the most important raw material in the production of cookies. But, celiac patients, because of their gluten intolerance, should not consume gluten containing cookies made from wheat flour. Therefore, in this study, it was aimed to form a suitable gluten-free cookie formulation (GFCF) with corn starch, corn flour, rice flour and potato starch. Ratios of these ingredients in formulation were determined by the response surface methodology. Before the construction of the GFCF experimental design, the lower and upper limits of the independent variables to be used in the formulation were determined as 5- 20%, 0-50% and 0-30% for corn flour, rice flour and corn starch, respectively. In the GFCF, the proportions were completed to 100% with potato starch. By using these values, the GFCF experimental design was established by the response surface methodology according to Box Behnken method. General acceptability, textural hardness, color difference (delta E) and spread ratio values were selected as dependent variables. According to the data obtained from this optimization study; a mixture of 7% corn starch, 8% corn flour, 40% rice flour and 45% potato starch was the best to produce gluten-free cookies with acceptable quality.

**Keywords:** Box Behnken, Celiac, Gluten-free cookie, Response surface methodology

## GİRİŞ

Buğday unu hemen hemen tüm bisküvi ve kurabiyelerin ana bileşenidir. Çünkü buğday unu su ile karıştırıldığında oluşan gluten yapısı ile visko elastik özellikteki hamur oluşur [1]. Fakat çölyak hastaları glutene karşı alerjik durumları nedeniyle gluten içeren gıdaları tüketememektedirler [2-5]. Söz konusu hastalık, buğday gluten proteininin tüketimi ile ilgili olup [6], genetik olarak hassas bireylerde gluten alımı ile tetiklenir. Çölyak hastalığı genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimin sonucunda ortaya çıkan bağışıklık merkezli bir enteropati olarak tanımlanmaktadır [7, 8].

Buğday, çavdar ve arpada bulunan gluten, çölyak hastalığı ve çölyak dışı gluten duyarlılığı gibi çeşitli gastrointestinal bozukluklara sebep olmaktadır [7]. Çoğu popülasyonda insanların yaklaşık %1'inde görülürken son zamanlarda tanı oranları artmaktadır [8]. Hastalığın görülme sıklığının artmasıyla beraber sağlık uzmanlarının ve tüketicilerin hastalığa ilgisini de arttırmıştır [6]. Hastalığın birçok klinik belirtisi vardır [8]. Karın şişkinlikleri ve ağrı, kötü kokulu ve yağlı dışkı, kilo kaybı, yorgunluk, açıklanamayan anemi, davranış değişiklikleri, bacaklarda ve kollarda uyuşma karıncalanma, kemik ve eklem ağrıları, kas krampları, ağzı içinde yaralar, kaşıntılı deri döküntüsü bu belirtilerdedir [9, 10]. Çölyak hastalığında, vücudun bağışıklık sistemi anormal olarak glutene tepki verir, bu durum bağırsaklarda iltihaplanma ve zarara neden olarak bağırsaklarda demir, kalsiyum, vitamin A, D, E, K ve folat emiliminin azalmasına sebep olur [11]. Genel olarak glutensiz ürünlerde de buğday ve türevlerinin kullanılmamasına bağlı olarak mineral madde, protein ve vitamin eksikliği bulunmaktadır [12]. Ürünlerin kalitesi ise gluten ağrının zayıflığından dolayı genellikle zayıftır [13]. Özellikle ticari olarak temin edilen glutensiz ürünler düşük kalitede olmakta ve üretimlerinde kullanılan katkı maddeleri yüksek maliyetli malzemeler olduğu için fiyatlarda normal ürünlere göre 10-20 kat artmaktadır [14]. Bu yüzden çölyak hastalarının ihtiyaçları doğrultusunda besin değeri yüksek, kabul edilebilir nitelikte yeni ürünlerin geliştirilmesi gerekmektedir [12].

Yanıt yüzey yöntemi, süreçlerin geliştirilmesi, iyileştirilmesi ve optimizasyonu için kullanılan istatistiksel ve matematiksel tekniklerin bir kombinasyonudur. Yöntemin kullanılması maliyetin düşmesine, hızlı ve verimli süreç gelişimine olanak sağlar. Bağımsız değişkenlerin süreçler üzerindeki etkisini tek başına ya da kombinasyon halinde açıklar. Bağımsız değişkenlerin etkilerini analiz etmenin yanı sıra bağımsız değişkenler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkileri tanımlayan matematiksel bir model oluşturur [15]. Yanıt yüzey yöntemi uygulanmasında deneysel dizaynların seçilmesi gerekmektedir. Bu amaçla belirlenen "Central composite, Box behnken ve Doehlert dizayn" gibi bazı deneysel tasarımlar bulunmaktadır. Bu deneysel tasarımlar çeşitli proseslerin optimizasyonu için kullanılmaktadır. Box behnken daha verimli matrisler tasarlar ve son yıllarda yayınlanan eser sayıları artmıştır [16].

Box-Behnken tasarımı, yanıt yüzey yönteminin deneysel tasarımlarından biridir ve deney noktaları, merkez noktadan eşit uzaklıkta yer alan, üç seviyeli faktöriyel tasarımlara dayanmaktadır. Box-Behnken dizaynın önemi aşırı koşullar altında yapılan deneylerden kaçınmasıdır ve tüm faktörlerin aynı anda en yüksek ve en düşük noktalarda oldukları kombinasyonları içermemesidir [17]. Bu yöntem çeşitli faktörlerin örnek tepkisi üzerindeki etkisini eşzamanlı olarak incelemek, doğrusal ve kuadratik etkileri ve bu faktörler arasındaki etkileşimleri hesaplamak için en iyi deneysel strateji olarak bilinmektedir [18].

Bu çalışmada; hastaların ihtiyaçları doğrultusunda besin değeri yüksek mısır unu ve yine beğenilirliğin yüksek olması açısından mısır nişastası, patates nişastası ve pirinç unu karışımı kullanılarak yanıt yüzey yöntemini ile glutensiz bisküvi unu formülasyonun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Optimizasyon için bağımsız değişkenler olarak; tekstür analiz cihazında ölçülen sertlik değeri, bisküvilerin yayılma oranı, renk farkı (delta E) ve duyu test sonucunda elde edilen kabul edilebilirlik faktörleri seçilmiştir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Patates nişastası ve mısır nişastası Tat İnşaat Sanayi ve Ticaret A.Ş'den (İzmir), mısır unu ve pirinç unu Hüsnü Özmen Gıda Sanayi A.Ş'den (İzmir), ksantan gam Selim Esans Deposu Kimyevi Maddeler İthalat ve Toptan Dahili Ticaret Ltd.Şti'den (İzmir), Sodyum bikarbonat Şişecam Soda Sanayi A.Ş. (Mersin), %42'lik mısır şurubu Sunar Mısır Entegre Tesisleri San. ve Tic. A.Ş. (Adana, Türkiye)'den temin edilmiştir. Pudra şekeri, tuz ve Orkide Marka şortening Isparta'da yerel bir marketten satın alınmıştır. Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

### Bisküvi Üretim Metodu

Bisküviler AACC Metot, 10–50-05 [19]'da belirtilen tel keski bisküvi metodunun modifiye edilmesi suretiyle üretilmiştir. Tel keski bisküvi formülasyonu Tablo 1'de verilmiştir.

Şortening, pudra şekeri, tuz ve sodyum karbonat mikserde (Hobart mikser N50, Almanya) düşük hızda (her bir dakikanın sonunda durdurularak mikser kenarlarının sıyrılarak içeriğe dahil edilmesi suretiyle) karıştırılmıştır. Mısır şurubu ve destile su ilave edilerek 1 dakika orta hızda karıştırılmış ve daha sonra glutensiz un karışımı eklenerek 2 dakika yavaş hızda yoğurma işlemine devam edilmiştir. Mikserden nazik bir şekilde alınan hamur çapı 5.0-6.0 mm arasında olan tahta oklava ile 5 mm kalınlığında olacak şekilde inceltilmiş ve iç çapı 60 mm olan bisküvi kesme aparatı ile yuvarlak bir şekilde kesilmiştir. Şekil verilen bisküviler 205°C'de 10 dakika süreyle konveksiyonel fırında (Fimak, FSET4, Konya) pişirilip oda sıcaklığında soğutulmuş ve hermetikli uygun ambalajlarda analiz edilene kadar depolanmışlardır.

Tablo 1. Bisküvi formülasyonu

Bisküvi Üretiminde Kullanılan Maddeler	Miktar
Shortening <sup>(1)</sup> (g)	64.0
Pudra şekeri <sup>(2)</sup> (g)	130.0
Tuz (g)	2.1
Sodyum bikarbonat (g)	2.5
%42'lik mısır şurubu (g)	33
Distile su (mL)	16.0
Ksantan gam (%)	2.0
Glutensiz un karışımı (%14 nem esasına göre, g)	225

(1): Formülasyonda shortening %50 oranında azaltılmıştır.

(2): Formülasyonda pudra şekeri %23 oranında azaltılmıştır.

## Bisküvilerde Yapılan Analizler

### Fiziksel Analizler

Bisküvilerin fiziksel kalite özelliklerini belirlemek amacıyla (her denemede 6 bisküvi örneği alınmıştır) üretilen bisküvilerin çap ve kalınlık değerleri dijital mikrometre kullanılarak (her örnekte en az 4 bölgeden) ölçülmüştür. Yayılma oranı bisküvi çapının kalınlığına oranlanması ile hesaplanmıştır.

### Renk Analizleri

Renk ölçümü Konica Minolta (Minolta CR-410, Minolta Co Ltd., Tokyo, Japonya) renk ölçüm cihazı ile yapılmıştır. Her bir bisküvi örneğinin ile üç farklı noktadan ölçüm alınarak L, a ve b değerleri tespit edilmiştir. Renk skalası; L değeri [(0)Siyah – (100) Beyaz], a değeri [(+) kırmızı, (-) yeşil] ve b değeri [(+) sarı, (-) mavi] olarak kullanılmıştır. Bisküvilik buğday unundan yapılmış kontrol bisküvilerine göre renk farkı belirlenmiştir.  $L_o, a_o$  ve  $b_o$  değerleri için bisküvilik undan üretilen bisküvilerin renk değerleri kullanılmış ( $L_o$ :58.83;  $a_o$ :7.07;  $b_o$ : 20.4) ve glutensiz bisküvilerin delta E ( $\Delta E$ ) değerleri tespit edilmiştir. Bisküvi örneklerinin  $\Delta E$ 'si, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_o)^2 + (a - a_o)^2 + (b - b_o)^2}$$

### Tekstürel Analizler

Tekstür analiz cihazında (TA-XT2, Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) üç noktalı bükme probu ve 30 kg'lık yük hücresi kullanılarak glutensiz bisküvi örneklerinin sertlik değerleri pişirme işleminden 6 saat sonra belirlenmiştir (her denemede 6 bisküvi örneği alınmıştır). Tekstür analiz cihazında test parametreleri; ön test hızı: 1.0 mm/s, test hızı: 3.0 mm/s, son test hızı: 10 mm/s, uzaklık 5.0 mm ve veri alma hızı 500 pps. olarak ayarlanmıştır.

### Duyusal Analizler

Üretilen bisküvilerin duyu değerlendirmesi Gül ve ark. [20]'e göre yapılmıştır. Bisküviler pişirme işleminden 4 saat sonra 15 kişilik (üniversite öğrencisi) bir panelist grubu tarafından değerlendirilmiştir. 1'den 5'e kadar puanlandırılan hedonik skala kullanılmıştır. 1 "hiç

beğenmedim" 5 ise "çok beğendim" olarak ifade edilmiştir. Optimizasyon çalışması için genel kabul edilebilirlik değeri bağımlı değişken olarak alınmıştır.

### Optimizasyon

Glutensiz bisküvi unu karışımı hazırlamak amacıyla pirinç unu, mısır nişastası ve mısır ununun eş zamanlı etkilerini anlamak için yanıt yüzey yöntemi, yanıt yüzey yöntemi ile bu çalışmanın dizaynında ise Box Behnken dizayn kullanılmıştır. Kontrol edilebilir faktörler (bağımsız değişkenler) pirinç unu, mısır nişastası ve mısır unu olarak belirlenmiştir.

Formülasyon deneme deseni oluşturulmadan önce formülasyonda kullanılacak bağımsız değişkenlerin alt ve üst limit miktarları daha önce yapılan bisküvi ön denemeleri ile; pirinç unu için %0-50, mısır nişastası için %0-30, mısır unu için %5-20 olarak belirlenmiştir. Glutensiz bisküvi unu formülasyonunun tamamlanması için deneme deseninde belirtilen 15 formülasyon için patates nişastası kullanılmıştır.

Glutensiz un formülasyonunun hazırlanması için oluşturulan optimizasyonda, Minitab 17 programı ile Box-Behnken dizayn kullanılarak optimum bileşenler belirlenmiştir. Yüzey alanı farklı seviyelerde (-1, 0 ve +1) üç kontrol edilebilir faktörün (pirinç unu, mısır nişastası ve mısır unu) incelenmesi ile optimize edilmiştir. Deneysel tasarım 12 faktörlü 3 merkezli 15 deneme deseninden (Tablo 2) oluşturulmuştur.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Yanıt yüzey yöntemi ile oluşturulan deneme tasarımına göre glutensiz bisküvi unu üretimi için deneme deseninde belirlenmiş olan 15 adet formülasyon (Tablo 2) kullanılarak ayrı ayrı bisküvi üretimi yapılmış ve bu bisküvi örneklerinde fiziksel, tekstürel, duyu ve renk analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre yanıt yüzey yöntemi kullanılarak ANOVA tablosu ve model katsayıları ile önem durumları belirlenmiştir. Minitab 17 istatistik yazılımı ile anlamlı yanıtlar için şekiller oluşturulmuştur. Şekil planının her birinde bir değişkeni orta seviyede tutarak diğer iki değişkenin farklı seviyeleri için bağımsız değişkenlerin nasıl değiştiği belirlenmiştir [21].

Tablo 2. Optimizasyon programında oluşturulan formülasyon deneme deseni

Deneme Numarası	Kodlanmış Değerler (%)			Kodlanmamış Değerler (%)		
	Mısır nişastası	Pirinç unu	Mısır unu	Mısır nişastası	Pirinç unu	Mısır unu
1	0	+	-	15	50	5.0
2	0	+	+	15	50	20.0
3	0	-	+	15	0	20.0
4	+	0	+	30	25	20.0
5	+	0	-	30	25	5.0
6	-	+	0	0	50	12.5
7	+	-	0	30	0	12.5
8	0	0	0	15	25	12.5
9	0	-	-	15	0	5.0
10	0	0	0	15	25	12.5
11	-	0	-	0	25	5.0
12	-	0	+	0	25	20.0
13	0	0	0	15	25	12.5
14	-	-	0	0	0	12.5
15	+	+	0	30	50	12.5

Optimizasyon için bağımlı değişkenler duyuşsal kabul edilebilirlik, tekstürel sertlik, delta E ve yayılma oranı olarak belirlenmiştir. Optimizasyonun sonuçlarına ulaşmak için hedefler önemlidir [22]. Bu çalışmada, duyuşsal kabul edilebilirlik değerinin maksimum, sertlik ve delta E değerinin ise minimum olması istenmektedir. Benzer olarak, Mudgil ve ark.'nın [15], yaptıkları çalışmada da bisküvilerin hidrolize guar gam miktarı, su miktarı ve pişirme süresinin optimize edildiği çalışmada

bağımlı değişkenler yayılma oranı, sertlik derecesi ve genel duyuşsal kabul edilebilirlik olarak seçilmiştir.

Deneme deseni ile üretilen bisküvilerin bağımlı değişken olarak belirlenen kalite parametre değerleri Tablo 3'de verilmiştir. Tablo 3'den görüleceği gibi bisküvilerin sertlikleri 3162.92-7999.61 kg aralığında, genel kabul edilebilirlik değerleri 1-5 puan aralığında bulunmuştur. Yayılma oranları 5.02-19.32 aralığında, delta E değeri 3.82-11.17 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3. Glutensiz bisküvi formülasyonu için belirlenen bağımlı kalite parametrelerinin değerleri

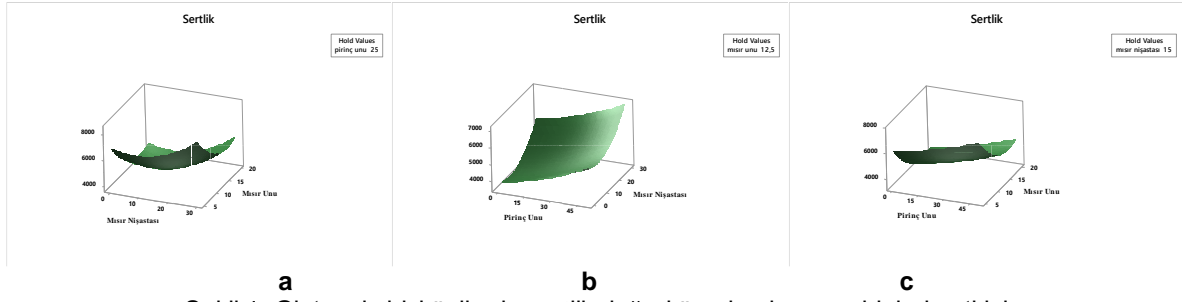
Deneme No	Tekstürel Sertlik Değeri (g)	Genel Kabul Edilebilirlik	Yayılma Oranı	Delta E
1	7999.61	4.0	5.48	4.66
2	4431.77	5.0	5.86	9.29
3	4561.45	1.5	6.90	9.04
4	5527.23	1.0	19.32	7.08
5	8498.89	1.0	6.87	4.43
6	5977.40	4.5	5.69	8.18
7	5535.08	1.5	6.67	8.30
8	4391.38	4.0	5.81	7.46
9	5807.20	2.0	6.75	5.95
10	4368.68	4.0	5.79	6.96
11	6924.37	3.0	6.04	3.82
12	4569.10	4.5	5.66	10.39
13	4350.83	4.0	5.65	7.314
14	3161.92	2.5	6.36	9.67
15	7292.10	4.5	5.02	11.17

### Sertlik Değeri Üzerine Hammaddelerin Etkisi

Sertlik değeri üzerine hammaddelerin etkisi Şekil 1, Tablo 4 ve 5'te verilmiştir. Sertlik değeri pirinç ununun sabit tutulduğu durumda (Şekil 1a) mısır nişastasının %10 oranlarında, mısır unun %15 oranlarında kullanıldığında en düşük değeri almıştır. Mısır ununun sabit tutulduğu durumda (Şekil 1b) pirinç ununun ve

mısır nişastasının en yüksek oranda kullanılması sertliğin artmasına sebep olmuştur. Pirinç ununun ve mısır nişastasının en az kullanılması ise sertliğin en düşük değeri almasını sağlamıştır. Mısır nişastasının sabit tutulduğu durumda (Şekil 1c) ise mısır unun %10 civarında pirinç ununun ise kullanılmadığı durumda sertlik değeri en düşük değerini almıştır.





Şekil 1. Glutensiz bisküvilerde sertlik değeri üzerine hammaddelerin etkisi

Tablo 4 ve 5'ten de görüldüğü gibi sertlik değeri için interaksiyon terimler önemsiz olarak belirlenmiştir ve sertlik parametresi için interaksiyon terimler [23] modelin anlamlılığını düşürdüğü için kullanılmamıştır. Modelin yeterliliği P-değeri, R<sup>2</sup> (regresyon katsayısı) ve uyum eksikliği ile belirlenmiştir [24]. R<sup>2</sup> değeri 1'e (100) yakın olan model deneysel verilere daha uyumlu olacaktır. Bu değer düşük olması veriye modelin uygun olmaması anlamına gelmektedir [25,26]. Sertlik değeri için R<sup>2</sup>

değeri 91.77, modelin anlamlılığı (P değeri) 0.001 ( $p < 0.001$ ), uyum eksikliği de 0.06 olarak belirlenmiş ve optimizasyon da sertlik parametresinin kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir. Benzer olarak Mudgil ve ark. [15], tarafından yapılan çalışmada sertlik değerinin R<sup>2</sup> değerini 0.95 (95.00) olarak belirlenmiş ve optimizasyon için anlamlı olduğunu bildirmiştir.

Tablo 4. Regresyon modellerinin önemi ve değişkenlerin glutensiz bisküvi unu özelliklerine etkisi

Varyansın Kaynağı	Tekstürel Sertlik Değeri (kg)	Genel Kabul Edilebilirlik	Yayımlama Oranı	Delta E
Lineer				
$\beta_1$	0.005	0.012	0.154	0.667
$\beta_2$	0.004	0.001	0.606	0.893
$\beta_3$	0.000	0.350	0.194	0.001
Kuadratik				
$\beta_{11}$	0.018	0.078	0.321	0.198
$\beta_{22}$	0.487	1.00	0.371	0.21
$\beta_{33}$	0.006	0.046	0.249	0.020
İnteraksiyon				
$\beta_{12}$	-	-	0.876	0.047
$\beta_{13}$	-	-	0.084	0.066
$\beta_{23}$	-	-	0.971	0.398
Uyum eksikliği	0.06	0.67	0.001	0.056
Model	0.001***	0.005**	ns	0.001***
R <sup>2</sup>	91.77	85.61	73.83	94.82

$\beta_0$  sabit katsayıyı,  $\beta_i$  birinci dereceden terim katsayılarını,  $\beta_{ii}$  ikinci dereceden terim katsayılarını, ve  $\beta_{ij}$  etkileşim terimlerine ait katsayıları ifade etmektedir. Genel eşitlik formu  $Z = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$ , \*, anlamlı  $p < 0.05$ ; \*\*, anlamlı  $p < 0.01$ ; \*\*\*, anlamlı  $p < 0.001$ ; ns, anlamlı değil ( $p > 0.05$ )

Tablo 5. Glutensiz bisküvi unu regresyon modelleri

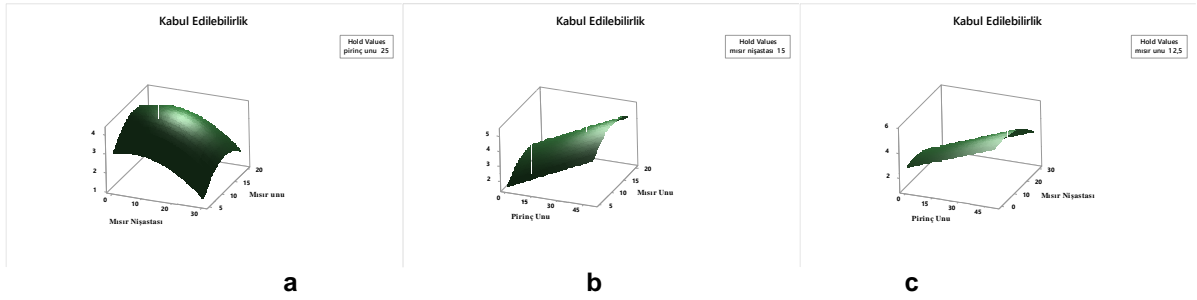
Bağımlı Değişkenler	Model
Sertlik	$9078 - 68.2X_1 + 15.5X_2 - 662X_3 + 4.00X_1 * X_1 + 0.353X_2 * X_2 + 19.72X_3 * X_3$
KE	$-0.10 + 0.0458X_1 + 0.0525X_2 + 0.422X_3 - 0.00333X_1 * X_1 - 0.000000X_2 * X_2 - 0.01556X_3 * X_3$
Yayımlama	$12.92 - 0.450X_1 + 0.104X_2 - 1.122X_3 + 0.00758X_1 * X_1 - 0.243X_2 * X_2 + 0.0359X_3 * X_3 - 0.0065X_1 * X_2 + 0.0285X_1 * X_3 + 0.00031X_2 * X_3$
DELTA E	$Y = 1.96 - 0.0587X_1 - 0.1832X_2 + 1.007X_3 + 0.00286X_1 * X_1 + 0.002312X_2 * X_2 - X_3 + 0.00291X_1 * X_2 - 0.00871X_1 * X_3 + 0.00206X_2 * X_3$

X<sub>1</sub>: Mısır nişastası, X<sub>2</sub>: Pirinç unu, X<sub>3</sub>: Mısır unu

## Genel Kabul Edilebilirlik Değeri Üzerine Hammaddelerin Etkisi

Genel kabul edilebilirlik değeri üzerine hammaddelerin etkisi Şekil 2, Tablo 4 ve 5'te verilmiştir. Genel kabul edilebilirlik değeri üzerinde lineer ve kuadratik terimlerin önemli olduğu belirlenmiştir. Pirinç ununun sabit tutulduğu Şekil 2a'da görüldüğü gibi mısır nişastasının %10 miktarından daha fazla kullanımı kabul edilebilirliğin azalmasına sebep olmuştur. Mısır ununun %10 civarında kullanımı kabul edilebilirliği artırırken daha fazla kullanılması bu değeri olumsuz etkilemiştir.

Mısır nişastasının sabit tutulduğu durumda (Şekil 2b) pirinç unu kullanım miktarı arttıkça kabul edilebilirlik artmış, mısır ununun %10-15 oranında kullanımı bu değer için en yüksek rakamı almasını sağlamıştır. Pirinç ununun en fazla, mısır ununun ise %10-15 civarında kullanıldığı durumda kabul edilebilirlik en yüksek değeri almıştır. Mısır ununun sabit tutulduğu durumda (Şekil 2c) mısır nişastasının %10 civarında ve pirinç ununun maksimum oranda kullanılması kabul edilebilirlik değerinin en yüksek olmasına sebep olmuştur. Kabul edilebilirlik değerinde en yüksek değer için, pirinç ununun maksimum oranda, mısır unu ve mısır nişastasının %10-15 civarında kullanılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 2. Glutensiz bisküvilerde kabul edilebilirlik değeri üzerine hammaddelerin etkisi

Tablo 4 incelendiğinde KE değeri için  $R^2$  değeri 85.61, modelin anlamlılığı (P değeri) 0.005 ( $p \leq 0.01$ ), uyum eksikliği de 0.67 olarak belirlenmiş ve optimizasyon da KE parametresinin de kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir. Benzer olarak Mudgil ve ark. [15], tarafından yapılan çalışmada KE değerinin  $R^2$  değerini 0.75 (75.00) olarak belirlenmiş ve optimizasyon için anlamlı olduğunu bildirmiştir.

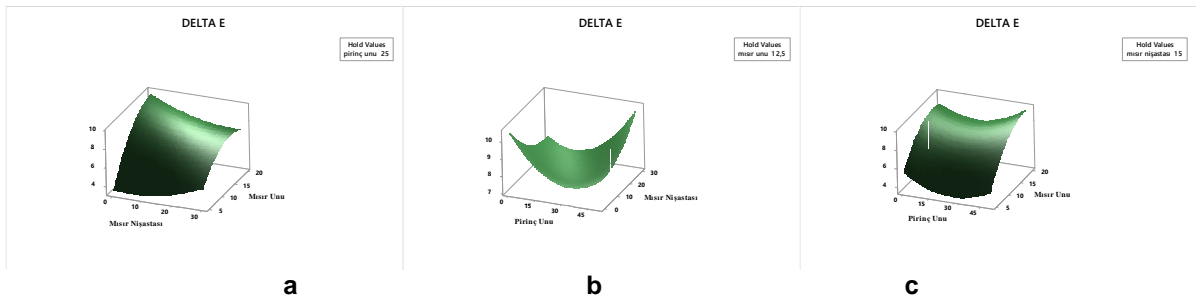
## Yayıma Değeri Üzerine Hammaddelerin Etkisi

Yayıma değeri üzerine hammaddelerin etkisi Tablo 4 ve Tablo 5'de verilmiştir. Tablo 4 incelendiğinde  $R^2$  (regresyon katsayısı) değerinin 73.83 olduğu uyum eksikliği değerinin 0.001 olduğu görülmektedir. Uyum eksikliği oluşturulan modelin çevresindeki verilerin varyasyonudur ve modelin uygunluğunun yeterliliğini test eder. Bu değer  $p > 0.005$  olması istenir [27]. Yapılan çalışmada uyum eksikliği değerinin çok düşük olduğu görülmektedir. P değerleri modelin anlamlılığını belirten değerdir ve 0.05'ten küçük olması modelin

anlamlı olduğunu ifade etmektedir [28,29]. Tablo 4'ten de görüldüğü üzere modellerin P değerinin yayılma parametresi için 0.05'den büyük olduğu ve bu yüzden modellerin anlamlı olmadığı, optimizasyonda yayılma parametresinin kullanılamaz olduğu belirlenmiştir.

## Delta E Değeri Üzerine Hammaddelerin Etkisi

Delta E değeri üzerine hammaddelerin etkisi Şekil 4'de ve Tablo 4 ve 5'te verilmiştir. Delta E değeri üzerinde lineer, kuadratik ve interaksiyon terimleri önemli olduğu belirlenmiştir.  $R^2$  değeri 94.82, uyum eksikliği  $p > 0.005$  ve modelin P değeri 0.001 ( $p \leq 0.001$ ) olup Delta E değerinin optimizasyon için önemli bir parametre olduğu görülmektedir. Pirinç ununun sabit tutulduğu durumda (Şekil 4a) mısır nişastası ve mısır ununun kullanım oranının artması delta E değerinin artmasına, mısır ununun sabit tutulduğu durumda (Şekil 4b) mısır nişastasının yüksek oranda kullanımı ve pirinç ununun az oranda kullanımı delta E değerinin artmasına sebep olmuştur.



Şekil 3. Glutensiz bisküvilerde Delta E değeri üzerine hammaddelerin etkisi

Mısır nişastasının sabit tutulduğu durumda (Şekil 4c) ise mısır ununun %10 oranından fazla olması pirinç ununun ise %15-30 oranlarından az ya da fazla olması delta E

değerinin artmasına sebep olduğu belirlenmiştir. Delta E değeri en düşük değeri pirinç ununun %15-30

oranlarında kullanıldığı, mısır ununun en düşük miktarda kullanıldığı durumda almıştır.

### Model Doğrulama

Optimizasyon sistemi, glutensiz bisküvi formülasyonu için optimum özelliklere sahip formülasyonu %7 mısır

nişastası, %40 pirinç unu, %8 mısır unu ve %45 patates nişastası olacak şekilde oluşturulan formülasyon olarak belirlemiştir. Modelin doğrulanması için sistem tarafından belirlenen formüle uygun bisküvi örnekleri üretilmiş ve Tablo 6'da görülen tüm parametreler ölçülmüştür.

Tablo 6. Model doğrulama

Analiz	Sistemin Belirlediği Güven Aralığı %95 CI	Sonuç
Tekstürel Sertlik	4956; 6254	4978
Genel Kabul Edilebilirlik	3.794; 5.384	4.8
Delta E	4.739; 7.031	4.832

Modelin geçerliliği için bağımlı değişkenlerin regresyon katsayısı, P değeri, uyum eksikliği testi analiz edilmiştir. Modelin doğrulanması için Tablo 6 incelendiğinde elde edilen sonuçlar ile yapılan örneklerin sonuçların sistemde belirlenen güven aralıklarından %95CI (Confidence Interval) güven aralığına girmesi gerekmektedir. Tablo incelendiğinde sonuçların %95 CI güven aralığında olduğu belirlenmiştir.

### SONUÇ

Sonuç olarak optimizasyonu yapılarak oluşturulan glutensiz bisküvi unu formülasyonu olarak %7 mısır nişastası, %40 pirinç unu, %8 mısır unu ve %45 patates nişastası ile oluşturulan formülasyonun kabul edilebileceği ve bundan sonraki glutensiz bisküvi çalışmalarında bu formülasyonun geliştirilerek kullanılabilmesi belirlenmiştir.

### KAYNAKLAR

- [1] Kent, N.L., Eversan, A.D. (1994). Introduction for students of food science and agriculture. Technology of cereals, Elsevier Science, Oxford.
- [2] Murray, J.A. (1999). The widening spectrum of celiac disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 354-365.
- [3] İşleröglü, H., Dirim, S., Ertekin, F. (2009). Gluten içermeyen, hububat esaslı alternatif ürün formülasyonları ve üretim teknolojileri. *Gıda*, 34(1), 29-36.
- [4] Nehra, V., Marietta, E., Murray, J. (2013). Celiac disease. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 298-306.
- [5] Rinaldi, M., Paciulli, M., Caligiani, A., Scazzina, F., Chiavaro, E. (2017). Sourdough fermentation and chestnut flour in gluten-free bread: A shelf life evaluation. *Food Chemistry*, 224(1), 144-152.
- [6] Shewry, P.R., Tatham, A.S. (2016). Improving wheat to remove coeliac epitopes but retain functionality. *Journal of Cereal Science*, 67, 12-21.
- [7] Nylund, L., Kaukinen, K., Lindfors, K. (2016). The microbiota as a component of the celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *Clinical Nutrition Experimental*, 6, 17-24.
- [8] Leibold, B., Sanders, D.S., Green, P.H.R. (2018). Celiac disease. *The Lancet*, 391, 70-81.

- [9] Tursi, A., Brandimarte, G., Giorgetti, G., Gigliobianco, A., Lombardi, D., Gasbarrini, G. (2001). Low prevalence of antigliadin and anti-endomysium antibodies in subclinical/silent celiac disease. *National Library of Medicine National Institutes of Health*, 96, 10.
- [10] Rampertab, S.D., Pooran, N., Brar, P., Singh, P., Green, P.H. (2006). Trends in the presentation of celiac disease. *National Library of Medicine National Institutes of Health*, 119, 9-14.
- [11] Rosell, C.M., Raquel Garzon, R. (2015). Chemical composition of bakery products. Handbook of Food Chemistry, Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.
- [12] Hayıt, F., Gül, H. (2017). Çölyak ve çölyak hastaları için üretilen ekmeklerin kalite özellikleri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7, 163-169.
- [13] Renzetti, S., Bello, F.D., Arendt, E.K. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48, 33-45.
- [14] Moroni, A.V., Bello, F.D., Arendt, E.K. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: an ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26, 676-684.
- [15] Mudgil, D., Barak, S., Khatkar, B.S. (2017). Cookie texture, spread ratio and sensory acceptability of cookies as a function of soluble dietary fiber, baking time and different water levels. *Food Science and Technology*, 80, 537-542.
- [16] Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., Escalera, L.A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76, 965-977.
- [17] Ferreira, S.L.C., Bruns, R.E., Ferreira, H.S., Matos, G.D., David, J.M., Brandão, G.C., Silva, E.G.P., Portugal, L.A., Reis, P.S., Souza, A.S., dos Santos, W.N.L. (2007). Box-Behnken Design: an Alternative for the Optimization of Analytical Methods. *Analytica Chimica Acta*, 597, 179-186.
- [18] Salinas, M.V., Zuleta, A., Ronayne, P., Puppo, M.C. (2012). Wheat Flour Enriched with Calcium and Inulin: A Study of Hydration and Rheological Properties of Dough. *Food Bioprocess and Technology*, 5, 3129-3141.
- [19] Anonim, (2001). AACC Method 08,-01, 10-50D, 38-10, 56-60, 56-81B. Third Edition. American

- Association of Cereal Chemists, Inc, St. Paul, Minnesota, USA.
- [20] Gül, H., Yanık, A., Acun, S. (2013). Effects of white cabbage powder on cookie quality. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 11(1), 68-72.
- [21] Kittisuban, P., Ritthiruangdej, P., Suphantharika, M. (2014). Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast  $\beta$ -glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. *Food Science and Technology*, 57, 738-748.
- [22] Cevik, Ş., Aydın, S., Sermet, O.S., Özkan, G., Karacabey, E. (2017). Optimization of olive oil extraction process by response surface methodology. *Akademik Gıda*, 15(4), 337-343.
- [23] Myers, R.H., Montgomery, D.C. (1995). Response surface methodology, process and product optimization using designed experiments. John Wiley and Sons, New York.
- [24] Nazni, P., Gracia, J. (2014). Application of response surface methodology in the development of barnyard millet bran incorporated bread. *International Journal of Innovative Research in Science Engineering and Technology*, 9(3), 16041-16048.
- [25] Sahoo, C., Gupta, A.K. (2012). Optimization of photocatalytic degradation of methyl blue using silver ion doped titanium dioxide by combination of experimental design and response surface approach. *Journal of Hazardous Materials*, 215, 302-310.
- [26] Shamun, S., Haşimoğlu, C., Murcak, A., Andersson, Ö., Tuner, M., Tunestal, P. (2017). Experimental investigation of methanol compression ignition in a high compression ratio engine using a box-behnken design. *Fuel*, 1, 624-633.
- [27] Nam, S.N., Cho, H., Han, J., Her, N., Yoon, J. (2018). Photocatalytic degradation of acesulfame K: optimization using the Box-Behnken design (BBD). *Process Safety and Environmental Protection*, 113, 10-21.
- [28] Körbahti, B.K. (2007). Response surface optimization of electrochemical treatment of textile dye wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 145, 277-286.
- [29] Körbahti, B.K., Rauf, M.A. (2009). Determination of optimum operating conditions of carmine decoloration by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> using response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials*, 161, 281-286.
-

## Buğday Unu Renginin Yatık Tarayıcı Kullanılarak Belirlenmesi

Farhan Alfin , Tuğba Yazıcı Çakıroğlu 

Avrasya Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yomra, Trabzon

Geliş Tarihi (Received): 08.10.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 12.04.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): Farhan.alfin@avrasya.edu.tr (F. Alfin)

☎ 0 462 344 05 11 📠 0 462 344 05 19

### ÖZ

Un rengi buğday ununun çok önemli bir kalite karakteristiğidir ve un değirmeninin çalışmasını kontrol etmek için sık sık ölçülür. Buğday unu değirmeni laboratuvarları, CIE renk sisteminin  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri olarak adlandırılan buğday unu rengini ölçmek için renk cihazı kullanır. Yatık (flatbed) tarayıcı hala pahalı bir cihaz olan kolorimetrenin ucuz bir alternatifi olarak gıdaların rengini ölçmek için kullanılır. Bu yüzden dijital görüntü analizi ile buğday unu rengini ölçmek için flatbed tarayıcı kullanabilme bu çalışmanın temel amacıdır. Bu çalışmada, bir endüstriyel değirmenin farklı pasajlarından alınan 16 buğday unu örneği kullanıldı. Buğday unu örneklerinin kül içeriği ölçüldü. Örnek renk değerleri  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  flatbed tarayıcı ile algılanan görüntünün analiz tekniği ve ticari bir renk ölçüm cihazı (kolorimetre) kullanılarak belirlendi. Buğday unu örnekleri kuru un ve sıvı un (un-su karışım) olarak cihazlara sunuldu. Kuru ve un-su karışım örnekleri için kolorimetre ve dijital görüntü analizinden elde edilen  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin kombinasyonu arasındaki korelasyon katsayısı hesaplandı. Sonuçlar, kuru ve sıvı un örnekleri için kül içeriği ile kolorimetre ve dijital görüntü analizi tekniği ile belirlenen un parlaklığı ( $L^*$  değeri) arasında negatif bir korelasyon gösterdi. Sıvı un örneklerini ölçerken korelasyon katsayısında bir artış fark edildi. Kolorimetrenin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  kombinasyonları ile sayısal görüntü analizi arasında sadece sıvı un örnekleri için anlamlı bir ilişki bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Buğday unu, Renk, Kül, Görüntü analizi, Tarayıcı

### Determining Color of Wheat Flour Samples Using a Flatbed Scanner

#### ABSTRACT

Flour color is a very important quality characteristic of wheat flour, and it is frequently determined to control flour mill operation. Wheat flour mill laboratories use colorimeter to determine the color of wheat flour samples, which is represented as  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values in the CIE color system. A flatbed scanner is generally used to determine the color of foods as a cheap alternative to a colorimeter, which is still an expensive instrument. So, the ability of using a flatbed scanner to determine the color of wheat flour by digital image analysis was the main aim of the present study. Sixteen wheat flour samples from different milling streams of an industrial mill were used in this study. Ash content of wheat flour samples was determined. The  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  color values of the samples were determined using image analysis technique for the image acquired by a flatbed scanner and a commercial colorimeter. Wheat flour samples were presented to instruments as a dry flour sample and a slurry sample. Correlation coefficient between combination of  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values obtained from the colorimeter and digital image analysis for dry and slurry samples were calculated. The results showed a negative correlation between ash content and the flour brightness ( $L^*$  value) which is determined by the colorimeter and digital image analysis technique for dry and slurry flour samples. An increase in the correlation coefficient was noticed when determining the color for the slurry flour samples. Significant correlation between  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  color values of the colorimeter and digital image analysis were found for slurry samples only.

**Keywords:** Wheat flour, Color, Ash, Image analysis, Flatbed scanner

## GİRİŞ

Gıda ürünlerinin tüketiciler tarafından ilk değerlendirildiği kalite kriteri renktir. Tüketici, gıdanın rengi ile gıdanın yemeye uygunluğunu ve üretim işleme kalitesini ilişkilendirir. Dolayısıyla tüketici gıda rengine göre o gıdanın kabulüne veya reddine karar verir. Gıda endüstrisinde, hammadde ve gıda ara ürünlerinden son ürüne kadar, renk önemli fiziksel kalite kriterlerinden biridir [1-5]. Keskin ve ark. [2] çalışmasında renk ölçüm sistemlerinin gıda alanında; meyve ve sebze olgunluk durumu, kalitesi, kurutulmuş ürünlerin renk kalitesi ile ham ve işlenmiş gıda maddelerinin renk kalitesinin belirlenmesinde kullanılması üzerine olan çalışmaları derlemiştir.

Değirmenin öğütme etkinliğini ve unun kalitesini değerlendirmede unun kül miktarı kullanılır ancak unun kül miktarını tayin etmek için kullanılan bu standart yöntem uzun zaman almaktadır. Fakat değirmende öğütme işlemi sırasında hızlı sonuçlara ihtiyaç vardır. Daha önce yapılan araştırmalara göre kül miktarı ile unun rengi arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Unun rengini, buğdayın çeşidi ve yetiştirme koşullarının yanı sıra randıman, tavlama ve ağartma işlemleri gibi öğütme süreci de etkilemektedir [6, 7]. Bu yüzden değirmen laboratuvarında unun kepek içeriğini ve değirmenin öğütme performansını göstermek için unun rengi sık sık ölçülmektedir. Ekmek, bisküvi, erişte ve makarna gibi günlük öğünün %30'unu teşkil eden buğday unu ürünlerinde buğday unu temel hammadde olmaktadır. Dolayısıyla unun rengi, ürünlerin kalitesinde ve ürün renginin oluşmasında önem taşımaktadır. Böylece un renginin unun kalite kriterlerinden biri olduğu açıklanmıştır [8, 9].

Gıda renginin ölçülmesi, gıdanın çoğunlukla duyu analizi ve bileşenlerinin laboratuvar analizi ile değerlendirilmesinden daha kolay bir yöntemdir [5, 10]. Un rengi göz ile duyu olarak, renk ölçer ve görüntü işleme teknikleri ile saptanabilir. AACC 14-10.01 standart metodunda un örneği standart un örneğinin rengi ile göz ile mukayese edilerek değerlendirilir [11]. Ancak bu metodun sonuçları kişiye bağlı ve yorucu bir iş olmasının yanında aydınlatma değiştiğinde farklı sonuçlar verir. Günümüzde renk ölçüm cihazları birçok endüstride renk ölçümlerinin doğru bir şekilde yapılması için kullanılan standart araçlardır ve ayrıca proses zinciri boyunca tane, un, hamur ve işlenmiş son üründe dahil olmak üzere tahıl ürünlerine uygulanabilir. Renk ölçümünde, standardize edilmiş, karşılaştırmalı renk ölçümleri için cihazdan bağımsız bir renk skalası Commission Internationale de L'Eclairage (CIE) (1986) L\* (parlaklık) ve a\*, b\* üç boyutlu tüm algılanabilir renkleri içeren renk ölçüm sistemine dayanan cihazlar kullanılmaktadır. Bu metod hızlı, basit ve doğru sonuç vermesi açısından tercih edilmektedir [8, 9, 12, 13]. CIELAB renk formatında renk üç boyut ile ifade edilir. Bunlar; L\*: parlaklık (0: Siyah, 100: Beyaz), a\*: kırmızılık yeşillik (-60: yeşil, +60: kırmızı), b\*: sarılık mavilik (-60: mavi, +60: sarı) olarak simgelenir [2, 5, 7]. L\* a\* b\* alanı algısal olarak homojendir, yani iki farklı renk arasındaki öklid mesafesi, insan gözünün algıladığı renk farkına karşılık gelir [1, 5].

Unun renk değeri ve kül miktarı arasındaki ilişki birçok araştırmada incelenmiştir. Unun CIELAB sistemi kullanılan cihaz ile L\* değeri ve kül miktarı arasında doğrusal ilişki bulunmuştur. Yüksek un verimi, undaki kül miktarını artırır ve rengin koyu olmasına sebep olur. Unun kül miktarı ile unun rengi arasında genelde yüksek bir ilişki bulunduğundan değirmenin çalışmasının kontrolünde un rengi kullanılabilir [8, 9, 12]. Bu cihazlar ile un renk tayininde ölçülen alan küçük olduğu için, rengi iyi bir şekilde temsil etmemesine rağmen en çok kullanılan cihazlar spektrofotometre tekniğine dayanan cihazlardır [1, 12].

Görüntü işleme teknikleri gıda ürünlerinin renk ölçümü ve kalitesinin değerlendirilmesinde hızlı ve daha doğru sonuç verdiği için son yıllarda çok yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikler ile gıdaların çeşitli fiziksel kimyasal ve duyu kalite kriterlerine bağlı olan gıdanın boyut, şekil, tekstür ve rengi gibi gıdanın çeşitli dış yüzey özellikleri saptanabilir [1, 5, 10, 14, 15]. Görüntü işleme, görüntüyü analiz eden ve görüntülerden anlamlı veriler çıkarmak için kullanılan bir yöntemdir [16]. Görüntü işleme tekniği; kamera, tarayıcı vb. araçlar tarafından bilgisayara aktarılan görüntülerin özel programlar aracılığıyla incelenmesini içerir [17]. Sanayi, güvenlik, jeoloji, tıp, tarım, gıda gibi çeşitli alanlarda görüntü işleme tekniğinden yararlanılmaktadır. Tarımda meyvelerde renk analizi, sınıflandırma, kök gelişiminin izlenmesi, yaprak alanının ölçümü ve yabancı otların belirlenmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır [16]. Görüntü işleme tekniği un parçacıkları ve buğday tanelerinin boyutlarını ölçme gibi tahıl teknolojisinde otuz yıldan fazla süredir kullanılmaktadır [8]. Symons ve ark. [18] çalışmasında görüntü analiz tekniğini un saflığını saptamada kullanmıştır. Algılanan görüntüyü bilgisayar programı (AT-IBAS, Kontron Elektronik, Eching, Almanya) ile analiz etmiştir. Unda bulunan alerjen ve pericarp tabakalarının parçacıklarının miktarı ile kül oranı ve L\* değeri arasında bir ilişki bulunmasının yanında; L\* değerinin parçacıkların iriliklerine duyarlılığı düşüktür, a\* ve b\* değerleri nem oranına duyarlı ve b\* değeri parçacıkların iriliklerinden etkilenir [18].

İrmikte beneklerin sayılarını saymaya tasarlanmış SPX cihazı ile görüntü işleme tekniğini unda kepek taneciklerinin sayısını tayin etmede Kim ve Flores (1999) kullanmışlardır. Kül ve benek sayısı arasındaki anlamlı bir korelasyon katsayısını, kül ve spektrofotometre cihazı ile ölçülen L\* değeri arasındaki korelasyon katsayısından daha yüksek bulmuşlardır. Kepek benekleri büyüklüğü hesaba dahil edilirse muhtemelen kül miktarı tahmini iyileştirilebilir. SPX görüntü analizcisinin tekrarlanabilirlik ve değişkenlik çalışmaları, örnek hazırlamanın tutarlı sonuçlar elde etmede çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir [8].

Farklı yem diyetleri ile beslenen mersin balığı filetoalarının farklı saklama zamanlarında renk özelliklerini incelemek amacıyla renk ölçüm modeli olarak CIELAB sisteminde tasarlanan bir kameralı görüntüleme sistemi ile renk ölçeri (Minolta CR 200) karşılaştırılmıştır. Kameralı görüntüleme sisteminin küçük renk farklarını renk ölçerden daha hassas algılayabildiği belirtilmiştir [19].

Vidal ve ark. [20] portakalın renk özelliklerine göre sınıflandırılması amacıyla tasarlanmış biri laboratuvar tipi ve diğeri endüstriyel tip olmak üzere iki adet kameralı görüntüleme sistemi ile renk ölçeri (Minolta CM 700d) karşılaştırmıştır. Laboratuvar tipi kameralı görüntüleme sisteminin endüstriyel sistemden biraz daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir.

Görüntü işleme tekniğinin renk ölçüm cihazlarına göre daha ucuz ve duysal renk değerleriyle ilişkisinin daha yüksek olduğu bulunmuştur [5, 12]. Tarayıcıya dayanan görüntü işleme sistemlerinin kameralı dayananlardan daha ucuz ve çevre etkisine daha az duyarlı olduğu saptanmıştır [21].

Değirmenin çalışma performansının kontrolü ve un renginin kalite kontrolü için un rengi sık sık ölçülür. Genellikle un rengini ölçmek için renk ölçüm cihazı kullanılır. Flatbed tarayıcı un rengini ölçmek için daha ucuz bir seçenek olabileceği için bu çalışmada flatbed tarayıcının kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bunun için flatbed tarayıcıdan elde edilen görüntünün görüntü işleme ile analiz edilerek elde edilen renk değerleri ve Konica Minolta cihazından elde edilen renk değerleri karşılaştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Bu çalışmada, bir un fabrikası pasajlarından alınan 16 un örneği materyal olarak kullanılmıştır. Un fabrikası 5 kırma (B1-B5) 10 öğütme (C1-C10) pasajından oluşur. Birinci ve ikinci pasajdan alınan unlar 8 valsli bir makinada işleme tabii tutulduğundan bu pasajlardan elde edilen un B1+B2 olarak adlandırılır. B1+B2 ve B3 pasajlarından elde edilen ince "middlings" uygun öğütme pasajına gönderilmeden önce middlingste kalan unun ayrılması için tekrar elenir. Bu elekten alınan un DIV unu olarak adlandırılır. Kepek, temizleme işleminde elekten elenir. Elde edilen un DF olarak adlandırılır.

### Metot

Un örneklerinin nem ve kül oranları NIR Inframatic 8600 (Pertem, İsveç) cihazının kullanma kılavuzuna göre ölçülmüştür [22].

Un örneklerinin rengi hem kuru haldeyken hem de sıvı hamur haldeyken ölçülmüştür. 30 g un 50 mL distile su ile iyice karıştırılıp sıvı örnekler oluşturulmuştur. Un örneklerinin CIE L\* (parlaklık) ve a\*, b\* renk değerleri Konica Minolta Spectrophotometer CM-3500d (Konica Minolta, Japonya) cihazı kullanılarak okunmuştur [23]. 30 mm ölçme çapı, parlaklık tutucu dahil (SCI), gözleme açısı 10°, CIE standart ışık kaynağı D<sub>65</sub> ayarlarında renk değerleri okunmuştur. Beyaz CM-A120 plakası ve siyah CDM-A124 plakası kullanılarak cihaz kalibre edilmiştir [23].

Görüntü işleme ile un örneklerinin rengini ölçmek için Microtek Scan Maker 3880 tarayıcı ile Scan Wizard5 yazılım kullanılarak bir görüntü elde edilmiştir. Tarayıcı kalibrasyonu için Color Savvy CM2-69 system (Color

savvy, ABD) siyah ve beyaz plakası kullanılmıştır. Un örneklerinin kuru halde görüntüsü elde edilirken 50 gr un örnek, tarayıcının camı üzerinde yayılarak 10x10 cm boyutlu bir görüntü elde edilmiştir. Sıvı haldeki örnekler ise 9 cm çaplı cam petri kabına koyulup petri kabı da tarayıcının camı üzerine konularak 3x3 cm boyutlu bir görüntü elde edilmiştir. Tarayıcının çözünürlüğü 600 dpi'ye ayarlanmıştır. Görüntüleri kazandıktan sonra analiz yapabilmek için görüntüler BMP uzantılı dosyalara kayıt edilmiştir.

Delphi yazılımında hazırlanmış yazılım ile elde edilen görüntü dosyaları kullanılarak RGB değerleri gözleme açısı 10° ve CIE standart ışık kaynağı D<sub>65</sub> ayarlanarak L\*, a\* ve b\* ortalama değerleri ve standart sapma hesaplanmıştır. RGB renk formatından CIELAB renk formatına dönüştürmek için aşağıdaki aşamalar kullanılmıştır. sRGB renk değerleri hesaplamak için RGB renk değerleri 255'ye bölüldükten sonra sRGB değerleri aşağıdaki bağıntılara göre hesaplanmıştır [15]. CIE XYZ renk formatı ile RGB renk formatı arasındaki bağıntı:

$$\begin{aligned} \hat{R} &= \frac{R}{255} & \hat{G} &= \frac{G}{255} & \hat{B} &= \frac{B}{255} \\ \hat{R}, \hat{G}, \hat{B} &\leq 0.04045 \text{ ise} \\ sR &= \frac{\hat{R}}{12.92} & sG &= \frac{\hat{G}}{12.92} & sB &= \frac{\hat{B}}{12.92} \\ \hat{R}, \hat{G}, \hat{B} &> 0.04045 \text{ ise} \\ sR &= -\left(\frac{-\hat{R}+0.055}{1.055}\right)^{2.4} & sG &= -\left(\frac{-\hat{G}+0.055}{1.055}\right)^{2.4} & sB &= \\ &-\left(\frac{-\hat{B}+0.055}{1.055}\right)^{2.4} \end{aligned}$$

sR, sG ve sB değerleri 100 ile çarpılarak CIE XYZ değerleri CIE standart ışık kaynağı D<sub>65</sub> için aşağıdaki denklemler ile hesaplanmaktadır.

$$\begin{aligned} X &= 0.412453 sR + 0.357580 sG + 0.180423 sB \\ Y &= 0.212671 sR + 0.715160 sG + 0.072169 sB \\ Z &= 0.019334 sR + 0.119193 sG + 0.950227 sB \end{aligned}$$

CIE XYZ değerleri CIE Lab değeri dönüştürmek için aşağıdaki bağıntılar kullanılmaktadır:

$$\begin{aligned} L^* &= 116 f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - 16 \\ a^* &= 500 \left[ f\left(\frac{X}{X_n}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) \right] \\ b^* &= 200 \left[ f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - f\left(\frac{Z}{Z_n}\right) \right] \end{aligned}$$

Burada

$$f(\alpha) = \begin{cases} \alpha^{\frac{1}{3}} & \alpha \geq 0.008856 \\ 7.787 \alpha + \frac{16}{116} & \alpha < 0.008856 \end{cases}$$

X<sub>n</sub>, Y<sub>n</sub>, ve Z<sub>n</sub> gözleme açısı 10° için (X<sub>n</sub>=94.811, Y<sub>n</sub> = 100.00, Z<sub>n</sub> =107.304) değerlerini alır [13].

Elde edilen verilerin istatistik analiz ve değerlendirmeleri Minitab ver. 16 paket programı ile yapılmıştır.

**BULGULAR VE TARTIŞMA**

Un örneklerin nem ve kül oranları Tablo 1'de gösterilmiştir. Un örnekleri un fabrikasının tüm pasajlarından alındığından kül oranı geniş bir aralık göstermektedir. En yüksek kül oranı (%1.086) C9

pasajına ve en düşük kül oranı (%0.432) C2 pasajına aittir. Kırma ve öğütme pasajlarının sonlarına doğru gidildikçe nem miktarı genel olarak azalırken kül miktarı artmıştır. Alfin ve Çakmaklı [24] ile Göçmen [25] yaptığı araştırmalarda benzer sonuçları elde etmiştir.

Tablo 1. Un örneklerin nem ve kül oranları

Örnek	Nem %	Kül %	Örnek	Nem %	Kül%
B1+B2	15.00	0.627	C4	13.80	0.520
B3	14.90	0.670	C5	14.20	0.524
B4	14.50	0.925	C6	14,40	0.823
DIV	14.80	0.697	C7	14.00	0.687
C1A	14.60	0.439	C8	13.90	0.888
C1B	14.30	0.621	C9	13.90	0.968
C2	14.40	0.432	C10	13.90	1.086
C3	14.00	0.434	DF	14.60	1.052

Un örneklerinin Konica Minolta renk cihazı ile elde edilen L\* (parlaklık) ve a\* b\* renk değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Tablo 2'nin gösterdiği gibi kuru un örneklerinin renginin L\* ortalama değeri 91.38, a\* ortalama değeri +0.71 ve b\* ortalama değeri +11.9 olarak gözlenmiştir. %72 randımanlı bir unun 92.5 civarında L\* değeri, -2.5 civarında a\* değeri ve +6.9 civarında b\* değeri ile çok hafif sarı renkte olduğu tespit edilmiştir [26]. Kırma ve öğütme pasajlarının sonlarına doğru gidildikçe L\* değeri genel olarak azalırken a\* ve b\* değerleri artmıştır. Yapılan araştırmada kırma pasajların ve kepekli pasajların unlarının L\* değeri öğütme pasajların unlarının L\* değerinden daha düşük bulunurken a\* ve b\* değerleri daha yüksek bulunmuştur [87, 27].

Sıvı un örneklerinin renginin L\* (parlaklık) ortalama değeri 84.82, a\* ortalama değeri +1.32 ve b\* ortalama değeri +16.81 gözlenmiştir. Sonuçlara göre sıvı un örneklerinin L\* değerleri kuru örneklerin değerlerinden daha düşük, a\* ve b\* değerlerinin ise daha yüksek olduğu görülmüştür. Oliver ve ark. [12] yaptıkları araştırmada ıslak un örneklerin L\* değeri kuru örneklerin değerinden daha düşük ve a\* ve b\* değerlerinin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Sıvı örneklerin L\* değerlerinin standart sapma değerinin (3.26) kuru örneklerin değerinden (1.83) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Un örnekleri sıvı olduğunda rengin L\* (parlaklık) değerleri ile daha rahat ayırt edilebildiği açıklanmaktadır.

Tablo 2. Un örneklerinin Konica Minolta cihazı ile okunan L\* (parlaklık), a\* ve b\* renk değerleri

Örnek	Kuru örnek			Sıvı örnek		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
B1+B2	92.51	0.54	10.51	85.95	1.08	15.54
B3	92.13	0.56	11.01	85.66	1.14	16.37
B4	90.47	0.86	11.80	81.59	1.83	17.75
DIV	91.26	0.71	11.44	84.61	1.37	16.45
C1A	93.32	0.51	11.56	88.66	0.53	15.70
C1B	92.36	0.53	11.22	86.05	1.07	16.01
C2	93.53	0.43	11.50	88.81	0.54	15.76
C3	93.81	0.40	11.53	89.00	0.44	15.65
C4	92.87	0.47	11.41	87.68	0.70	15.81
C5	93.26	0.45	11.56	87.96	0.66	16.40
C6	89.35	1.03	13.65	83.21	1.82	17.15
C7	90.96	0.79	13.26	85.30	1.26	16.89
C8	89.63	0.96	13.01	82.26	1.83	17.81
C9	88.76	1.07	11.87	79.44	2.60	19.09
C10	88.49	1.16	14.02	81.68	1.99	18.26
DF	89.44	0.95	11.15	79.22	2.32	18.28
Ortalama	91.38±1.83	0.71±0.26	11.91±1.01	84.82±3.26	1.32±0.68	16.81±1.12

Kuru un ve sıvı halde un örneklerin görüntü işleme ile hesaplanan L\* a\* ve b\* değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Kuru un örneklerinin görüntü işleme ile hesaplanan L\* değerinin ortalaması 99.66 olup, a\* değeri-1.79 ve b\* değeri 5.5 olarak gözlenmiştir. Sıvı haldeki örneklerin L\* değerinin ortalaması 90.68, a\* değeri-2.51 ve b\* değeri 24.38 bulunmuştur. Bu değerler Konica Minolta cihazı ile okunan değerlerden farklı

olduğundan tarayıcının kalibre işleminin farklı olduğu belirlenebilir. Oliver ve ark. [12] yaptıkları araştırmada üç farklı renk ölçme cihazında (Micromatch 2000, Hunterlab D25-9SM ve Minolta CR 200) un örnekleri renklerinin ortalama değerlerinin biraz farklı olmasına rağmen örneklerin aynı sıralamayı verdiklerini açıklamışlardır.



Görüntü işleme ile hesaplanan renk değerlerinde sıvı halde un örnekleri değerlerinde kuru un örneklerine göre L\* ve a\* değeri düşerken b\* değeri yükselmiştir. Kuru örneklerin görüntü işleme ile hesaplanan L\* değerlerinin standart sapması (0.22) Konica Minolta cihazı ile okunan değerlerin standart sapmasına göre (1.83) çok düşük olduğundan, görüntü işleme ile hesaplanan L\*

değeri ile kuru örneklerin ayrılması daha zor olabilir. Sıvı halde örneklerde ise tam ters bir sonuç elde edilmiştir. Başka bir ifade ile sıvı halde un örneklerinin görüntü işleme ile hesaplanan L\* değerlerinin standart sapması (4.21) en yüksek standart sapma olduğundan bu şartlar ile örneklerin ayrılması daha kolay olabilir.

Tablo 3. Un örneklerinin görüntü işleme ile hesaplanan L\* (parlaklık), a\* ve b\* renk değerleri

Örnek	Kuru örnek			Sıvı örnek		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
B1 + B2	99.82±0.26	-0.86±1.19	2.61±3.51	92.62±1.11	-3.07±3.97	22.24±5.46
B3	99.80±0.25	-0.99±1.12	3.00±3.30	90.90±1.44	-3.15±4.44	23.62±5.48
B4	99.61±0.50	-2.27±1.38	6.74±4.35	86.04±1.44	-0.78±4.8	27.09±6.20
DIV	99.69±0.53	-1.64±1.46	4.93±4.54	91.20±1.24	-2.34±4.21	24.24±5.62
C1A	99.86±0.24	-0.55±1.00	1.75±2.85	96.00±0.87	-4.39±3.02	21.04±4.45
C1B	99.80±0.35	-0.97±1.26	2.95±3.75	92.21±1.14	-3.26±4.14	22.81±5.54
C2	99.87±0.20	-0.46±0.90	1.47±2.53	95.12±0.99	-4.76±3.42	21.34±4.51
C3	99.88±0.15	-0.41±0.83	1.34±2.34	96.49±0.92	-4.7±2.82	20.51±4.44
C4	99.85±0.24	-0.61±1.00	1.91±2.87	94.79±1.00	-3.91±3.42	21.61±4.76
C5	99.86±0.22	-0.54±0.94	1.71±2.68	93.53±1.24	-4.14±3.85	22.56±5.18
C6	99.37±1.09	-3.45±2.14	10.66±6.64	88.52±1.66	-1.46±4.66	25.85±6.16
C7	99.57±0.75	-2.39±1.72	7.21±5.43	91.63±1.34	-2.7±4.13	25.13±5.71
C8	99.43±0.94	-3.18±1.98	9.74±6.31	88.02±1.57	-1.0±4.66	26.53±6.19
C9	99.43±0.86	-3.36±1.72	10.22±5.40	83.42±1.34	0.55±4.66	29.66±6.83
C10	99.23±1.14	-4.06±2.23	12.77±6.90	87.02±1.58	-0.35±4.62	27.69±6.48
DF	99.47±0.91	-2.95±1.60	8.93±5.08	83.44±1.31	0.25±4.75	28.21±6.75
Ortalama	99.66±0.22	-1.79±1.28	5.5±3.94	90.68±4,21	-2.45±1.78	24.38±2.85

Un örneklerinin renk değerleri ve kül miktarı ile korelasyon katsayıları Tablo 4'te gösterilmiştir. Kül miktarı ile L\* değeri arasında kuru halde hem de sıvı halde örneklerde ve iki ölçme metodu (Konica Minolta cihazı ve görüntü işleme) yüksek negatif korelasyon gözlenmiştir. Korelasyon katsayıları sıvı halde örnekler için kuru halde örneklerden daha yüksek bulunmuştur. Yapılan araştırmalara göre unların okunan L\* değeri ile kül miktarı arasında yüksek korelasyon katsayısı bulunmuştur [8, 12, 18, 24, 25]. Başka bir çalışmada spektrofotometre renk ölçer ile okunan un renk L\* değeri ile kül miktarı arasında önemli korelasyon bulunmuştur ve bu korelasyonun sıvı örneklerde daha yüksek olduğu saptanmıştır [12, 27].

Kül miktarı ile okunan a\* ve b\* renk değerleri arasında L\* değerlerine benzer korelasyon katsayıları gözlenmemiştir. Örnek olarak kül ve spektrofotometre renk ölçer ile okunan un renk b\* değeri arasında önemli korelasyon bulunmamıştır. Bunun yanında görüntü işleme kuru un örneklerde okunan a\* renk değeri ile kül miktarı arasında önemli negatif korelasyon katsayısı bulunmuştur ve bu durum diğer ölçme metodlarının tam tersini göz önüne çıkarmıştır. Oliver ve ark. [12] tarafından yapılan araştırmada unun kül miktarı ile a\* ve b\* değerleri arasında önemli korelasyon bulunmamıştır.

Konica Minolta cihazı ile kuru halde ve sıvı halde örneklerin okunan L\* ve a\* değerlerinin arasında önemli korelasyon katsayısı gözlenirken b\* değerlerinin arasında önemli korelasyon bulunmamıştır. Görüntü işleme ile kuru halde ve sıvı halde örneklerin okunan L\* ve b\* değerlerinin arasında önemli korelasyon katsayısı

bulunurken a\* değerlerinin arasında önemli negatif korelasyon bulunmuştur. Sadece sıvı halde okunan Spectrophotometer Konica Minolta cihazı ile ve görüntü işleme ile L\*, a\* ve b\* değerleri arasında pozitif önemli korelasyon bulunmuştur (Şekil 1). O yüzden metodların arasında L\*, a\* ve b\* değerleri ilişkilendirilmek istenirse sadece sıvı haldeki örneklerin Spectrophotometer Konica Minolta cihazı ve görüntü işleme ile okunan değerleri arasında yapılabilmektedir.

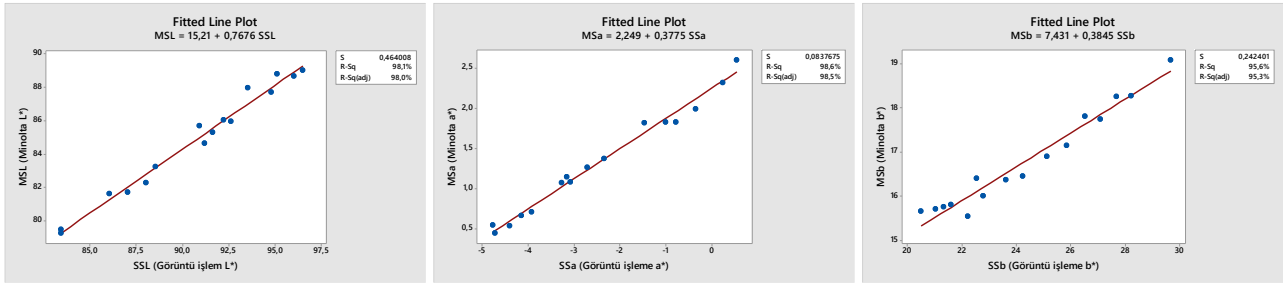
## SONUÇ

Buğday ununun rengi önemli kalite kriterlerinden biri sayılmaktadır. CIELAB renk sistemi kullanılan renk ölçer ile un rengi tayin edilmektedir. Tarayıcıya dayanan görüntü işleme sistemlerinin renk ölçüm cihazlarına göre daha ucuz ve duyuşal renk değerleriyle ilişkisinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Görüntü işleme ile okunan sıvı haldeki örneklerin L\* değeri en yüksek standart sapmaya (4.21) sahip olduğu için örnekler arasında en ayırt edici metod sayılmaktadır. Kül ve bütün kullanılan ölçme metodlarında okunan L\* renk değeri arasında yüksek negatif korelasyon bulunmuştur. Kül ve okunan L\* renk değeri arasındaki korelasyon katsayılarının sıvı haldeki örneklerde kuru örneklerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla kül ve renk değerleri ilişkilendiğinde rengin L\* değeri ve sıvı haldeki örnekler kullanılmalıdır. Kullanılan ölçme metodları arasında sadece sıvı haldeki örnekler için Spectrophotometer Konica Minolta cihazı ve görüntü işleme ile okunan renk değerleri arasında önemli korelasyon gözlenmiştir.

Tablo 4. Kül ve un örneklerinin renk değerleri arasında korelasyon katsayıları\*

		Konica Minolta cihazı ile						Görüntü işleme ile						
		Kuru örnekler			Sıvı örnekler			Kuru örnekler			Sıvı örnekler			
		Kül	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Konica Minolta cihazı ile	Kuru örnekler	L*	-0,953											
		a*	0,924	-0,992										
		b*			0,683									
	Sıvı	L*	-0,996	0,940	-0,908									
		a*	0,992	-0,959	0,931		-0,992							
		b*	0,950	-0,922	0,913		-0,934	0,940						
Görüntü işleme ile	Kuru örnekler	L*	-0,874	0,973	-0,986	-0,762	0,853	-0,879	-0,874					
		a*	-0,903	0,986	-0,994	-0,730	0,884	-0,909	-0,897	0,996				
		b*	0,893	-0,982	0,992	0,742	-0,873	0,900	0,891	-0,998	-0,999			
	Sıvı	L*	-0,990	0,917	-0,883		<b>0,991</b>	-0,983	-0,942	0,823	0,857	-0,846		
		a*	0,997	-0,960	0,936		-0,995	<b>0,993</b>	0,944	-0,885	-0,912	0,903	-0,981	
		b*	0,984	-0,957	0,938		-0,975	<b>0,978</b>	-0,890	-0,919	0,910	-0,977	0,980	

\*Korelasyon (P&lt;0.01) düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 1. Konica Minolta cihazı ve görüntü işleme ile elde edilen L\*, a\* ve b\* değerleri arasındaki regresyon.

## KAYNAKLAR

- [1] Kılıç, K., Onal-Ulusoy, B., Yıldırım, M., Boyacı, İ.H. (2007). Scanner-based color measurement in L\* a\* b\* format with artificial neural networks (ANN). *European Food Research and Technology*, 226, 121-126.
- [2] Keskin, M., Setlek, P., Demir, S. (2017). Renk ölçüm sistemlerinin gıda bilimleri ve tarımda kullanım alanları. *International Advanced Researches & Engineering Congress*, Kasım 16-18, 2017, Osmaniye Korkut Ata University, Osmaniye, Turkey, Proceeding Book, 2350-2359p.
- [3] Abdullah, M.Z., Guan, L.C., Lim, K.C., Karim, A.A. (2004). The applications of computer vision system and tomographic radar imaging for assessing physical properties of food. *Journal of Food Engineering*, 61, 125-135.
- [4] MacDougall, D.B. (2002). *Colour in Food Improving Quality*, CRC Press, New York.
- [5] León, K., Mery, D., Pedreschi, F., León, J. (2006). Color measurement in L\* a\* b\* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39, 1084-1091.
- [6] Adams, K., Lukow, O.M., Suchy, J., DePauw, R., Humphreys, G. (2013). Analysis of kernel colour, flour and whole wheat end-product quality of commercially grown Canada hard white spring wheat, snowbird. *Journal of Agricultural Science*, 5(1), 187-200.
- [7] Evlice, A.K., Özkaya, H. (2011). Makarnalık buğdayda farklı cihazlarla saptanan renk değerinin kalite yönünden değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20(2), 33-40.
- [8] Kim, Y.S., Flores, R.A. (1999). Determination of bran contamination in wheat flours using ash content, color, and speck counts. *Cereal Chemistry*, 76(6), 957-961.
- [9] Posner, E.S., Hibbs, A.N. (2005). *Wheat Flour Milling*. AACC, Inc. St. Paul, Minnesota, U.S.A.
- [10] Mendoza, F., Dejmek, P., Aguilera, J.M., (2006). Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 285-295.
- [11] Serna-Saldivar, S.O., (2012). *Cereal Grains: Laboratory Reference and Procedures Manual*. CRC Press (Taylor & Francis Group), Boca Raton, FL. 368s.
- [12] Oliver, J.R., Blakeney, A. B., Allen, H.M. (1992). Measurement of flour color in color space parameters. *Cereal Chemistry*, 69, 546-551.
- [13] Whan, A.P., Smith, A.B., Cavanagh, C.R., Ral, J.F., Shaw, L.M., Howitt, C.A., Bischof, L. (2014). GrainScan: a low cost, fast method for grain size and colour measurements. *Plant Methods*, 10, 23.
- [14] Larrain, R.E., Schaefer, D.M., Reed, J.D. (2008). Use of digital images to estimate CIE color coordinates of beef. *Food Research International*, 41, 380-385.
- [15] Valous, N.A., Mendoza, F., Sun, D., Allen, P. (2009). Colour calibration of a laboratory computer

- vision system for quality evaluation of pre-sliced ham. *Meat Science*, 81, 132-141.
- [16] Sabancı, K., Aydın, C., Ünlerşen, M.F. (2012). Görüntü işleme ve yapay sinir ağları yardımıyla patates sınıflandırma parametrelerinin belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(2, Ek:A), 59-62.
- [17] Demirbaş, H.Y., Dursun, İ. (2007). Buğday tanelerinin bazı fiziksel özelliklerinin görüntü işleme tekniğiyle belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(3), 176-185.
- [18] Symons, S.J., Dexter, J.E. (1991). Computer analysis of fluorescence for the measurement of flour refinement as determined by flour ash content, flour grade color, and tristimulus color measurements. *Cereal Chemistry*, 68(5), 454-460.
- [19] Oliveira, A.C.M. Balaban, M.O. (2006). Comparison of a colorimeter with a machine vision system in measuring color of Gulf of Mexico sturgeon fillets. *Applied Engineering in Agriculture*, 22(4), 583-587.
- [20] Vidal, A. (2012). Measurement of colour of citrus fruits using an automatic computer vision system. Thesis for Master in Science and Engineering of Food, School of Agricultural Engineering and Environment, Universitat Politècnica de València.
- [21] Shahin, M.A. Symons, S.J. (2003). Color calibration of scanners for scanner-independent grain grading. *Cereal Chemistry*, 80(3), 285-289.
- [22] Anonymous, NIR Inframatic 8600 (Perten, Sweden). Instruction Manual.
- [23] Anonymous, Konica Minolta Spectrophotometer CM-3500d (Konica Minolta, Japan). Instruction Manual.
- [24] Alfin, F, Çakmaklı, Ü. (1999). Ticari değirmen ve laboratuvar tipi Bühler değirmeninin kümülatif kül ve protein eğrileri üzerine bir araştırma. *Un Mamuller Teknoloji*, 8(4), 42-48.
- [25] Göçmen, D. (2001). Ticari bir değirmendeki ekmeçlik buğday unu pasajlarının kimyasal bileşim ve kalite kriterleri. *Gıda*, 26(3), 171-178.
- [26] Regan, R. (2017). Kalite kontrol laboratuvarında un testi, *Miller Magazine*, 11(96), 46.
- [27] Oliver, J.R., Blakeney, A.B. Allen, H.M. (1993). The colour of flour streams as related to ash and pigment contents. *Journal of Cereal Science*, 17(2), 169-182.
-

## Fermentasyon Süresinin Kombu Çayı Mikrobiyotası ve Canlılık Oranları Üzerine Etkileri

Nurcan Değirmencioglu<sup>1</sup>  , Elif Yıldız<sup>2</sup> , Yasemin Şahan<sup>3</sup> , Metin Gültaş<sup>4</sup> , Ozan Gürbüz<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Bandırma Onyedü Eylül Üniversitesi Bandırma Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Bandırma-Balıkesir

<sup>2</sup>University of the District of Columbia The College of Agriculture Urban Sustainability and Environmental Sciences, Washington DC, USA

<sup>3</sup>Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa

<sup>4</sup>Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Bursa

Geliş Tarihi (Received): 15.04.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 29.07.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [nurcan.degirmencioglu@gmail.com](mailto:nurcan.degirmencioglu@gmail.com) (N. Değirmencioglu)

☎ 0 266 714 93 02 📠 0 266 714 93 04

### ÖZ

Kombu çayı kültürü ilavesiyle aerobik koşullarda çay yapraklarının fermentasyonu ile elde edilen Kombu çayı, maya ve asetik asit bakterilerinin birlikte çalıştığı simbiyotik bir sistemdir. Bu çalışmada, farklı çay (*beyaz, yeşil, oolong, siyah ve pu-erh*) yaprakları kullanılarak üretilen kombu çaylarının, 21 gün (30°C, karanlık koşullarda) fermentasyon süresince laktik asit bakterisi (LAB), toplam maya (TM), toplam asetik asit (TAA) ve toplam glukonobakter (TGB) sayımları yapılmış ve *in vitro* yapay statik gastrointestinal model kullanılarak mevcut mikrobiyotanın canlı kalma oranları ile fermentasyon süresine bağlı olarak değişimi incelenmiştir. Yapay mide-barsak ortamında en yüksek canlılık oranının fermentasyonun 12. gününde asetik asit bakterileri ve glukonobakterlerde (%91.16-99.61 ve %90.84-99.37) olduğu, fermentasyon sonunda, TAA ve TGB sayılarının 7.77-10.66 ve 7.68-9.68 log kob/mL arasında değiştiği, LAB sayılarında ise önce artış ardından yüksek asitlik (11.17 g/L, asetik asit cinsinden) ve düşen pH (2.82) nedeniyle inhibisyon sonucu %60 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Kombu çaylarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesine yönelik incelemede ise artan asitliğe en hassas mikroorganizmanın *Escherichia coli* ve en dirençli mikroorganizmanın da *Lactobacillus acidophilus* olduğu belirlenmiştir. Pu-erh çay yapraklarıyla üretilen kombu çaylarının ise mikroorganizmalar üzerinde en fazla antibakteriyel etki gösteren çay yaprağı olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Sonuç olarak, ticari Kombu çayı üretiminde probiyotiklerin canlılık özellikleri göz önünde bulundurulurken ideal fermentasyon süresi olarak 2 haftanın önerilebileceği, fonksiyonel özelliklerin korunabilmesi için de fermentasyon koşullarının standardize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kombu çayı, Mikrobiyota, *In vitro*, Yapay statik gastrointestinal sistemde canlılık

### Effect of Fermentation Time on Bio-Viability of Kombucha Tea

#### ABSTRACT

Kombucha is a symbiotic system including synergistic effects of yeasts and acetic acid bacteria, produced by the fermentation of tea leaves and the incorporation of kombucha cultures under aerobic conditions. In this study, kombucha samples were produced using different tea leaves (*white, green, oolong, black and pu-erh*), and the number of lactic acid bacteria (LAB), total yeast (TM), total acetic acid (TAA) and total gluconobacter (TGB) were determined in these samples during the fermentation of 21 days (30°C, dark conditions). Moreover, the survival rates of the present microbiota were investigated by using the *in vitro* artificial gastrointestinal model depending on the various fermentation periods. On the 12<sup>th</sup> day of fermentation, the highest vitality rates were obtained for acetic acid bacteria (91.16-99.61%) and gluconobacteria (90.84-99.37%) in artificial gastrointestinal model. At the end of the

fermentation period, TAA and TGB counts were 7.77-10.66 and 7.68-9.68 log cfu/mL, respectively. LAB counts increased first, followed by a reduction of 60% due to high acidity (11.17 g/L, as acetic acid) and a decrease in pH (2.82). In terms of antibacterial activity; *E. coli* was the most sensitive microorganism and *Lactobacillus acidophilus* was the most resistant microorganism to the elevated acidity. The Kombucha tea produced by *Pu-erh* tea leaves had the highest antibacterial effect on the microorganisms investigated ( $p < 0.05$ ). In terms of the industrial production of Kombucha tea and the viability of the probiotics, it was concluded that the ideal fermentation period should be 2 weeks, and the fermentation conditions should be standardized in order to maintain its functional properties.

**Keywords:** Kombucha, Microbiota, *In vitro*, Artificial static gastrointestinal model

## GİRİŞ

Bakteri (*Acetobacter* ve *Gluconobacter*) ve mayaların birlikte çalıştığı simbiyotik bir sistem olan Kombü çayı, şeker ve çay yapraklarının (siyah, yeşil, beyaz veya oolong) fermentasyonu ile üretilen, hafif tatlı, asidik ve gazlı bir içecektir [1, 2]. M.Ö. 221'de Çin, Kore ve Japonya'da enerji verici ve detoksifiye edici olarak tüketilen Kombü çayı, Japon İmparatoru'nun sindirim rahatsızlıklarını düzeltmek amacıyla Dr. Kombü tarafından ilk kez Kore'den Japonya'ya götürülmüş ve oradan da dünya'ya yayılmıştır [2]. Kombü çayı kelimesi, Japonca'da geniş yapraklı deniz yosunu (*Laminaria japonica*)'na verilen "Kombü", çay anlamına gelen "Cha" kelimelerinin birleşiminden oluşmaktadır. Farklı kaynaklarda kökeninin Rusya'ya dayanmakta olduğuna dair bilgiler bulunmakta olup, Rusya'da "Kargasok" çayı olarak bilinen Kombü çayı, "Red Tea Fungus, Haipao Manchurian Mushroom, Chainii kvass, Kocho kinoko" gibi isimlerle de anılmaktadır [3].

Yapılan çalışmalarda, "bakteri ve mayaların simbiyotik kültürü" (SCOBY, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) olarak adlandırılan selülozik biyofilm tabakasında (zooglea biyofilm) *Acetobacteraceae* familyasına dahil Gram negatif aerob basiller (*Acetobacter xylinum*, *A. xylinoides*, *A. aceti*, *A. pasteurianus*, *Bacterium gluconicum* ve *Gluconobacter oxydans*) ile mayalar (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. ludwigii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Z. rouxii*, *Z. kombuchaensis* sp.nov., *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulasporea delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *B. lambicus*, *B. custerii*, *Candida krusei*, *C. albicans*, *Kluyveromyces africanus*, *Pichia membranaefaciens*, *Kloeckera apiculata*, *Torulopsis* sp., *Dekkera* sp.) ve laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Bifidobacterium* sp.) simbiyotik olarak birlikteliği tespit edilmiştir [1-2, 4-18]. Yapılan son çalışmalarda; *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* sınıflarına dahil mikroorganizmaların da bulunduğu belirlenmiş olup, *Firmicutes* sınıfına dahil *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinslerine bakteri ve mayaların simbiyotik kültüründe yoğun olarak rastlanıldığı, *Leuconostoc*, *Enterococcus* ve *Allobaculum* (kilo kaybında etkili) cinslerinin ilk kez kombü çayı örneklerinde tespit edildiği, *Propionibacterium* ve *Bifidobacterium* cinslerinin ise Kombü çayı fermentasyonunun erken dönemlerinde belirlendiği ifade edilmektedir [14, 19].

Bakteri ve mayaların simbiyotik kültüründe bulunan mayalar, invertaz enzimleriyle sakkarozu kullanarak etil

alkol ve CO<sub>2</sub> oluştururken; *Acetobacter* cinsi bakteriler, mayaların oluşturduğu etil alkolü alkol ve aldehit dehidrogenaz enzimleriyle asetik aside dönüştürmekte, *Gluconobacter*'ler ise süksinat ve  $\alpha$ -ketoglutarat enzimlerinin bulunmaması nedeniyle de asetik asidi okside edemediklerinden glukonat oluşturmaktadırlar. Ayrıca, *Gluconobacter* ve *Acetobacter*'lerin glukonik asit üretimi için glikozu; asetik asit üretimi için de fruktoz ve etanolu kullanma yetenekleri de bulunmaktadır [1, 10, 20, 21].

Kombü çayında bulunan mikroorganizmalar; çay yaprakları ve zenginleştirmek için eklenen diğer bitkisel materyallerdeki (oğul otu, nane, enginar, kekik, adaçayı, dut, vişne vb.) fenolik bileşikler kullanılarak, bağlı formlarından serbest fenolikler oluşturmakta, hem son ürünün duyu özelliklerine katkıda bulunmakta hem de sağlık üzerinde olumlu etki gösteren fermentasyon ürünleri (asetik asit, glukonik asit, glukuronik asit, malik asit, CO<sub>2</sub>, etil alkol, çeşitli vitaminler, amino asitler, mineraller vb.) meydana getirmektedirler. Maya ve bakterilerin meydana getirdikleri diğer metabolitler arasında, suda çözünür vitaminler (C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>) ile asetik asidin yanı sıra önemli ölçüde glukonik, glukuronik, sitrik, malik, tartarik, folik, laktik, okzalik, süksinik, pürvik asit gibi diğer organik asitler, mineral maddeler (Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Co, Cr vb.) ve fenolik bileşikler de yer almaktadır. Oluşan metabolitlerin çeşitliliği; bakteri ve mayaların simbiyotik kültüründe bulunan mikroorganizmaların çeşitliliğine, fermentasyon koşullarına (süre, sıcaklık vb.), kullanılan şeker ve çay miktarına, çay yaprağının çeşidine ve eklenen diğer bitkisel materyallere göre değişiklik göstermekle beraber; iklim, coğrafi koşullar, üretim sırasındaki hijyenik koşullar da bu konuda etkili olabilmektedir [1, 5, 10-12, 17, 22-25].

Kombü çayının pekçok metabolik hastalığı iyileştirici ve destekleyici etkisinin olduğu belirlenmiş (diabet, kronik yorgunluk, romatizmal hastalıklar, gut, hemoroid, yaşlılık, ateroskleroz, kolesterol ve kan basıncının düzenlenmesi, kanser ve AIDS gibi hastalıklarda görülen kilo kayıplarının kontrolü, bağışıklık ve sindirim sistemleriyle karaciğer fonksiyonlarını destekleme, yangısal durumları azaltma, gastrointestinal sistemin çalışmasını iyileştirme) olup, fenolik bileşik içeriğinden dolayı serbest radikalleri etkisiz kılıcı ve antioksidan aktivitesinin yanısıra, organik asit içeriğiyle de patojen bakterilere (*Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Shigella sonnei*, *E.coli*) karşı antibakteriyel etkisi bulunmaktadır [1, 8-9, 24-31].

Çay mantarı olarak bilinen *Medusomyces gisevii*'nin gelişebilmesi osmofilik mayalar ve bakterilerin çoğalmasına bağlı olup; sakkarozu kullanan asetik asit bakterileri (*Acetobacter xylinum*) fermentasyon sırasında, selülozik yapıda-kalın "zooglea biyofilm" tabakasını oluşturarak simbiyotik bakteri ve maya topluluğunun bir arada kalmasını sağlamaktadır [10, 11, 26]. Bakteri ve mayaların oluşturduğu simbiyoz konsorsiyum geliştikçe oluşan selüloz yapı, yüzeydeki mikroorganizmaları hem UV ışınlarından korumakta hem de gelişmeleri için gerekli olan oksijeni sağlamaktadır [1].

Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koymaya yönelik pek çok araştırma yürütülmekte olup, bu mikroorganizmaların sindirim sisteminden geçerken canlı kalabilmeleri büyük önem taşımaktadır. *In-vitro* gastrointestinal modeller, statik ve dinamik olmak üzere ikiye ayrılmakta; statik modellerde gıda maddesi sindirim sistemindeki işlemlere maruz bırakılarak sindirim sırasında zamana bağlı olarak değişen parametreler (pH, enzim düzeyi, örnek miktarı vb.) dikkate alınmamakta, dinamik modellerde ise fiziksel ve mekanik işlemlerle zamana bağlı olarak değişen parametreler sindirim sırasında stimüle edilmektedir [27].

Taze kaynatılmış su kullanılarak (1 litre) ve 50-200 g/L oranında sakkaroz (çay şekeri) ile tatlandırıldıktan sonra, çoğunlukla siyah çay yapraklarıyla (1.5-5.0 g/L) demlenen Kombu çayı (10 dakika); yapraklar uzaklaştırıldıktan sonra, oda sıcaklığına soğutulmakta ve ardından bakteri ve mayaların simbiyotik kültürü (SCOBY, Kombu çayı mantarı) ve daha önce fermente edilmiş çaydan (100-150 mL/L) eklenerek, üzeri temiz bir bezle örtüldükten sonra fermentasyona bırakılmaktadır (7-60 gün) [5, 7, 11, 20, 24-25, 32]. Süre ve sıcaklık artışına bağlı olarak artan asetik asidin olumsuz etki yaratmaması için fermentasyonun; pH 4.2'ye ulaştığında sonlandırılması, alkol ve CO<sub>2</sub> oluşumunu kontrol edebilmek için ise ürünün pastörize edilmesi veya koruyucu (%0.1 sodyum benzoat ve %0.1 potasyum sorbat) ilave edilip soğukta muhafaza edilmesi önerilebilmektedir [24, 25, 34].

Bu çalışmada, *beyaz, yeşil, oolong, siyah ve pu-erh çay* yaprakları kullanılarak üretilen Kombu çayı örneklerinin; 21 günlük (30°C, karanlık koşullarda) fermentasyon süresince, mevcut mikrobiyotasını (laktik asit bakterisi-LAB, toplam maya-TM, toplam asetik asit-TAA ve toplam glukonobakter-TGB) ve bu mikrobiyotanın *in vitro* statik gastrointestinal model ortamında fermentasyon süresine bağlı olarak canlı kalma oranlarının tespit edilerek ideal fermentasyon süresinin ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Kombu Çayı Üretimi

Kombu çayı örneklerinin hazırlanmasında Chado firmasından temin edilen *beyaz* (Yin Zhen Silver Needle, *Camellia sinensis var. sinensis*, Çin), *yeşil* (Matcha Koicha, *Camellia sinensis var. assemica*, Japonya), *milk*

*oolong* (*Camellia sinensis var. sinensis*, Tayvan), *siyah* (Keemun black, *Camellia sinensis var. sinensis*, Qimen bölgesi Çin) ve *Golden pu-erh* (*Camellia sinensis var. sinensis*, Pu-erh bölgesi Çin) çay yaprağı örnekleri kullanılarak Greenwalt ve ark. [28] tarafından önerilen yöntem adapte edilmiştir. Sterilize edilmiş 1 litre damıtık suya, şeker (100 g/L) ilave edilerek kaynatılmış, ardından çay yaprakları (6 g/L) ayrı ayrı eklendikten sonra 15 dakika süreyle demlenmiş ve soğutulmuş çay örneklerine bakteri ve mayaların simbiyotik kültürü ve fermente Kombu çayı (100 mL/L) ilave edilerek 21 gün süreyle, 30±2°C'de karanlıkta, fermente edilmiştir. Denemeler sırasında; bakteri ve mayaların simbiyotik kültürü, piyasada satılan ticari bir Kombu çay örneğinin (Mavili kapı firmasına ait) üç kez ard arda yukarıda belirtilen koşullarda fermente edilmesiyle elde edilmiş ve çay örneğinin üst yüzeyinde gelişen selülozik tabaka SCOBY olarak kullanılmıştır.

### Fizikokimyasal ve Kimyasal Analizler

Fermentasyon süresince Kombu çay örneklerinin pH değerleri Hanna pH 211 model (Hanna Instruments S.R.L., ABD) pH metreyle ölçülerek belirlenmiş; toplam asitlik değerleri, CO<sub>2</sub>'i uçurulmuş 10 mL Kombu çayı örneğinin 0.1 N NaOH eşliğinde titrasyonu ile tespit edilmiş ve sonuçlar asetik asit cinsinden g/L olarak ifade edilmiştir [35].

### Mikrobiyolojik Analizler

Kombu çayı örneklerinden aseptik koşullarda 10'ar mL alınarak 90 mL steril %0.1 pepton (Merck 107214) ve %0.85 iyotsuz NaCl içeren dilüsyon sıvısı içinde homojenize edilmiş ve ileri dilüsyonlar için aynı dilüsyon çözeltisi kullanılmıştır. LAB sayımı için De Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Merck 1.10660, 30±2°C, 48 saat), toplam maya sayımı için Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Merck 1.00467, 22±2°C, 5 gün) kullanılmış [36] olup, toplam asetik asit bakterisi ve toplam Gluconobacter sayımları için ise Asai ve ark. [37] tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Toplam asetik asit bakterisi sayımı için 30 g/L glikoz monohidrat (Merck 108342), 5 g/L maya ekstraktı (Merck 103753), 3 g/L pepton (Merck 107214), 20 g/L agar (Merck 101614) içeren besiyeri hazırlanarak sterilize edildikten sonra içerisine %3 etanol (Merck 100983) ve 10 g CaCO<sub>3</sub> (Merck 10207) eklenmiş, 25±2°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Toplam Gluconobacter sayımları için ise, 25 g/L D(-)-mannitol (Merck 105982), 5 g maya ekstraktı (Merck 103753), 3 g/L pepton (Merck 107214), 20 g/L agar (Merck 101614) içeren besiyeri hazırlanarak, 30±2°C'de 3 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüm mikroorganizmalar için koloniler değerlendirilmiş ve sonuçlar "log kob/mL" şeklinde ifade edilmiştir.

### *In-vitro* Yapay Statik Gastrointestinal Modelde Canlılık

Fermentasyon süresince, Kombu çayında bulunan mikroorganizmaların *in-vitro* yapay statik gastrointestinal modelde canlı kalma oranlarının tespitinde Nazzaro ve

ark. [38] ve Valero-Cases ve Frutos [39] tarafından belirtilen yöntemler kullanılmıştır. Yapay mide ve barsak ortamı; her mikroorganizma grubu için 9 mL uygun sıvı besiyeri kullanılarak oluşturulmuş ve hazırlanan besiyerleri kullanılmadan önce 0.22 µm (Minisart 16534, Sartorius Biotech GmbH 37070 Goettingen, Almanya) gözenek çapına sahip filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir. *In-vitro* yapay statik gastrointestinal model ortamında canlı kalan mikroorganizma sayıları, her mikroorganizma grubu için uygun besiyerine ekim yapılarak tespit edilmiş ve sonuçlar "log kob/mL" olarak bildirilmiştir. Kombü çayı örneklerindeki mikroorganizmaların canlı kalma yüzdeleri ise; *in-vitro* yapay statik gastrointestinal model ortamı öncesindeki her mikroorganizma grubuna ait toplam canlı hücre sayısının, *in-vitro* yapay statik gastrointestinal model ortamı sonrasında toplam canlı hücre sayısına bölünerek, 100 ile çarpılmasıyla belirlenmiştir.

### Antimikrobiyal Aktivite

Kombü çayı örneklerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi [40] uygulanmış olup, fermentasyonun 12. gününde alınan örnekler, 0.2

µm gözenek çapına sahip steril filtreden geçirilmiş, Tablo 1'de isimleri ve gelişme koşulları belirtilen mikroorganizmalar üzerinden antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. 18-24 saatlik kültürlerden 100 µL alınarak patojen mikroorganizmalar (8.44-8.98 log kob/mL) için TS agar besiyerine; laktik asit bakterileri (7.20-7.62 log kob/mL) için ise MRS agar besiyerine yüzey sürme yöntemiyle ekim yapılmış ve 4°C'de 2 saat süreyle bekletilerek kültürlerin besiyerine difüzyonu sağlanmıştır. Süre sonunda 6 mm çapındaki kağıt diskler (Oxoid CT0998B), besiyeri yüzeye yerleştirilerek her kombü çayı örneğinden 20 µL alınarak kağıt disklere emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak 20 µL kloramfenikol (0.1 g/L, Oxoid SR0078E), negatif kontrol olarak ise 20 µL saf su (0.2 µm gözenek çapına sahip filtreden geçirilmiş) kullanılmıştır. İnkübasyon sonrasında petrilereki zon çapları ölçülerek (-: *inhibe edici etki yok*; +: <10 mm; ++: 10-15 mm; +++: 15-20 mm), test edilen mikroorganizmalar üzerine Kombü çayı örneklerinin antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada yapılan fizikokimyasal, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler üç kez tekrarlanmış ve sonuçlar bu üç değerler ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 1. Antimikrobiyal aktivite belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar ve gelişme koşulları

Mikroorganizma adı	Temin edildiği yer	Kullanılan besiyeri ve Gelişme koşulları
<i>Salmonella enteritidis</i> (ATCC 13076) <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) <i>Staphylococcus aureus</i> ssp. <i>aureus</i> (ATCC 29213) <i>Enterobacter aerogenes</i> (ATCC 13048)	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Tryptic Soy Broth (TSB)/ Tryptic Soy Agar (TSA), (Oxoid CM0129)/ (Oxoid CM0131) 37°C'de 24 saat
<i>Listeria monocytogenes</i> serotype1/2b <i>Salmonella enterica</i> serovars. <i>Typhimurium</i>	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> NRRL B 548 <i>Lactobacillus casei</i> NRRL B 1922 <i>Lactobacillus acidophilus</i> NRRL B 4495	USDA's Agricultural Research Services Culture Collection (Birleşik Devletler Tarım Bölümü'nün Tarımsal Araştırma Servisi Kütür Koleksiyonu)	De man Rogosa Sharp Broth/ De man Rogosa Sharp Agar (Merck 1.10661)/(Merck 1.10660) 37°C'de 2 gün

### Duyusal Değerlendirme

Kombü çayı örneklerinde duyusal değerlendirme; 1-5 hedonik skala (5 puan: Çok iyi, 4 Puan: iyi, 3 Puan: Kabul edilebilir, 2 Puan: Yeterli değil, 1 Puan: Kötü) kullanılarak, 18-48 yaş aralığında 25 kişi ile; örneklerin; lezzet, koku, ekşilik, renk ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmesiyle gerçekleştirilmiştir [41].

### İstatistiksel Analizler

Analizler sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 16.0 programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılıkların belirlenmesinde  $p < 0.05$  olasılık düzeyinde LSD (Least Significant Difference) testi kullanılmıştır.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

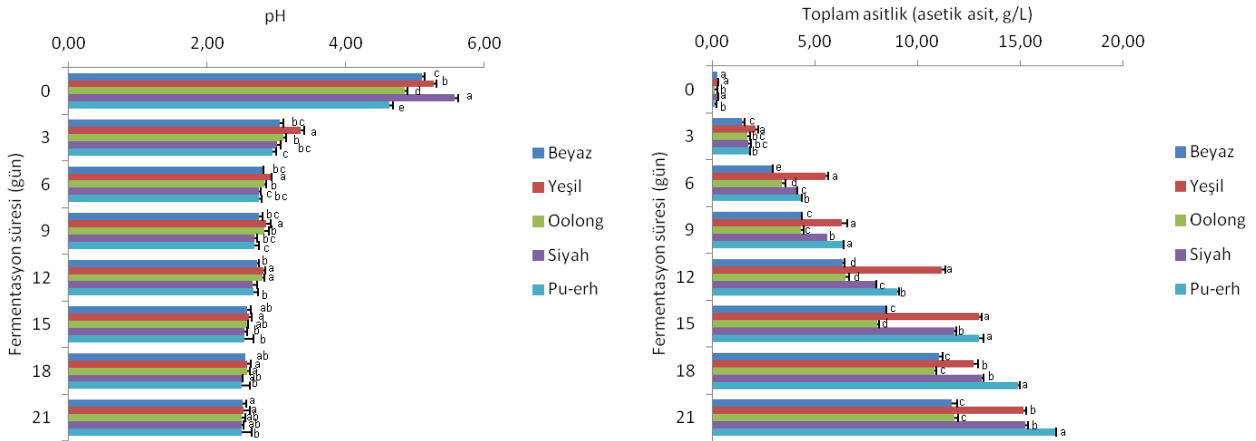
Kombü çayı örneklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları Şekil 1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre

örneklerin pH değerleri fermentasyonun başında 4.63-5.58 arasında değişiklik gösterirken, fermentasyonun 21. gününde ise 2.50-2.53'e düşmüştür. Kombü çayı üretiminde hammadde olarak farklı çay yaprakları kullanımının, örneklerin pH değerlerinde belirgin farklılığa ( $p > 0.05$ ) yol açmadığı gözlenmekle birlikte, tüm çay örneklerinde düzenli bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Kombü çayı ile ilgili olarak daha önce yapılmış çalışmalarda fermentasyon sonu pH değerleri olarak 1.80 [12], 3.00-3.50 [14], 4.60-4.70 [18], 3.91-4.19 [21], 2.50 [42], 2.50 [43], 3.08 [44], 2.76-3.15 [45], 2.60 [46], 2.50-3.00 [47], 2.90 [48], 2.90 [49], 3.00 [50], 1.95-2.89 [51], 3.11-3.22 [52], 3.60 [53], 2.57-3.05 [54] değerleri elde edilmiş ve pH değerlerinin diğer çalışmalarda 1.80-4.70 arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu değerlerle karşılaştırıldığında çalışmamızdaki fermentasyon sonu pH değer aralığının, bu pH değişim bandı içinde kalarak genel ortalamayla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Pek çok araştırmacı tarafından da belirtildiği gibi [10, 12, 51, 55, 56] tüm çay örneklerine aynı oranda ilave edilen sakaroz; fermentasyonda kullanılarak farklı organik

asitlere dönüşmekte ve bunun doğal sonucu olarak da pH değerinde azalma gözlenmektedir. Fermentasyonun 3. gününden sonra gözlenen pH değerindeki azalmada ve pH düşüşünün tüm denemelerde yavaş seyretmesinde, Malbaşa ve ark. [32], Sun ve ark. [48] ile Jayabalan ve ark. [50] tarafından da ifade edildiği gibi; çay yapraklarındaki mineral maddelerle, fermentasyon sırasında oluşan zayıf asitlerin etkileşiminin etkili olduğu düşünülmektedir. Çay örnekleri arasında fermentasyon başlangıç ve sonu pH değerleri açısından diğer örneklerle göre en düşük değerlere sahip olan Kombu çayı tipi; *pu-erh* çay yaprakları kullanılarak üretilen örneklerdir ( $p < 0.05$ ). pH değerlerindeki değişimin *pu-erh* çayının üretim tekniğinden ve çay yapraklarının bileşimindeki farklılıklardan (fenolik madde ve kateşin içeriğinden) kaynakladığı düşünülmekle beraber; fermentasyon sonunda tüm farklı çay örneklerinden yapılan denemelerde benzer pH değerlerine ulaşılmış olup, istatistiki olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Diğer çalışmalarla da [48, 52, 54, 57] uyumlu sonuçlar elde edilmesi sonucunda, farklı çay yaprakları kullanımının Kombu çayı fermentasyonu üzerinde pH değeri ve fermentasyon asitliği açısından önemli bir olumsuz etki yaratmadığı kanısına varılmıştır.

Kombu çayı örneklerinin toplam asitlik değerlerinin, fermentasyon başlangıcında 0.12-0.24 g/L (asetik asit cinsinden) arasında iken, 21. günün sonunda 11.77-16.69 g/L aralığına yükselmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda; sıcaklık, ilave edilen şeker miktarı, kullanılan çay yaprağının çeşidi ve miktarı,

fermentasyon süresi ve sıcaklığı vb. koşullar neden gösterilerek daha düşük asitlik değerleri elde edildiği görülmüştür [18, 22, 32, 48, 52, 54, 57, 58]. En hızlı asitlik artışı pH değerindeki değişime paralel olarak, *pu-erh* çay yaprakları kullanılarak üretilen Kombu çayı örneklerinde belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Essawelt ve ark. [57] ile Lv ve ark. [58] tarafından da bildirildiği gibi *pu-erh* çay yapraklarının suda çözünür kurumadde oranı ve içeriği, fermentasyon sırasında  $CO_2$  ve dolayısıyla suda çözünen hem asit hem de baz karakterine sahip hidrokarbonat ( $HCO_3^-$ ) anyonu oluşumuna yol açmaktadır. Bu anyonun, zayıf asitlerin iyonizasyonundan açığa çıkan serbest hidrojen iyonlarına bağlanarak pH'daki düşüşü, tamponlama etkisiyle sayesinde, kısmen kontrol altında tuttuğu düşünülmektedir. pH değerlerinin fermentasyonun 3. gününden sonra ani değişimler göstermemesine karşın, toplam asitlik değerlerinde görülen artışlara benzer çalışmalarda da rastlanılmış olup, fermentasyon süresinin bitimine; pH değerlerindeki değişimin yanı sıra toplam asitlik değerlerine bakılarak da karar verilmesi önerilmektedir. Bu farklılıkta, muhtemelen pH değeri ölçümünde sadece suda iyonlaşan  $H^+$  iyonu konsantrasyonunun ölçülmesi, titrasyon asitliğinde ise suda iyonlaşan ve asitlik veren diğer atom grubu, kök ve bileşiklerin de etkili olması rol oynamaktadır. Diğer yandan, fermentasyon sonunda ulaşılan pH değerleri, fermentasyonda etkili olan mayaların çalışabileceği pH değerinin çok altında olmasına karşın, simbiyotik kültürde bulunan bakteri ve mayaların faaliyetlerine devam edebildiğini göstermiştir ( $p < 0.05$ ).

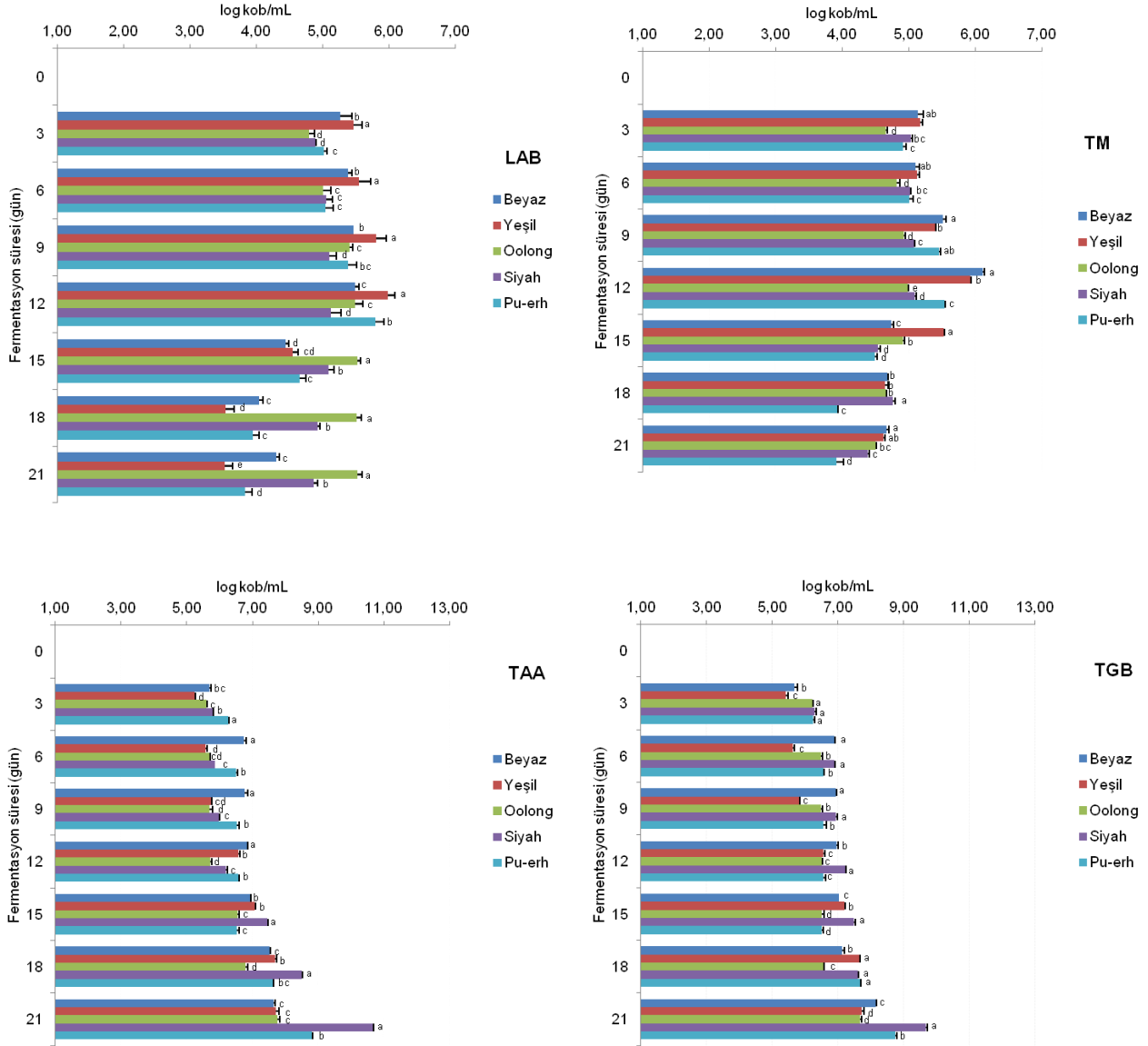


Şekil 1. Fermentasyon süresince pH ve toplam asitlik değişimi (log kob/mL, a-e: farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları ( $p < 0.05$ ) ifade etmektedir)

Fermentasyon süresince belirlenen LAB, TM, TAA ve TGB sayıları Şekil 2'de gösterilmiştir. Fermentasyonun 3. gününde tüm mikroorganizma gruplarında hızlı bir artış olmuş, bu artış LAB ve TM sayılarında 12. güne kadar devam etmiştir. En yüksek değerler, LAB sayılarında yeşil çayda (5.80 log kob/mL) ve TM sayısı

bakımından ise beyaz çayda (6.11 log kob/mL) tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). *Oolong* çayı kullanılarak üretilen kombu çayı örnekleri ise, LAB sayılarında 3. günden itibaren 21. güne kadar düzenli artış ( $p < 0.05$ ) gözlenmiştir.





Şekil 2. Fermentasyon süresince laktik asit bakterisi (LAB), toplam maya (TM), toplam asetik asit bakterisi (TAA) ve toplam glukonabakter (TGB) sayılarındaki değişimler (log kob/mL, a-e: farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları ( $p < 0.05$ ) ifade etmektedir)

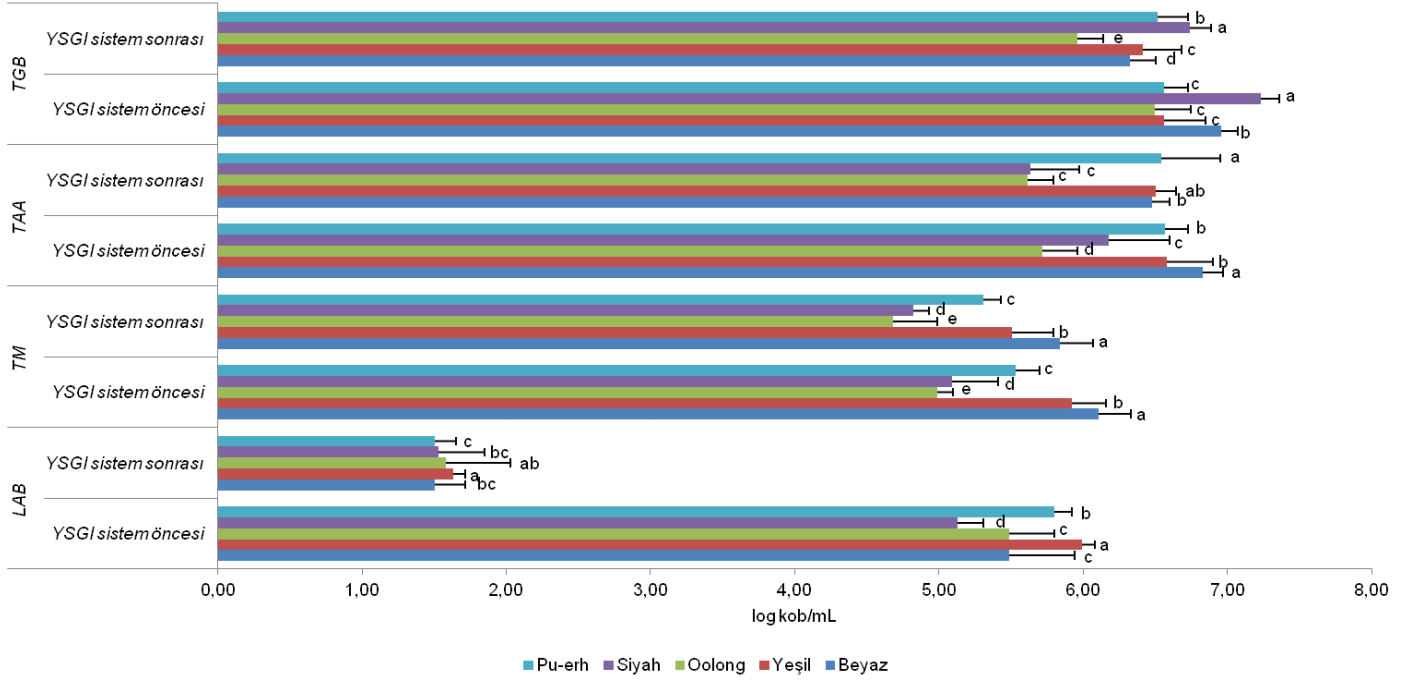
Fermentasyon sırasında maya sayılarındaki artışın 12. günden sonra azalma seyri içerisinde olmasında; fermentasyonun 3. ve 12. günleri arasında görülen pH değerindeki azalma ve toplam asitlik değerlerindeki artışın rol oynadığı, Teoh ve ark. [9] ile Esswelt ve ark. [57] tarafından yapılan çalışmalarda da vurgulandığı gibi, aynı dönemde toplam asetik asit ve glukonabakter sayılarında görülen artışa bağlı olarak da mayaların bu iki grup mikroorganizma ile besin maddesi içeriği ve pH azalışından dolayı rekabet edemediği sonucuna varılmıştır. En yüksek değerine sırasıyla 10.66 ve 9.68 log kob/mL ile 21. günde ulaşan toplam asetik asit ve glukonabakter sayılarında, 3. günden itibaren düzenli artış olduğu ve 3. günde ulaşılan değerden daha düşük seviyeye inmedikleri belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Gladysheva ve ark. [59] tarafından vurgulandığı üzere, asetik asit bakterileri 25-30°C aralığında en iyi gelişimi göstermekte olup, bizim çalışmamızda da Kombu çayı denemeleri

30°C'de ve karanlıkta gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bakteri ve mayaların simbiyotik kültürünün yanı sıra fermentasyonunun başlangıcında, fermentasyonunu henüz tamamlamış Kombu çayı örneklerinden başlatıcı kültür olarak ortama ilave edilmesi ve kullanılan çay yapraklarının kafein ve fenolik içeriklerinin de toplam asetik asit ve glukonabakter sayılarındaki düzenli artış üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Laktik asit bakterilerinin en yüksek seviyede (5.99 log kob/mL) olduğu 12. günde yapılan *in vitro* statik gastrointestinal sistemde canlılık analizi sonuçlarına göre (Şekil 3); yapay mide barsak ortamı sonrasında 1.51-1.63 log kob/mL düzeylerinde belirlenen LAB, *in vitro* statik gastrointestinal sistem koşullarında en düşük canlı kalma oranına (%25.95-29.85) sahip mikroorganizma grubu olmuş, bunu sırasıyla toplam maya (%92.99-96.02), toplam glukonabakter (%90.84-

99.37) ve toplam asetik asit bakterileri (%91.16-99.61) takip etmiştir ( $p<0.05$ ). Kullanılan çay yaprakları açısından değerlendirildiğinde ise, *pu-erh* çay yaprakları

ilave edilen Kombu çayı denemeleri ( $p<0.05$ ) LAB dışında en yüksek canlılık oranına sahip denemeler olarak belirlenmiştir.



Şekil 3. Yapay statik gastrointestinal (YSGI) sistem öncesi ve sonrası canlı kalma (12. gün) (log kob/mL, a-e: farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları ( $p<0.05$ ) ifade etmektedir)

Kateşin gibi fenoller *E.coli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *S.choleraesuis*, *Pseudomonas aerogenosa*, *S.aureus* ve *Bacillus subtilis* gibi bakteri türlerine karşı hidrojen peroksit oluşturmak, hücre membranının geçirgenliğini değiştirmek, DNA, RNA, proteinler ve polisakaritlerin sentezini inhibe etmek ve bakterilerin exponansiyel büyüme aşamasını düzenleyen küçük sinyal moleküllerinin oluşumunu ve bakteriler arasındaki iletişimi (quorum sensing) engellemek suretiyle antimikrobiyal etki göstermektedir [60-63]. Aynı zamanda fenolik bileşikler oksidasyonla yapraklardaki renk değişiminden sorumlu olan yeni bileşiklere dönüşmektedir [64]. Bazı araştırmacılar ise, antimikrobiyal etkinin sodyum glutamat ve riboz gibi intra selüler maddelerin salınımından ve hücre duvarı ile hücre membranının geçirgenliğine zarar vermelerinden kaynaklandığını; ayrıca Cu, Mg, Zn ve Fe gibi minerallerin oluşumunun hızlanmasıyla da antimikrobiyal etkinin arttığını bildirmektedirler [65]. Çay yapraklarında bulunan fenolik bileşikler (kateşinler ve metil-ksantin alkaloidler), kafein, teabromin, ve teofilin antibakteriyel etkiye sahip bileşikler olup, bu etki çay yapraklarının oksidasyon-fermentasyon süresinin uzamasına bağlı olarak azalmaktadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde yeşil çayın, siyah çaya göre daha güçlü antibakteriyel etkisi bulunmakta [62, 66-67], ancak siyah çay yapraklarındaki tanen ve flavonoidler bu etkiyi bazı durumlarda arttırabilmektedirler [64]. En yüksek antimikrobiyal etkiyi göstermesi beklenen fermente-oksidede olmamış beyaz çay yapraklarında, yaprakların soldurulması esnasında enzimatik inaktivasyon gerçekleşmediğinden polifenoller daha az düzeyde

okside olmakta ve renk değişimi için oksidasyon enzimleri aktif biçimde çalışmaya devam etmektedir [64, 68-69]. Fermente siyah çayda, çay yapraklarında bulunan fenolik bileşiklerin oksidasyonu polifenoloksidaz enzimiyle biyokimyasal süreç kapsamında gerçekleşirken, *pu-erh* çay yapraklarındaki fenoliklerin oksidasyonunda mikroorganizmalar etkili olmaktadır [70]. Yapılan çalışmalarda, önemli miktarda suda çözünür nitelikte flavonoid içeren *pu-erh* çay ekstraktlarının hem Gram (+) hem de Gram (-) mikroorganizmalar üzerine, ATP, DNA ve RNA gibi protein yapısındaki intraselüler moleküllerin kaybına sebep olan mikrobiyal hücre geçirgenliğini değiştirerek yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ifade edilmektedir [63, 71]. Yeşil çayda bulunan kateşinlerin ise (özellikle de kateşin, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat), metisiline ve ciprofloksasin'e dirençli Stafilokoklar, vankomisine dirençli Enterokoklar, ciprofloksasin'e dirençli *P. aerogenosa*, *S. aureus*, *B. stearothermophilus*, *Clostridium botulinum* gibi Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı siyah çayla karşılaştırıldığında daha fazla antibakteriyel etkiye sahip olduğu [62-63, 67, 72-77] belirlenmiş, bir diğer çalışmada ise, yeşil ve *pu-erh* çay ekstraktlarının *S. aureus*'a karşı orta düzeyde, oolong ve siyah çay ekstraktlarının ise düşük düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği, *E. coli*'ye karşı ise çay ekstraktlarının hiç etki göstermediği tespit edilmiştir [78]. Michalczyk ve Zawislak [79] tarafından yapılan bir çalışmada ise, siyah çay ekstraktlarının *pu-erh* ve yeşil çay ekstraktlarıyla karşılaştırıldığında barsak kökenli bakterilere daha güçlü inhibe edici etki gösterdiği, *S. enteritidis*'in ise yeşil çaya

kiyasla siyah çayla daha yüksek düzeyde inhibe edilebildiği bildirilmiştir.

Yapılan çalışmada, farklı çay yaprakları kullanılarak üretilen tüm Kombu çaylarının antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi ve pozitif kontrol olarak da *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *E.coli* gibi mikroorganizmalar üzerinde etki gösteren geniş spektrumlu antibiyotik, kloramfenikol kullanılmıştır. Kloramfenikol, Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Birliği (EUROCAST) tarafından yayınlanan antimikrobiyal duyarlılık testine yönelik disk difüzyon yöntemi kılavuzunda 30 µg'lık dozlar ile önerilen antibiyotikler arasında yer almakta olup, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ssp. *aureus* (ATCC 29213) için hedef zon çapı 24 mm olarak bildirilmektedir [80]. Araştırmada uygulanan pozitif kontrol dozu 20 µL uygulanmış ve patojenlerin tamamı 15-20 mm zon çapı ile hassasiyet göstermiştir. Kombu çaylarına karşı en hassas mikroorganizmanın *E. coli* ( $p<0.05$ ), en dirençli mikroorganizmanın ise *Lac. acidophilus* ( $p<0.05$ ) olduğu (Tablo 2), *pu-erh* çay yaprakları kullanılarak üretilen Kombu çay örneklerinin ( $p<0.05$ ) ise *Lac. acidophilus* dışında diğer mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal

etki gösterdiği tespit edilmiştir. Hu ve ark. [63] tarafından yapılan bir çalışmada, *Listeria monocytogenes*'in çay yapraklarından elde edilen ekstraktlara karşı en hassas mikroorganizma olduğu, sırasıyla *S. typhimurium*, *S. aureus*, *E. coli*'nin takip ettiği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada ise, *L.monocytogenes*, *S. aureus* ve *S. Typhimurium*'un, *oolong* ve *pu-erh* çay yapraklarıyla üretilen kombu çaylarından etkilendiği tespit edilmiştir. Greenwalt ve ark. [7, 28] ile Sreeramulu ve ark. [81] tarafından yapılan çalışmalarda, kombu çayının antimikrobiyal etkisinin asetik asit içeriğinin bir sonucu olduğu, %0.7 düzeyinde asetik asit içeren Kombu çay örneklerinin *S. aureus*, *E. coli*, *S. choleraesuis* serotype *Typhimurium*, *B. cereus* ve *Agrobacterium tumefaciens* 'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir [28]. Sreeramulu ve ark. [8] ise *S. aureus*, *Shigella sonnei*, *E. coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *S. epidermidis*, *Campylobacter jejuni*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *Helicobacter pylori* ve *L. monocytogenes*'in kombu çayına hassasiyet gösterdiğini, nötr pH ve termal denatürasyondan sonra bile *E. coli*, *S. sonnei*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* ve *C. jejuni*'ye karşı antimikrobiyal etkisinin devam ettiğini ifade etmişlerdir.

Tablo 2. Farklı çay yaprakları kullanılarak üretilen Kombu çay örneklerinin antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)

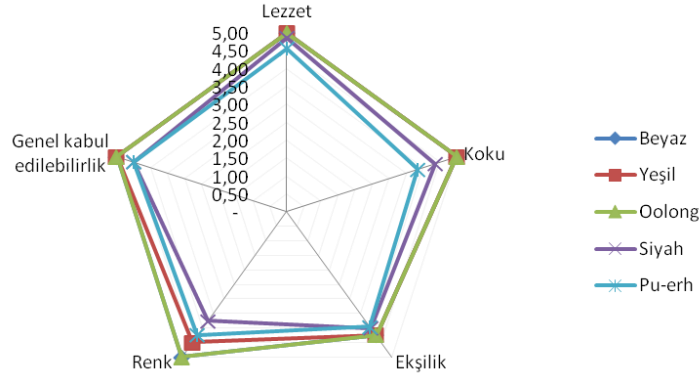
Mikroorganizmalar	Beyaz (mm)	Yeşil (mm)	Oolong (mm)	Siyah (mm)	Pu-erh (mm)	Pozitif kontrol (mm) <sup>1</sup>	Negatif kontrol (mm) <sup>2</sup>
<i>Salmonella enteritidis</i>	14±0.51 <sup>Aa</sup>	15±0.49 <sup>Aa</sup>	-	13±0.21 <sup>Bb</sup>	14±0.32 <sup>Ab</sup>	19±0.52	-
<i>Escherichia coli</i>	14±0.63 <sup>Aa</sup>	14±0.36 <sup>Aa</sup>	14±0.63 <sup>Aa</sup>	15±0.36 <sup>Aa</sup>	14±0.20 <sup>Ab</sup>	20±0.89	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	15±0.52 <sup>Aa</sup>	-	15±0.50 <sup>Aa</sup>	20±0.74	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	15±0.55 <sup>Aa</sup>	-	15±0.26 <sup>Aa</sup>	19±0.63	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	14±0.42 <sup>Aa</sup>	-	14±0.38 <sup>Ab</sup>	20±0.52	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	14±0.78 <sup>Aa</sup>	15±0.45 <sup>Aa</sup>	15±0.41 <sup>Aa</sup>	20±0.74	-
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	-	-	-	9±0.12 <sup>Ac</sup>	8±0.20 <sup>Ac</sup>	14±0.32	-
<i>Lactobacillus casei</i>	-	15±0.22 <sup>Aa</sup>	-	-	14±0.48 <sup>Ab</sup>	18±0.47	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-	-	-	-	20±0.88	-

<sup>1</sup> Kloramfenikol, <sup>2</sup> Steril su, -: *inhibe edici etki yok*; +: <10 mm; ++: 10-15 mm; +++: 15-20 mm, Değerler; ortalama ± standart sapma A,B: Aynı satırdaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları ( $p<0.05$ ), a-c: Aynı sütündeki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıklar ( $p<0.05$ ) ifade etmektedir.

Kombu çay örneklerinin toplam asitlik değerlerinin 11.77-16.99 g/L arasında değiştiği (Şekil 1) göz önünde bulundurulacak olursa, antimikrobiyal etkinin oluşmasında fenolik bileşiklerle birlikte asetik asidin de katkısının olduğu düşünülmekte olup, Mo ve ark. [26], Greenwalt ve ark. [28], Sreeramulu ve ark. [8, 81], Kim ve ark. [39], Mani-Lopez ve ark. [82], Ayed ve ark. [83] ve Battikh ve ark. [84]'nın da ifade ettiği gibi sadece asitlik veya asetik asit ve glukonik asit gibi organik asitler değil aynı zamanda ısıya duyarlı biyoaktif bileşikler (proteinler, antibiyotikler, enzimler vb.), çay yapraklarındaki kateşinlerin ısı nedeniyle epimerizasyonu sonucu değişen kimyasal bileşikler, sitoplazmik asidifikasyon, toksik düzeyde çözünmüş asit

anyon konsantrasyonunun artması ve asetik asit dışındaki diğer metabolitlerin varlığı da antimikrobiyal etkinin oluşmasını desteklemektedir.

Duyusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde (Şekil 4), panelistler beyaz, yeşil ve oolong çay yapraklarıyla üretilen Kombu çayları arasında tüm değerlendirme kriterleri açısından farklılık olmadığını ( $p>0.05$ ), siyah çay yapraklarından üretilen Kombu çaylarının daha koyu renkte olduğunu, pu-erh çay yapraklarından elde edilen çaylarda ise çay yapraklarının üretim şartlarındaki farklılığa bağlı olarak keskin bir kokusunun olduğunu ancak genel kabul edilebilirlik açısından örnekler arasında farklılık bulunmadığını ifade etmişlerdir.



Şekil 4. Kombuçay örneklerine ait duysal değerlendirme sonuçları

## SONUÇ

Elde edilen sonuçlara göre; çay yapraklarında bulunan serbest ve bağlı fenolik bileşikler ile fermentasyon sırasında oluşan metabolitlerin Kombuçay florasında bulunan mikroorganizmaların canlı kalma oranlarına, laktik asit bakterileri dışında, olumlu yönde etki ettiği; pu-erh çay yaprakları ilavesinin canlı kalma yüzdelerinde artışa neden olduğu; Kombuçay örneklerinden en fazla etkilenen mikroorganizmanın *E.coli*, en dirençli mikroorganizmanın ise *Lactobacillus acidophilus* olduğu; farklı çay yaprakları kullanımının duysal olarak olumsuzluk yaratmadığı; üretimde standardizasyon yaratarak geleneksel çay tüketim alışkanlıklarına alternatif, sağlık üzerindeki etkisi geliştirilmiş probiyotik karakterli kombu çayı üzerinde kapsamlı araştırmalar gerçekleştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAP-18-BMYO-1009-091 nolu projeye desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Leal, J.M., Suárez, L.V., Jayabalan, R., Oros, J.H., Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390-399.
- [2] Goh, W.N.A., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, B., Karim, A.A., Bhat, R. (2012). Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, 19(1), 109-117.
- [3] Jarrell, J., Cal, T., Bennett, J.W. (2000). The Kombucha consortia of yeasts and bacteria. *Mycologist*, 14(4), 166-170.
- [4] Kurtzman, C.P., Robnett, C.J., Basehoar-Powers, E. (2001). *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, a new ascosporogenous yeast from Kombucha tea. *FEMS Yeast Research*, 1(2), 133-138.
- [5] İleri-Büyükoğlu, T., Taşçı, F., Şahindokuyucu, F. (2010). Kombucha ve sağlık üzerine etkileri. *Uludağ University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 29(1), 69-76.
- [6] Kreutzmann, S., Christensen, L.P., Edelenbos, M. (2008). Investigation of bitterness in carrots (*Daucus carota* L.) based on quantitative chemical and sensory analyses. *LWT – Food Science and Technology*, 41(2), 193-205.
- [7] Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H., Ledford, R.A. (2000). Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of Food Protection*, 63(7), 976-981.
- [8] Sreeramulu, G., Zhu, Y., Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589-2594.
- [9] Teoh, A.L., Heard, G., Cox, J. (2004). Yeast ecology of kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 119-126.
- [10] Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538-550.
- [11] Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., Yun, S.E. (2010). Biochemical characteristics of tea fungus produced during Kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 843-847.
- [12] Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakravorty, W., Bhattacharya, D., Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72.
- [13] Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(5), 1-16.
- [14] Marsh, A.J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R.P., Cotter, P.D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple Kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171-178.
- [15] İleri-Büyükoğlu, T., Taşçı, F., Şahindokuyucu, F. (2010). Kombucha ve sağlık üzerine etkileri. *Uludağ University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 29(1), 69-76.

- [16] Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y. (2016). Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) by fermentation with Kombucha "tea fungus." *International Journal of Food Science and Technology*, 51(2), 490-498.
- [17] Villarreal-Soto, S.A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.P., Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580-588.
- [18] Velićanski, A.S., Dragoljub, D., Markov, C.S.L., Tumbas Šaponjac, V.T., Vulić, J.J. (2014). Antioxidant and antibacterial activity of the beverage obtained by fermentation of sweetened lemon balm (*Melissa officinalis* L.) tea with symbiotic consortium of bacteria and yeasts. *Food Technology and Biotechnology*, 52(4), 420-429.
- [19] Baschali, A., Tsakalidou, E., Kyriacou, A., Karavasiloğlu, N., Matalas, A.L. (2017). Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 1-24.
- [20] Reiss J. (1994). Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 198(3), 258-261.
- [21] Loncar, E., Djuric, M., Malbasa, R., Kolarov, L.J., Klasnja, M. (2006). Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. *Food and Bioproducts Processing*, 84(3), 186-192.
- [22] Jayabalan, R., Marimuthu, S., Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392-398.
- [23] Wang, Y., Ji, B., Wu, W., Wang, R., Yang, Z., Zhang, D., Tian, W. (2013). Hepatoprotective effects of Kombucha tea: Identification of functional strains and quantification of functional components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 94(2), 265-272.
- [24] Watawana, M.I., Jayawardena, N., Waisundara, V.Y. (2015a). Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by "tea fungus" (Kombucha). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2596-2603.
- [25] Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y. (2015b). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, 1, 1-11.
- [26] Mo, H., Zhu, Y., Chen, Z. (2008). Microbial fermented tea- a potential source of natural food preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 124-130.
- [27] Göçer E.M.Ç., Ergin, F., Küçükçetin, A. (2016). Sindirim sistemi modellerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığı. *Akademik Gıda*, 14(2), 158-165
- [28] Greenwalt, C.J., Ledford, R. A., Steinkraus, K. (1998). Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombucha. *LWT-Food Science Technology*, 31(3), 291-296.
- [29] Bhattacharya, S., Manna, P., Gachhui, R., Sil, P.C. (2011a). Protective effect of Kombucha tea against tertiary butyl hydroperoxide induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 49(7), 511-524.
- [30] Bhattacharya, S., Gachhui, R., Sil, P.C. (2011b). Hepatoprotective properties of Kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*, 18(3), 221-234.
- [31] Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M.M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley, H., Gachhui, R. (2016). Antibacterial activity of polyphenolic fraction of Kombucha against enteric bacterial pathogens. *Current Microbiology*, 73(6), 885-896.
- [32] Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Čanadanović-Brunet, J.M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127(4), 1727-1731.
- [33] Vina, I., Semjonovs, P., Linde, R., Patetko, A. (2013). Glucuronic acid containing fermented functional beverages produced by natural yeasts and bacteria associations. *International Journal of Recent Research and Applied Studies*, 14(1), 17-25.
- [34] Kovacevic, Z., Davidovic, G., Vuckovic-Filipovic, J., Janicijevic-Petrovic, M., Janicijevic, K., Popovic, A. (2014). A toxic hepatitis caused the kombucha tea – Case report. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 2(1), 128-131.
- [35] AOAC, (2005). Official methods of analysis of the AOAC.(18th ed.). Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- [36] Harrigan, W.F, McCance, M.E. (1990). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press, London.
- [37] Asai, T., Lizuka, H., Komagata, K. (1964). The flagellation and taxonomy of genera *Glucanobacter* and *Acetobacter* with reference to the existence of intermediate strains. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 10(2), 95-126.
- [38] Nazzaro, F., Fratianni, F., Nicolaus, B., Poli, A., Orlando, P. (2012). The prebiotic source influences the growth biochemical features and survival under simulated gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Anaerobe*, 18(3), 280-285.
- [39] Valero-Cases, E., Frutos, M.J. (2017). Effect of inulin on the viability of *Lactobacillus plantarum* during storage and *in vitro* digestion and on composition parameters of vegetable fermented juices. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(2), 161-167.
- [40] Kim, E.S., Liang, Y.R., Jin, J., Sun, Q.F., Lu, J.L., Du, Y.Y., Lin, C. (2007). Impact of heating on chemical compositions of green tea liquor. *Food Chemistry*, 103(4), 1263-1267.
- [41] Meilgaard, M. C., Giville, G. V., & Carr, B. T. (1999). The spectrum descriptive analysis method in sensory evaluation techniques. In: Sensory

- Evaluation of Techniques (3rd ed., Chapter 11), p:189-254, Boca Raton, FL: CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9781439832271>
- [42] Liu C. H., Hsu W.H., Lee F.L., Liao C.C. (1996). The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. *Food Microbiology*, 13(6), 407-415.
- [43] Chen C., Liu B.Y. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89(5), 834-839.
- [44] Zubaidaha, E., Afgani, C.A., Kalsum, U., Sriantac, I., Blanc, P. (2019). Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit Kombucha, black tea Kombucha and metformin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 465-469.
- [45] Zubaidah, E., Apriyadi, T.E., Kalsum, U., Widyastuti, E., Estiasih, T., Srianta, I., Blanc, P.J. (2018). In vivo evaluation of snake fruit Kombucha as hyperglycemia therapeutic agent. *International Food Research Journal*, 25(1), 453-457.
- [46] Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., Kolożyn-Krajewska, D. (2017). Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - Journal of Food*, 15(4), 601-607.
- [47] Yang, Z., Zhou, F., Ji, B., Li, B., Luo, Y., Yang, L., Li, T. (2010). Symbiosis between microorganisms from Kombucha and Kefir: potential significance to the enhancement of Kombucha function. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(2), 446-455.
- [48] Sun, T.Z., Li, J.S., Chen, C. (2015). Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 709-718.
- [49] Gramza-Michałowska, A., Kulczyński, B., Xindi, Y., Gumienka, M. (2016). Research on the effect of culture time on the kombucha tea beverage's antiradical capacity and sensory value. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(4), 447-457.
- [50] Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Satishkumar, M., Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227-234.
- [51] Pure, A.E., Pure, M.E. (2016). Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusions. *Applied Food Biotechnology*, 3(2), 125-130.
- [52] Güldane, M., Bayram, M., Topuz, S., Kaya, C., Gök, H.B., Bülbül, M., Koç, M. (2017). Beyaz, siyah ve yeşil çay kullanılarak üretilen kombuchaların bazı özelliklerinin belirlenmesi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University (JAFAG)*, 34(1), 46-56.
- [53] Amarasinghe, H., Weerakkody, N.S., Waisundara, V.Y. (2018). Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha "Tea Fungus" during extended periods of fermentation. *Food Science and Nutrition*, 6(3), 659-665.
- [54] Primiani, N., Pujiati, M.M., Ardhi, I.S. (2018). Kombucha fermentation test used for various types of herbal Teas. *Journal of Physics: Conference Series*, 1025, 012073, 9p.
- [55] Dufresne, C., Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*, 33(6), 409-421.
- [56] Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2013). Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry*, 37(2), 231-236.
- [57] Essawet, N.A., Cvetkovic, D., Velicanski, A., Canadanovic-Brunet, J., Vulic, J., Maksimovic, V., Markov, S. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of Kombucha beverage enriched with Coffeberry extract. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21(3), 399-409.
- [58] Lv, H.P., Zhang, Y.J., Lin, Z., Liang, Y.R. (2013). Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: A review. *Food Research International*, 53(2), 608-618.
- [59] Gladysheva, E.K., Skiba, E.A., Zolotukhin, V.N., Sakovich, G.V. (2018). Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces gisevii* Sa-12. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 54(2), 179-187.
- [60] Hubert, B., Eberl, L., Feucht, W. Polster, J. (2003). Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. *Zeitschrift für Naturforschung A*, 58(11-12), 879-884.
- [61] Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., Pollio, A. (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: A review. *Molecules*, 16(2), 1486-1507.
- [62] Siddiqui, Md. W., Sharangi, A.B., Singh, J.P., Thakur, P.K., Ayala-Zaala, J. F., Singh, A., Dhua, R.S. (2016). Antimicrobial properties of teas and their extracts in vitro. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1428-1439.
- [63] Hu, Y., Jia, J., Qiao, J., Ge, C., Cao, Z. (2010). Antimicrobial activity of pu-erh tea extracts in vitro and its effects on the preservation of cooled mutton. *Journal of Food Safety*, 30(1), 177-195.
- [64] Hazra, A., Saha, J., Dasgupta, N., Sengupta, C., Kumar, P.M., Das, S. (2017). Health-benefit assets of different Indian processed teas: a comparative approach. *American Journal of Plant Sciences*, 8(7), 1607-1623.
- [65] Padmini, E., Valarmathi, A. Rani, M.U. (2010). Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1(4), 772-781.
- [66] Chan, E.W.C., Soh, E.Y., Tie, P.P. Law, Y.P. (2011). Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Research*, 3(4), 266-272.
- [67] Ansari, F., Pourjafar, H., Esmailpour, S. (2017). Study on citric acid production and antibacterial activity of kombucha green tea beverage during production and storage. *Annual Research and Review in Biology*, 16(3), 1-8.

- [68] Jiang, H.Y. (2009) White tea: its manufacture, chemistry, and health effects. In: Chemistry and Health-Promoting Properties, Edited by Chi-Tang Ho, Jen-Kun Lin, Fereidoon Shahidi, CRC Press, Boca Raton-Florida, USA pp.17-29.
- [69] Carloni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customo, C., Kay, A. Damiani, E. (2013). Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar. *Food Research International*, 53(2), 900-908.
- [70] Chen, M., Zhu, Y., Zhang, H., Wang, J., Liu, X., Chen, Z., Zheng, M., Liu, B. (2017). Phenolic compounds and the biological effects of Puerh teas with long-term storage, *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1715-1728.
- [71] Duh, P.D., Yen, G.C., Yen, W.J., Wang, B.S. Chang, L.W. (2004). Effects of pu-erh tea on oxidative damage and nitric oxide scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8169-8176.
- [72] Bancirova, M. (2010). Comparison of the antioxidant capacity and the anti-microbial activity of black and green tea. *Food Research International*, 43(5),1379-82.
- [73] Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi, R., Shimamura, T. (1989). The bactericidal activity of tea and coffee. *Letters in Applied Microbiology*, 8(4), 123-125.
- [74] Lee, Y.L., Cesario, T., Wang, Y., Shanbrom, E., Thrupp, L. (2003). Antibacterial activity of vegetables and juices. *Nutrition*, 19(11-12), 994-996.
- [75] Yam, T.S., Shah, S., Hamilton-Miller, J.M.T. (1997). Microbiology activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiology Letters*, 152(1), 169-174.
- [76] Sakanaka, S., Juneja, L.R., Tanigachi, M. (2000). Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90(1), 81-85.
- [77] Yokihiko, H., Watanabe, M. (1989). Antibacterial activity of tea polyphenols against *Clostridium botulinum*. *Journal of Japanese Society of Food Science Technology*, 36(12), 951-955.
- [78] Wu, S.C., Yen, G.C., Wang, B.S., Chiu, C.K., Yen, W.J., Chang, L.W. Duh, P.D. (2007). Antimutagenic and antimicrobial activities of pu-erh tea. *LWT - Food Science and Technology*, 40(3), 506-512.
- [79] Michalczyk, M. Zawislak, A. (2008). The effect of tea infusions on the proliferation of selected bacteria important for the human intestinal tract. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(1), 59-65.
- [80] EUCAST, (2018). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 20p (Erişim tarihi: 27.07.2019, <https://www.ipna.csic.es/sites/default/files/users/user282/EUCAST%202018.pdf>).
- [81] Sreeramulu, G., Zhu, Y. Knol, W. (2001). Characterization of antimicrobial activity in Kombucha fermentation. *Acta Biotechnologica*, 21(1), 49-56.
- [82] Mani-López, E., García, H.S., López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International*, 45(2), 713-721.
- [83] Ayed, L., Abid, S.B., Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 67(1), 111-121.
- [84] Battikh, H., Bakhrouf, A. Ammar, E. (2012). Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1), 71-77.
-

## Afyonkarahisar İli Semt Pazarlarında Satılan Süzme (Kese) Yoğurtların Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Gökhan Akarca , Oktay Tomar 

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar

Geliş Tarihi (Received): 25.04.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 15.09.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [gakarca@aku.edu.tr](mailto:gakarca@aku.edu.tr) (G. Akarca)

☎ 0 272 228 14 23 📠 0 272 228 14 22

### ÖZ

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ili halk pazarlarında tam yağlı süzme ya da kese yoğurdu olarak satışa sunulan konsantre yoğurtlardan farklı zamanlarda (mart ve eylül ayları arasında) alınan 50 adet örneğin, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerinin Türk Gıda Kodeksi, Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilen kriterlere uygunluğunun araştırılması amaçlanmıştır. Örneklerin ortalama pH, titrasyon asitliği, yağ, kuru madde ve protein içeriği değerleri sırasıyla  $3.51\pm 0.36$ ,  $2.09\pm 0.11$ ,  $5.36\pm 0.14$ ,  $23.88\pm 2.17$  ve  $6.14\pm 1.08$  olarak bulunurken, ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam aerobik psikrofilik bakteri, toplam koliform grup bakteri, maya/küf, laktik asit bakteri sayıları ile *Staphylococcus aureus* sayıları ise;  $4.87\pm 0.92$ ,  $3.01\pm 0.61$ ,  $2.69\pm 0.16$ ,  $4.64\pm 0.14$ ,  $5.67\pm 0.38$  ve  $2.59\pm 0.28$  log kob/g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, örneklerin %16'sında (8 adedinde) *Escherichia coli* ve %12'sinde (6 adedinde) ise *Salmonella* spp. gelişimi belirlenmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara göre; süzme yoğurt numunelerinin %26'sı protein, %14'ü yağ içeriği, %100'ü maya/küf, %38'i toplam koliform grup bakteri sayısı, %14'ü *Staphylococcus aureus* sayısı, %16'sı *Escherichia coli* ve %12'si de *Salmonella* spp. varlığı açısından ilgili tebliğlerde belirtilen kriterlere uymadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Süzme yoğurt, Kimyasal özellik, Mikrobiyolojik kalite, Türk Gıda Kodeksi

### Chemical and Microbiological Properties of Strained Yoghurts Sold in Afyonkarahisar (Turkey) Local Bazaars

#### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the compliance of whole fat strained yoghurt samples (n=50) sold in Afyonkarahisar (Turkey) local bazaars at different times (between March and September) for criteria specified at the Turkish Food Codex, Fermented Dairy Products Communiqué. The mean pH value, titratable acidity, fat, dry matter and protein contents of the samples were determined as  $3.51\pm 0.36$ ,  $2.09\pm 0.11\%$ ,  $5.36\pm 0.14\%$ ,  $23.88\pm 2.17$  and  $6.14\pm 1.08\%$ , respectively. Also, total aerobic mesophilic bacteria, total aerobic mesophilic psychrophilic bacteria, total coliform group bacteria (TCGB), yeast/mold, lactic acid bacteria and *Staphylococcus aureus* counts were determined as  $4.87\pm 0.92$ ,  $3.01\pm 0.61$ ,  $2.69\pm 0.16$ ,  $4.64\pm 0.14$ ,  $5.67\pm 0.38$  and  $2.59\pm 0.28$  log cfu/g. In addition, eight of the yoghurt samples (16%) were found positive for *Escherichia coli* while six of the yoghurt samples (12%) were found positive for *Salmonella* spp. According to the results; the number of strained yoghurt samples that are incompliant with the criteria stated in the communiqué was 26% for protein content, 14% for fat content, 100% for yeast/mold count, 38% for TCGB count, 14% for *Staphylococcus aureus* count, 16% for *Escherichia coli* count and 12% for *Salmonella* spp. count.

**Keywords:** Strained yoghurt, Chemical properties, Microbiological quality, Turkish Food Codex



## GİRİŞ

Süt ürünleri içerisinde en fazla tüketilen çeşitlerden birisi olan yoğurt, insan beslenmesinde son derece önemli bir yere sahiptir. Yoğurt sütün *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* ve *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus* bakterilerinin faaliyeti sonucunda elde edilen fermente bir süt ürünüdür [1]. Önemli bir besin kaynağı olan yoğurt yüksek protein, yağ, mineral madde ve vitamin kaynağıdır [2]. Yoğurdun çeşitleri arasında dayanıklılığı en fazla olan süzme ya da kese yoğurdu olarak bilinen çeşittir. Süzme yoğurt Türkiye’de en yaygın olarak tanınan ve tüketilen yoğurttur [3].

Diğer yoğurt çeşitleri ile kıyaslandığında daha yüksek besin değerine sahip olan süzme yoğurt, uzun raf ömrü ve zengin tat ve aroması sebebiyle tüketicilerce daha fazla tercih edilmektedir [4]. Süzme yoğurt %70-80 nem içeriğine sahip olup, %4.46-9.22 protein, %6.0-10.4 yağ ve %0.56-0.86 mineral madde içeriğine sahiptir [5]. Süzme yoğurtlar genellikle bu amaç için üretilmiş klasik yoğurtlardan (pıhtısı parçanmış set tipi yoğurt) üretilmesine [6] karşın, iade yoğurtlar da süzme yoğurt üretiminde kullanılmaktadır [7]. Süzme yoğurtlar; üretiminde kullanılan sütün mikrobiyal kalitesinin düşük olması ve iade yoğurt kullanımı ile üretim, süzme, ambalajlama, depolama ve satış aşamalarında yeterince hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmaması sonucunda mikrobiyal kontaminasyona kolaylıkla uğramaktadır. Bu durum hem yoğurdun mikrobiyolojik kalitesini düşürmekte hem raf ömrünü azaltmakta ve hem de tüketicinin sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir.

Bu çalışmada Afyonkarahisar ili halk pazarlarında tam yağlı olarak satışa sunulan süzme (kese) yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğinde (Tebliğ No: 2009/25) belirtilen kriterlere uygunluğu araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Araştırmada kullanılan 50 adet tam yağlı olarak satışa sunulmuş süzme yoğurt numunesi, farklı zaman dilimlerinde (Mart ve eylül ayları arasında), Afyonkarahisar ilindeki sekiz farklı semt pazarından temin edilmiştir. Yoğurtlar satışa sunuldukları ambalajlar içerisinde ve en az 250 g olacak şekilde alınarak soğuk zincir altında Afyon Kocatepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarına getirilmiş ve analizleri tamamlanıncaya kadar buzdolabı koşullarında (+4±1°C’de) muhafaza edilmişlerdir.

### Kimyasal Analizler

Yoğurt örneklerinin, pH, titrasyon asitliği, yağ, kuru madde ve protein analizleri AOAC’a [8] göre yapılmıştır. Numunelerinin pH değerleri ise Ohaus (ST 5000) marka pH metre cihazı kullanılarak ölçülmüştür

## Mikrobiyolojik Analizler

Süzme yoğurt numunelerine, toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), toplam aerobik psikrofilik bakteri (TAPB), maya/küf, toplam koliform grup bakteri (TKGB), laktik asit bakterisi (LAB), *Staphylococcus aureus* türü bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. cinsi bakteri varlıkları yayma plak yöntemi kullanılarak araştırılmıştır [9]. Bu amaçla süzme yoğurt numunelerinden steril koşullar altında 10 g alınarak, steril stomacher poşetlerine (Lp Italiana Spa-174538) aktarılmış ve 10<sup>-6</sup> ya kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır [10, 11].

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam aerobik psikrofilik bakteri (TAPB) sayısı analizi yayma plak metodu ile Plate Count Agar (PCA) (Merck 1.05463) kullanılarak yapılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları aerobik koşullarda TAMB sayısı için 30°C’de 48-72 saat [12, 13], TAPB sayısı için ise 4°C’de 5-7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır [9]. Maya/küf sayısı analizi için Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Merck 1.00467) (RBC) kullanılmış ve ekimi yapılan petri kutuları aerobik koşullarda 22°C’de 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır [14]. Toplam koliform grubu bakteri (TKGB) sayımı için Violet Red Bile Agar (Merck 1.01406) kullanılmış petri kutuları aerobik koşullarda, 30°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır [15]. Laktik Asit Bakteri (LAB) sayımı için ise Man Rogosa and Sharpe Agar (MRS) (Merck 1.10661), kullanılmış petri kutuları jar içerisinde (Merck 1.16387) anaerobik koşullarda 30°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır [16].

*Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* türü bakteri sayısı analizleri yayma plak metodu ile sırasıyla Baird Parker Agar (Merck 1.05406) ve Chromocult TBX Agar (Merck 1.16122) kullanılarak yapılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları aerobik koşullarda, sırasıyla 30-35°C ve 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda *Staphylococcus aureus* türü bakteriler için şüpheli kolonilerden (etrafı beyaz zonlu, siyah koloniler) örnekler alınarak yeniden Baird Parker Agar’a ekim yapılmış, aynı süre ve koşullarda bir kez daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gelişen kolonilerden alınarak Bactident Coagulase (Merck 1.13306) ile koagülaz testi uygulanmış pozitif sonuç verenler *Staphylococcus aureus* olarak değerlendirilmiştir. *Escherichia coli* türü bakteriler için ise; inkübasyon sonrasında gelişen koloniler UV (366 nm) ışık altında kontrol edilmiştir [17-19].

*Salmonella* cinsi bakteri sayımı yayma plak metodu ile Nutrient Broth (NB) (Merck 1.05443) Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth (RVS) (Merck 1.07700) ve Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose Agar (BPLS) (Merck 1.10747) ve Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (Merck 1.105287) kullanılarak yapılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları aerobik koşullarda 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır [20-22].

*Listeria* cinsi bakteri sayımı yayma plak metodu ile Fraser broth (Merck 1.10398) ve Oxford Agar (Merck 1.07004) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekimi yapılan petri

kutuları aerobik koşullarda 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır [23, 24].

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Afyon ili semt pazarlarında satılan 50 süzme yoğurt numunesinin pH değerlerinin ortalama  $3.51 \pm 0.36$  olduğu, % titrasyon asitlik değerlerinin ise %1.86 ile %3.21 aralığında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Süzme yoğurt numunelerinin kimyasal analiz sonuçları

Parametre	Numune (n: 50)		
	Minimum	Maksimum	Ortalama±Standart Sapma
pH	3.26	4.14	3.51±0.36
Titrasyon Asitliği (%)	1.86	3.21	2.09±0.11
Yağ (%)	2.64	7.11	5.36±0.14
Kuru Madde (%)	18.71	36.06	23.88±2.17
Protein (%)	3.54	7.86	6.14±1.08

Kırdar ve Gün [5] Burdur ilinde dört farklı işletmeden, iki farklı zaman periyodunda (yaz ve kış) aldıkları süzme yoğurtların pH değerlerinin 3.71 ile 3.86 aralığında değiştiğini bildirmişlerdir.

Gökçe ve ark. [25] Denizli ilinde satışa sunulan süzme yoğurt örneklerinden yaz ve kış olmak üzere iki farklı dönemde aldıkları örneklerde % asitlik değerlerini ortalama olarak yaz döneminde 1.95 ve kış döneminde 1.96 olarak belirlediklerini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda incelediğimiz süzme yoğurt örneklerinin yağ (%) ve kuru madde (%) değerleri ortalama olarak, sırasıyla  $5.36 \pm 0.14$  ve  $23.88 \pm 2.17$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).

Karahan [26] Batman'ın farklı köylerinden toplanan yoğurt örneklerinin yağ (%) değerlerinin ortalama 4.4 olarak belirlemiştir. Çağlar ve ark. [27] ise; süzme

yoğurtların fiziksel ve kimyasal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında inceledikleri süzme yoğurt örneklerinin ortalama kuru madde miktarlarını %32.26 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Afyon ili semt pazarlarında satılan toplam 50 adet süzme yoğurt numunesinin protein (%) miktarlarının 3.54 ile 7.86 aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1). Burdur ilinde satılan süzme yoğurtların protein (%) değerlerini Kırdar ve Gün [5], 2.50 ile 5.80 aralığında tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar tarafından yapılan konuyla ilgili benzer çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile çalışmamızdaki bulgular arasındaki farklılıklar mevcuttur. Bu farklılıkların, hammadde, uygulanan proses ve depolama ile satış koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Tablo 2. Süzme yoğurt numunelerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

Parametre	Numune (n: 50)		
	Minimum	Maksimum	Ortalama±Standart Sapma
TAMB Sayısı	3.79	6.83	4.87±0.92
TAPB Sayısı	2.50	4.39	3.01±0.61
TKGB Sayısı	<1	3.91	2.69±0.16
Maya/Küf Sayısı	3.90	6.55	4.64±0.14
LAB Sayısı	3.82	6.39	5.67±0.38
<i>Staphylococcus aureus</i> Sayısı	<1	3.77	2.59±0.28

TAMB: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri, TAPB: Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri, TKGB: Toplam Koliform Grup Bakteri, LAB: Laktik Asit Bakteri.

Afyonkarahisar ili semt pazarlarında satılan süzme yoğurt örneklerinin ortalama TAMB ve TAPB sayıları sırasıyla  $4.87 \pm 0.92$  ve  $3.01 \pm 0.61$  log kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Kırdar ve Gün [6], Burdur'da iki farklı dönemde satışa sunulan süzme yoğurtların TAMB sayılarını 3.30 ile 8.24 log kob/g aralığında tespit ettiklerinin bildirmişlerdir.

Araştırmamızda incelediğimiz 50 adet süzme yoğurt numunesinin TKGB sayılarının <1.00 ile 3.91 log kob/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 2). Gökçe ve ark. [25] iki farklı dönemde Denizli ilinde satışa sunulan süzme yoğurtlardan aldıkları örneklerde TKGB sayısının <1 ile 4.65 log kob/g aralığında değiştiğini tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda süzme yoğurt numunelerinin maya küf sayıları ise ortalama,  $4.64 \pm 0.14$  log kob/g olarak belirlenmiştir. Çetin ve ark. [28] Kırklareli'nde üretilen yoğurtların maya küf sayılarını <1 ile 5.36 log kob/g aralığında tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

50 adet süzme yoğurt örneğinin LAB sayılarının 3.82 ile 6.39 log kob/g arasında değiştiğini ortalama olarak  $5.67 \pm 0.38$  log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Yoğurt örneklerinin *Staphylococcus aureus* türü bakteri sayıları ise ortalama  $2.59 \pm 0.28$  log kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Demirkaya ve Ceylan [1], Bilecik'te tüketime sunulan yoğurtlardan aldıkları örneklerde LAB sayılarının 6.47 ile 7.98 log kob/g arasında değiştiğini ortalama 5.08 log kob/g aralığında belirlemiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile aynı konuda yapılan benzer çalışmalar arasında farklılıklar mevcuttur. Farklılıkların; yoğurtların üretiminde kullanılan çiğ sütün mikrobiyal kalitesinden, süte uygulanan işlemlerden, kullanılan starter kültürün tipi ve oranından, son ürünün fiziksel ve kimyasal farklılıkları ile depolama, ambalajlama, nakliye ve satış aşamalarında hijyen ve

sanitasyon kurallarına gerektiği kadar dikkat edilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Afyonkarahisar semt pazarlarında satılan süzme yoğurtlardan aldığımız 50 adet numunenin 8 adedinde (%16) *Escherichia coli*, 6 adedinde (%12) *Salmonella* spp. cinsi bakteri gelişimi belirlenmiştir. Buna karşın örneklerimizin hiçbirinde *Listeria* spp. cinsi bakteri gelişimi gözlemlenmemiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Süzme Yoğurt Numunelerinin Bazı Patojen Bakterilerin Varlığı

Yapılan Analiz	Numune (n: 50)	
	Üreme Gözlenen Numune Sayısı	%
<i>Escherichia coli</i> Türü Bakteri Analizi	8	16
<i>Salmonella</i> spp. Cinsi Bakteri Analizi	6	12
<i>Listeria</i> spp. Cinsi Bakteri Analizi	0	0

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğinde [29] süzme yoğurt ile ilgili bölümde, tam yağlı yoğurtlarda süt yağı miktarı  $\geq$ 3.8 olarak belirtilmiştir. Alınan yoğurt numunelerinin ortalama yağ miktarının (%5.36) kodekse belirtilen değerin üzerinde olmasına karşın numunelerin 7 adedinin (en düşük %2.64) yağ miktarı kodekse belirtilen değerin altındadır. Aynı tebliğde tam yağlı yoğurtların protein miktarının en az %5.6 olması gerektiği ifade edilmiştir. Örneklerimizin ortalama protein miktarları (%6.14) kodekste belirtilen değerlerin üzerinde olmasına karşın 13 örneğimizin protein değerinin (en düşük %3.54) kodekste belirtilen değerlerin altında olduğu tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği Mikrobiyolojik Değerler bölümünde [29] TAMB ve TAPB, sayıları ile ilgili bir sınırlandırma bulunmamasına karşın, maksimum TKGB sayısı <1 log kob/g ile maksimum maya/küf sayısı 3 log kob/g olarak belirtilmiştir. Ayrıca Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği Tüketime Hazır Gıda Maddeleri, Patojen Mikroorganizma Limitleri Bölümünde [30]; *Staphylococcus aureus* sayısı maksimum 3 log kob/g, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. sayıları ise, "0" olarak belirtilmiştir.

Süzme yoğurt örneklerimizin tamamının maya/küf sayısı ile, 19 adedinde TKGB sayısı kodekse belirtilen limit değerlerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin 8 adedinde *Escherichia coli* ve 6 adedinde ise *Salmonella* spp. gelişimi belirlenmiştir.

Yoğurt örneklerindeki yüksek maya/küf, TKGB ve *Staphylococcus aureus* türü bakteri sayıları ile patojen bakterilerin varlığının, özellikle uygulanan ısıl işlem sonrasındaki süzme, depolama ve ambalajlama aşamalarında meydana gelen sekonder kontaminasyonlar ile satış aşamasında hijyen ve sanitasyon kurallarına yeterince önem verilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

## SONUÇ

Afyonkarahisar ili semt pazarlarında tam yağlı olarak satışa sunulan süzme yoğurt numunelerinin %26'sı protein, %14'ü yağ içeriği, %100'ü maya/küf, %38'i TKGB sayısı, %14'ü *Staphylococcus aureus* sayısı, %16'sı *Escherichia coli* ile %12'si de *Salmonella* spp. varlığı açısından ilgili tebliğler ile kıyaslandığında belirtilen

kriterlere uymamaktadır. Özellikle semt pazarlarında satışa sunulan yoğurtların belirli bir standart olmadan üretildiği, üretim, depolama ve satış aşamalarında hijyen ve sanitasyon kurallarına yeterince uyulmadan, uygun olmayan ambalaj malzemeleri içerisinde ve açıkta satıldığı, bu durumun da tüketici sağlığı açısından risk teşkil edebileceği tespit edilmiştir.

Bu nedenlerle öncelikle süzme yoğurt üretiminin bir standarda bağlanması, gıda maddeleri tüzüğü fermente süt ürünleri tebliğinde, süzme yoğurt ile ilgili ayrı bir bölüm oluşturularak kimyasal ve mikrobiyolojik standartlarının belirlenmesi gerekmektedir. Özellikle süzme yoğurtta tüketici aldatmaya en uygun kriter olan kuru madde miktarı ile asitlik değerlerinin (% asitlik, pH veya SH<sup>o</sup>) mutlaka ilave edilmesi gerekmektedir. Bu kriterin tebliğde olamaması, tüketicinin ciddi hilelere maruz kalmasına, hile yapmayan firmalara karşı haksız rekabetin oluşmasına ve sonuçta yoğurt kalitesinin bozulmasına yol açacağı kesindir. Yine fermente süt ürünleri tebliği mikrobiyolojik değerler bölümüne TAMB ve TAPB sayılarının eklenmesi ürünün mikrobiyolojik güvenliğinin belirlenmesi açısından önemli olacaktır. Bu sayede süzme yoğurtla ilgili belirsizliğin ortadan kalkacağı, tüketici açısından daha kaliteli, standart ve güvenilir bir ürün ortaya çıkacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Demirkaya, A.K., Ceylan, Z.G. (2013). Bilecik'te tüketime sunulan yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3), 202-209.
- [2] Marshall, R.T. (1993). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association, 16th ed, Washington DC, USA.
- [3] Tekinsen, K.K., Bayar, N. (2008). Geleneksel ürün süzme (torba) yoğurdu. *Süt Dünyası Süt Ürünleri ve Teknolojileri Dergisi*, 3, 54-57.
- [4] Yeganehzad, S., Mazaheri-Tehrani, M., Shahidi, F. (2007). Studying microbial, physiochemical and sensory properties of directly concentrated probiotic yoghurt. *African Journal of Microbiology*, 2(8), 366-369.
- [5] Kırdar, S., Gün, İ. (2001). Burdur'da üretilen süzme yoğurtlarının üretim teknolojisi üzerine bir araştırma. *Gıda*, 2, 99-107.

- [6] Kırdar, S., Gün, İ. (2002). Burdur'da tüketilen torba yoğurtlarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda*, 27(1), 59-64.
- [7] Atamer, M., Sezgin, E., Yetişmeyen, A. (1988). Torba yoğurtlarının bazı niteliklerinin araştırılması, *Gıda*, 13(49), 283-288.
- [8] AOAC, (2016). Official Methods of Analysis. Association of Analytical Chemists, 20th ed. Washington, DC, USA.
- [9] Halkman K., Sağdaz, Ö.E. (2011). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Prosigma Basım ve Promosyon Hizmetleri, Ankara.
- [10] Anonim, (2001). Türk Standartları Enstitüsü, TS 6235 EN ISO 6887-1. Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi, Deney Numunelerinin Başlangıç Süspansiyonunun ve Ondalık Seyreltilerinin Hazırlanması İçin Genel Kurallar.
- [11] Sekin, Y., Karagözlü, N. (2004). Gıda Mikrobiyolojisi. Gıda Endüstrisinde Temel İlkeler ve Uygulamalar. Literatür Yayınevi, İstanbul.
- [12] ISO, (2013b). International Standard Organization, 4833-1:2013. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. Geneva, Switzerland.
- [13] ISO, (2008). International Standard Organization, 21527-1:2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds, Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95.
- [14] ISO, (2013a). International Standard Organization, 4833-2:2013. Horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 2: Colony count at 30 degrees C by the surface plating technique. Geneva, Switzerland.
- [15] ISO, (1991). International Standard Organization, 4832. General guidance for the enumeration of coliforms colony count technique. Geneva, Switzerland.
- [16] Kneifel, W., Berger, E. (1994). Microbiological Criteria of random samples of spices and herbs retailed on the Austrian market. *Journal of Food Protection*, 57(10), 893-901.
- [17] ISO, (1999). International Standard Organization, 6888-1. Horizontal method for the enumeration of coagulase positive Staphylococci Technique using Baird Parker agar medium. Geneva, Switzerland.
- [18] ISO, (2001). International Standard Organization. 16649-1:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of beta glucuronidase positive *Escherichia coli*. Part 1: Colony count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. Geneva, Switzerland.
- [19] ISO, (2015). International Standard Organization. 16649-3:2015. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide. Geneva, Switzerland.
- [20] Greenwood, M.H., Coetzee, E.F., Ford, B.M., Gill, P., Hooper, W.L., Matthews, S.C.V., Patric, S. (1984). The microbiology of selected retail food products with an evolution of vialable counting methods. *Journal of Hygiene*, 92, 67-77.
- [21] Flowers R.S., D'aust J.Y, Andrews, W.H., Bailey J.S. (1992). *Salmonella* In Compendium of the Methods for the Microbiological Examinations of Foods. Edited by C. Vanderzant, D.F. Spittstoesser. American Public Health Association, USA, 371-422.
- [22] ISO, (2017a). International Standard Organization. 6579-1:2017. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*. Geneva, Switzerland.
- [23] ISO, (2017b). International Standard Organization. 11290-1:2017. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. Part 1: Detection method. Geneva, Switzerland.
- [24] ISO, (2017c). International Standard Organization. 11290-2:2017. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. Part 2: Enumeration method. Geneva, Switzerland.
- [25] Gökçe, R., Çon, A.H., Gürsoy, O. (2001). Denizli'de yaz ve kış mevsimlerinde üretilen torba yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(1), 81-86.
- [26] Karahan, L.E. (2016). Batman'da tüketime sunulan yoğurtların bazı kimyasal ve tekstürel özellikleri. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 6(2/2), 59-65.
- [27] Çağlar, A., Ceylan, Z.G., Kökosmanlı, M. (1997). Torba yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda*, 22(3), 209-215.
- [28] Çetin, B., Atik, A., Karasu, S. (2014). Kırklareli'nde üretilen yoğurt ve ayranların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. *Akademik Gıda*, 12(2), 57-60.
- [29] Anonim, (2009). Türk Gıda Kodeksi, Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2009/25). Türkiye Cumhuriyeti, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara.
- [30] Anonim, (2011). Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Türkiye Cumhuriyeti, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara.

## ***Chlorella protothecoides* Mikroalg Yağının Karakterizasyonu, Biyoaktif Özellikleri ve Antifungal Etkinliği**

Azime Yılmaz  

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Davutpaşa Kampüsü, 34220, İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 16.03.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 31.07.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [yilmaz@yildiz.edu.tr](mailto:yilmaz@yildiz.edu.tr) (A. Yılmaz)

☎ 0 212 383 46 26 📠 0 212 383 46 25

### ÖZ

Mikroalgler protein, yağ asitleri, karbonhidrat, mineral, pigment, vitaminler, steroller, antioksidanlar ve biyoaktif polifenoller gibi değerli metabolitler üretilen, aktif bileşenler açısından zengin kaynaklardır. Bu değerli metabolitleri sayesinde günümüzde mikroalgler gıda, kozmetik, eczacılık, tarım gibi birçok alanda kullanım potansiyeline sahiptir. *Chlorophyta* grubuna ait yeşil tek hücreli *Chlorella* sp. antitümör, antikoagulan, antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antioksidan aktivite göstermektedir. Mikroalg türlerinden elde edilen mikroalg yağlarının fungal mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve gıdalarda koruyucu olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir. Bu çalışmada gıdalarda kalitatif ve kantitatif kayıplara yol açan *Penicillium chrysogenum* ve *Aspergillus parasiticus* funguslarına karşı, kimyasal gıda koruyucularına alternatif olabilecek *C. protothecoides* mikroalg yağının antifungal etkinliği incelenmiştir. *Penicillium chrysogenum* ve *Aspergillus parasiticus* funguslarına karşı %5 ve %10'luk konsantrasyonlarda dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak hazırlanan *C. protothecoides* mikroalg yağı, disk difüzyon metodu kullanılarak antifungal etkisi araştırılmıştır. Her iki fungal patojende *C. protothecoides* mikroalg yağının misel gelişimini azalttığı tespit edilmiştir. *C. protothecoides* mikroalg yağının antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikali giderme metodu kullanılarak tayin edilmiştir. Mikroalg yağının antioksidan etkisi %45.93 olarak tespit edilmiştir. *C. protothecoides* mikroalg yağının, denenen *P. chrysogenum* ve *A. parasiticus*'a karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda *C. protothecoides* yağının gıda endüstrisinde gıda koruyucu olarak kullanılabilirliği öngörülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikroalg yağı, Antioksidan aktivite, Antifungal aktivite, *Chlorella protothecoides*, Disk difüzyon metodu

### **Characterization, Bioactive Properties and Antifungal Activity of *Chlorella protothecoides* Microalgae Oil**

#### ABSTRACT

Microalgae can produce valuable metabolites such as protein, fatty acids, carbohydrates, minerals, pigments, vitamins, sterols, antioxidants and bioactive polyphenols, which are rich sources of active ingredients. Thanks to these valuable metabolites, microalgae today have the potential to be used in many areas such as food, cosmetics, pharmaceuticals and agriculture. Green single cell *Chlorella* sp. belonging to the *Chlorophyta* group shows antitumor, anticoagulant, antibacterial, antiviral, antifungal and antioxidant activity. It is known that microalgae oils have antimicrobial effect against fungal microorganisms and can be used as a preservative in foods. In this study, the antifungal activity of *Chlorella protothecoides* microalgae oil, an alternative to chemical preservation, against *Penicillium chrysogenum* and *Aspergillus parasiticus* fungi, which may cause qualitative and quantitative losses in foods, was determined. The antifungal effect of *C. protothecoides* microalgae oil prepared by using 5% and 10%

concentrations in dimethyl sulfoxide (DMSO) against these fungi was determined by the disc diffusion method. In both fungal pathogens, *C. protothecoides* microalgae oil decreased micellar growth. The antioxidant activity of the *C. protothecoides* microalgae oil was determined using the 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) free radical removal method. Antioxidant effect of microalgae oil was determined as 45.93%. *C. protothecoides* microalgae oil had an antifungal activity against *P. chrysogenum* and *A. parasiticus*. According to the results, it can be concluded that *C. protothecoides* oil may be used as a food preservative in the food industry.

**Keywords:** Microalgae oil, Antioxidant activity, Antifungal activity, *Chlorella protothecoides*, Disc diffusion method

## GİRİŞ

Gıda ve tarım ürünleri pek çok fungal mikroorganizmanın gelişmesi ve toksik metabolitlerini üretebilmeleri için uygun bir ortam sağlar. Bu fungal mikroorganizmalar gıda güvenliği ve ürün kalitesi açısından istenmeyen değişimlere yol açarak büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ürünlerdeki kalite ve kantitenin düşmesi sonucunda oluşan bu ekonomik kayıpların %30 civarında olduğu ancak gelişmekte olan ülkelerde bu kayıpların %30'dan daha fazla olduğu bilinmektedir [1].

*Aspergillus* ve *Penicillium* türleri gıdalarda bozulmalara neden olan fungal mikroorganizmaların başında gelmektedir [2]. Bu fungusların gıdalarda gelişimi, lezzet kaybına, alerjik bileşiklerin oluşumuna ve mikotoksinlerin oluşumuna sebep olmaktadır. Bununla beraber bu fungusların aflatoksin, okratoksin, patulin gibi toksik, mutajenik ve kanserojen etki gösteren insan sağlığına son derece zararlı mikotoksinler de salgıladıkları bilinmektedir [3].

Günümüzde gıda endüstrisinde gıdaların raf ömrünü uzatmak ve fungal mikroorganizmaların gelişimine engel olmak için kimyasal koruyucuların kullanımı başta olmak üzere çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Ancak fungal mikroorganizmaların kimyasal koruyuculara karşı zamanla direnç kazanması ve yüksek düzeyde kalıntı bırakmaları, ve tüketicilerin doğal ürünlere olan taleplerinin artmasından dolayı doğal koruyucu maddelerin kullanımı giderek yaygın bir hale gelmektedir [1]. Bu doğal koruyucu ajanlar arasında yer alan mikroalgler; antimikrobiyal etkilerinin olmasından dolayı gıdalarda yeni nesil koruyucu olarak kullanıma potansiyeline sahiptir [4,5]. Algler denizlerde, tatlı ve atık sularda yetişebilen fotosentetik organizmalardır [6]. Mikroalgler doğada bulunan biyolojik aktivitesi en yüksek kaynaklardan biri olup; protein, peptid, karbonhidrat, yağ asidi, pigment, vitamin, mineral ve daha pek çok metaboliti bünyelerinde biriktirebilmektedir [7]. Mikroalgler, bünyelerinde biriktirdikleri bu değerli metabolitleri nedeniyle günümüzde kozmetik, gıda, hayvan yemi, eczacılık, tarım, gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir.

*Chlorophyta* grubuna ait yeşil tek hücreli *Chlorella* sp. mikroalgi klorofiller, proteinler, polisakaritler, vitaminler, mineraller ve elzem aminoasitler açısından oldukça

zengindir. Bu mikroalg türü, %53 (w/w) protein, %23 (w/w) karbonhidrat, %9 (w/w) lipit, ve %5 (w/w) minerallerden oluşmaktadır. *Chlorella* sp. ile yapılan çalışmalar, bu mikroalgin, antifungal, antibakteriyel, antioksidan antikanserojen, antiviral ve nutrasötik etkiye sahip olduğunu göstermiştir [8]. Mikroalglerde bulunan ve antifungal aktiviteye sahip biyoaktif bileşikler fungal misel büyümesini ve gelişimini durdurarak veya inhibe ederek, çimlenmeyi önleyerek veya patojenlerin sporülasyonunu azaltarak etki etmektedirler [7]. Bununla birlikte mikroalglerin antimikrobiyal aktiviteleri, alg türlerine ve ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerde bağlı olarak değişebilmektedir [9, 10]. Mikroalgler yüksek antioksidan etkili bileşikler de içermektedir. Mikroalglerin yüksek antioksidan etkisi,  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, glutatyon, askorbik asit, flavonoidler, hidrokinonlar, fikosiyeninler, prolin, fenolik bileşikler ve poliaminler gibi antioksidan bileşiklerinden kaynaklanmaktadır [11]. *C. protothecoides*'in içerdiği; lutein, astaksantin ve zeaksantin gibi biyoaktif bileşikler antioksidan aktiviteye sahiptir, aynı zamanda bakterilere ve fungal mikroorganizmalara karşı da etkilidirler [12]. Son yıllarda mikroalglerle ilgili pek çok çalışma olmasına rağmen gıda koruyucusu olarak antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmalar sınırlı kalmıştır.

Bu çalışmanın amacı, dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak %5 ve %10 konsantrasyonlarda hazırlanan *C. protothecoides* mikroalg yağının antioksidan etkisini belirleyerek, gıdalarda bozulma etmeni *Aspergillus parasiticus* ve *Penicillium chrysogenum*'a karşı, disk difüzyon yöntemi kullanılarak antifungal etkisini belirlemektir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada kullanılan *C. protothecoides* mikroalg yağı, Soley Biyoteknoloji Enstitüsü'nden (El Sobrante, CA, ABD) temin edilerek, Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Algal Biyoteknoloji ve Biyomalzeme Laboratuvarı'ndan muhafaza edilmiştir. Mikroalg yağının özellikleri Tablo 1' de verilmiştir [15]. *C. protothecoides* mikroalg yağının antifungal etkisini incelemek amacıyla alg yağı DMSO'da (Merck) çözülerek 50 ve 100 mg/mL'lik konsantrasyonlar şeklinde hazırlanarak kullanılmıştır.

Tablo 1. *C. protothecoides* mikroalg yağının özellikleri [15].

Özellikler	Birim	Sonuç	Standart
Yoğunluk (15°C)	kg/m <sup>3</sup>	867	ISO 3675
Viskozite (40°C)	Mm <sup>2</sup> /s	3.8	ISO 3104
Alevlenme noktası	°C	124	ISO 15267
Karbon kalıntısı (% 10'luk distilasyonla elde edilen kalıntı)	% (m/m)	0.2	EN ISO 10370
Toplam kontaminasyon	mg/kg	2	EN 12662
Oksidasyon stabilitesi, 110°C	saat	12	EN 14112
Kalori değeri	MJ/kg	37.49	DIN 51900
Asit değeri	mg.KOH/g	0.3	EN 14104
İyot değeri	mg.KOH/g	47	EN 14111
Su içeriği	mg/kg	80	ENISO12937
Sülfür içeriği	mg/kg	2	ISO 3987
Fosfor içeriği	mg/kg	3	ISO 10540

Fungal mikroorganizmalar; *Aspergillus parasiticus* ve *Penicillium chrysogenum* Yıldız Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir [13, 14]. Fungal mikroorganizmaların aktif hale getirilerek antifungal etkinin belirlenmesinde Patates Dekstroz Agar (PDA) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. *C. protothecoides* mikroalg yağının antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH, Sigma) serbest radikali kullanılarak tayin edilmiştir.

### C. *protothecoides*'in Gaz Kromatografi (GC) Analizi

Mikroalg yağının içeriğinin belirlenmesi amacıyla gaz kromatografisi cihazı kullanılmıştır. Analizler, gaz kromatografisine entegre alev iyonlaşma detektörüyle (YL Instruments 6100 GC) gaz kromatografisi cihazında gerçekleştirilmiştir. Gaz kromatografisi cihazı (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm) ZB-FFAP kolonu içermektedir. Kolon sıcaklık programı 75°C ile başlayıp, 16°C/dk hızla 145°C'ye, ardından 15°C/dk hızla 300°C'ye çıkmaktadır. Akış hızı 2 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak hidrojen gazı ve iç standart olarak Metil margarat (C17:0) kullanılmış ve örnekler metil margarat ve n-heptan ile karıştırılarak gaz kromatografisi için hazır hale getirilmiştir [15].

### C. *protothecoides*'in Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Analizi

FTIR spektroskopisi, organik veya inorganik bileşiklerin karakterize edilmesinde kullanılmıştır. FTIR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslara karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izini göstermektedir. Her maddenin kendine özgü bir spektrumu vardır. Organik madde spektrumlarının özellikle de 2000 cm<sup>-1</sup> den sonra gelen kısmı daha ayrıntılıdır ve bu bölgeye parmak izi bölgesi denir [16]. Bu çalışmada Bruker Tensor 27 (Bremen, Almanya) FTIR cihazı kullanılmış, örnek ATR kristaline damlatılarak 600-4000 cm<sup>-1</sup> aralığında içerdiği fonksiyonel grupların absorpsiyon değerleri belirlenmiştir.

### C. *protothecoides*'in Antifungal Etkisinin Belirlenmesi

Antifungal etkinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. PDA besi ortamları otoklavda 121°C'de, 1,1 atmosfer basınçta 15 dk sterilize edilerek hazırlanıp, steril petri kaplarına 15 mL PDA besiyeri dökülmüştür. PDA ortamında 28°C'de 7-10 gün süresince geliştirilen fungal kültürlerden mantar delici ile alınan fungal diskler (6mm) petrilerin ortasına yerleştirilmiştir. Daha sonra petrilerin üst kapaklarına steril kültür antibiyogram disk kağıtları yerleştirilerek DMSO ile 50 ve 100 mg/mL (%5 ve %10) konsantrasyonlarında hazırlanan alg yağları 50 µL/disk dozlarında otomatik pipetlerle antibiyogram disk kağıtlarına (6 mm, Bioanalyse) uygulanmıştır [17]. Petri kapakları sıkıca parafillendikten sonra ters çevrilerek 6 gün boyunca 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Petrilerde gelişen fungusların koloni çapları 3, 4, 5 ve 6. günlerde ölçümler alınmıştır. Denemeler üç tekerrürlü ve her tekerrürde üç paralel olacak şekilde yürütülmüştür. Kontrol olarak hazırlanan petrilerin kapaklarındaki antibiyogram disk kağıtlarına ise aynı oranda DMSO emdirilmiştir [18, 19].

### C. *protothecoides*'in Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi

*C. protothecoides* mikroalg yağının serbest radikal giderme etkinliği 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak Brand-Williams ve ark.'nın [20] kullandığı metot uygulanarak 20µg/mL DPPH çözeltisi metanolde çözülmüş ve bu çözeltiden 3.5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda (250, 500, 750, 1000 µg/mL) [19] hazırlanan *C. protothecoides* mikroalg yağından 0.5 mL ilave edilmiştir. DPPH çözeltisi ve *C. protothecoides* mikroalg yağı ile hazırlanan karışımlar 30 dk., 60 dk. ve 90 dk. karanlıkta inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sürecinden sonra karışımların absorpsiyonları 515nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur [21]. *C. protothecoides* mikroalg yağının serbest radikal giderme aktivitesi tayin edilmiş, standart olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)'e göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır. DPPH radikal giderme aktivitesi aşağıdaki (Eşitlik 1) yardımı ile hesaplanmıştır [19]:

$$\text{DPPH. Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

A<sub>0</sub>: Kontrolün absorbands değeri  
A<sub>1</sub>: Örnek veya standardın absorbands değeri

### İstatistiksel Analizler

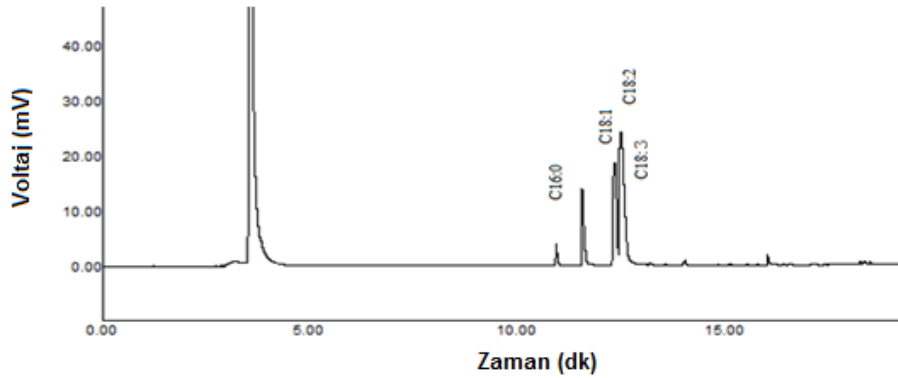
*In vitro* analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, her bir fungus türü kendi içerisinde değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Tek yönlü varyans analizleri JMP (release 6.0.0, SAS) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki önem dereceleri ise aynı paket program kullanılarak, Student's *t* karşılaştırma testi ile tespit edilen ortalamalar arasındaki asgari önemdeki farklara (AÖF) göre belirlenmiştir. Araştırma sonrasında elde edilen veriler, deney desenlerine uygun olarak varyans analizlerine tabi tutulmuştur.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### C. *protothecoides*'in Gaz Kromatografisi (GC) Analizi

Gaz kromatografisi analizleri sonucunda alınan kromatogram incelendiğinde C. *protothecoides* yağının

içeriğinde palmitik (16:0), oleik (18:1) ve linoleik (18:2) ve linolenik asitlerin (18:3) varlığı görülmektedir [15]. Diğer yağ asitleri eikosatrienoik asit (20:3) ve eikosapentaenoik asit (EPA) (20:5) asitlerin varlığı eser miktarlarda bulunduğu sonuçlarda değerlendirilememiştir. Elde edilen kromatograma göre en baskın yağ asidi içeriği linoleik asit olarak görülmüştür (Şekil 1). Bu analiz ile C. *protothecoides* biyoaktif değere sahip olan ve faydalı çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin olduğu görülmüştür. Alg kaynaklı yağ asitleri adenosin trifosfat enerji transferini engeller ve bakteriyel enoik-açıl taşıyıcı protein redüktaz gibi enzimleri inhibe eder ve daha sonra hücre lizisi ve peroksidasyonu ve oto-oksidasyon bozunma ürünleri meydana gelir [12]. Çalışkan Eleren ve Öneri [22], sürdürülebilir ve çevre dostu biyoyakıt hammaddesi üretimi için yaptıkları çalışmada C. *protothecoides*'in lipit içeriğini %50.50 olarak belirlemişlerdir. C. *protothecoides* yağının yüksek antioksidan ve antifungal etkisi yağ asidi içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 1. C. *protothecoides* yağının metil esterlerinin kromatogramı

#### C. *protothecoides*'in Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Analizi

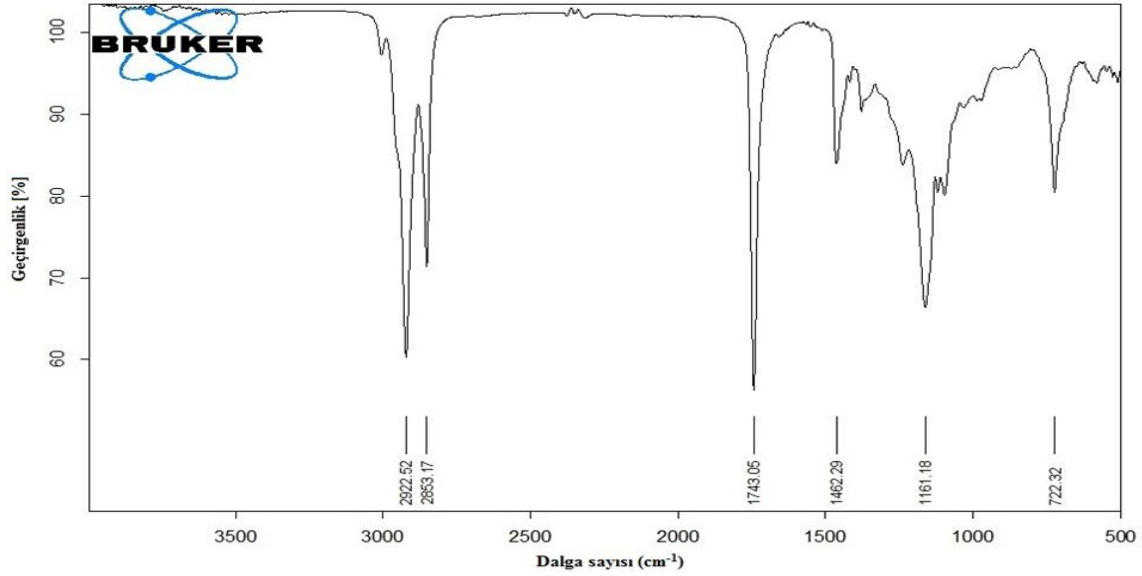
FTIR spektroskopisi, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslara karşılık gelen absorpsiyon piklerini göstermektedir. C. *protothecoides* mikroalg numunesinin FTIR sonucu Şekil 2'de gösterilmiştir.

FTIR spektroskopisi tek bir numunede hücre biyokimyasal bileşiminin (proteinler, lipitler, nükleik asitler ve karbonhidratlar) eşzamanlı olarak belirlenmesi imkanı sunar [23].

FTIR spektrumlarından tanımlanan fonksiyonel gruplar, Tablo 2'de gösterilmiştir. C. *protothecoides* örneğinde görülen 900-1800  $\text{cm}^{-1}$  pikleri karbonhidrat - protein içeriğinden kaynaklanmaktadır [23]. 1743  $\text{cm}^{-1}$

noktasında görülen spektral bant protein yapılarının N-H eğilme vibrasyonlarıyla ilişkilidir. C. *protothecoides* kimyasal yapısının %46.3 proteinle ilişkilidir. [22]. Alg kaynaklı polisakkaritler, fungal ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı antimikrobiyal etki göstermektedir [7]. 900-1200  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki spektral bölge karbonhidratlarla ilişkilidir ve Şekil 2'de de söz konusu spektral aralıkta belirgin şekilde görülmektedir [24]. C. *protothecoides* %15.43 oranında karbonhidrat içeriğine sahiptir [22]. 2853-2922  $\text{cm}^{-1}$  aralığında görülen bantlar  $\text{CH}_2$ 'nin C - H titreşim gerilmesi ile ilişkilidir. C. *protothecoides* örneğinde görülen 2800-3000  $\text{cm}^{-1}$  (Tablo 2) pikleri lipit içeriğinden kaynaklanmaktadır [23]. Yapılan çalışmalarda, mikroalglerin içeriğindeki proteinler, polisakkaritler, lipitler, vitaminler, enzimler, steroller ve diğer değerli metabolitlerin antimikrobiyal ve antioksidan özellik gösterdiği belirtilmiştir [7].



Şekil 2. *C. protothecoides* örneğinin FTIR sonuçlarıTablo 2. *C. protothecoides* mikroalgın FTIR spektrumundaki fonksiyonel grupları

Dalga Sayısı (cm <sup>-1</sup> )	Fonksiyonel Gruplar
2853-2922	CH <sub>2</sub> 'nin C - H titreşim gerilmesi [23]
1462	metil (CH <sub>3</sub> ) ve metilen (CH <sub>2</sub> ) gruplarının gerilmesi [23]
1743	N-H eğilme [23]
1161	C-O ester ve C-N gerilmesi [23]
900-1200	C-O-C, C-O halka karbomhidrat titreşimleri [23, 24]

### *C. protothecoides* Yağının *Aspergillus parasiticus* Misel Gelişimine Etkisi

*Aspergillus parasiticus* koloni çapına inkübasyon süresinin etkisi incelendiğinde, fungal koloni çaplarında inkübasyon süresine bağlı olarak engelleme oranının arttığı gözlemlenmiştir (Tablo 3). İnkübasyonun 6. gününde *C. protothecoides* yağının fumigasyon uygulamasında *A. parasiticus*'un 50 mg/mL konsantrasyonda 17.30 mm ve 100 mg/mL konsantrasyonda 17.10 mm en yüksek misel gelişimi elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 20.00 mm olarak gözlemlenmiştir (Şekil 3). *A. parasiticus*'un misel gelişimine *C. protothecoides*'in antifungal etki göstermesinin *C. protothecoides*'te yoğun olarak bulunan terpenlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda antifungal aktiviteye sahip olan terpenlerin, özellikle *Aspergillus* sp.'ye karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir [25]. Tablo 3'te *C. Protothecoides* konsantrasyonun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Aspergillus parasiticus*'un disklere uygulanan mikroalg yağının konsantrasyonu arttıkça misel gelişiminin 3. ve 4. günlerde azaldığı gözlemlenmiştir.

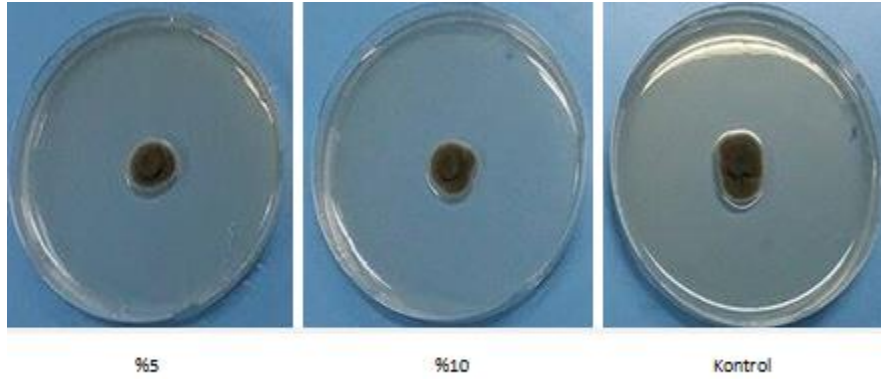
### *C. protothecoides* Yağının *Penicillium chrysogenum* Misel Gelişimine Etkisi

İnkübasyon 6. gününde *C. protothecoides* yağının fumigasyon uygulamasında *Penicillium chrysogenum* en düşük misel gelişimini 100 mg/mL konsantrasyonda 19.00 mm gösterirken en yüksek misel gelişimini 50 mg/mL lik konsantrasyonda 21.00 mm göstermiştir. Kontrolün misel gelişiminin ise 30.70 mm olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3). Şekil 4'te *C. protothecoides* konsantrasyonun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *P. chrysogenum*'un disklere uygulanan *C. protothecoides* konsantrasyonu arttıkça misel gelişiminin azaldığı gözlemlenmiştir. Fumigasyon uygulamasında *P. chrysogenum*'un misel gelişimini durdurması veya inhibe etmesinin nedeninin fenolik ve terpenoid bileşiklere bağlanmaktadır [25]. Antifungal aktiviteye sahip sekonder metabolitler misel büyümesinin gelişimini durdurarak veya inhibe ederek, çimlenmeyi önleyerek veya fungal patojenlerin sporülasyonunu azaltarak etki etmektedirler. Örneğin, mikroorganizmalardaki polifenollerin toksisitesi, bileşiklerin oksidasyonu ile enzim inhibisyonuna atfedilir.

Tablo 3. *C. protothecoides* mikroalg yağının (50 µL/petri) farklı günlerde ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Aspergillus parasiticus* misel gelişimini engelleme değerleri (mm)

İnkübasyon Süresi	Misel Büyüme Çapı (mm)	
	Konsantrasyon	<i>A. parasiticus</i>
3 gün	Kontrol	13.00±0.00 <sup>a</sup>
	%5	12.00±0.11 <sup>b</sup>
	%10	11.00±0.09 <sup>c</sup>
4 gün	Kontrol	16.50±0.07 <sup>a</sup>
	%5	15.00±0.10 <sup>b</sup>
	%10	14.30±0.08 <sup>c</sup>
5 gün	Kontrol	19.00±0.07 <sup>a</sup>
	%5	16.10±0.04 <sup>b</sup>
	%10	16.00±0.21 <sup>b</sup>
6 gün	Kontrol	20.50±0.00 <sup>a</sup>
	%5	17.30±0.06 <sup>b</sup>
	%10	17.10±0.17 <sup>b</sup>

\*Sayılar; ortalama koloni çapı ± SD (standart sapma değerlerini) (mm) temsil etmektedir (n=6). P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda (p<0.05) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir. \*a-c: Sütun içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir inkübasyon günündeki *C. protothecoides* mikroalg yağının fungal misel gelişimini engelleme oranları (mm) arasındaki farklar gösterilmektedir (p<0.05).

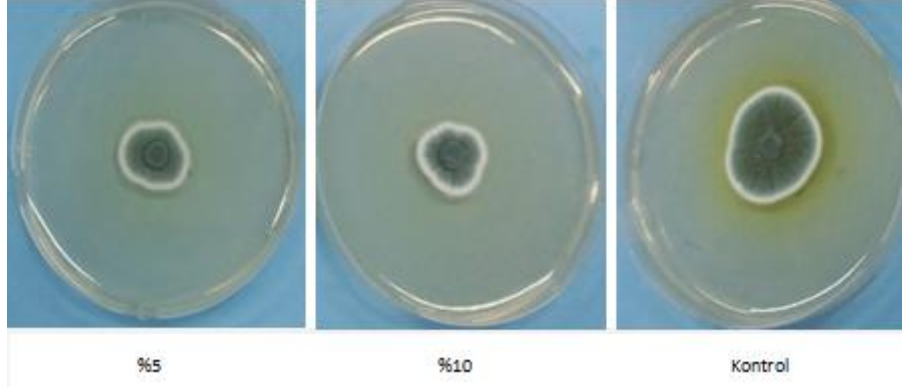


Şekil 3. DMSO kullanılarak 50 ve 100 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan *C. protothecoides* mikroalg yağının *Aspergillus parasiticus* misel gelişimine etkisi

Tablo 3. *C. protothecoides* mikroalg yağının (50 µL/petri) farklı günlerde ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Penicillium chrysogenum* misel gelişimini engelleme oranları (mm)

İnkübasyon Süresi	Misel Büyüme Çapı (mm)	
	Konsantrasyon	<i>P. chrysogenum</i>
3 gün	Kontrol	19.20±1.60 <sup>a</sup>
	%5	17.33±0.27 <sup>b</sup>
	%10	16.50±0.00 <sup>c</sup>
4 gün	Kontrol	24.00±2.00 <sup>a</sup>
	%5	20.20±0.70 <sup>b</sup>
	%10	18.20±2.68 <sup>c</sup>
5 gün	Kontrol	27.00±3.60 <sup>a</sup>
	%5	20.20±0.70 <sup>b</sup>
	%10	18.20±2.68 <sup>c</sup>
6 gün	Kontrol	30.70±2.00 <sup>a</sup>
	%5	21.00±2.64 <sup>b</sup>
	%10	19.00±2.17 <sup>c</sup>

\*Sayılar; ortalama koloni çapı ± standart sapma SD (mm) değerlerini temsil etmektedir (n=6). P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda (p<0.05) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir. \*a-c: Sütun içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir inkübasyon günündeki *C. protothecoides* mikroalg yağının fungal misel gelişimini engelleme oranları arasındaki farklar gösterilmektedir (p<0.05).

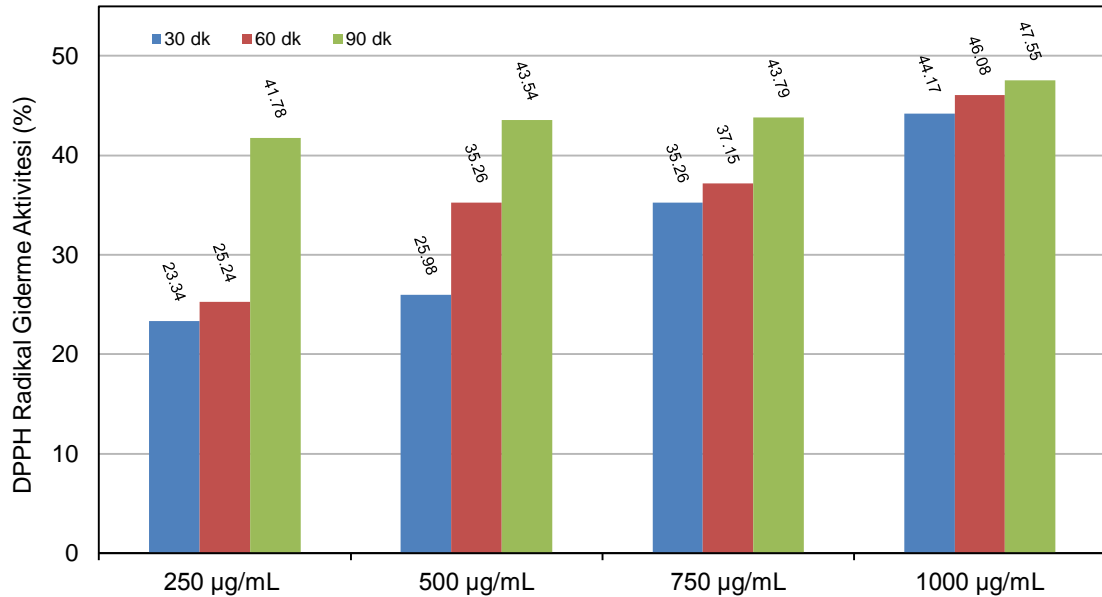


Şekil 4. DMSO kullanılarak %5 ve %10 konsantrasyonlarda hazırlanan *C. protothecoides* mikroalg yağının *Penicillium chrysogenum* misel gelişimine etkisi

### C. *protothecoides* Yağının Antioksidan Aktivitesi

Mikroalgler fototrof organizmalardır ve yüksek oksijen ve serbest radikal stresine maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle mikroalgler reaktif oksijen ve serbest radikallere karşı etkin koruyucu sistemlere sahiptirler. Oleik asit, linoleik asit, palmitoleik asit, bioflavonoidler, retinoidler,

tokoferoller, B12, askorbik asit, karotenoidler,  $\beta$ -karoten [26], fikosiyanın, lutein ve zeaksantin mikroalglerde bulunabilen biyoaktif bileşikler olup, antimikrobiyal, antioksidan ve antifungal, [27] özelliklerine sahiptir ve hastalıkların azaltılması ve önlenmesinde önemli rol oynarlar [7].

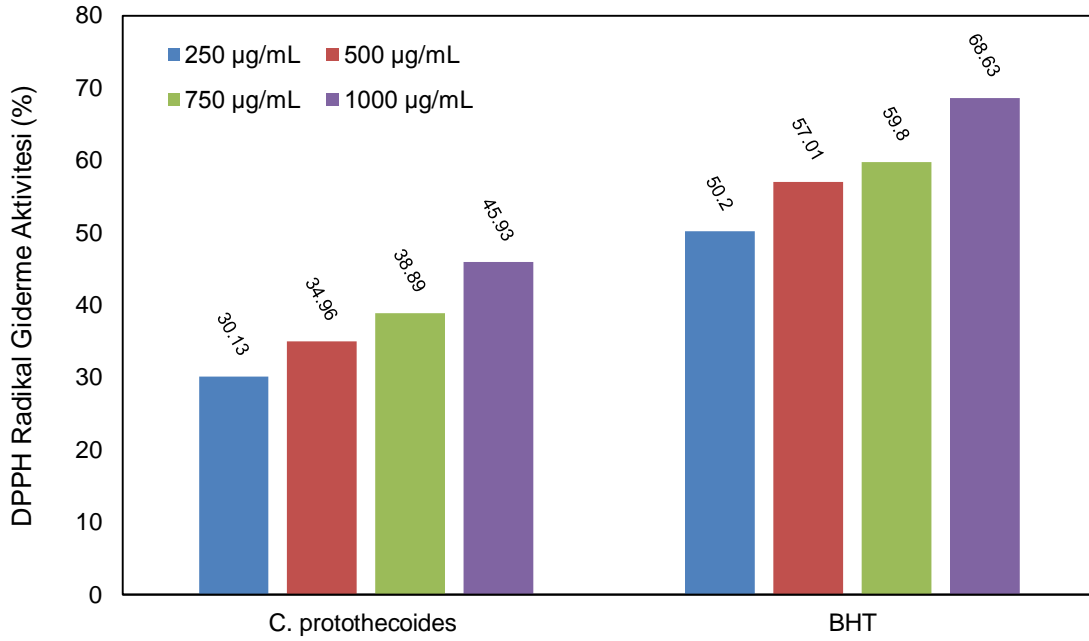


Şekil 5. *C. protothecoides* mikroalg yağının farklı konsantrasyonlarda (250, 500, 750, 1000 µg/mL) ve zamana bağlı (30, 60 ve 90 dk.) serbest radikal giderme aktivitesi.

Şekil 5'te *C. protothecoides* mikroalg yağının zamana bağlı (30, 60 ve 90 dk) serbest radikal giderme aktivitesi incelenmiş ve antioksidan aktivitesinin zamana bağlı arttığı ve *C. protothecoides*'in 90 dk.'da daha yüksek etki gösterdiği görülmüştür. Lutein, astaksantin ve zeaksantin gibi antioksidan maddeleri alglerde ışık toplayıcı pigmentler gibi işlev görürler ve antioksidan aktiviteye sahiptirler. Serbest radikallere karşı etkili olan lutein,  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, askorbik asit ve  $\alpha$ -tokoferol gibi birçok antioksidan bileşik *Chlorella*'nın fonksiyonel faaliyetlerinden sorumlu olabilir. Bu bileşikler, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin

arttığı durumlarda alglerin sahip olduğu güçlü antioksidan özellikten dolayı kanserin etkilerini azaltmakta ve yaşlanmayı geciktirmedir [12, 27].

*C. protothecoides*'in 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda zamana bağlı değişimin düşük, ancak diğer konsantrasyonlara oranla en yüksek antioksidan etki gösterdiği görülmüştür. Maadane ve ark. [28]; alglerin antioksidan aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada, özellikle *Chlorella* türünün zamana bağlı antioksidan aktivitesinin arttığını ve 120 dk.'da en yüksek antioksidan etki gösterdiğini belirlemişlerdir.



Şekil 6. *C. protothecoides* mikroalg yağının ve standart BHT'nin farklı konsantrasyonlarda (250, 500, 750, 1000 µg/mL) serbest radikal giderme aktivitesi.

Vehapi ve ark. [18], yaptıkları çalışmada, 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda BHT'nin %58.37 oranında serbest radikal giderme aktivitesi olduğunu, *C. protothecoides* mikroalg yağının ise %48.91 oranında antioksidan özelliği olduğunu gözlemişlerdir. Şekil 6'da *C. protothecoides* mikroalg yağının 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda %45.93, standart olarak kullanılan BHT'nin ise %68.63 oranında serbest radikal giderme aktivitesi olduğunu görülmektedir. *C. protothecoides* mikroalg yağının antioksidan etkisinin lutein, zeaksantin ve kantaksantin gibi antioksidan bileşikler içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir [7]. Standart madde ile karşılaştırıldığında *C. protothecoides* mikroalg yağının radikal giderme aktivitesi yönünden oldukça başarılı sonuçlar göstermiştir. Li ve ark. [29] birçok makro ve mikroalgın antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

## SONUÇ

*C. protothecoides* mikroalg yağının, *A. parasiticus*, ve *P. chrysogenum* gibi gıda kaynaklı fungal mikroorganizmaların misel gelişimini engelleme oranları incelenmiş ve her iki fungal patojene karşı mikroalg yağının fungal gelişim üzerine inhibe edici etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Dimetil sülfoksit (DMSO) solventi kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında hazırlanan *C. protothecoides* mikroalg yağının uygulamasında *P. chrysogenum* tüm artan konsantrasyonlarda inkübasyon süresi boyunca misel gelişimini azaltırken, *A. parasiticus*'da konsantrasyon farkının 3. ve 4. günlerde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte yapılan çalışmada *C. protothecoides* mikroalg yağının zamana bağlı; 30, 60 ve 90 dk.'da yapılan ölçümlerde serbest radikal giderme aktivitesi incelenmiş ve antioksidan aktivitesinin zamana bağlı arttığı ve *C. protothecoides*'in 90 dk.'da daha yüksek etki gösterdiği görülmüştür. Mikroalglerin içerdikleri biyoaktif bileşiklerin

antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerine sahip olmalarından dolayı gıda endüstrisinde fonksiyonel olarak kullanılabilen öngörülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Luz, C., Saladino, E., Luciano, F.B., Manes, J., Meca, G. (2017). In vitro antifungal activity of bioactive peptides produced by *Lactobacillus plantarum* against *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum*. *LWT- Food Science and Technology*, 81, 128-135.
- [2] Saravanakumar, D., Ciavarella, A., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino, M.L. (2008). *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 outcompetes *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* in apples through iron depletion. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 121-128.
- [3] Pawlowska, A.M., Zannini, E., Coffey, A., Arendt, E.K. (2012). Green preservatives combating fungi in the food and feed industry by applying antifungal lactic acid bacteria. *Advanced in Foods and Nutrition Research*, 66, 217-238.
- [4] Dai, J., Mumper, R.J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
- [5] Devi, K.P., Suganthy, N., Kesika, P., Pandian, S.K. (2008). Bioprotective properties of seaweeds: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8(1), 38-49.
- [6] Akyıl, S., İter, I., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F. (2019). Alglerden elde edilen yüksek değerli bileşiklerin biyoaktif/biyolojik uygulama alanları, *Akademik Gıda*, 52, 166-178.

- [7] De Morais, M.G., Vaz Bda, S., de Morais, E.G., Costa, J.A. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *Biomed Research International*, 1 -15.
- [8] Danielli, M.M., Dantas, Romero, M.P.B., Costa, Maria, G., Carneiro-da-Cunha, A.O., Galvez, A.R., Drummond, Bezerra, R.S. (2015). Bioproduction, antimicrobial and antioxidant activities of compounds from *Chlorella vulgaris*. *Journal Botany Science*, 4, 12-18.
- [9] Prakash, J.W., Johnson, M., Solomon, J. (2011). Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1 (2), 170-173.
- [10] Radhika, D., Veerabahu, C., Priya, R. (2012). Antibacterial activity of some selected seaweeds from the Gulf of Mannar Coast, South India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4), 89-90.
- [11] Gökpınar, Ş., Koray, T., Akççek, E., Göksan, T., Durmaz, Y. (2006). Algal antioksidanlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23(1), 85-89.
- [12] Shannon, E., Abu-Ghannam, N. (2016). Antibacterial derivatives of marine algae: an overview of pharmacological mechanisms and applications. *Marine Drugs*, 14(81) 1-23.
- [13] Yılmaz, A., Ermis, E., Boyraz, N. (2016). Investigation of in vitro and in vivo anti-fungal activities of different plant essential oils against postharvest apple rot diseases *Colletotrichum gleosporioides*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Journal Food Safety and Quality*, 67, 113-148.
- [14] Yılmaz, A., Bozkurt, F., Cicek, P.K., Dertli, E., Durak, Z.M., Yılmaz, M.T. (2016). A novel antifungal surface-coating application to limit postharvest decay on coated apples: molecular, thermal and morphological properties of electrospun zein-nanofiber mats loaded with curcumin. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37, 74-83.
- [15] Gülyurt, M.Ö., Özçimen, D., Inan, B. (2016). Biodiesel production from *Chlorella protothecoides* oil by microwave-assisted transesterification. *International Journal Molecular Science*, 17(4), 579-587.
- [16] Büyüksırt, T., Kuleaşan, H. (2014). Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı. *Gıda*, 39(4), 235-241.
- [17] Özçimen, D. (2018). *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* küflerine karşı antifungal etkisinin incelenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(02), 45-52.
- [18] Vehapi, M., Yılmaz, A., Özçimen, D. (2018). Antifungal activities of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella minutissima* microalgae cultivated in bold basal medium, wastewater and extract water against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *Romanian Biotechnological Letter*, doi: 10.26327/RBL2018.228
- [19] Vehapi, M., Yılmaz, A., Özçimen, D. (2018b). Investigation of antibacterial and antioxidant activities of some algae species. *Journal of Biotechnology*, 280, 80.
- [20] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- [21] Boutennoun, H., Boussof, L., Kebieche, M., Al-Qaoud, K., Madani, K. (2017). In vivo analgesic, anti-inflammatory and antioxidant potentials of *Achillea odorata* from north Algeria. *South African Journal of Botany*, 112, 307-313.
- [22] Çalışkan Eleren, S., Öneri B. (2019). Sürdürülebilir ve çevre dostu biyoyakıt hammaddesi: mikroalgler. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25 (3), 304-319.
- [23] Krzemińska, I., Nawrocka, A., Piasecka, A., Jagielski, P., Tys, J. (2015). Cultivation of *Chlorella protothecoides* in photobioreactors: the combined impact of photoperiod and CO<sub>2</sub> concentration. *Engineering Life Science*, 15, 533-541.
- [24] Jebsena Christian, Noricib, A., Wagnera, H., Palmuccib, M., Giordanob, M., Wilhelma, C. (2012). FTIR spectra of algal species can be used as physiological fingerprints to assess their actual growth potential. *Physiologia Plantarum*, 146(4), 427-438.
- [25] Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Rodríguez, R., Aguilar, C.N. (2012). Antifungal properties of bioactive compounds from plants. In Dhanasekaran D (ed) *Fungicides for Plant and Animal Diseases*. InTech Croatia, 81-106.
- [26] Thomas, N.V., Kim, S.K. (2013). Beneficial effects of marine algal compounds in cosmeceuticals. *Marine Drugs*, 11, 146-164.
- [27] Pérez, M.J., Falqué, E., Domínguez, H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Marine Drugs*, 14, 52.
- [28] Maadane, A., Merghoub, N., Ainane, T., Arroussi, E.H., Benhima, R., Amzazi, S., Bakri, Y., Wahby, I. (2015). Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: PUFA profiles, carotenoids and phenolic content. *Journal Biotechnology*, 10(215), 13-9.
- [29] Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102, 771-6.

## Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Sade Lokum Çeşitlerinin Depolama Süresince Enstrümental Doku Özellikleri

Kemal Demirağ , Gülşah Çetin 

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

Geliş Tarihi (Received): 20.07.2015, Kabul Tarihi (Accepted): 25.10.2015

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [mustafa.kemal.demirag@ege.edu.tr](mailto:mustafa.kemal.demirag@ege.edu.tr) (M.K. Demirağ)

☎ 0 232 311 30 33 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Bu çalışmada değişik formülasyonlara sahip sade lokum örneklerinin depolama sırasındaki dokusal özelliklerindeki değişimler objektif yöntem kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla şeker, nişasta ve su içerikleri sırasıyla %46.88-61.95, %5.67-9.73 ve %28.32-47.17 arasında değişen; farklı formülasyonlara sahip dört çeşit sade lokum örneğine Instron doku ölçüm cihazı ile sıkıştırma ve kesme kuvveti uygulanmıştır. Tüm örnekler için depolamanın başlangıcında ölçülen sertlik, yapışkanlık, elastikiyet ve kesilebilme değerlerinin farklı olduğu saptanmıştır. Depolama süresince ise sertlik ve yapışkanlık değerlerinin arttığı, elastikiyet değerlerinin düştüğü, kesilebilme değerlerinde belirgin bir değişimin olmadığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Lokum, Nişasta, Şeker, Jel, Doku, Depolama

### Instrumental Textural Properties of Plain Turkish Delight Samples Prepared with Different Formulations during Storage

#### ABSTRACT

In this study, the changes in the textural properties of plain Turkish delight samples with different formulations were determined by using the instrumental texture analyzer as an objective method. For this purpose, four Turkish delight samples with different sugar, starch and water contents varying between %46.88-61.95, %5.67-9.73 and %28.32-47.17, respectively, were determined by the Instron texture measurement instrument using compression and cutting probes. Hardness, gummies, elasticity and chewiness values were different for all of the samples at the beginning of storage. Hardness and gumminess values increased while elasticity values decreased but insignificant differences were detected for the chewiness values of the samples during storage.

**Keywords:** Turkish delight, Sugar, Starch, Gel, Texture, Storage

### GİRİŞ

Dünyada ticarete konu olan malların bir kısmını yöresel olarak üretilmekte olan gıda ürünleri oluşturmakta ve bu ürünler dış pazara tanıtılarak ticaret hacmi geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu ve benzeri veya diğer gıdalara ilişkin çıkarılmış standart ve kodeksler incelendiğinde, ürünlerin sahip olması gereken kalite özellikleri

açısından kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerden söz edildiği, duyuşsal nitelikler açısından yeterli değerlendirmelerin olmadığı görülmektedir. Ancak tüketici tercihi açısından gıdaların duyuşsal nitelikleri büyük önem arz etmektedir. Bu durum gıdaların üretilmesi, pazarlanması ve rekabet koşulları açısından üreticileri doğrudan ilgilendirmekte ve günümüzde üreticiler bu konulara önem vermektedir.

Birçok araştırmacı, gıdaların dokusal özelliklerinin gıda ürünlerinin kalitesi ve dolayısı ile tüketici açısından kabul edilebilirliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmekte ve birçok ürünün yapısal özelliklerinin ortaya konulduğu haritanın bir parçası olarak değerlendirilmektedir. Birçok çalışmada gösterildiği gibi gıdanın dokusal özellikleri her bir ürün için ayrı ayrı değerlendirilmekte ve ürüne ilişkin dokusal özellikler ile ürünlerin karşılaştırılması, eşleştirilmesi, işlem çeşitliliğinin son ürüne etkileri gibi birçok durum incelenilmektedir. Bununla beraber gıdaların dokusal özellikleri, gıdanın bileşenleri, uygulanan teknolojik işlemler gibi bir çok etkiye bağlı olarak karmaşık bir yapı oluşturmakta ve temel olarak bu tip çalışmalarda dokunun objektif olarak değerlendirildiği enstrümanlarla (Instron doku ölçüm cihazı, tekstür analiz cihazı vb.) dokusal özellikler hakkında karar verilmeye çalışılmakta, ve/veya elde edilen verilerle tanımlayıcı duyu analizi (Lezzet profil analizi, Doku profil analizi, Kantitatif tanımlayıcı analiz) gibi gelişmiş duyu analizi sonuçları arasında ilişkilendirmeler aranmaktadır [1-4].

Uluslararası düzeyde tanınmış, şekerleme ürünlerimiz içerisinde önemli yer tutan lokum, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine bağlı olarak çıkarılan Lokum Tebliği'ne [5] göre; Şeker, nişasta, içme suyu ve sitrik asit veya tartarik asit veya potasyum bitartarat ile hazırlanan lokum kitlesine gerektiğinde çeşni maddeleri, kuru ve/veya kurutulmuş meyveler ve benzeri maddelerin ilavesiyle tekniğine uygun olarak hazırlanan ürün, şeklinde tanımlanmaktadır. Aynı Tebliğe göre Lokum, meyve ve kaymak kısmı ayrılmış lokum kütlesi olarak rutubeti kütleye en çok %16, toplam şekeri sakaroz cinsinden kuru madde de kütleye en az %80 olmalıdır şeklinde ifade edilirken, duyu özellikleri açısından Lokum elastiki yapıda olmalı, dokusu ağızda yumuşak ve kaygan olarak hissedilmeli, çeşide has tat ve kokuda olmalı, yabancı tat ve koku içermemeli ve çiğ nişasta lezzetinde olmamalıdır denilmektedir. Bu Tebliğin yayınlanması ile mecburi yürürlükten kaldırılan TS 8444 sayılı Lokum Standardı'nda da [6] tebliğe benzer şekilde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özelliklerinden söz edilmekte ve duyu özelliklerinden doku özelliği açısından parmakla bastırıldığında elastik ve yumuşak özellik göstermelidir şeklinde bir tanımlamaya yer verilmektedir.

Lokum üretiminde farklı tip nişastaların ve nişasta, şeker, su, asit oranlarının kullanılması, üretilen ürünlerin dokusal özellikleri açısından farklılaşmalara, raf ömürleri açısından da değişikliklere ve standart ürünlerin elde edilmesinde sorunlar çıkmasına ve tüketici beklentilerinin karşılanamaması gibi olgularla karşılaşılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle iyi kalite lokumun yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, lokum üretiminde kullanılan farklı tip nişastaların ve nişasta, şeker, su, asit oranlarının duyu özellikleri üzerine etkisinin araştırılması önem arz etmektedir. Nişastaların özelliklerinin içerdikleri amiloz molekülünün büyüklüğüne ve miktarına bağlı olduğu, dolayısı ile nişasta jellerinin davranışını belirleyen en önemli özelliğinin amiloz olduğu belirtilmektedir. Nişastaların yapısında yer alan amilozun yağ asitleri ve diğer organik maddelerle fiziksel olarak reaksiyona girerek yapının

kalınlaşmasına, viskozitesinde değişimler meydana gelmesine, jel benzeri bir kıvamda bulunmasına ve buna bağlı olarak süngerimsi veya kauçuk tipi yapılar oluşturmasına neden olduğu ifade edilmektedir [7-10].

Nişasta su karışımları ile elde edilen jellere şeker ilave edildiğinde nişastanın jelleşme özelliklerinde değişim meydana gelmekte, ortamda bulunan şekerlerin, nişasta granülünün şişmesine engel olduğu ve jelatinizasyon süresini uzatarak geciktirici etki yaptıkları, viskoziteyi ve jel kuvvetini etkiledikleri, nişasta moleküllerinin birbirleri ile birleşmelerini engelleyerek jel yapısını stabilize ettiği ve retrogradasyon oluşumunu azalttığı ifade edilmektedir [8].

Nişastanın jelatinizasyonunun şekerlerin varlığında gecikme sebebinin ve derecesinin şekerin cinsi, şeker konsantrasyonu, granül şişmesinin azalması, nişasta su interaksiyonları, nişasta şeker interaksiyonları, şeker su interaksiyonları ve şekerin plastikleşmeyi önleyici etkisi gibi faktörlere bağlı olduğu bildirilmektedir [11, 12].

Karışım içinde yer alan şeker, su aktivitesini düşürerek, suyun plastikleştirici etkisini azaltarak ve şeker ile nişasta arasında meydana gelen etkileşimlerle nişastanın granüler yapısını stabilize ederek jelatinizasyon süresinin uzamasına neden olmaktadır. Yüksek oranda amiloz içeren (%50-80) mısır nişastası (High Amylose Corn Starch) beyaz, mat ve kuvvetli jeller oluşturmasından ve hızlı bir şekilde jelleşebilmesinden dolayı gıda endüstrisinde sıkça kullanılmaktadır. Gıda sanayiinde, sakaroz temel olarak nişasta sistemlerinin tatlandırılmasında oldukça sık kullanılmaktadır ve ayrıca tatlandırma etkisinin yanı sıra bu sistemlerin dokusu üzerine de önemli düzeyde etki etmektedir [13,14].

Çalışmada bileşen oranları farklı dört ayrı formülasyona sahip sade lokum örneklerinin dokusal özelliklerinde depolama esnasında meydana gelebilecek değişimlerin objektif olarak Instron doku ölçüm cihazı ile duyu özelliklerinin ise tanımlayıcı duyu analizi yöntemi kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu makalede objektif analiz sonuçlarına yer verilerek, duyu analizi sonuçlarının değerlendirilmesi diğer bir makaleye bırakılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

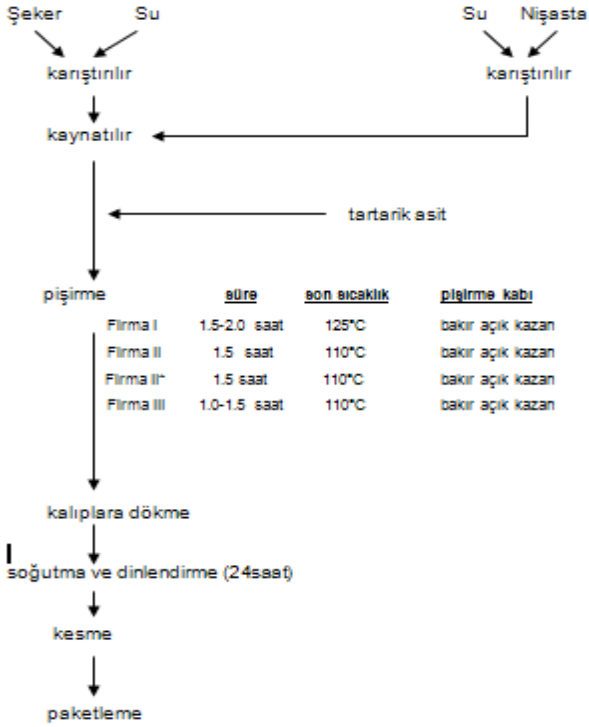
Çalışmanın materyalini oluşturan lokum örnekleri, modifiye mısır nişastası (%25 amiloz içeriğine sahip), sakaroz, tartarik asit ve şeker (musluk) suyu kullanılarak, Balıkesir ilinde faaliyet gösteren ve üretimlerinde farklı bileşim oranlarını kullanan üç ayrı firmada üretilmiştir. Ayrıca II nolu firmada Gönül [15] tarafından yapılan çalışmada duyu olarak en yüksek puanı alan lokum formülasyonu üretilmiştir. Örnekler 5'er kg'lık karton ambalajlarda hazır yemek üreten bir işletmenin ön deposunda oda koşullarında (20±2°C ve %45-%55 bağıl nemde) 20 hafta süre ile depolanmıştır. Objektif ve Duyusal değerlendirmeler, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 ve 20nci haftalarda, paralel olarak

yürütülmüştür. Söz konusu lokumların formülasyonları Tablo 1'de, üretim akış şeması Şekil 1'de verilmiştir.

Tablo1. Çalışmada kullanılan lokum örneklerine ait formülasyonlar

Bileşenler	FİRMA I	FİRMA II*	FİRMA II*	FİRMA III
	Üretimde kullanılan bileşenlerin yüzde oranları			
	% oranları	% oranları	% oranları	% oranları
Şeker	53.29	46.85	47.04	61.90
Nişasta	8.33	6.25	5.64	9.73
Su	38.30	46.85	47.04	28.30
Asit	0.08	0.05	0.28	0.07
Toplam	100.00	100.00	100.00	100.00

\*Firma II: Gönül (1985) tarafından yapılan çalışmadan alınan lokum formülasyonu

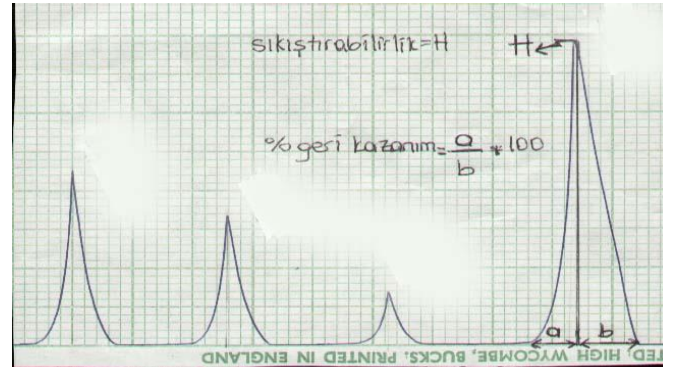


Şekil 1. Lokum Üretimi Akış Şeması

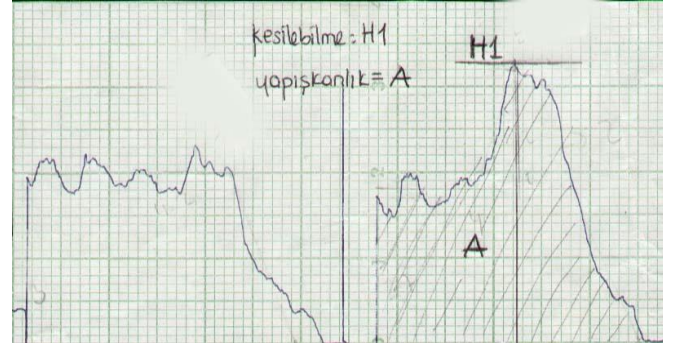
## Metot

Çalışmada doku özelliklerinin objektif olarak ölçümünde Instron, Model 1140 Food Testing System kullanılmıştır. Şekil 2 ve 3'te gösterildiği gibi, ölçümlerde Compression Anvils (ekmek sondası) kullanılarak örnekler 10 kg yük başlığı ile %25 ve %40 oranında sıkıştırılmış, elde edilen pik yüksekliğinden (H) sıkıştırılabilirlik (sertlik) ve  $(a/b) \cdot 100$  eşitliğinden ise yüzde geri kazanım (elastikiyet) hesaplanmıştır. Ayrıca Warner-Bratzler Meat Shear (et kesme) sondası ile 5 kg yük kullanılarak kesme işlemi uygulanmış, pik yüksekliğinden (H1) kesilebilme özelliği, pik altında kalan alan büyüklüğü ile yapışkanlık özelliği değerlendirilmiştir [16]. Çalışmalarda başlık hızı 100 mm/dk. ve kağıt hızı 100 mm/dk. olacak şekilde ayarlanmıştır. Objektif analizler, sertlik değerleri duyusal olarak kabul edilemeyecek düzeye ulaşınca

kadar 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 ve 20nci haftalarda ölçümler gerçekleştirilerek, yürütülmüştür.



Şekil 2. Sıkıştırılabilirlik için ekmek sondası kullanılarak Instron'dan elde edilen kuvvet-yanıt eğrisi

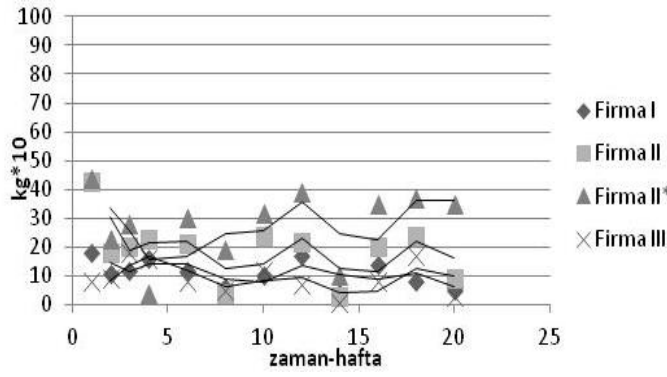


Şekil 3. Kesilebilirlik için kesme sondası kullanılarak Instron'dan elde edilen kuvvet-yanıt eğrisi

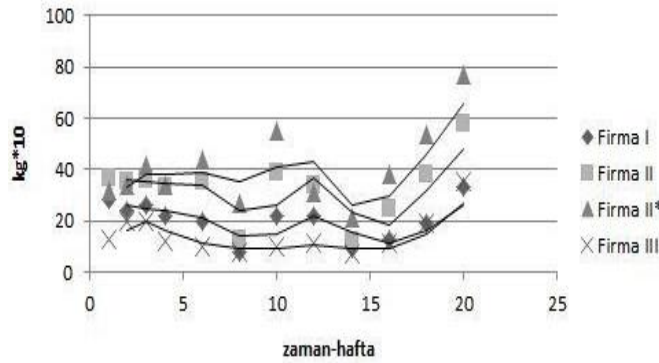
## BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada, lokum örneklerine Instron doku ölçüm cihazı ile ekmek sondası kullanılarak uygulanan sıkıştırma işlemi sonucunda elde edilen sıkıştırılabilirlik ve elastikiyet (yüzde geri kazanım) değerleri Şekil 4-7'de; kesme sondası kullanılarak elde edilen veriler ise Şekil 8 ve 9'da gösterilmiştir.





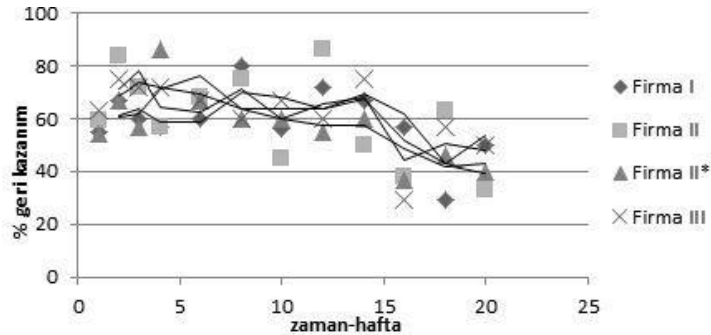
Şekil 4. Lokum örneklerine uygulanan 10 kg kuvvet-%25 sıkıştırma oranı için elde edilen sertlik değerlerinde zamana karşı meydana gelen değişimler



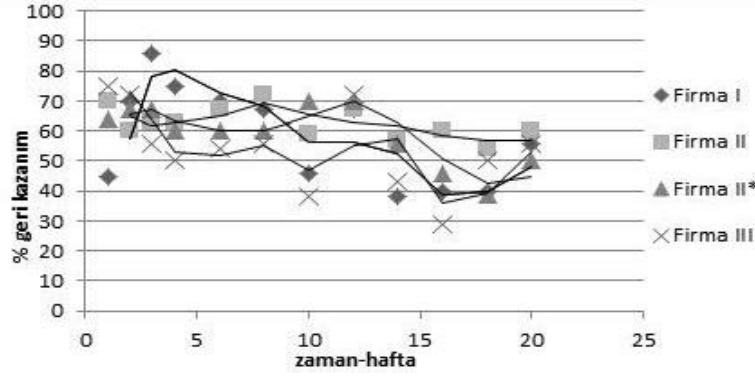
Şekil 5. Lokum örneklerine uygulanan 10 kg kuvvet-%40 oranında sıkıştırma oranı için elde edilen sertlik değerlerinde zamana karşı meydana gelen değişimler

Çalışmanın materyalini oluşturan lokum örneklerine 10 kg kuvvet ile %25 ve %40 oranında sıkıştırma uygulandığında sertlik özelliğinde meydana gelen değişimlerin verildiği Şekil 4 ve 5'ten görüldüğü gibi sıkıştırma oranının artışı ile örneklerin sertlik değerlerinin yükseldiği görülmekte ve bu durum sertlik ölçümleri açısından sıkıştırma oranının önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Şekil 4'ten görüldüğü gibi, 10 kg kuvvet ile %25 sıkıştırma uygulandığında, firma II\* hariç tüm örnekler için depolama süresince sertlik değerlerinin belirgin bir artış göstermediği, firma II\* için ise az da olsa bir artış olduğu görülmektedir. 10 kg kuvvet ve %40 sıkıştırma oranı sonuçlarının verildiği Şekil 5

incelendiğinde, tüm örnekler için sertlik değerlerinin 15.haftaya kadar hafif bir düşüş gösterdiği, 15.haftadan sonra belirgin bir artış olduğu görülmektedir. Örnekler sertlik değerleri açısından birbirlerine göre karşılaştırıldığında, sertlik değerlerinin azalışına göre firma II\*, firma II, firma I ve firma III şeklinde sıralandığı görülmektedir. Örneklerin sertlik ve elastikiyet özelliklerine ait değerlerin zaman içinde yükselme eğilimi göstermesi, şekerlerin sistem içinde nişasta granülünün içine girerek amiloz zincirleri ile etkileşim göstermesi ve ayrıca nişasta moleküllerinin etrafını çevirerek suyun yapısını stabilize etmesinden kaynaklanabileceği söylenebilir [11, 12].



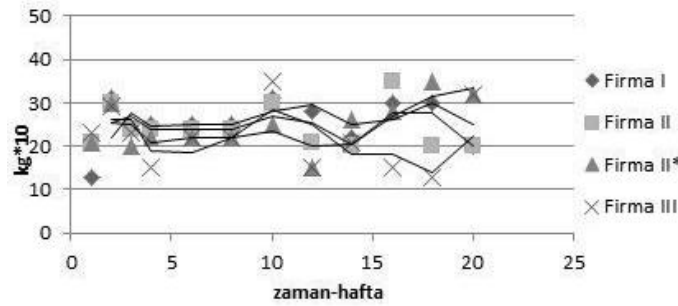
Şekil 6. Lokum örneklerine uygulanan 10 kg kuvvet-%25 oranında sıkıştırma için elde edilen elastikiyet değerlerinde zamana karşı meydana gelen değişimler



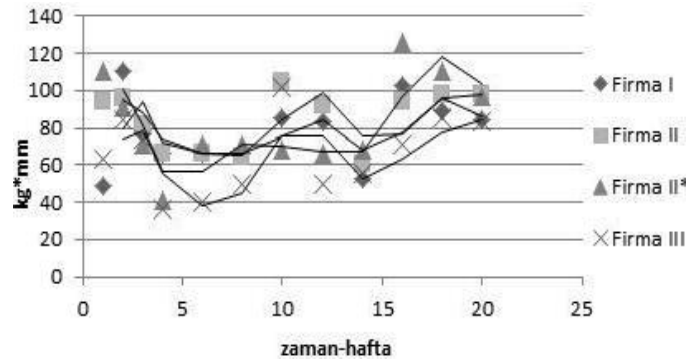
Şekil 7. Lokum örneklerine uygulanan 10 kg kuvvet-%40 oranında sıkıştırma için elde edilen elastikiyet değerlerinde zamana karşı meydana gelen değişimler

Örnekler için zamana karşın elde edilen elastikiyet değerlerinin verildiği Şekil 6 ve 7 incelendiğinde, %25 sıkıştırma oranı için haftalara göre ölçülen değerlerin (Şekil 6) düzensizlik ve genel olarak düşüş eğilimi gösterdiği, %40 sıkıştırma oranı için (Şekil 7) de aynı durumun geçerli olduğu söylenebilir. Çalışmanın materyalini oluşturan lokum örneklerine kesme sondası uygulanarak elde edilen pik yüksekliği (kesilebilme)

değerlerinin depolama süresince değişimi Şekil 8'de, pik alanı (yapışkanlık) değerlerinin değişimi ise Şekil 9'da verilmektedir. Şekil 8 incelendiğinde Firma III hariç lokum örneklerinin kesilebilme özellikleri 8 inci haftaya kadar yaklaşık aynı seviyelerde kaldığı, depolamanın sonuna kadar ise düzensiz bir değişim gösterdiği, Firma III ait lokum örneğinde bu değişimin daha fazla olduğu gözlenmektedir.



Şekil 8. Lokum örneklerine kesme sondası kullanılarak elde edilen kesilebilme değerlerinde zamana karşı meydana gelen değişimler



Şekil 9. Lokum örneklerine kesme sondası kullanılarak elde edilen yapışkanlık değerlerinde zamana karşı meydana gelen değişimler

Kesme sondası uygulanarak elde edilen yapışkanlık (pik alanı) değerlerinin verildiği Şekil 9'dan görüldüğü gibi tüm örneklerde 2. haftadan sonra yapışkanlık değerleri düşmeye başlamış, 14. haftadan itibaren bu değerler yükselme göstermiştir.

Instron ile elde edilen sonuçların tümü göz önüne alındığında, formülasyonlarda azalan su oranına göre tüm örnekler için %25 ve %40 sıkıştırılabilirlik değerleri azalmaktadır. Benzer şekilde elde edilen pik alanı

(yapışkanlık) değerleri incelendiğinde, formülasyonlarda su oranı arttıkça yapışkanlık değerlerinin yükseldiği gözlenmektedir.

Edwards ve ark. [14] tarafından yapılan çalışmada gösterildiği gibi nişasta-şeker jellerinde karışım içinde şeker miktarı veya su miktarı azaldıkça; ya da nişasta miktarı veya toplam katı madde miktarı arttıkça sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, kırılgenlik, iç yapışkanlık özelliklerine ait değerlerin arttığı bildirilmektedir. Bu

durumun tersi olarak şeker miktarı veya su miktarı arttıkça ya da nişasta miktarı veya toplam katı madde miktarı azaldıkça söz konusu özelliklere ait değerlerin azaldığı ifade edilmektedir. Elastikiyet özelliğinin ise en düşük değerini depolamanın başlangıcında ve en yüksek değerini depolamanın sonunda en düşük şeker/nişasta oranı ile en yüksek su/katı madde oranında aldığı ifade edilmektedir. Diğer bir deyişle elastikiyet özelliği için şeker miktarı azaldıkça veya nişasta miktarı arttıkça elastikiyet özelliğine ait değerlerin azaldığı ve su miktarı arttıkça veya toplam katı madde miktarı azaldıkça söz konusu değerlerin arttığı bildirilmektedir. Ancak çalışmada elde edilen sonuçlarla Edwards ve ark. [14] tarafından yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar arasındaki farklılığın, Edwards ve arkadaşlarının çalışmalarında kullanılan nişastanın yüksek oranda (%50-80) amiloz içermesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

## SONUÇ

Çalışmada elde edilen bulgular dikkate alındığında Lokum üretiminde formülasyonda yer alan nişasta. Su. Şeker ve asit oranlarının lokumun dokusunun oluşumunda etkili olduğu anlaşılmaktadır. Lokumun depolanması sürecinde ise, elde edilen bulgular doğrultusunda dokuya ilişkin ölçülen değerler açısından düzgün olmayan bir değişimin olduğu görülmüştür. Formülasyonda yer alan ve artan nişasta miktarına bağlı olarak sertlik değerlerinin arttığı ve su miktarının artışı ile yapışkanlıkta bir artış olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca lokumun kalitesi üzerine pişirme sıcaklığı ve pişirme süresi (Şekil 1) gibi işlem parametrelerin önemli etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Murray, J.M., Delahunty, C.M. and Baxter, I.A. (2001). Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Research International*, 34, 461-471.
- [2] Larmond, E. (1976). Sensory Measurement of Food Texture. In *Rheology and Texture in Food Quality*, DeMan, J.M., Voisey, P.M., Rasper, V.F. Stanley, D.W. (Eds.), AVI publishing Company, Inc., Westport-Connecticut, 588 p.
- [3] Stone, H. and Sidel, J.L. (1985). *Sensory Evaluation Practices*, Academic Press, Inc., London, 311 p.
- [4] Pazır, F., Özdikiciler, O., Dirim, N. (2013). Paşa (Sultan) lokumu üretiminde çöven ekstraktı tozunun kullanımı. *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 17(2), 42-45.
- [5] Tebliğ No:2004/24. Türk Gıda Kodeksi Lokum Tebliği., T.C. Resmi Gazete, 25469 sayı, 22 Mayıs 2004, Ankara.
- [6] Türk Standartları Enstitüsü, (1990). Türk Lokumu Standardı, TS 8444, Ankara.
- [7] Knight, J.W. (1969). *The Starch Industry*, Pergamon Press Ltd., Oxford, New York, 189 p.
- [8] Kruger, L.H. Murray, R. (1976). *Starch Texture*, In *Rheology and Texture in Food Quality*, DeMan, J.M., Voisey, P.M., Rasper, V.F. and Stanley, D.W. (Eds.), AVI publishing Company, Inc., Westport-Connecticut, 588 p.
- [9] Heckman, E. (1977). *Starch and Its Modifications for the Food Industry*. In *Food Colloids*, Graham, H.D., (Ed.), The Avi Publishing Company, Inc., Westport-Connecticut, 588 p.
- [10] Coultate, T.P. (1989). *Food - The Chemistry of Its Components*, The Royal Society of Chemistry, 2nd Edition, Cambridge.
- [11] Hoover, R. Senanayake, N. (1996). Effects of sugars on the thermal and retrogradation properties of oat starches. *Journal of Food Biochemistry*, 20, 65-83.
- [12] Chiotelli, E., Rolee, A. le Meste, M. (2000). Effect of sucrose on the thermomechanical behavior of concentrated wheat and waxy corn starch-water preparations. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 48, 1327-1339.
- [13] Guinard, J.X., Zoumas-Morse, C., Mori, L., Uatoni, B., Panyam, D. Kilara, A. (1997). Sugar and fat effects on sensory properties of ice cream. *Journal of Food Science*, 62(5), 1087-1094.
- [14] Edwards, R.H., Berrios, J.J., Mossman, A.P., Takeoka, G.R., Wood, D.F. Mackey, B.E. (1998). Texture of jet cooked, high amylose corn starch-sucrose gels. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 31(5), 432-438.
- [15] Gönül, M. (1985). *Türk Lokumu Yapım Tekniği Üzerine Araştırmalar*, E.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayını, Bornova, 44 s.
- [16] Dreeling, N., Allen, P. Butler, F. (2000). Effect of the degree of comminution on sensory and texture attributes of low-fat beefburgers. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 33, 290-294.

## Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları, Gıdaların Akrilamid İçeriği ve Sağlık Üzerine Etkileri

Nizam Mustafa Nizamlıoğlu<sup>1</sup> , Sebahattin Nas<sup>2</sup> <sup>1</sup>Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 70200 Karaman<sup>2</sup>Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 20020 Kınıklı, Denizli

Geliş Tarihi (Received): 21.10.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 23.07.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [munizam@kmu.edu.tr](mailto:munizam@kmu.edu.tr) (N.M. Nizamlıoğlu)

☎ 0 338 226 22 00 📠 0 338 226 22 14

### ÖZ

Maillard reaksiyonu sonucu oluşan akrilamidin toksik nitelikte bir bileşik olduğu bildirilmektedir. Isı Maillard esmerleşme ürünleri oluşumuna yol açtığı koşullarda ayrıca gıdalarda akrilamid oluşumuna da neden olabilmektedir. Akrilamidin insan vücuduna girişi sindirim yoluyla ve deriden emilimi ile gerçekleşmektedir. Gıdalarda akrilamidin lipit, karbonhidrat veya serbest aminoasitlerin degradasyonu sonucu oluşan akrolein veya akrilik asit yoluyla, malik, laktik ve sitrik asit gibi organik asitlerden su veya karboksil grubu kaybedilmesiyle ve aminoasitlerden doğrudan oluşum mekanizmasıyla ortaya çıkabileceği belirtilmektedir. Yaygın olan görüş ise, gıdalarda akrilamidin bir aminoasit olan asparajin ile basit şekerlerin (indirgen özellikli) reaksiyonu sonucu oluştuğu şeklindedir. Akrilamidin kanserojenik olan monomerik formunun yüksek sıcaklık uygulanmış (120°C üzerinde) gıdalarda oluştuğu belirtilmiştir. Araştırmacılar gıdalardaki akrilamid düzeyinin gıdanın çeşidi ve üretim şekline bağlı olarak farklılık gösterdiği belirtilmektedir. Akrilamidin en fazla bulunduğu gıdalar; patates cipsi, patates kızartması, mısır cipsi, bisküvi, kraker ve tost edilmiş gevrek unlu mamuller, ekmek ve benzeri unlu mamuller, kahvaltılık tahıllar ve kahve gibi ürünlerdir. Bu çalışmada, gıdalarda akrilamid oluşumunun mekanizmaları, oluşumu, farklı gıdaların akrilamid içerikleri ve akrilamidin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Akrilamid, Akrilamid oluşumu, Sağlık

### Mechanisms of Acrylamide Formation in Foods, Acrylamide Content of Foods and Its Effect on Human Health

#### ABSTRACT

Acrylamide formed by the Maillard reaction is reported to be a toxic compound. Under conditions where heat leads to the formation of Maillard browning products, it can also lead to the formation of acrylamide in foods. The introduction of acrylamide into the human body takes place through digestion or absorption through the skin. Acrylamide formation in foods has been reported in three ways, a) with a path where acrylic acid or acrolein is formed as a result of the degradation reactions of lipids, carbohydrates or free amino acids b) with the loss of carboxyl group or water from organic acids such as malic, lactic and citric acids and c) with the direct formation from amino acids. The common opinion is that acrylamide in foods is formed by the reaction of simple (reducing) sugars with asparagine, an amino acid. The monomeric form of acrylamide, which is carcinogenic, has been reported to occur in high temperature treated foods (above 120°C). It is stated by the researchers that the level of acrylamide in foods varies depending on the type and production of the food. Foods that contain the most acrylamide include potato chips, french fries, corn chips, biscuits, crackers and toasted crispy bakery products, bread and other bakery products, breakfast cereals and coffee. In this study, the mechanisms of acrylamide formation in foods, acrylamide content of different foods and the adverse effects of acrylamide on human health were reviewed.

**Keywords:** Acrylamide, Acrylamide formation, Health

## GİRİŞ

Gıda maddelerinde kaliteyi etkileyen temel kimyasal reaksiyonlardan biri olan enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları, gıdaların işleme ve saklanmaları aşamalarında meydana gelmektedir [1]. Kuru madde içeriği %65'den fazla olan konsantre ürünler, mikrobiyolojik olarak risk oluşturmamaktadır. Ancak yüksek sıcaklık uygulaması ya da uzun süre depolama sonucunda bu ürünler enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarına maruz kalmakta; kimyasal ve duyu kalite açısından bazı değişiklikler meydana gelebilmektedir [2].

Maillard reaksiyonları; ekmek, kurabiye, kek, et, fındık, badem, çikolata, patlamış mısır, pişmiş et gibi birçok gıdanın lezzetinden kısmen sorumludur. Maillard reaksiyonu sırasında indirgen özellikte birçok bileşiğin oluştuğu, bunların da tat, aroma ve renk değişimine neden olduğu, bazılarının ise toksik, karsinogenik veya mutajenik özellik gösterdiği belirtilmektedir. Maillard reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid, hidroksimetil furfural (HMF) ve heterosiklik aminlerin toksik nitelikte bileşikler olduğu bildirilmektedir [2-5]. Hayvanlar üzerine yapılmış çalışmalarda birçok heterosiklik aminin karsinogenik etkiye sahip olduğu, Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC)'nın yaptığı açıklamaya göre de bu bileşiklerin insanlarda kanserojen etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir [2]. Gıda işlenmesi sırasında oluşan Maillard ürünlerinin istenmeyen ve faydalı etkileri, akrilamid oluşumu ile aynı zamanda oluşabilmektedir. Isı Maillard esmerleşme ürünleri oluşumuna yol açtığı koşullarda ayrıca gıdalarda akrilamid oluşumuna da ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ) neden olabilmektedir [6]. EFSA'ya göre, akrilamid maruziyetine katkıda bulunan en önemli gıda grupları kızarmış patates ürünleri, kahve ve tahıl bazlı gıdalardır [7].

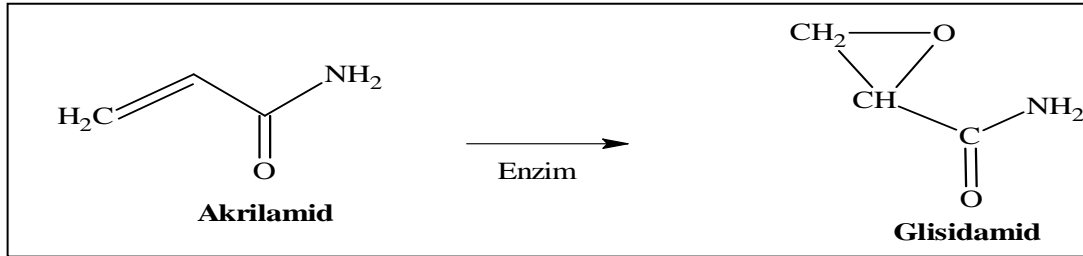
Bu çalışmada, gıdalarda akrilamid oluşumunun mekanizmaları, akrilamid oluşumu üzerine yüksek sıcaklık uygulaması ve gıda bileşenlerinin etkileri, farklı gıdalarda ki akrilamid içerikleri ve akrilamid'in insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerine değinilmiştir.

## AKRİLAMİDİN FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Akrilamid ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$ , 2-propenamid), yapısında vinil bulunduran, poliakrilamidin suda çözünür monomerlerindedir. Kokusuz, beyaz katı kristaller halinde, suda çözünürlüğü yüksek (204 g/100ml, 25°C'de) ve molekül ağırlığı 71.08 g/mol olan bir kimyasal maddedir [4, 8-12]. Saf hali oda sıcaklığında katıdır (Aktaş 2008). Erime noktası 84.5°C ve kaynama noktası (25 mmHg) 125°C (atmosferik basınçta 192.6°C)'dir [13-15]. Akrilamid, erime noktasına ulaştığında ya da ultraviyole ışığa maruz bırakıldığında hemen polimerleşmeye başlamaktadır [16, 17]. Hem zayıf asidik hem de bazik özellik göstermektedir. Su içerisinde oldukça iyi çözünen [18] (2155 g/L'dir) akrilamid metanol, etanol ve aseton gibi polar organik çözücülerde iyi çözünürken; heksan ve heptan gibi polar olmayan çözücülerde çok az miktarda çözünmektedir [13,19]. Bileşiminde %50.69 karbon, %7.09 hidrojen, %19.71 azot ve %22.51 oksijen elementlerini içerir. Sudaki %50'lik çözeltisinin pH miktarı 5.2-6.0 arasındadır. Yakıcı veya tahriş edici özelliği yoktur [17, 20].

Akrilamid, monomer ve polimer (poliakrilamid) olmak üzere iki farklı formda bulunabilmektedir. Monomer yapıdaki akrilamid toksik özellik göstermekteyken, polimer yapıdaki akrilamidin toksik özellik göstermediği belirtilmiştir [13, 18, 21]. Monomerik yapıdaki akrilamidin hayvanlarda sinir sistemine zarar verdiği ve memeli hayvanlarda kanserojen ve mutajen etki gösterdiği belirtilmektedir [10, 22].

Akrilamidin insan vücuduna girişi sindirim yoluyla ve deriden emilimi ile gerçekleşmektedir. Organizmaya girdiğinde enzimatik reaksiyonlarla glisidamide dönüşmektedir [9, 11]. Akrilamid, vücutta metabolizasyonu esnasında CYP2E1 enzimi aracılığıyla bir epoksit türevi olan glisidamide dönüşmektedir. Glisidamid, akrilamidin zararlarının değerlendirilmesi açısından anahtar bir role sahiptir; çünkü akrilamid, toksik etkilerinin büyük bir kısmını bu madde aracılığıyla göstermektedir [4, 8, 9, 15, 17, 23]. Şekil 1'de glisidamidin yapısı görülmektedir [22].



Şekil 1. Akrilamidin glisidamide dönüşümü

## AKRİLAMİDİN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Tareke ve arkadaşları tarafından 2002 yılında akrilamidin ilk defa gıdalarda bulunduğu tespit edilmesi ve potansiyel sağlık etkilerinin ortaya

konulması ile tüm dünyada ilgi uyandırmıştır [24,25]. İsveç Ulusal Gıda Komisyonu NFA (National Food Authority) ve Stockholm Üniversitesi'nin yaptığı araştırmalara göre; akrilamidin monomerik formunun yüksek sıcaklık uygulanmış (120°C) gıdalarda, karbonhidratların ve aminoasitlerin tepkimesi sonucu

oluşturduğu belirtilmiştir. Uzmanlar gıdalardaki akrilamid düzeylerinin gıdanın çeşidi ve üretim şekillerine bağlı olarak farklılık gösterebildiğini bildirmişlerdir [11, 18, 19, 26-28]. İsveçli araştırmacılar tarafından akrilamidin tespiti, dünyanın ilgisini bu konu üzerine çekmiş ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından bazı nörotoksik ve kanserojenik etkiler gösterdiği ispatlanan akrilamid, insanlar için olası kanserojen olarak 2A grubunda sınıflandırılmıştır [12, 20, 29-32]. Akrilamidin bu kategoride yer alması Dünya Sağlık Örgütü başta olmak üzere birçok kuruluşun dikkatini bu konu üzerine çekmiştir. Akrilamidin özellikle günlük diyetin başlıca öğelerini oluşturan karbonhidratça zengin gıdalarda yer alması bu konunun araştırılması gerekliliğini önemli hale getirmiştir [20, 33]. Haziran 2015'te, Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA) gıdalardaki akrilamid varlığının potansiyel olarak tüm yaş gruplarında belirli kanser türlerini geliştirme riskini artırdığını onaylamıştır. [7, 34, 35].

Akrilamidin etkilerini görebilmek için hayvanlar üzerinde yapılan deneyler, akrilamidin sinir sistemine zarar

verdiğini, yüksek dozlarda ise kaslar ve hormonal bezler üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Hayvanlarda akciğer ve deri kanserine neden olduğu belirlenmiştir [36, 37]. Akrilamidin insanlarda nörolojik bozukluklara da neden olabileceği ileri sürülmektedir. Ancak, gıdalarda bulunan akrilamid miktarının sinir sistemini etkileyecek düzeyde olmadığı belirtilmektedir [38]. Yapılan hayvan denemeleriyle yüksek dozlardaki akrilamidin üreme ve sinir sistemini etkilediği, akrilamidin metabolik ürünü olan glisidamid'in DNA'yı bağlayarak genetik hasara yol açtığı bulunmuştur [8, 15].

Ancak son yıllarda gerçekleştirilen epidemiyolojik ve toksikolojik çalışmalarda, diyetle alınan akrilamid ile değişik kanserler (yemek borusu, mide, kalın bağırsak ve pankreas kanserleri) arasında kayda değer bir ilişki tespit edilmemiştir [10]. İnsanlar için yaşam boyu tüketilen günlük akrilamid miktarının, 1 µg/kg vücut ağırlığı olması durumunda kanser riskinin 1000'de 0.70-4.50 arasında olacağı belirtilmektedir [19, 20]. Bazı ülkelerde akrilamide maruz kalma seviyeleri Tablo 1'de verilmiştir.

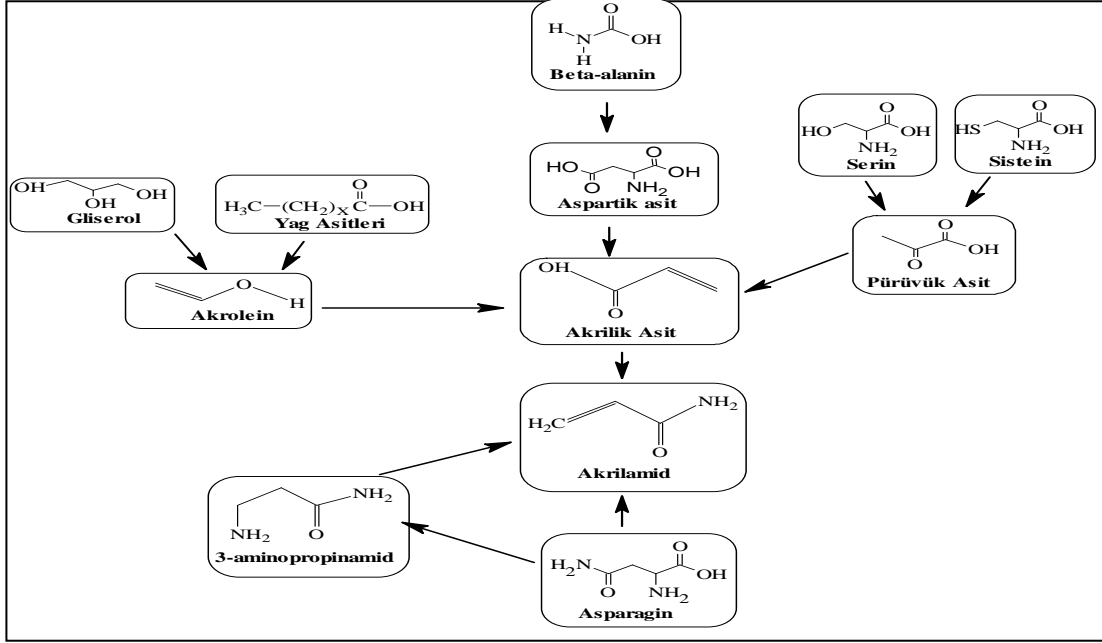
Tablo 1. Bazı ülkelerde akrilamid maruziyet seviyeleri [39]

Ülke	Yaş (yıl)	Ortalama akrilamid maruziyeti (µg/kg günlük vücut ağırlığı)
FAO / WHO	Genel nüfus	0.2-1
	1-3	1.2-2.4
	3-10	0.7-2.05
	11-17	0.43-1.4
EFSA	>18	0.31-1.1
	1-97	0.48
	7-18	0.71
Hollanda	1-6	1.04
	6 ay	0.04
İsveç	7-12 ay	0.5
	6 ay (kız)	0.31
Norveç	6 ay (erkek)	0.29
	12 ay (kız)	0.36
	12 ay (erkek)	0.33
Brezilya	11-17	0.12
Fransa	> 15	0.5
	2-14	1.4
Polonya	1-96	0.43
	1-6	0.75
	7-18	0.62
Almanya	<1	0.16-0.98
	1-7	0.19- 1.79
	7-19	0.12-1.60

## GIDALARDA AKRİLAMİD OLUŞUM MEKANİZMALARI

Isıl işlem gören gıdalarda akrilamid oluşumu ile ilgili birçok teori vardır. Bunun nedeni, akrilamidin gıdalarda birden fazla mekanizma sonucunda oluşmasıdır [13, 40]. Gıdalarda akrilamidin, lipid, karbonhidrat veya serbest aminoasitlerin degradasyonu sonucu oluşan akrilein veya akrilik asit yoluyla, malik, laktik ve sitrik

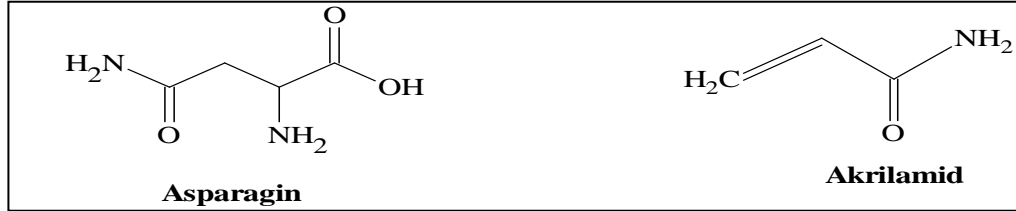
asit gibi organik asitlerden su veya karboksil grubu kaybedilmesiyle ve amino asitlerden doğrudan oluşum mekanizmasıyla ortaya çıkabileceği belirtilmektedir. Yaygın olan görüş ise, gıdalarda akrilamidin bir aminoasit olan asparajin ile basit şekerlerin (indirgen) reaksiyonu sonucu oluştuğu şeklindedir [16, 37, 39, 41-45]. Şekil 2'de akrilamidin gıdalarda oluşum yolları görülmektedir [8, 17].



Şekil 2. Akrilamidin gıdalarda oluşum yolları

Akrilamidin oluşumuyla ilgili genel teori, gıdalarda akrilamid oluşumunun enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak bilinen Maillard reaksiyonu ile yakından ilişkili olduğudur. Akrilamid gıdalarda Maillard reaksiyonunun bir yan reaksiyon ürünü olarak oluşmaktadır. Asparajinin, belirgin miktarda akrilamid oluşmasını sağlayan tek aminoasit olduğu düşünülmektedir. Akrilamid oluşumunda asparajinin

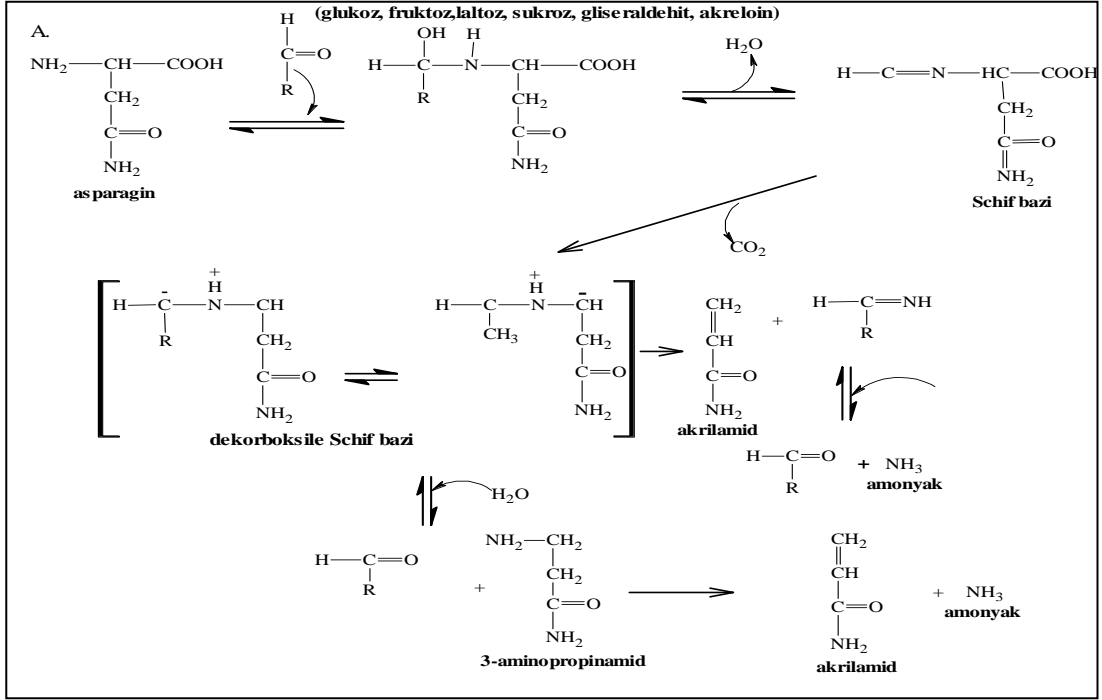
akrilamid molekülünün ana iskeletini oluşturduğu görüşü, akrilamidin ve asparajinin kimyasal formüllerine bakıldığında daha net anlaşılmaktadır. Şekil 3.'de asparajinin ve akrilamidin kimyasal formülleri görülmektedir [13, 46, 47]. Amrein ve ark. [48] patateslerle yaptıkları çalışmada asparajinin amid grubuyla birlikte akrilamid molekülünün omurgasını oluşturduğunu göstermişlerdir.



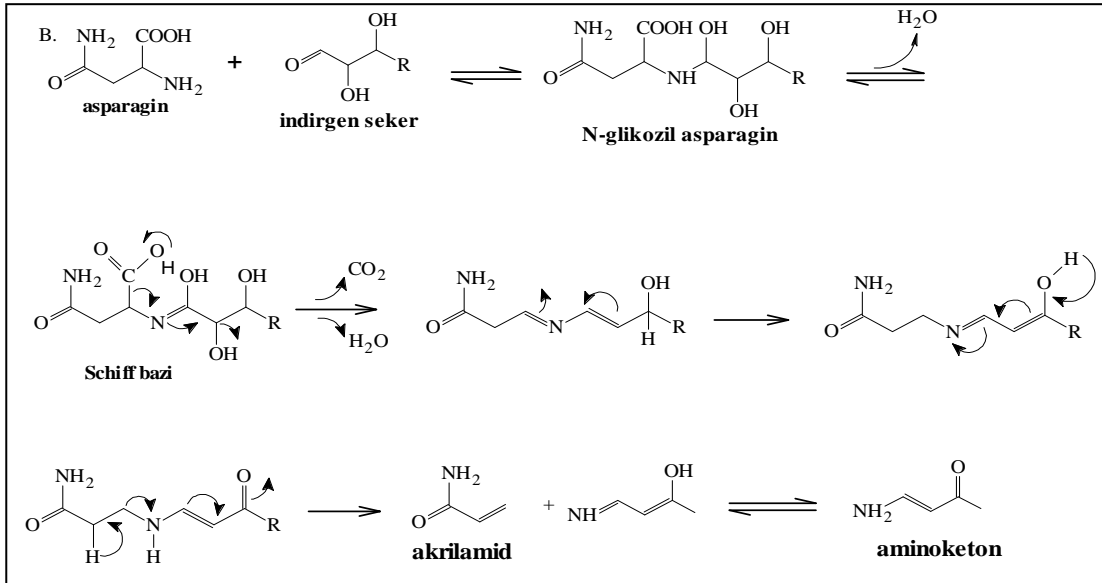
Şekil 3. Asparajin ve akrilamid

Maillard reaksiyonunun başlangıç basamağında indirgen şekerler ile asparajin reaksiyona girerek Schiff bazı ile dengede olan N-glukozilasparajin kompleksini oluşturmaktadır. Bu kompleks ısıtma esnasında yüksek miktarlarda akrilamid oluşturmaktadır. Ayrıca dekarboksile olmuş asparajin (3-aminopropionamide) ısıtıldığında indirgen şeker olmadan akrilamid oluşturabilmektedir. Asparajin ve indirgen şeker arasındaki ilk reaksiyon sonunda Schiff bazı oluşur. Oluşan bu molekül dekarboksilasyon yolu ile dekarboksile Amadori ürününe dönüşür. Bu noktada Amadori ürünü Strecker bozulması ile akrilamid oluşturur [9, 17, 19, 20, 30, 40, 43, 47, 49-52]. Yaylayan ve ark. [53], yaptıkları model çalışmalarda akrilamid oluşumunun asparajinden ve bir reaktif karbonil kaynağından oluştuğunu göstermişler ve bu oluşumda Schiff bazının önemini belirtmişlerdir. Şekil 2.4'de ve Şekil 2.5'de ısıtılmış gıdalarda akrilamid oluşum mekanizmaları görülmektedir [27, 42-44, 48, 54, 55].

Asparajin yalnız ısıtıldığında akrilamid yerine maleimid meydana geldiği bildirilmiştir. Akrilamid oluşumunda 2-deoksiglukoz, 2,3-butandion, oktanal, dekanal gibi karbonil bileşikleri indirgeyici şekerle aynı sonuçları verdiği ve bu karbonil bileşiklerin, Maillard reaksiyonuyla, şekerlerin bozunmasıyla veya lipid peroksidasyonuyla oluştuğu görülmüştür [44]. Tareke ve ark. [33], proteince zengin gıdaların ısıtma işlem sonrasında düşük seviyelerde akrilamid (5-50 ppb) içerdiğini; fakat karbonhidrat içeriği zengin gıdalarda akrilamid seviyesinin çok daha yüksek (150-4000 ppb) değerlerde olduğunu belirtmişlerdir. Çiğ ya da ısıtma işlem uygulanmamış gıdalarda ise akrilamid oluşumunun gerçekleşmemesi karbonhidratça zengin gıdaların pişirilmeleri sırasında bazı reaksiyonların akrilamid oluşumundan sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır [13, 56].



Şekil 4. Asparajın ve karbonhidratların dekarboksile Schiff bazına dönüşümü; Schiff bazının direkt olarak ve/veya 3-aminopropionamide ara maddesi ile akrilamide dönüşümü

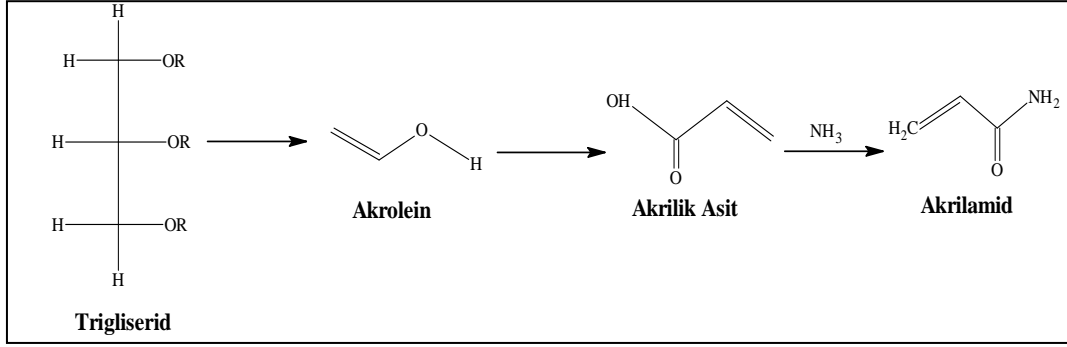


Şekil 5. 3-Aminopropionamide ara maddesi oluşmadan akrilamid oluşumu

Zyzak ve ark. [50], asparajinin akrilamid oluşumunda öncü bir aminoasit olduğu kanıtına kesin olarak varmışlardır. Patates model sistemi kullanarak yaptıkları çalışmalarda akrilamid karbon atomlarının asparajinden kaynaklandığını göstermişler ve akrilamid azotunun asparajine ait nitrojeninden elde etmişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar ısıttıkları glukoz-asparajin model sistemlerinde 3-aminopropionamidin (akrilamid oluşumunun habercisi) varlığını göstermişlerdir. Akrilamid oluşumunu açıklayan diğer bir teoriye göre, akrilamid oluşumunda akroleinin muhtemel öncü madde

olduğu belirtilmektedir. Akrolein lipidlerin transformasyonu, aminoasitlerin ve proteinlerin degradasyonu, karbonhidratların degradasyonu, aminoasitlerle ya da proteinlerle karbonhidratlar arasındaki Maillard reaksiyonuyla oluşabilmektedir [13, 20]. Akrolein akrilik aside yükseltgenmekte, akrilik asit de gıdalardaki azotlu maddelerin sıcaklık etkisiyle bozulması sonucu oluşan amonyak ile reaksiyona girerek akrilamidi oluşturmaktadır [15, 19, 30, 57]. Şekil 6'da trigliseritten akrilamid oluşumu görülmektedir [14, 30, 44, 58, 59].





Şekil 6. Gliserol ve akrolein sayesinde lipidlerden akrilamid oluşumu

Akrilamid oluşumunu açıklayan son teoriye göre, akrilamid azot içeren maddelerden (proteinler, amino asitler) yeniden yapılanma, hidroliz, dekarboksilasyon gibi birçok seri transformasyon sonucunda akrolein olmadan direkt olarak da oluşabilmektedir [8, 13]. Strecker aldehit doğrudan veya akrilik asit mekanizması üzerinden akrilamidi meydana getirmektedir [20].

Pirüvik asit de akrilamid oluşumu ile sonuçlanan reaksiyonlara katılmaktadır. Maddenin amonyak varlığında sırasıyla pirüvik asit, laktik asit, akrilik asit ve akrilamid yönünde değişime uğradığı belirtilmektedir [8, 17].

### ISIL İŞLEM VE GIDA BİLEŞENLERİNİN AKRİLAMİD OLUŞUMUNA ETKİLERİ

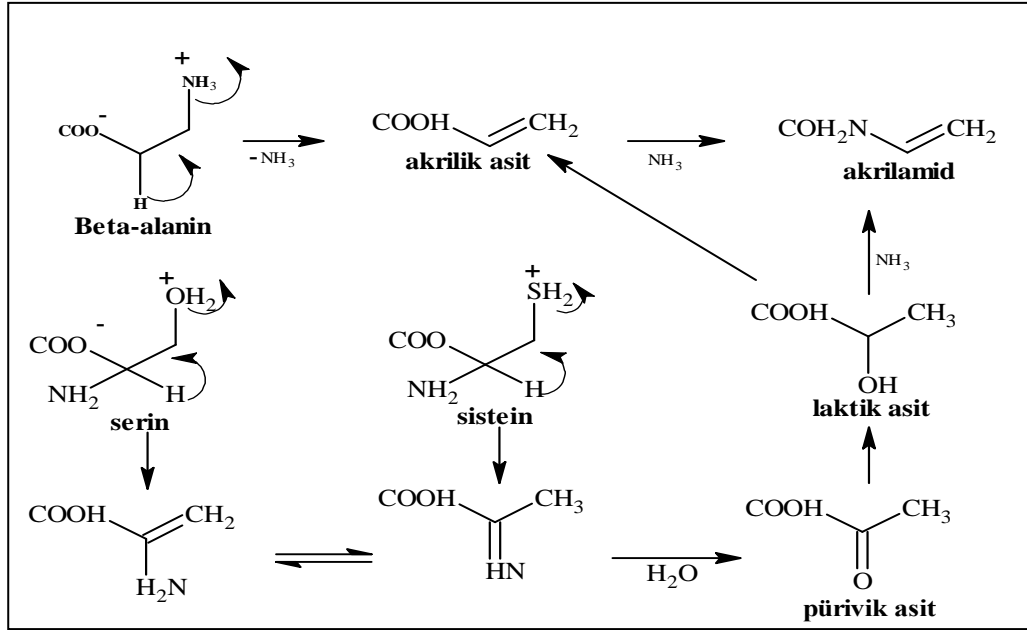
Akrilamid miktarları yüksek sıcaklık uygulanarak ( $120^{\circ}\text{C}$ 'nin üzeri) üretilen ve hazırlanan çeşitli gıdalarda iz miktarlardan  $4000\ \mu\text{g}/\text{kg}$  düzeylerine kadar geniş bir değişim göstermektedir.  $100\text{-}120^{\circ}\text{C}$  üzerinde ısı uygulamasıyla, akrilamidin en yüksek düzeyi karbonhidratça zengin gıdalarda ( $100\text{-}4000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ) ve en düşük düzeyi proteince zengin gıdalarda ( $<100\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ) bulunmuştur [14, 15, 19, 40]. Herhangi bir ısı işlem görmemiş gıdalarda akrilamid bulunmamakta veya çok az ( $<10\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ) bulunmakta, suda haşlanan veya bol sulu ortamlarda pişirilen gıdalarda ise oldukça düşük düzeylerde ( $<30\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ) oluşmaktadır [10, 14]. Akrilamid düzeyleri gıda kategorileri ve aynı şartlarda üretilmiş ürün grupları içinde önemli farklılıklar göstermektedir [14].

Maillard reaksiyonlarında akrilamid üretimi bakımından aminoasitler arasında yapılan benzer bir çalışmada ise aynı şekerle reaksiyona sokulan aminoasitler arasında bir kıyaslama yapılmış ve asparajin kullanıldığında yüksek miktarlarda ( $221\ \text{mg}/\text{mol}$ ) akrilamid oluşurken glutamin ve aspartik asitte az miktarda ( $0.5\ \text{mg}/\text{mol}$ ) akrilamid oluştuğu ortaya çıkmıştır. Sistein, metionin ve glisin gibi aminoasitlerde ise tayin edilebilir miktarlarda akrilamid oluşmamıştır. Böylece akrilamid oluşumundan sorumlu olan tek aminoasidin asparajin olduğu ileri sürülmüştür [9]. Asparajinin tek başına termal olarak akrilamid oluşturabildiği de rapor edilmiş olmakla birlikte, asparajinin akrilamide dönüşebilmesi için indirgen

özellikli şekerlere ihtiyaç duyduğu birçok çalışmayla kanıtlanmıştır [17]. Yapılan çalışmalarda asparajin ile indirgen şekerlerin reaksiyonu sonucu akrilamid oluşumu reaksiyonunda en etkin şekerin fruktoz olduğu bulunmuştur [9, 43]. Aminoasitler ve şekerlerin model sistemleri üzerine yapılan araştırmalar, akrilamidin, asparajin veya  $\beta$ -alanin, aspartik asit gibi doğrudan ya da dolaylı olarak sistein ve serin gibi akrilik asit üretebilen aminoasitlerden üretilebileceğini göstermiştir. Serin ve sistein gibi bazı aminoasitlerin, akrilik asit haline dönüştürülebilir ve amonyakla reaksiyona girdiğinde akrilamid oluşturabilen pirüvik asit ürettiği bulunmuştur [45]. B-alanin, serin ve sistein ikinci akrilamid oluşumu için önerilen mekanizmalar Şekil 7'de görülmektedir [42].

Pişirme süresi ve sıcaklığı ile akrilamid oluşumu arasında doğrusal bir ilişki olmakla birlikte aynı gıda tiplerinin farklı ürünleri veya aynı ürünlerin farklı tarihlerde üretilmiş olanları arasında bile akrilamid içeriği bakımından farklılıklar görülmektedir [17, 27]. Gıdanın özellikle sahip olduğu asparajin ve indirgen şekerler (başlıca fruktoz ve glukoz) yönünden bileşimi, türü, saklama koşulları, dönemsel değişiklikler de akrilamid miktarı üzerine farklılıklara yol açmaktadır [17, 29].

Zhang ve ark. [60], mikrodalga ısıtma sistemlerinde ve asparajin-glukoz, asparajin-fruktoz ve asparajin-sakkaroz model sistemlerinde akrilamid oluşumunu araştırmışlardır. Asparajin-glukoz sisteminde, akrilamid içeriğinin yüksek sıcaklık kısa bir ısıtma süresi ( $>190^{\circ}\text{C}<20$  dakika) ile veya düşük sıcaklık uzun bir ısıtma süresi ile ( $<180^{\circ}\text{C}>30$  dakika) arttığını belirtmişlerdir. Asparajin fruktoz sisteminde, benzer bir sonuç yüksek sıcaklık kısa ısıtma süresi ( $>175^{\circ}\text{C}<20$  dakika) ya da düşük sıcaklıkta uzun bir ısıtma süresi ( $<170^{\circ}\text{C}$  ile birlikte  $>25$  dakika) ile birlikte yapılmıştır. Asparajin-sakkaroz sisteminde, akrilamid miktarı ısıtma sıcaklığı ve ısıtma süresi artışına bağlı olarak artmıştır. Akrilamid'in kolayca asparajin-glukoz ve asparajin-fruktoz sistemlerinde  $180^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakikada oluşabileceğini ifade etmişlerdir. Amrein ve ark. [61], fırın ürünlerinde farklı işlem koşulları altında yaptıkları kavurma deneylerinde, akrilamid oluşumu üzerine sıcaklığın zamandan daha etkili olduğunu ifade etmişlerdir.



Şekil 7. β-Alanin, serin ve sistein ile akrilamid oluşumu için önerilen mekanizmalar

### FARKLI GIDALARDAKİ AKRİLAMİD MİKTARLARI

Akrilamid karbonhidratça zengin gıdaların kızartılması, kavrulması ve fırınlanması sırasında yüksek miktarlarda oluşurken; haşlanmaları sırasında oluşmamaktadır [13]. Çiğ ve ısı işlem uygulanmamış gıdalarda akrilamid oluşumu görülmemiştir [14].

Akrilamidin en fazla bulunduğu gıdalar; patates cipsi (50-3700 µg/kg), patates kızartması (<10-2300 µg/kg), mısır cipsi (100-935 µg/kg), bisküvi, kraker ve tost edilmiş gevrek unlu mamuller (<10-3000 µg/kg), ekme ve benzeri unlu mamuller (<10-430 µg/kg), kahvaltılık tahıllar (<10-1000 µg/kg) ve kahvedir (30-1000 µg/kg) [10]. Bu gıdaların dışında; kavrulmuş badem (260 µg/kg), kuşkonmaz (143 µg/kg), ayçiçeği çekirdeği (66 µg/kg), soya fasulyesi (25 µg/kg), fındık ve fındık ezmesi (64-457 µg/kg), kaplamalı yer fıstığı (140 µg/kg) (10), bebek ve küçük çocuklar için üretilen kekler (633 µg/kg) ve tahıl içerikli ürünlerin (131 µg/kg) de akrilamid içerdiği bildirilmektedir [38]. Günlük tüketilen gıdalarda (kavurulmuş çerezler, ekme ve fırıncılık mamulleri, cipsler, kahve, bisküvi, kraker, çikolata, bebek mamaları, patates kızartması, tatlılar, pekmez, ızgara, kebab, döner) akrilamid seviyeleri saptanmıştır. Pirinç pilavı, helva, ızgara, döner gibi gıdalarda (4 µg/kg) düşük seviyede, patates kızartmasında ise yüksek seviyede (3600 µg/kg) akrilamid saptandığı bildirilmiştir [11, 62]. Farklı gıdaların akrilamid içerikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Dünyada yaygın olarak tüketilen gıdaların çoğunluğunun akrilamid düzeyleri belirlenmiş olup, geleneksel gıdaların akrilamid içerikleri konusunda da yayımlanmış bazı çalışmalar mevcuttur. Ancak, ülkemizde geleneksel ürünlerimizin akrilamid içerikleri konusunda sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır [10, 63, 64]. Güven [65] İzmir piyasasından temin ettiği Kumru ve Boyoz örneklerinin ortama akrilamid düzeyini sırasıyla 35.11 µg/kg ve 42.48 µg/kg olarak bulmuştur. Başka bir çalışmada ise Alpözen ve Üren [66] İzmir gevreği örneklerinin ortalama akrilamid düzeyini 68.63 µg/kg olarak bulmuşlardır. Diğer geleneksel ürünlerle yapılan

çalışmalarda; farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen dört farklı kurabiye çeşidinde akrilamid seviyeleri 8.5 ng/g ile 335.7 ng/g arasında bulunmuştur ([67]. Farklı kökenlerden gelen kavrulmuş öğütülmüş kahvelerde akrilamid düzeyleri ortalama olarak 19 ng/g tespit edilmiştir [68]. 145, 160 ve 175°C'de konveksiyon ve buhar destekli fırınlarda pişirilen Muffinlerde, 145°C'de 40 dakikalık pişirme süresinde akrilamid oluşumunun tespit limitlerinin altında, maksimum akrilamid konsantrasyonunun ise 160°C'de 50 dakika ve 175°C'de 40 dakika pişirme ile 100 ppb olduğu görülmüştür [69].

Akrilamidin tahıl ve tahıl ürünleri ile patates gibi karbonhidrat bakımından zengin gıdalarda yağda kızartma, fırında pişirme veya kavurma gibi nem miktarının düşük ancak sıcaklığın yüksek olduğu ısı işlemler sırasında oluştuğu dikkate alındığında, kavrukları üretilen badem ve nohut vb. kuruyemişlerde de akrilamid oluşumu kaçınılmaz görünmektedir. Kavrulmuş gıdaların akrilamid içerikleri üzerine ülkemizde birkaç çalışma yayımlanmıştır. Çalışmalar genellikle patates kızartması üzerine yapılmıştır [10].

Uzmanlar gıdalardaki akrilamid düzeylerinin gıdanın çeşidi ve üretim şekillerine bağlı olarak farklılık gösterebileceğini bildirmişlerdir. [71-73]. Amrein ve ark. [74], Avrupa bademlerinde ABD badem çeşitlerine göre kavurma sırasında önemli ölçüde daha az akrilamid oluştuğunu ifade etmişlerdir. Oda sıcaklığında depolama süresince kavurulmuş bademde akrilamidin azaldığı bildirilmiştir [8]. Lukac ve ark. [71] akrilamid oluşumunun çekirdek sıcaklığı 130°C aşıldığı zaman başladığını ve akrilamid içeriğinin kavurma rengindeki artan koyulukla arttığını ifade etmişlerdir. Daha yüksek bir başlangıç nem içeriğine sahip bademlerin pişirildikten sonra daha az akrilamid içerdiğini belirtmişlerdir. Yates [75] akrilamid içeriğini kavurulmuş tuzlu bademlerde 236 µg/kg, tütülenmiş bademlerde 457 µg/kg, kavurulmuş tuzsuz fıstıkta 28 µg/kg ve McDonalds patates kızartmalarında (7 ABD eyaleti) 155-497 µg/kg olarak rapor etmiştir.

Tablo 2. Farklı gıdaların akrilamid içerikleri ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) [5, 39, 59, 64, 70]

Gıda/Ürünler	Ortalama	Minimum-Maksimum	Örnek Sayısı
Patates cipsi	1312	170-2287	38
Patates kızartması	537	<50-3500	39
Haşlanmış Patates	<30	-	-
Mısır cipsi	218	34-416	7
Patlamış mısır	500	365-715	3
Mısır Gevreği	122	35-478	7
Hamur ürünleri	36	<30-42	2
Fırınlanmış ürünler	112	<50-450	19
Makarna	<30	-	-
Bisküvi	198	<10-648	16
Bebe Bisküvisi	152	32-613	24
Diyabetik bisküvi	270	10-1695	125
Büsküvi/Kurabiye	300	<30-640	11
Tatlı Bisküvi	443	<68-1150	15
Tuzlu Bisküvi	179	13-224	2
Çocuk Bisküvisi	106	5-432	130
Ekmeğ	38	<10-85	22
Tost Ekmeği	164	41-474	5
Kraker	247	26-587	18
Kahvaltılık tahıllar	298	<30-1346	29
Sütlü ekmeğ	50	<30-162	41
Pide	<10	<10-16	6
Poğaç	120	<10-441	4
Balık ve deniz ürünleri	35	30-39	4
Kümes hayvanları	52	39-64	2
Adana kebab	127	49-250	4
Kuşbaşı	57	52-63	3
Et döner	65	-	3
Çözünür (instant) malt içecekleri	50	<50-70	3
Çikolata tozu	75	<50-100	2
Kakao	<10	-	3
Kahve tozu	200	170-230	3
Çikolata	75	37-100	5
Kavrulmuş Badem	260	207-313	2
Kavrulmuş Fındık	128	<10-421	5
Kavrulmuş Fıstık	66	<10-120	5
Kavrulmuş Leblebi	12	<10-33	4
Fındık ezmesi	53	<10-141	4
Fıstık ezmesi	54	45-63	2
Peksimet	300	<30-1900	5
Pekmez	95	<10-297	4
Tulumba	241	<10-701	5
Kadayıf	<10	<10-23	4
Kemalpaşa tatlısı	512	445-578	2
Tahin	69	<10-145	5
Helva	93	<10-229	7
Çilek reçeli	<10	-	1
Bira	<30	<30	1
Pilav	<10	-	4
Türk kahvesi	266	200-336	4
Kavrulmuş Kahve	221	79-975	3
Zeytin(siyah, salamura)	82	<10-216	8
Kurutulmuş kırmızıbiber	<10	-	1
Havuç suyu	70	1-140	2
Pizza	-	-	10
Tahıl-bazlı (yemeye hazır)	13.4	10.8 -15.7	10
İnstant tahıl-bazlı	34.7	19.2 - 59.9	10
Şeker çubukları	53.5	39.0 - 61.2	10
Kekler	28.9	13.3 - 49.5	10
Toz bebek gıdaları	36	<24.88-174	7

Ölmez ve ark. [64], Türk pazarından temin ettikleri gıdalarda akrilamid seviyelerini araştırmışlardır. İşlenmiş gıdalara ek olarak, özellikle, geleneksel Türk tatlıları, akrilamid içeriği için analiz edilmiştir. Toplam 311 örnek

GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. İşlenmiş gıdaların akrilamid içeriğinin farklı besin grupları arasında, markalar arasında ve aynı markalar içinde bile büyük bir farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir.

## SONUÇ

120°C ve üzerindeki sıcaklıklarda işlenen gıdalarda maillard tepkimesi sonucunda kanserojenik bir madde olan akrilamid oluşabilmektedir. Akrilamid oluşumu ile ilgili yurt dışında pek çok çalışma yapılmıştır. Ülkemizde ise yüksek sıcaklıklarda ısıtım işlemi uygulanan gıdalarda (kızartılan, kavruan, pişirilen vs.) akrilamid araştırmaları yok denecek kadar az düzeydedir. Var olan çalışmalar ise daha çok akrilamidin yüksek miktarda oluştuğu patates kızartması üzerine yoğunlaşmıştır. Yüksek sıcaklıklarda üretilen veya tüketilen gıdalarla ilgili Akrilamid oluşum koşulları ve miktarları üzerinde çalışmaların yapılmasının önemli olduğu gereği ortadadır. Yapılacak olan çalışmaların hem sağlık açısından hem de üretim kalitesinin standardının oluşturulması açısından önemli olacaktır. Ülkemizde yüksek sıcaklık uygulanarak üretilen, örneğin kuru yemişler gibi pek çok ürünün üretim koşulları akrilamid içeriği de dikkate alınarak ortaya konmamıştır. Akrilamid gibi sağlık açısından riskli bileşenlerin oluşumunu önlenmesi üzerine yapılacak olan çalışmalar (ısıtım işleminin standardize edilmesi ve akrilamid önleyici yöntemler) hem sağlık açısından yüksek sıcaklık uygulanarak üretilen veya tüketilen gıdaları daha güvenilir hale getirecek ve hem de üretim yöntemlerinin de belli bir standart kazanmasını sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Pinelo, M., Rubilar, M., Sinero, J., Nunez, M.J. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*, 85(2), 267-273.
- [2] Özhan, N.B. (2008). Depolama Süresince Keçiboynuzu Pekmezinde Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonlarının Kinetiği. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [3] Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. (2002). Gıdalarda Maillard reaksiyonu. *Gıda*, 27(2), 77-83.
- [4] Özcan, N., Ölmez, H. (2009). Akrilamid Analizi İçin Standart Metodların Geliştirilmesi. Tubitak Proje No: 104O212, Ankara.
- [5] Michalak, J., Gujska, E., Kunciewicz, A. (2013). RP-HPLC-DAD studies on acrylamide in cereal-based baby foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32(1), 68-73.
- [6] Friedman, M. (2005). Biological Effects of Maillard Browning Products That May Affect Acrylamide Safety in Food, Biological Effects of Maillard Products", (eds: M. Friedman and D. Mottram). *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*. California: Springer, 135-156.
- [7] Mesías, M., Holgado, F., Márquez-Ruiz, G., Morales, F.J. (2017). Impact of the characteristics of fresh potatoes available in-retail on exposure to acrylamide: Case study for French fries. *Food Control*, 73, 1407-1414.
- [8] Eriksson, S. (2005). Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Ph.D Thesis. Institutionen för Miljökemi Stockholms Universitet, Stockholm, Sweden.
- [9] Aktaş, R.K. (2008). Peksimet Ekmeklerinde HPLC-MS Yöntemi ile Akrilamid Tayini. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- [10] Sayaslan, A., Kaya, C., Yıldız, M., Oğuz, A. (2008). Kavruarak Üretilen Mısır, Buğday ve Nohut Çerezlerinin Akrilamid İçeriklerinin Belirlenmesi. T.C. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu, Tokat.
- [11] Karagöz, A. (2009). Akrilamid ve gıdalarda bulunuşu. *TAF Prev Med Bull*, 8(2), 187-192.
- [12] Hu, Q., Xu, X., Fu, Y., Li, Y. (2015). Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review. *Food Control*, 56, 135-146.
- [13] Karakul, D. (2006). Patateslerde Ön Islatma İşleminin Kızartılmış Üründe Akrilamid Oluşumuna Etkisi Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [14] Taşan, M. (2008). Tahıl kaynaklı ürünlere akrilamid varlığı. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- [15] Alpözen, E., Güven, G. (2010). Gıdalarımızdaki kanserojen: Akrilamid. *Analiz* 35, 2(5), 10-13.
- [16] Gölükcü, M., Tokgöz, H. (2005). Gıdalarda akrilamid oluşum mekanizması ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, Derim, 41-48.
- [17] Can, N.Ö. (2007). Akrilamidin Gıda Maddelerinde Oluşumuna Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi ve Miktarlarının Tayini. Doktora Tezi. Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Eskişehir.
- [18] Tuta, S. (2009). Dondurulmuş Patates Dilimlerine Uygulanan Mikroalga ile Ön-Çözdürme İşleminin Parmak Patatesin Akrilamid İçeriği ve Kalite Özellikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin.
- [19] Özkaynak, E. (2006). Çeşitli Pişirme Tekniklerinin Sigara Böreğindeki Akrilamid Oluşumu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- [20] Küçük, Z. (2009). Farklı Tahıllardan Üretilen Malt Unlarının akrilamid Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çanakkale.
- [21] Lasekan, O., Kassim, A. (2011). Investigation of the roasting conditions with minimal acrylamide generation in tropical almond (*Terminalia catappa*) nuts by response surface methodology. *Food Chemistry*, 125(2), 713-718.
- [22] Tornqvist, M. (2005). Acrylamide in Food: The Discovery and its Implications (eds: M. Friedman and D. Mottram). *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, California: Springer.
- [23] Motarjemi, Y., Stadler, R.H., Studer, A., Damiano, V. (2009). Application of The HACCP Approach For The Management of Processing Contaminants, (ed: R.H. Stadler and D.R. Lineback), *Process-Induced Food Toxicants, Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks*, New Jersey: 565-620.

- [24] Petersen, B.J., Tran, N. (2005). Exposure to Acrylamide, (eds: M. Friedman and D. Mottram). *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, California: Springer.
- [25] Boyacı, C.P., Cengiz, M.F. (2012). Gıdalarda akrilamid risk değerlendirme çalışmaları. *Gıda*, 37(5), 287-294.
- [26] Tamer, C.E., Karaman, B. (2006). Gıdalarda akrilamid oluşumu ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gıda*, 31(4), 195-199.
- [27] Mills, C., Mottram, D.S., Wedzicha, B.L. (2009). *Acrylamide. Process-Induced Food Toxicants, Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks*, John Wiley & Sons, Inc. p:23-50, Canada.
- [28] Sansano, M., Castelló, M.L., Heredia, A., Andrés, A. (2017). Acrylamide formation and quality properties of chitosan based batter formulations. *Food Hydrocolloids*, 66, 1-7.
- [29] Palazoğlu, K., Gökmen, V. (2009). Mikrodalgalı Çözdürme Önisi ile Kızartma Sırasında Parmak Patateslerde Oluşan Akrilamid Miktarının Azaltılması, TÜBİTAK Proje No: 1080003 Mersin.
- [30] Gökmen, V., Acar, J., Akbudak, B., Turan, Z.M. (2006). Kontrollü Atmosferde Depolama Ve Işınlama Uygulamalarının Patateslerde Akrilamid Oluşum Riski Üzerine Etkileri, TÜBİTAK Proje No: TOVAG 3248, Ankara.
- [31] Cheng, J., Chen, X., Zhao, S., Zhang, Y. (2015). Antioxidant-capacity-based models for the prediction of acrylamide reduction by flavonoids. *Food Chemistry*, 168, 90-99.
- [32] Naous, G.E.Z., Merhi, A., Abboud, M.I., Mroueh, M., Taleb, R.I. (2018). Carcinogenic and neurotoxic risks of acrylamide consumed through caffeinated beverages among the Lebanese population. *Chemosphere*, 208, 352-357.
- [33] Tareke, E.; Rydberg, P.; Karisson, P.; Eriksson, S.; Tömquist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998-5006.
- [34] Mesias, M., Delgado-Andrade, C., Holgado, F., Morales, F.J. (2018). Acrylamide content in French fries prepared in households: A pilot study in Spanish homes. *Food Chemistry*, 260, 44-52.
- [35] Pérez-Nevaldo, F., Cabrera-Bañegil, M., Repilado, E., Martillanes, S., Martín-Vertedor, D. (2018). Effect of different baking treatments on the acrylamide formation and phenolic compounds in Californian-style black olives. *Food Control*, 94, 22-29.
- [36] Doğan, İ.S., Meral, R. (2006). Gıdalarda akrilamid ve önemi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, Bolu.
- [37] Hsu, H.T., Chen, M.J., Tseng, T.P., Cheng, L.H., Huang, L.J., Yeh, T.S. (2016). Kinetics for the distribution of acrylamide in french fries, fried oil and vapour during frying of potatoes. *Food Chemistry*, 211, 669-678.
- [38] Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. (2006). Gıdalarda akrilamid oluşumu ve önemi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, Bolu.
- [39] Cengiz, M. F., Gündüz, C.P.B. (2013). Acrylamide exposure among Turkish toddlers from selected cereal-based baby food samples. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 514-519.
- [40] Köksel, H. (2009). Malt Üretiminde Akrilamid Oluşumunun Sınırlandırılması, TÜBİTAK Proje No: TOVAG 108 O 185, Ankara.
- [41] Anonim. (2002). Health Implications of Acrylamide in Food. Food Safety Consultations, Report of a Joint FAO/WHO Consultation WHO Headquarter, Geneva, Switzerland.
- [42] Blank, I., Robert, F., Goldmann, T., Pollien, P., Varga, N., Devaud, S., Saucy, F., Huynh-Ba T., Stadler, R.H. (2005). Mechanisms of Acrylamide Formation, Maillard induced transformation of asparagine, (eds: M. Friedman and D. Mottram), *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, California: Springer, pp. 171-190.
- [43] Gökmen, V., Şenyuva, H.Z. (2008). Acrylamide in Heated Foods, (eds: J. Gilbert and H.Z. Şenyuva), *Bioactive Compounds in Foods*, Oxford: Blackwell Publishing, 254-29.
- [44] Liu, Y., Wang, P., Chen, F., Yuan, Y., Zhu, Y., Yan, H., Hu, X. (2015). Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination. *Food Chemistry*, 186, 46-53.
- [45] Daniali, G., Jinap, S., Sanny, M., Tan, C.P. (2018). Effect of amino acids and frequency of reuse frying oils at different temperature on acrylamide formation in palm olein and soy bean oils via modeling system. *Food Chemistry*, 245, 1-6.
- [46] Amrein, T.M. (2005). Systematic Studies on Process Optimization to Minimize Acrylamide Content in Food. Ph.D. Thesis, *Swiss Federal Institute of Technology*, Zurich.
- [47] Gökmen, V. (2010). Gıdalarda Akrilamid. II", *Gıda Güvenliği Kongresi*, İstanbul, 9-10 Aralık, İstanbul.
- [48] Amrein, T.M., Bachmann, S., Noti, A., Biedennann, M., Barbosa, M.F., Biedermann-Brem, S., Grob, K., Keiser, A., Realini, P., Escher, F., Amado, R. (2003). Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5556-5560.
- [49] Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, 341, 448-449.
- [50] Zyzak, D.V., Sanders, R.A., Stojanovic, M., Tallmadge, D.H., Eberhart, B.L., Ewald, D.K., Gruber, D.C., Morsch, T.R., Strothers, M.A., Rizzi, G.P., Villagran, M.D. (2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782-4787.
- [51] Stadler, R.H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., Goldmann, T., Hau, J., Blank, I. (2004). In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5550-5558.
- [52] Mottram, D.S., Low, M.Y., Elmore, J.S. (2006). The Maillard reaction and its role in the formation of acrylamide and other potentially hazardous compounds in foods, (K. Skog and J. Alexander). *Acrylamide and Other Hazardous Compounds in Heat-Treated Foods*, Boca Raton: CRC, 3-19.
- [53] Yaylayan, V., Wnorowski, A., Locas, C. (2003). Why asparagine needs carbohydrates to generate

- acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1753-1757.
- [54] Wedzicha, B.L., Mottram, D.S., Elmore, J.S., Koutsidis, G., Dodson, A.T. (2005). Kinetic Models as a Route to Control Acrylamide Formation in Food, (M. Friedman and D. Mottram), *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, California: Springer, 235-254.
- [55] Capuano, E., Oliviero, T., Açar, Ö., Gökmen, V., Fogliano, V. (2010). Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems. *Food Research International*, 43(4), 1021-1026.
- [56] Salazar, R., Arámbula-Villa, G., Vázquez-Landaverde, P.A., Hidalgo, F.J., Zamora, R. (2012). Mitigating effect of amaranth (*Amarantus hypochondriacus*) protein on acrylamide formation in foods. *Food Chemistry*, 135(4), 2293-2298.
- [57] Friedman, M., Levin, C.E. (2008). Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6113-6140.
- [58] Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., Kolaylı, S. (2010). Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. *Akademik Gıda*, 8(6), 44-51.
- [59] Süvari, M. (2015). Farklı kavurma sıcaklıklarının bazı kuruyemişlerde akrilamid oluşumuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- [60] Zhang, Y., Fang, H., Zhang, Y. (2008). Study on formation of acrylamide in asparagine-sugar microwave heating systems using UPLC-MS/MS analytical method. *Food Chemistry*, 108(2), 542-550.
- [61] Amrein, T. M., Andres, L., Schönbachler, B., Conde-Petit, B., Escher, F., Amado, R. (2005). Acrylamide in almond products. *European Food Research and Technology*, 221, 14-18.
- [62] Shibamoto, T. (2009). *Acrolein*, (ed: R.H. Stadler and D.R. Lineback), Process-Induced Food Toxicants, Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks, New Jersey: 51-74.
- [63] Şenyuva H.Z., Gökmen V. (2007). Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction, *Food Chemistry*, 103(1), 196-203.
- [64] Ölmez, H., Tuncay, F., Özcan, N., Demirel, S. (2008). A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(7), 564-568.
- [65] Güven, G. (2010). Kumru ve Boyozda Akrilamid Düzeylerinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- [66] Alpözen, E., Üren, A. (2013). Determination of acrylamide levels of "İzmir gevregi" and effects of cooking parameters on acrylamide formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(30), 7212-7218.
- [67] Gökmen, V., Açar, Ö.Ç., Arribas-Lorenzo, G., Morales, F.J. (2008). Investigating the correlation between acrylamide content and browning ratio of model cookies. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 380-385.
- [68] Şenyuva, H.Z., Gökmen, V. (2005). Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting. *Food Additives and Contaminants*, 22(3), 214-220.
- [69] Sakin-Yilmazer, M., Kemerli, T., Isleroglu, H., Ozdestan, O., Guven, G., Uren, A., Kaymak-Ertekin, F. (2013). Baking kinetics of muffins in convection and steam assisted hybrid ovens (baking kinetics of muffin). *Journal of Food Engineering*, 119(3), 483-489.
- [70] Arusoğlu, G. (2015). Akrilamid oluşumu ve insan sağlığına etkileri. *Akademik Gıda*, 13(1), 61-71.
- [71] Thomas, M.A., Luca, A., Barbara, S., Beatrice, C.P., Felix, E., Renato, A. (2005). Acrylamide in almond products, *European Food Research and Technology*, 221(1-2), 14-18.
- [72] Lukac, H., Amrein, T.M., Perren, R., Conde-Petit, B., Amado, R., Escher, F. (2007). Influence of roasting conditions on the acrylamide content and the color of roasted almonds, *Journal of Food Science*, 72(1), 33-38.
- [73] Lasekan, O., Kassim, A. (2010). Analysis of volatile flavour compounds and acrylamide in roasted Malaysian tropical almond (*Terminalia catappa*) nuts using supercritical fluid extraction, *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2212-2216.
- [74] Amrein, T.M., Lukac, H., Andres, L., Perren, R., Escher, F., Amadò, R. (2005b). Acrylamide in roasted almonds and hazelnuts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7819-25.
- [75] Yates, L. (2012). Roasted or raw? "Nuts Conference", Australian Almond Conference.

## Nar Meyvesi (*Punica granatum* L.) ile Farklı Nar Ürünlerinin Antioksidan Özellikleri

Sema Özmert Ergin  

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Burdur

Geliş Tarihi (Received): 07.09.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 02.04.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sozmert@mehmetakif.edu.tr (S.Ö. Ergin)

☎ 0 248 213 35 00 📠 0 248 213 35 03

### ÖZ

Meyveler hücre oksidasyonunu önleyen doğal antioksidanlarca zengin gıdalardır. Mineral, vitamin, fenolik madde içeriği yüksek olan nar meyvesi (*Punica granatum* L.) de güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir meyvedir. Kanser, diyabet ve kalp-damar hastalıklarındaki artış çoğu zaman eksik ya da yanlış beslenme ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle ileri yaşlarda vücutta antioksidan üretimi yavaşladığı için, antioksidan aktivitesi yüksek gıdalar tüketerek bağışıklığın güçlendirilmesi gerekmektedir. Nar meyvesinin antioksidan aktivitesi yanında antiproliferatif, antimikrobiyel, antiviral ve antiaging gibi birçok fonksiyonu bilinmektedir. Bu çalışmada nar meyvesinin, nar çiçeğinin, nar çekirdeği ve nar çekirdeği yağının, nardan yapılan; nar suyu, nar sirkesi, nar şarabı, nar ekşisi gibi ürünlerin antioksidan özellikleri derlenerek nar meyvesinin besinsel ve ticari değeri vurgulanmıştır. Çekirdeğiyle birlikte tüketilen nar meyvesinde, kabuklu presleme yöntemiyle elde edilen nar sularında, nar suyunun konsantre şekli olan nar ekşilerinde antioksidan aktivitenin daha fazla olduğu görülmektedir. Narın fermente ürünleri olan nar sirkesi ve şarabında antioksidan aktivite azalmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Nar meyvesi (*Punica granatum* L.), Antioksidan aktivite, Nar ürünleri, Beslenme

### Antioxidant Properties of Pomegranate Fruit (*Punica granatum* L.) and Different Pomegranate Products

#### ABSTRACT

Fruits are rich sources of natural antioxidants that prevent oxidation in cells. Pomegranate fruits (*Punica granatum* L.), rich in minerals, vitamins and phenolic substances, have also high antioxidant activity. The increase in cancer, diabetes and cardiovascular diseases is often associated with insufficient or improper nutrition. Since antioxidant production in the body slows down in especially older ages, immunity should be strengthened by consuming foods with high antioxidant activity. Many functions of the pomegranate fruits such as antiproliferative, antimicrobial, antiviral and antiaging are known besides their antioxidant activity. In this study, the antioxidant properties of pomegranate fruits, flowers, seeds and seed oil as well as pomegranate products such as fruit juice, vinegar, wine and molasses are reviewed while nutritional and commercial values of pomegranate fruits are presented. Antioxidant activity is high in pomegranate arils with seeds, pomegranate juices obtained by pressing with peels, pomegranate molasses, which is a concentrate form of pomegranate juice. Antioxidant activity decreases in pomegranate vinegar and wine, which are fermented products of pomegranates.

**Keywords:** Pomegranate fruit (*Punica granatum* L.), Antioxidant activity, Pomegranate products, Nutrition

## GİRİŞ

Normal metabolik faaliyetler ya da çevre kirliliği, radyasyon gibi etmenler insan vücudunda serbest radikallerin oluşumuna yol açabilmektedir. Serbest radikaller denilen moleküller diğer moleküllerle tepkimeye girerek, vücut hücrelerinde DNA'ya, lipitlere, proteinlere zarar vermektedirler [1]. Serbest radikallerin oluşturduğu oksidasyon reaksiyonlarını durduran ya da yavaşlatan bileşikler, antioksidanlardır [2, 3]. Antioksidanlar vücut tarafından sentezlendiği gibi (endojen), doğal besinlerin tüketimiyle de (ekzojen) alınabilirler. Yalnız ileri yaşlarda vücutta antioksidan üretimi yavaşlamaktadır. Bu yüzden; antioksidan içeriği yüksek besinlerin tüketimi büyük önem taşımaktadır [4]. Vücutta antioksidan miktarının azalması ciltte kırışıklık, hızlı yaşlanma, diyabet, kanser, Alzheimer, Parkinson ve kalp-damar hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir [5].

Günümüzde biyoyararlılığı fazla, iyileştirici, hastalıklara karşı koruyucu fonksiyonları yüksek olan gıdalarla ilgili çalışmalar sürekli artmaktadır. Meyve ve sebzeler bitkisel antioksidan kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Çilekçiller, kirazçiller, turunççiller, zeytin, kivi, elma gibi meyvelerle; ıspanak, domates, kırmızı biber, soğan, sarımsak gibi sebzeler antioksidan içeriği yüksek besinlerden bazılarıdır [6, 7, 8].

Nar meyvesi de antioksidan kapasitesi yüksek besinlerden biridir. Nar meyvesinde fenolik maddeler, vitamin, mineral, organik asitler, antosiyaninler gibi insan sağlığını olumlu yönde etkileyen birçok bileşen bulunmaktadır [9, 10]. Bu özellikleri ile nar meyvesi; kanser, kalp-damar hastalıkları, diyabet gibi yaygınlaşan birçok hastalıktan korunmada etkilidir [11]. Ayrıca bakteriyel/fungal/parazitik enfeksiyonlarda, periodontal hastalıklarda, gıda zehirlenmelerinde, ülser, diyare, dizanteri, hemoroid tedavisinde yararlı olmaktadır [12, 13].

Nar; *Punicaceae* familyasına ait, *Punica granatum* Linnaeus türünde olan ılıman iklimde yetişmeye uygun bir meyvedir. İran başta olmak üzere Asya, Kuzey Afrika, Akdeniz ve Orta Doğu ülkelerinin büyük bir bölümünde nar yaygın olarak yetiştirilmektedir [14]. Dünya nar üretimi yaklaşık 2 milyon ton civarındadır. Önemli nar üretici ve ihracatçıları Hindistan, İran, Çin, Türkiye, ABD, İspanya, Güney Afrika, Peru, Şili ve Arjantin'dir [15]. Türkiye, dünya nar ihracatında öne çıkan ülkeler arasındadır. Türkiye'de en çok Akdeniz bölgesinde (Mersin, Adana, Antalya, Hatay) yetiştirilen narın, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde de üretimi yapılmaktadır. Yaygın olarak yetiştirilen, ihracatı yapılan ve dünyada tanınır duruma gelen nar çeşitlerinden bazıları Hicaznar (Hicaz narı), Fellahyemez, Ekşilik, Ernar, Katırbaşılı, Ekşi Gökmar, Lefan, Erdemli Aşınar, Silifke Aşısı ve Dişli Nar (Zivzik narı)'dır [16, 17].

Nar taze meyve olarak tüketildiği gibi, nardan yapılan ürünlerin tüketimi de yaygındır. Nar suyu, nar suyu konsantresi, nar sirkesi, nar şarabı, nar ekşisi nardan yapılan ürünlerden bazılarıdır; ayrıca nar çiçeği, nar

çekirdeği ve nar çekirdeği yağı da terapötik etkileriyle bilinen nar yan ürünleridir. Nar suyu, nar meyvesinin preslenmesiyle elde edilen bir içecektir. Nar sirkesi ve nar şarabı, narın fermente ürünleridir. Nar ekşisi, nar suyunun koyulaştırılmasıyla elde edilen ekşi sostur ve tatlandırıcı olarak yemeklerde, salatalarda kullanılmaktadır. Nar çiçekleri kurutulduktan sonra demlenerek içilebilmektedir. Nar daneleri kurutulmuş çekirdek, çekirdeklerin preslenmesiyle de çekirdek yağı elde edilmektedir [18, 19, 20].

Son yıllarda narın kabuk, çekirdek, çiçek gibi bölümlerinin kozmetik ve gıda endüstrisinde kullanımı yaygınlaşmıştır ve narın farklı bölümlerinin antioksidan özellikleri konusunda çalışmalar ilgi görmektedir. Bu derlemede nar meyvesinin, narın farklı bölümlerinin ve nardan yapılan ürünlerin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Alternatif tüketim şekilleri ile nar meyvesi, diyetle daha fazla yer alması gereken bir üründür.

## NAR VE NAR ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSIDAN ETKİLERİ

Antioksidan aktivite, narın besin değerini ve tadını etkileyen önemli bir faktördür [21]. Nar meyvesi, nar ürünleri ve nar yan ürünleri farklı içeriklere sahip olmalarından dolayı farklı antioksidan özellik göstermektedirler. Tablo 1'de farklı antioksidan kapasite ölçüm yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalardan bazı örnekler verilmiştir. Gıdalarda antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden ABTS/TEAC (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)/Troloks eşdeğer antioksidan aktivite), DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil serbest radikal yakalama yöntemi) ve FRAP (demir(III) indirgeyici antioksidan kapasite) yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir [20].

### Nar Meyvesi

Nar meyvesi anatomik olarak kabuk, nar daneleri ve çekirdeklerinden oluşur. Yenilebilen kısmının (yaklaşık %50), %80'ini nar daneleri (çekirdeksiz), %20'sini ise çekirdekler oluşturmaktadır. Nar danelerinin çekirdeksiz kısmında yaklaşık %85 oranında su, %10 oranında şeker, %1.5 oranında pektin, askorbik asit ve polifenolik flavonoidler bulunmaktadır [34, 35].

Nar antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiproliferatif etkileriyle üretimi ve tüketimi sürekli artan bir meyvedir [23, 36]. Narın antioksidan aktivitesine yönelik çalışmalar incelendiğinde, narın antioksidan kapasitesinin birçok meyveye göre daha fazla olduğu görülmektedir. Karadeniz ve ark. [8] elma, ayva, üzüm, armut ve nar örneklerinin antioksidan aktivitelerini incelemişler ve en yüksek antioksidan aktivitenin nar meyvesinde (%62.7) olduğunu ortaya koymuşlardır. Diğer meyvelerin antioksidan aktiviteleri ise; ayva %60.4, üzüm %26.6, elma %25.7 ve armut %13.7 şeklinde bulunmuştur. Benzer olarak; Çin'de 62 çeşit meyve ile yapılan çalışmada nar, antioksidan aktivitesi en yüksek yedi meyvenin (Chinese date (hünnap), nar, guava, sweetsop, hurma, Chinese wampee, erik) içerisinde yer almıştır [22]. Bununla birlikte; narın nasıl tüketildiği de antioksidan aktivite



üzerine etkili bir faktördür. Örneğin; Tzulker ve ark. [37], narın meyve olarak tüketilmesinin meyve suyu olarak tüketilmesine oranla 20 kat daha yüksek antioksidan

etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Bunda narın çekirdeği ile birlikte tüketilmesinin etkisi olduğu düşünülmektedir.

Tablo 1. Nar meyvesi ve nar ürünlerinin antioksidan kapasiteleri

Ürün	ABTS/TEAC*	Yöntem DPPH*	FRAP*	Kaynak
Nar meyvesi	40.61±0.11 µmol TE/g			[22]
Nar meyvesi	267.3-381.2 mg/100g			[23]
Nar meyvesi		8.98-15.47 µmol TE/g	4.86-7.67 µmol TE/g	[24]
Nar suyu	221.2-418.3 mg/100mL			[25]
Nar suyu		11.91-22.50 mmol TE/L		[26]
Nar suyu	6.45-14.67 mmol TE/L			[27]
Nar suyu	525-3760 mg/L			[28]
Nar suyu			6.36-8.65 mmol TE/L	
Nar çekirdeği			5.38-10.04 mmol TE/100g	[29]
Nar çekirdeği	3.53 mmol TE/100g	2.90 mmol TE/100g	0.94 µmol TE/g	[30]
Nar suyu		11.4 mmol TE/L		
Nar sirkesi		5.0 mmol TE/L		[31]
Nar şarabı		8.3 mmol TE/L		
Nar sirkesi		9.78 mmol TE/L		[32]
Nar ekşisi		54.8 µmol TE/g		[33]

\*ABTS/TEAC: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) / Troloks eşdeğer antioksidan aktivite; DPPH: 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil; FRAP: Fe(III) indirgeyici antioksidan kapasite

Narın duyuşsal ve kimyasal özellikleri yetiştiği bölgeye göre de değişiklik gösterebilmektedir. İnan'da 20 nar çeşidiyle yapılan çalışmada narların antioksidan aktivitelerinin %15.59 ile %40.72 arasında değiştiği görülmüştür [19]. Türkiye nar yetiştiriciliğinde önde olan ülkelerden biridir. Karaaslan ve ark. [23] Türkiye'de yetişen dört farklı nar türüyle yaptıkları çalışmada Hatay narının antioksidan aktivitesinin diğerlerine göre (Hicaz, Adana, Antalya) daha fazla olduğunu bulmuşlardır. (Hatay narı 381.2±4.2 mg TE/100 g (en yüksek), Antalya narı 267.3±5.8 mg TE/100 g (en düşük) TE: Troloks eşdeğeri) (Tablo 1). Bir çalışmada, Türkiye'nin Güneydoğu ve Doğu Anadolu yörelerinde yetiştirilen bazı nar çeşitlerinin antioksidan aktivitelerinin de yüksek olduğu ve %86-88 arasında değiştiği ortaya çıkarılmıştır [38].

### Nar Suyu

Nar suyu, normal olarak nar meyvesinin danelenerek ya da kesildikten sonra preslenmesi ile elde edilir. Endüstriyel üretimde ise preslenen narlar santrifüjlenir, böylece nar suyundaki katı parçacıklar çöktürülür. Enzim-jelatin ilavesi ile durultma sağlanır. Bu işlemden sonra filtre edilen berrak nar suları ısıl işlemlerle pastörize edilirler [39]. Nar suyu; nar meyvesine göre tüketimi kolay, sağlığa yararlı fenolik bileşikleri, antosiyaninleri, organik asitleri, vitamin ve mineralleri içeren antioksidan özelliğe sahip bir gıdadır. Nar suyunun bileşimi, üretiminde kullanılan nar meyvesinin türüne, yetiştiği bölgeye, iklim şartlarına; nar suyunun işleme koşullarına göre değişebilmektedir [40]. Nar suyunun genel bileşimine göre pH düzeyi 3.18±0.00, kuru madde miktarı 135.4±1.41 g/L, toplam asitliği 19.46±2.12 g/L, toplam şeker miktarı 125.74±2.83 g/L'dir [41]. Nar suyu tüketiminin prostat kanseri ve kolon kanserini önleyici, kardiyovasküler hastalıklara, yüksek

kolesterole, diyabete karşı koruyucu olduğu bilinmektedir [10].

Yapılan birçok çalışmada nar suyunun fenolik içeriğinin ve buna bağlı olarak antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Gil ve ark. [18], nar suyunun antioksidan aktivitesinin kırmızı şarap ve yeşil çaydan üç kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Seeram ve ark. [42] ise; elma suyu, portakal suyu, soğuk çay, yabamersini suyu gibi birçok meyve suyu arasından, nar suyunun antioksidan potansiyelinin en yüksek olduğunu ve bu oranın diğerlerinden en az %20 daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Nar suyunun antioksidan aktivitesinde içeriğindeki antosiyanin, tanen gibi polifenolik bileşikler, organik asitler, yağ asitleri, aminoasitler etkili olmaktadır. Nar meyvesi, antioksidan aktivitenin %92'sini oluşturan antosiyanin ve hidrolize edilebilir tanen polifenoller bakımından zengindir. Nar suyundaki çözünebilir polifenol içeriği ise türe göre %0.2-1.0 arasında değişmektedir [18, 43, 44]. Antosiyaninler, kırmızı/mor renkli meyve ve sebzelerde renk verici maddelerdir. Bu bileşiklerin doğal kaynaklarla, özellikle kırmızı renkli meyve/sebzelerin tüketimiyle vücuda alınması sağlıklı yaşam için büyük önem taşımaktadır [23]. Nar sularında tespit edilen antosiyaninlerden bazıları siyanidin-3-O-glukozit, siyanidin-3,5-di-O-glukozit, delfinidin-3-O-glukozit, delfinidin-3,5-di-O-glukozit, pelargonidin-3-O-glukozit ve pelargonidin-3,5-di-O-glukozittir [45]. Nar kabuğu hidrolize edilebilir tanenler bakımından zengindir ve kabuklu preslenen narlardan elde edilen nar sularındaki buruk tat tanenlerden kaynaklanmaktadır. Kabuklu preslemeyle elde edilen nar sularında antioksidan aktivite daha yüksektir. Nar suyunun kabuklu presleme yöntemiyle elde edildiği bir çalışmada punikalajin, punikalın, pedunkulajin tanenleri tespit edilmiştir [46]. Organik asitler, 'sinerjik antioksidan' fonksiyonlarıyla antioksidan etkiyi artıran bileşiklerdir. Nar sularında

sitrik, malik, tartarik, süksinik, fumarik, askorbik asit gibi organik asitler [36, 47]; linoleik asit, linolenik asit, punisik asit, eleostearik asit yağ asitleri ve prolin, valin, metionin gibi aminoasitler bulunmaktadır [45, 48].

Aviram ve ark. [35] nar suyu tüketiminin insanlarda lipoprotein oksidasyonunu engelleyerek LDL kolesterolü düşürdüğünü, trombosit aktivasyonunu azaltarak ateroskleroza engellediğini bildirmişlerdir. Nar suyunun bu olumlu etkilerinin, antioksidan kapasitesinin yüksek olmasından ve içerdiği polifenolik bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Mousavinejad ve ark. [49] sekiz farklı İran narından elde edilen nar sularının antioksidan aktivitelerinin %18.6-42.8 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Çam ve ark. [25], Zivzik narından (Siirt) ve İzmir'de farklı nar çeşitlerinden üretilmiş nar sularının antioksidan aktivitelerinin %73.02-91.8 arasında değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Nar sularının, ABTS/TEAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri 221.2-418.3 mg/100mL arasında bulunmuştur (Tablo 1).

### Nar Çekirdeği ve Nar Çekirdeği Yağı

Nar meyvesinin yaklaşık %10'unu çekirdekler oluşturmaktadır. Nar çekirdeği lipid yönünden zengindir ve çekirdek ağırlığının %12-20'sini çekirdek yağı oluşturur. Çekirdek yağında linolenik asit, linoleik asit gibi çoklu doymamış yağ asitleri ve oleik asit, stearik asit, palmitik asit gibi yağ asitleri bulunur. Ayrıca nar çekirdeğinde protein, vitamin, mineral, polifenoller ve şeker bulunmaktadır [34, 50].

Ticari nar çekirdeği, nar danelerinin güneşte ya da ısı altında kurutulmasıyla elde edilmektedir. Çekirdek yağı ise çekirdeklerin soğuk preslenmesi yöntemiyle çıkarılmaktadır [51]. Nar çekirdeği yağı dahili ya da harici olarak kullanılabilir. Cilt sağlığı ve saç bakımında, bağıışıklığın güçlenmesinde etkilidir, ayrıca nar çekirdeği yağının antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bulunmaktadır. Nar çekirdeği, çekirdek yağında bulunan asitler sayesinde lipid peroksidasyonunu engellemekte, kanser hücresi ve tümör oluşumunu önlemektedir [52]. Nar çekirdeğinin antikanser ve antiinflamatuvar etkisinden sorumlu bileşenlerden bazıları tokoferol, ursolik asit, steroller (daukosterol, kampesterol, stigmasterol, beta-sitosterol), hidroksibenzoik asitler (gallik, elajik asit), hidroksisinnamik asitlerdir [45]. Diyabetik ratlarla yapılan bir çalışmada nar çekirdeği tüketiminin ratlarda kan glikoz düzeyinin düşmesini sağladığı görülmüştür. Çalışmada, bu olumlu etkinin nar çekirdeğinde bulunan steroid ve flavonoidlerden kaynaklandığı belirtilmektedir [53]. Kohno ve ark. [54], diyetle alınan nar çekirdeği yağının, içeriğindeki linolenik asitler sayesinde ratlarda kolonik adenokarsinomların gelişimini büyük ölçüde engellediğini tespit etmişlerdir.

Narın farklı bölümlerinde fenolik madde, tanen, antosiyanin, flavonoid miktarları değişiklik göstermektedir ve bu bileşenler antioksidan aktivite üzerinde etkili olmaktadır. Orak ve ark. [55] Türkiye'de yetişen Hicaznar çeşidi narların kabuk, nar suyu ve çekirdeğinin antioksidan özelliklerini içeriklerinde

bulunan maddelerle kıyaslayarak incelemişlerdir. Buna göre nar kabuğunda fenolik madde miktarı en fazladır, çekirdekteki fenolik madde miktarı ise nar suyundakinden 2.1 kat daha fazla olarak bulunmuştur. Tanen ve flavonoid miktarları benzer olarak kabuk>çekirdek>nar suyu şeklindedir, antosiyanin miktarı ise en fazla nar suyundadır. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan nar kabuğu, en düşük olan ise nar suyudur. Surveswaran ve ark. [30] da yaptıkları çalışmada nar kabuğunun antioksidan kapasitesinin (316.29 mmol TE/100 g), nar çekirdeğine göre (3.53 mmol TE/100 g) oldukça fazla olduğunu belirtmişlerdir. Nar çekirdeği ve nar çekirdeği yağı, yağ asitlerinin beslenme açısından öneminin büyük olması bakımından tüketimi ve kullanımı yaygınlaşması gereken nar ürünleri arasındadır.

### Nar Sirkesi ve Nar Şarabı

Sirke ve şarap, şeker içeren bazı meyve ve sebzelerden farklı fermentasyon işlemleriyle üretilen fermente ürünlerdir. Elma, üzüm, nar, vişne bunlardan bazılarıdır. TSE (2003)'ye göre sirke; 'tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit fermentasyonu, biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün' olarak tanımlanmıştır [56]. Alkol fermentasyonu ile şarap, asetik asit fermentasyonu ile sirke oluşmaktadır. Alkol fermentasyonunda, kullanılacak meyvenin suyundaki fermente olabilen şekerler genellikle *Saccharomyces* türü mayalarla etanol ve karbondioksit dönüştürülür. Bu aşamada anaerobik şartlarda şarap oluşmaktadır. İkinci aşama olarak aerobik şartlarda asetik asit bakterileri tarafından asidik fermentasyon gerçekleşmektedir. Geleneksel sirke yapımında da etil alkol oluşmuş meyve suyuna maya olarak bir miktar sirke eklenir ve uzun bir süre fermente olması beklenir [57, 58].

Nar şarabı alkollü içecek olarak tüketilirken; nar sirkesi turşu yapımında, salata ve yemeklerde tatlandırıcı olarak kullanılır. Nar sirkesi ve şarabı içerisindeki polifenoller, organik asitler, minerallerle antioksidan gıdalar arasındadır. Özellikle sirkenin antibakteriyel, antihipertansif, antitümör, kan şekerini dengeleyici gibi birçok teröpatik özellikleri bulunmaktadır [48, 59].

Nar sirkesi, dut sirkesi, yaban mersini sirkelerinin antioksidan aktivitelerinin kıyaslandığı bir çalışmada, en iyi antioksidan aktivitenin nar sirkesinde olduğu belirlenmiştir [60]. Öztürk ve ark. [57] elma, üzüm, limon, vişne, nar ile yapılan geleneksel ve endüstriyel sirkelerin bazı kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda, geleneksel ev yapımı sirkelerin antimikrobiyal aktivitelerinin endüstriyel sirkelerden daha düşük olduğu belirlenmiş ve antioksidan aktivitesi en yüksek sirke endüstriyel nar sirkesi (%90.36); en düşük ise ev yapımı elma sirkesi (%0.53) olarak bulunmuştur. Üzüm şarabı ile nar şarabının kıyaslandığı bir çalışmada; nar şarabının antioksidan kapasitesinin (383.19±18.22 mg gallik asit eşdeğeri/100 mL), üzüm şarabının antioksidan kapasitesinden (296.57±25.23 mg gallik asit eşdeğeri/100 mL) daha fazla olduğu belirtilmektedir [61].

Nar suyunun fermente edilmesiyle elde edilen nar sirkesi ve nar şarabında bazı biyoaktif maddeler azalırken, bazıları artmaktadır. Buna bağlı olarak antioksidan aktivitede değişiklikler meydana gelmektedir [20]. Yapılan çalışmalarda nar suyunun fermentasyonu sonucunda toplam fenolik madde, antosiyanin, glukoz, fruktoz, malik asit, punikalajin (tanen), elajik asit miktarlarının azaldığı; gallik asit miktarının ise arttığı gösterilmektedir. Özellikle antosiyanin ve tanen miktarının azalması antioksidan aktivitede azalmalara neden olmaktadır [62, 63]. Ordoudi ve ark. [31] nar suyu, nar suyundan elde edilen sirke ve şarabın antioksidan aktivitesini incelemişler ve narın fermente ürünlerinde antioksidan aktivitenin azaldığını görmüşlerdir. Bu ürünlerin antioksidan kapasitelerini sırasıyla 11.4, 5.0 ve 8.3 mmol Troloks eşdeğeri/L olarak bulmuşlardır (Tablo 1). Benzer olarak Çin'de yetiştirilen üç tür nar meyvesinin suyundan elde edilen şaraplarda toplam antosiyanin, antioksidan ve fenolik madde miktarının nar suyuna göre azaldığı görülmüştür [63]. Bir çalışmada da iki tür nardan elde edilen nar şaraplarında fenolik madde miktarının birinde %7, diğerinde %30 oranında azaldığı bildirilmiştir [62]. Aynı çalışmada antosiyanin miktarları %46 ve %61 oranında azalış gösterirken; nar şarabındaki en önemli antioksidan olduğu düşünülen gallik asit konsantrasyonu artmıştır. Gallik asit antioksidan etkisi en yüksek fenolik bileşikler arasında yer almaktadır. Fenolik bileşiklerin kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir [64]. Narın fermente ürünleri olan nar sirkesi ve nar şarabında antioksidan aktivitede azalmalar olsa da, besin değeri kaybolmamaktadır. Ayrıca diğer meyve sirke/şaraplarına göre daha güçlü antioksidan özellik göstermektedir.

### Nar Ekşisi

Nar ekşisi geleneksel yöntemle ya da ticari olarak üretilebilen, bazı yemeklerde ve salatalarda tatlandırıcı sos olarak kullanılan nar ürünlerinden biridir. TSE (2001)'e göre nar ekşisi; 'nar meyvesinin preslenmesi, elde edilen nar suyunun durultulması ve tekniğine uygun olarak açıkta veya vakum altında koyulaştırılması ile elde edilen ve gıdalara çeşni vermek amacı ile üretilen ekşi bir gıda maddesidir' şeklinde tanımlanmaktadır [65]. Nar ekşisinin geleneksel üretimdeki aşamaları ise; narı yıkama, parçalama, presleme, nar suyunun kaynatılması, soğutma, süzme ve şişeleme şeklindedir. Nar ekşisi glukoz, sakkaroz gibi şekerleri; koruyucu, renklendirici, kıvam artırıcı gibi katkı maddelerini içermemelidir [12].

Nar ekşisi, aroması, yüksek besin değeri, sağlığa yararlı etkileriyle tüketimi ve üretimi gitgide artan ürünlerden biridir. Güçlü antioksidan etkisiyle bazı hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde faydalı olduğu bilinmektedir. Kardiyovasküler hastalıklarda, diyabette, tümör oluşumunda önleyici fonksiyonu bulunmaktadır, ayrıca güçlü antimikrobiyel etki göstermektedir [66]. Nar ekşisi, içerdiği fenolik bileşikler (özellikle elajitanenler) sayesinde antibakteriyel ve antioksidan etkisi yüksek olan bir nar ürünüdür [67].

Orak [68], nar suyu ile geleneksel yöntemle yapılan nar ekşisinin antioksidan düzeylerini karşılaştırmış ve nar ekşisinin antioksidan aktivitesinin (%85.91), nar suyundan (%79.06) daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Çalışmada, nar suyundan nar ekşisi yapımında glukoz ve fruktoz düzeyinin azaldığı; potasyum ve magnezyum oranlarının arttığı görülmüştür. Bu süreçte fenolik içeriğin artması antioksidan aktivitenin artmasını sağlamaktadır. Toplam fenolik madde miktarı nar suyunda 3246, nar ekşisinde 9870 µg gallik asit eşdeğeri/mL olarak bulunmuştur. Yalnız toplam antosiyanin miktarı nar suyunda 492.9 mg/L iken, nar ekşisinde antosiyanin tespit edilmemiştir. Geleneksel nar ekşisi yapımında ısı işlem uygulamasının yüksek sıcaklıkta ve uzun süreli olması antosiyanin pigmentlerinin yok olmasına neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada da olduğu gibi, konsantrasyon bir ürün olan nar ekşisinde mineral oranı nar meyvesine göre daha fazla olmaktadır. Fadavi ve ark. [48] inceledikleri nar ekşisi numunelerinde potasyum, kalsiyum, magnezyum, çinko gibi yararlı minerallerin miktarında artış olduğunu belirtmişlerdir. İncedayı ve ark. [69] piyasadan satın aldıkları 7 farklı nar ekşisi numunesinin antioksidan aktivitelerinin %0-46.31 arasında olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada, ticari üretimde taşıyıcıların olmadığı ve bazı ürünlerin standartlara uygun olmadıkları tespit edilmiştir. Geleneksel üretimde yapım ve şişelemedeki yanlış uygulamalar ve hijyen eksiklikleri; ticari üretimde ise katkı maddeleri, glukoz/fruktoz şurubu, antioksidan ilavesi gibi olumsuzluklar bu ürünün teminindeki sınırlayıcı faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Doğru üretim tekniği uygulandığı takdirde, nar ekşisi insan sağlığına oldukça faydalı, besin değeri yüksek bir üründür. Fenolik içerik bakımından zengin olması da ürünün antioksidan aktivitesini artırmaktadır. Bu yönleriyle nar ekşisi diyetinde daha çok yer alması gereken bir üründür.

### Nar Çiçeği

Nar çiçeği, nar meyvesinin çiçeklerinin toplanıp kurutulduktan sonra çay şeklinde demlenerek sıcak ya da soğuk olarak tüketilebildiği bir nar ürünüdür. Nar çiçeği Ayurveda, Unani, Çin tıbbında tıropatik etkileriyle eskiden beri kullanılmaktadır. Yapısındaki polifenoller, antosiyaninler ve organik asitlerle nar çiçeği güçlü antioksidan etkiye sahiptir. Miguel ve ark. [43] nar çiçeğinde pelargonidin-3,5-di-O-glukozit antosiyaninini tespit etmişlerdir. Fu ve ark. [22] ise nar çiçeğinde pelargonidin-3,5-di-O-glukozit ile birlikte pelargonidin-3-O-glukozit antosiyaninlerinin bulunduğunu ve bu iki tür antosiyaninin antioksidan aktivitelerinin güçlü olduğunu belirtmişlerdir. Nar çiçeğinde, narın fermente ürünlerinde olduğu gibi gallik asit bulunmaktadır [45]. Bunların dışında elajik asit ve oleanolik, ursolik, maslinik, asiatic triterpen asitleri antikanser ve antioksidan etki gösteren diğer bileşiklerdir [70].

Zhang ve ark. [71] yaptıkları çalışmayla nar çiçeği ekstraktının serbest radikallere, DNA'daki oksidatif hasarlara karşı etkili olduğunu belirtmişlerdir. Kaur ve arkadaşlarının [72] nar çiçeğinin antioksidan özelliğini araştırdıkları bir çalışmada da nar çiçeğinin farelerde akut oksidatif doku hasarlarını önleyici etkisi olduğu

ortaya çıkarılmıştır. Ratlarda yapılan çalışmalarda nar çiçeğinin karaciğer yağlanması, Tip-2 diyabet ve obeziteye karşı etkili olduğu; LDL-kolesterolü, trigliserid ve kan glikoz düzeyini önemli ölçüde düşürdüğü gösterilmiştir [73-75]. Nar çiçeği çayı çok fazla tüketilmeyen bir nar ürünüdür. Hastalıklara karşı koruyucu, önleyici etkisi daha çok yapısındaki fenolik maddelerden kaynaklanmaktadır. Nar çiçeğinin besin değeri ve antioksidan etkileriyle ilgili çalışmaların artması yararlı olacaktır.

## SONUÇ

Nar meyvesi doğal antioksidan, besin değeri yüksek bir gıdadır. Kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet gibi hastalıklarda narın yararlı etkileri uzun zamandır bilinmektedir. Son yıllarda nar meyvesinin özellikle fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesine olan ilgi artmıştır. Bu çalışmada nar meyvesi, narın bazı kısımları ve nardan yapılan ürünlerin içerdikleri biyoaktif bileşikler ve bu bileşiklerin antioksidan aktiviteye etkileri incelenmiştir. Narın farklı bölümleri ve nar ürünleri içerik bakımından farklılık göstermektedir. Nar meyvesinde yenilebilir kısımlar nar daneleri ve çekirdekleridir. Nar çekirdeği yağ asitleri, steroidler, organik asitlerce zengindir ve nar meyvesinin çekirdeğiyle birlikte tüketilmesi önerilmektedir. Nar suyunun antioksidan aktivitesi kabuklu/kabuksuz presleme yöntemine göre değişmektedir. Nar kabuğunda bulunan tanenler, kabuklu preslemeyle elde edilen nar sularına geçmektedir ve nar suyunun antioksidan aktivitesini artırmaktadır. Ayrıca antosiyaninler ve organik asitler nar suyunun besin değerini artıran diğer bileşiklerdir. Narın fermente ürünleri olan nar sirkesi ve nar şarabında antioksidan madde miktarının nar suyuna göre azaldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak bu ürünlerde miktarı artan gallik asit fenolik bileşiği antioksidan aktiviteyi olumlu etkilemektedir. Nar ekşisi ise nar suyunun koyulaştırılmış şeklidir. Nar ekşisinde fenolik madde, mineral madde miktarı arttığı için antioksidan kapasitesi nar suyuna göre daha yüksek olmaktadır. Nar çiçeği de güçlü antioksidan etkiye sahip antosiyaninleri, organik asitleri içeren bir nar ürünüdür.

Gerek nar meyvesi, gerek nardan yapılan ürünler insan sağlığını iyileştirici ve koruyucu etkileriyle tüketilmesi önerilen gıdalar arasındadır. Nar meyvesinin beslenme ve sağlık açısından önemi göz önünde tutularak; nar ekimi ve üretimi yaygınlaştırılmalı, nar meyvesi ve nar ürünlerinin tüketiminin artması sağlanmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım*, 3(5), 226-234.
- [2] Elliot, J.G. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53, 46-48.
- [3] Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(2), 143-153.

- [4] Prior, R.L. (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 570-578.
- [5] Moure, A., Cruz J.M., Franco, J.D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 172, 145-171.
- [6] Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2), 56-60.
- [7] Kaur, C., Kapoor, H.C. (2002). Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 153-161.
- [8] Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Koca, N., Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture & Forestry*, 29, 297-303.
- [9] Shirode, A.B., Kovvuru, P., Chittur, S.V., Henning, S.M., Heber, D., Reliene, R. (2014). Antiproliferative effects of pomegranate extract in MCF-7 breast cancer cells are associated with reduced DNA repair gene expression and induction of double strand breaks. *Molecular Carcinogenesis*, 53, 458-470.
- [10] Viuda-Martos, M., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 635-654.
- [11] Mphahlele, R.R., Fawole, O.A., Mokwena, L.M., Opara, U.L. (2016). Effect of extraction method on chemical, volatile composition and antioxidant properties of pomegranate juice. *South African Journal of Botany*, 103, 135-144.
- [12] Karabıyıklı, Ş., Kışla, D. (2012). Inhibitory effect of sour pomegranate sauces on some green vegetables and kısır. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 211-216.
- [13] Lee, C.J., Chen, L.G., Liang, W.L., Wang, C.C. (2010). Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry*, 118, 315-322.
- [14] Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., Ebadi, A. (2006). RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Scientia Horticulturae*, 111, 24-29.
- [15] World Pomegranate Market Supply, Demand and Forecast, (2015). <http://www.prospectiva2020.com/sites/default/files/rreport/files/re-pomegranate-feb2015.pdf>.
- [16] Yıldız Turgut, D., Seydim, A.C. (2013). Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen bazı Nar (*Punica granatum* L.) çeşit ve genotiplerinin organik asit ve şeker kompozisyonu. *Akademik Ziraat Dergisi*, 2(1), 35-42.
- [17] Kurt, H., Şahin, G. (2013). Bir ziraat coğrafyası çalışması: Türkiye'de (*Punica granatum* L.) nar tarımı. *Marmara Coğrafya Dergisi*, 27, 551-574.
- [18] Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship

- with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- [19] Tehranifar, A., Zarei, M., Nematı, Z., Esfandiari, B., Vazifeshenas, M.R. (2010). Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 126, 180-185.
- [20] Kalaycıoğlu, Z., Erim, F.B. (2017). Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food Chemistry*, 221, 496-507.
- [21] Akhtar, S., Ismail, T., Fraternalı, D., Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: chemistry and food features. *Food Chemistry*, 174, 417-425.
- [22] Fu, L., Xu, B.T., Xu, X.R., Gan, R.Y., Zhang, Y., Xia, E.Q., Li, H.B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129, 345-350.
- [23] Karaaslan, M., Vardin, H., Varlıklıöz, S., Yılmaz, F.M. (2014). Antiproliferative and antioxidant activities of Turkish pomegranate (*Punica granatum* L.) accessions. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 82-90.
- [24] Kaur, C., Pal, R.K., Kar, A., Gadı, C., Sen, S., Kumar, P., Chandra, R., Jaiswal, S., Khan, I. (2014). Characterization of antioxidants and hypoglycemic potential of pomegranate grown in India: a preliminary investigation. *Journal of Food Biochemistry*, 38, 397-406.
- [25] Çam, M., Hışıl, Y., Durmaz, G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112, 721-726.
- [26] Zaouay, F., Mena, P., Garcia-Viguera, C., Mars, M. (2012). Antioxidant activity and physicochemical properties of Tunisian grown pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Industrial Crops and Products*, 40, 81-89.
- [27] Gündoğdu, M., Yılmaz, H. (2012). Organic acid, phenolic profile and antioxidant capacities of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars and selected genotypes. *Scientia Horticulturae*, 143, 38-42.
- [28] El Kar, C., Ferchichi, A., Attia, F., Bouajila, J. (2011). Pomegranate (*Punica granatum*) juices: Chemical composition, micronutrient cations and antioxidant capacity. *Journal of Food Science*, 76, 795-800.
- [29] Elfalleh, W., Tlili, N., Nasri, N., Yahia, Y., Hannachi, H., Chaira, N., Ferchichi, A. (2011). Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum*) fruits. *Journal of Food Science*, 76, 707-713.
- [30] Surveswaran, S., Cai, Y.Z., Corke, H., Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102, 938-953.
- [31] Ordoudi, S.A., Mantzouridou, F., Daftsiou, E., Malo, C., Hatzidimitriou, E., Nenadis, N., Tsimidou, M.Z. (2014). Pomegranate juice functional constituents after alcoholic and acetic acid fermentation. *Journal of Functional Foods*, 8, 161-168.
- [32] Selli, S. (2017). Phenolic compounds in pomegranate vinegars. *The Online Journal of Science and Technology*, 7(4), 162-167.
- [33] Öztan, T. (2006). Mor havuç, konsantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi tayini ve fenolik madde profilinin belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 93 s.
- [34] El-Nemr, S.E., Ismail, I.A., Ragab, M. (2006). Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. *Die Nahrung*, 34(7), 601-606.
- [35] Aviram, M., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D., Fuhrman, B. (2000). Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1062-1076.
- [36] Legua, P., Forner-Giner, M.A., Nuncio-Jauregui, N., Hernandez, F. (2016). Polyphenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity of nineteen pomegranate fruits: A rich source of bioactive compounds. *Journal of Functional Foods*, 23, 628-636.
- [37] Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M., Amir, R. (2007). Antioxidant activity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9559-9570.
- [38] Karaaslan, M., İzol, G. (2014). Physicochemical properties of Zivzik and Gorumlu pomegranates. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 18(1), 1-14.
- [39] Demirdöven, A., Baysal, T. (2008). Nar suyu üretiminde kabuklu ve kabuksuz presleme ile mikrodalga uygulamasının bazı kalite özellikleri üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 6(2), 7-12.
- [40] Ekşi, A., Özhamamcı, İ. (2009). Chemical composition and guide values of pomegranate juice. *Gıda*, 34(5), 265-270.
- [41] Kelebek, H., Canbaş, A. (2010). Hicaz narı şırasının organik asit şeker ve fenol bileşikleri içeriği ve antioksidan kapasitesi. *Gıda*, 35(6), 439-444.
- [42] Seeram, N.P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S.M., Feng, L., Dreher, M., Heber, D. (2008). Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1415-1422.
- [43] Miguel, M.G., Dandlen, S., Neves, M.A. (2009). Antioxidant activities of flower extract and pomegranate juice. *Acta Horticulturae*, 818, 389-394.
- [44] Narr Ben, C., Ayed, N., Metche, M. (1996). Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 203, 374-378.
- [45] Lansky, E.P., Newman, R.A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and

- cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 177-206.
- [46] Seeram, N.P., Adams, L.S., Henning, S.M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M.G., Heber, D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, 360-367.
- [47] Tezcan, F., Gültekin Özgüven, M., Diken, T., Özçelik, B., Erim, F.B. (2009). Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*, 115(3), 873-877.
- [48] Fadavi, A., Barzegar, M., Azizi, H.M., Bayat, M. (2005). Physicochemical composition of ten pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran. *Food Science and Technology International*, 11, 113-119.
- [49] Mousavinejad, G., Emam-Diomeh, Z., Rezaei, K., Khodaparast, M.H.H. (2009). Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant capacity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry*, 115, 1274-1278.
- [50] Özgül Yücel, S. (2005). Determination of conjugated linolenic acid content of selected oil seeds grown in Turkey. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(12), 893-897.
- [51] Schubert, S.Y., Lansky, E.P., Neeman, I. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, 66, 11-17.
- [52] Albrecht, M., Jiang, W., Kumi-Diaka, J., Lansky, E.P., Gommersall, L.M., Patel, A., Mansel, R.E., Neeman, I., Geldof, A.A., Campbell, M.J. (2004). Pomegranate extracts potentially suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *Journal of Medicinal Food*, 7(3), 274-283.
- [53] Das, A.K., Mandal, S.C., Banerjee, S.K., Sinha, S., Saha, B.P., Pal, M. (2001). Studies on the hypoglycaemic activity of *Punica granatum* seed in streptozotocin induced diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 15(7), 628-629.
- [54] Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., Tanaka, T. (2004). Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Science*, 95(6), 481-486.
- [55] Orak, H.H., Yağar, H., İşbilir, Ş.S. (2012). Comparison of antioxidant activities of juice, peel, and seed of pomegranate (*Punica granatum* L.) and interrelationship with total phenolic, tannin, anthocyanin and flavonoid contents. *Food Science and Biotechnology*, 21, 373-387.
- [56] Anonim, (2003). TSE 1880 EN 13188 Sirke Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Caddesi, 112, Bakanlıklar, Ankara.
- [57] Öztürk, İ., Çalışkan, Ö., Tornuk, F., Özcan, N., Yalçın, H., Başlar, M., Sağdıç, O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT- Food Science and Technology*, 63, 144-151.
- [58] Elgün, A. (2011). Şarabın sirkeye dönüşümü. 1. *Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi* 19-20 Kasım 2011, Ankara, Türkiye.
- [59] Johnston, C.S., Gaas, C.A. (2006). Vinegar: medicinal uses and antiglycemic effect. *Medscape General Medicine*, 8(2), 61-67.
- [60] LiJuan, H., SiLu, H., Fei, Z., Jie, W. (2016). Research and compare the antioxidant active ingredients of pomegranate vinegar, mulberry vinegar and blueberry vinegar. *China Condiment*, 41(9), 5-9.
- [61] Lantzouraki, D., Sinanoglou, V., Tsiaka, T., Proestos, C., Zoumpoulakis, P. (2015). Total phenolic content, antioxidant capacity and phytochemical profiling of grape and pomegranate wines. *RSC Advances*, 5, 101683-101692.
- [62] Mena, P., Girones-Vilaplana, A., Marti, N., Garcia-Viguera, C. (2012). Pomegranate varietal wines: Phytochemical composition and quality parameters. *Food Chemistry*, 133, 108-115.
- [63] Zhuang, H., Du, J., Wang, Y. (2011). Antioxidant capacity changes of 3 cultivar Chinese pomegranate (*Punica granatum* L.) juices and corresponding wines. *Journal of Food Science*, 76, 606-611.
- [64] Kolaç, T., Gürbüz, P., Yetiş, G. (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
- [65] Anonim, (2001). TSE 12720 Nar ekşisi standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Caddesi, 112, Bakanlıklar-Ankara.
- [66] El Darra, N., Rajha, H.N., Saleh, F., Al-Oweini, R., Maroun, R.G., Louka, N. (2017). Food fraud detection in commercial pomegranate molasses syrups by UV-VIS spectroscopy, ATR-FTIR spectroscopy and HPLC methods. *Food Control*, 78, 132-137.
- [67] Gullon, B., Pinatado, M.E., Perez-Alvarez, J.A., Viuda-Martos, M. (2016). Assessment of polyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction. *Food Control*, 59, 94-98.
- [68] Orak, H.H. (2009). Evaluation of antioxidant activity, colour and some nutritional characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice and its sour concentrate processed by conventional evaporation. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60(1), 1-11.
- [69] İncedayı, B., Tamer, C.E., Çopur, Ö.U. (2010). A research on the composition of pomegranate molasses. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2), 37-47.
- [70] Huang, T.H.W., Peng, G., Kota, B.P., Li, G.Q. (2005). Pomegranate flower improves cardiac lipid metabolism in a diabetic rat model: role of lowering circulating lipids. *British Journal of Pharmacology*, 145(6), 767-774.

- [71] Zhang, L., Yang, X., Zhang, Y., Wang, L., Zhang, R. (2011). In vitro antioxidant properties of different parts of pomegranate flowers. *Food and Bioproducts Processing*, 89, 234-240.
- [72] Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M., Alam, M.S. (2006). *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 984-993.
- [73] Xu, K.Z., Zhu, C., Kim, M.S., Yamahara, J., Li, Y. (2009). Pomegranate flower ameliorates fatty liver in an animal model of type 2 diabetes and obesity. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 280-287.
- [74] Jafri, M.A., Aslam, M., Javed, K., Singh, S. (2000). Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3), 309-314.
- [75] Bagri, P., Ali, M., Aeri, V., Bhowmik, M., Sultana, S. (2009). Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 50-54.
-

## Süt Endüstrisi Atık Sularının Arıtılmasında Aktif Çamur Prosesinin Kullanımı

Elif Ayşe Anlı , Tuba Şanlı 

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 20.04.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 27.06.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [kocaoglu@agri.ankara.edu.tr](mailto:kocaoglu@agri.ankara.edu.tr) (E. A. Anlı)

☎ 0312 596 17 75 📠 0312 318 22 19

### ÖZ

Su, süt endüstrisi için önemli proses ortamıdır ve gerçekleştirilen temizlik, dezenfeksiyon, soğutma ve ısıtma gibi çok çeşitli işlemlerde önemli rol oynar. Bu nedenle, süt işleyen tesisler çok miktarda su kullanır ve bunun sonucu olarak, yüksek miktarda organik madde içeren atık su üretir. Sütçülük atık suları başlıca ünitelerin temizlenmesi sonucu suya karışan süt, işleme, paketleme sırasında dökülen süt veya ürünler, peyniraltı suyu, salamura, yayıkaltı (tereyağı üretiminden kalan), motor yağları, temizlikte kullanılan deterjan ve kimyasal maddeleri içermektedir. Sütçülük atık sularının kimyasal kompozisyonu genel olarak organik maddelerden oluşmakta ve besin bakımından zengin kirleticiler nedeniyle yüksek biyolojik oksijen ve kimyasal oksijen ihtiyacı ile karakterize edilmektedir. Bu nedenle, arıtılmamış ya da kısmen arıtılmış atık su deşarj eden süt işleme endüstrileri ciddi çevresel sorunlara neden olmaktadır. Süt endüstrisi atık suları geleneksel olarak biyolojik ve fizikokimyasal yöntemlerle arıtılmaktadır. Atık suyun kompozisyonu düşünülerek uygun yöntemin seçimi arıtma sisteminin başarısını etkilemektedir. Süt endüstrisi atık sularında yüksek organik madde içeriği nedeniyle biyolojik arıtma yöntemleriyle etkili arıtma sağlanabilmektedir. Aktif çamur prosesi ise biyolojik arıtma yöntemleri içerisinde en fazla kullanılan yöntemdir. Aktif çamur prosesi ile atık suda bulunan karbon, nitrojen ve fosfor biyolojik olarak uzaklaştırılmaktadır. Arıtma sürecinde farklı görevleri olan mikroorganizma topluluğu olarak bilinen aktif çamur prosesi çevre dostu, ekonomik maliyeti düşük ve hedef atık doğru seçildiğinde etkili bir arıtma yöntemi olarak bilinir. Bu derlemede süt endüstrisi atık sularının özellikleri ile bu atıkların biyolojik arıtma yöntemlerinden biri olan aktif çamur prosesine uygunluğu değerlendirilmiş, ayrıca aktif çamur prosesinin prensibi ve sistemin çalışmasını etkileyen mikroorganizma topluluğu ve görevlerine ilişkin bilgiler verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Süt endüstrisi atık suları, Biyolojik arıtma yöntemleri, Aktif çamur prosesi

### Use of Activated Sludge Process in Dairy Wastewater Treatment

#### ABSTRACT

Water is an important process medium used in cleaning, disinfection, cooling and heating practices in dairy plants. Large amounts of water is used so high amount of organic matter loaded wastewater is obtained during manufacture of dairy products. Dairy wastewater contains cleaning water mixed with milk or milk products poured out during processing and packaging, whey from cheese-making, brine, buttermilk, fat, oil and grease, chemical agents, detergents and sanitizers used in cleaning practices. Dairy wastewater is characterized with its high BOD and COD levels due to high level of organic matter content. Environmental problems can occur when dairy effluents are discharged without treatment or discharge of semi-treated wastewater. Dairy wastewater is treated generally by biological and physicochemical methods. Success of the treatment depends on composition of wastewater. Dairy wastewater can be effectively treated by biological methods due to its nutritious nature. Activated sludge process is the most commonly used technique. C, N and P can be biologically separated from dairy plant wastewater. Activated



sludge process is an environmentally friendly, economic and efficient technique when target waste is properly selected. Microbial community present in sludge used during treatment is called as activated sludge. In this review, the properties of dairy wastewater, the principles of activated sludge process and the functions of microbial community used in activated sludge process are stated.

**Keywords:** Dairy wastewater, Biological wastewater treatment, Activated sludge process

## GİRİŞ

Süt endüstrisi atıkları yüksek organik madde yüküne sahip ve buna bağlı olarak yüksek biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ) ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) olan endüstriyel atıklardır [1-4]. Süt endüstrisi için su en önemli proses ortamıdır [1]. Günlük olarak binlerce m<sup>3</sup> ile ifade edilecek büyük miktarlarda atık su, süt işletmeleri tarafından deşarj edilmektedir [5, 6]. Ürün çeşitliliğine bağlı olarak, üretim ve temizlik uygulamaları dahil olmak üzere işlenen sütün her litresi için yaklaşık olarak 2 ila 6 kat kadar atık su açığa çıktığı belirtilmiştir [7]. Süt endüstrisi atık sularında yüksek miktarlarda çözünür ve süspanse katılar, azot ve fosfat bulunmaktadır [1]. Yağ ve gresin de dahil olduğu süspanse formdaki katılar, süttten gelen karbohidratlar, proteinler, yağlar aynı zamanda proseste kullanılan cihazların, proses hatlarının ve taşıma ekipmanlarının temizliğinden geriye kalan yıkama suları da katkıda bulunmaktadır [8]. Atık suyun bu zengin bileşimi, arıtma işlemi uygulanmadan uzaklaştırılması sonucunda ciddi çevre kirliliği problemlerine dolayısıyla da toplum sağlığı açısından risklere yol açmaktadır [6, 9, 10] Bununla birlikte uygun olmayan yöntemlerin arıtma prosesinde kullanımı toprak, su ve hava kirliliğine neden olarak ekolojik dengeyi bozulmasıyla sonuçlanabilmektedir [10].

Son yüzyıl içerisinde devam eden nüfus artışı ve endüstriyelleşmeden insan yaşamı ve bağlı olduğu birçok ekosistem olumsuz yönde etkilenmektedir. Ekosistemin parçası olan okyanus ve nehirler; yetersiz şekilde muamele edilen endüstriyel ve kentsel atık suların deşarj edilmesi sonucunda kirlenmektedir [11]. Doğal su kaynaklarının azalması endüstriyel gelişme ve kentsel yaşam standardı açısından ciddi bir kısıtlama oluşturmaktadır [1]. Arıtma işlemiyle, deşarj edilen atık suların kaybettikleri fiziksel, kimyasal ve bakteriyolojik özelliklerin bir kısmı veya tamamı tekrar kazandırabilmektedir. Kullanım sularının alıcı ortamlara deşarjı öncesinde doğal, fiziksel, bakteriyolojik ve ekolojik özelliklerinin yeniden sağlanabilmesi için uygulanan fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemlerin tamamı arıtma prosesi kapsamındadır [12]. Atık su arıtma tesisleri, genelde birbirini takip eden havuz veya tanklardan meydana gelen, çeşitli faaliyetler sonucu ortaya çıkan atıkların arıtıldıkları, içerisindeki kirliliklerin uzaklaştırıldığı tesislerdir [13]. Atık su arıtma proseslerinde, biyolojik olarak önemli elementlerin inorganik formda yeni yapısal formlara dönüşümünün sağlandığı atık su elde edilmektedir [12].

Endüstriyel atık suların bileşim özellikleri yönünden geniş bir değişime sahip olması arıtma proseslerini zorlaştırmaktadır. Atık suyun arıtılarak sadece deşarj kalitesinin iyileştirilmesi işletmeler açısından maddi bir yük oluşturmaktadır. Dolayısıyla arıtılmış atık suyun geri

dönüşüm yoluyla yeniden kullanımı ve suyun saflaştırılmasında uygun teknolojilerin geliştirilmesi gerekmektedir [1]. Arıtılmış atık suyun deşarj edileceği alıcı ortamın kullanım amacı arıtmanın derecesini belirlemektedir. Atık suyun deşarj edildiği akarsu ortamının içme suyunun elde edildiği veya yüzmeye amacıyla kullanılan bir ortam olması durumunda taşıma amacıyla kullanılan bir akarsuya nazaran daha ileri derecede arıtılması gerekmektedir [13].

Toplam süspanse katılar (TSS), biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ<sub>5</sub>) veya kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) atık suların ekosistemler üzerindeki kirlenici unsurlarıdır [11]. BOİ, atık su içerisinde biyolojik olarak parçalanabilen madde içeriği olarak tanımlanmıştır. Organik kirlenicilerin parçalanması için 5 günlük periyot içerisinde mikroorganizmalar için gerekli oksijen ihtiyacı BOİ<sub>5</sub> olarak (mg oksijen/L veya g oksijen/m<sup>3</sup>) 7 günlük periyot için bu değer BOİ<sub>7</sub> olarak ölçülmektedir [14]. Kimyasal oksidan bir madde (potasyum dikromat veya potasyum permanganat) ile okside olabilecek kirlilik unsurlarının miktarı ise KOİ olarak ifade edilmektedir [14]. Arıtma proseslerinde her 1 kg'lık KOİ'nin uzaklaştırılması için aerobik sistemler ve anaerobik sistemlerde sırasıyla 0.5 kg ve 0.1 kg çamur üretimi gerçekleşmektedir [15].

## SÜT ENDÜSTRİSİ ATIK SULARININ ÖZELLİKLERİ

Süt endüstrisi atıklarında sütün bileşiminde bulunan proteinler, karbohidratlar, yüksek miktarda yağ, gres, yıkama suları, deterjan ve dezenfektanlar ile proses sonucu açığa çıkan peyniraltı suyu ve yayıkaltı gibi süt yan ürünleri bulunmaktadır [3, 8]. Süt, tereyağı, yoğurt, dondurma, sütlü tatlılar ve peynir gibi zengin ürün çeşitliliği olan süt endüstrisinin atık su miktarı ve kompozisyonu oldukça değişkendir [16]. Organik materyal yükü ürün çeşidi, mevsimsel değişiklikler ve sütün hacmi ile orantılı olarak değişmekle beraber genel olarak litresinde 0.3-5.9 BOİ<sub>5</sub> ve 1-10 g arasında KOİ içermektedir. Genel itibarıyla bu atıkların belirgin renge ve ağır kokuya sahip olduğu bilinmektedir [7]. Süt işletmelerinin hemen hepsinde uygulanan yerinde temizlik uygulamalarında (CIP) kullanılan kostik, fosforik asit/ nitrik asit, sodyum hipoklorit solüsyonları da endüstri atık sularına karışmaktadır [17]. Süt endüstrisi atıklarının bileşimi Tablo 1'de verilmiştir.

Süt endüstrisi atık sularında kirlilik yaratan en önemli unsurun peynir üretiminden geriye kalan peyniraltı suyu olduğu bilinmektedir [3]. Peyniraltı suyu protein, yağ, laktöz, mineraller ve tuzlar yönünden zengin bileşime sahip olduğu için kanalizasyona direkt deşarj edilmesi ciddi çevresel sorunlara yol açmaktadır. Peyniraltı suyunun çeşitli yöntemlerle değerlendirilerek ekonomiye katkısı olan ve çevre açısından daha güvenli bir endüstriyel atık formuna dönüştürülmesi mümkündür

[18]. Yüksek miktarlarda yağ ve gres ile işletme atık sularında süreklilik arz eden peynir ve tereyağı üretiminin son ürünleri olan peyniraltı suyu ve yayıkaltı, arıtma sürecinde oldukça yavaş parçalanmaktadır [3,

19]. Bu kirleticilerin varlığı özellikle de pompa ve havalandırma sistemlerinde filamentöz mikroorganizmaların gelişmesi nedeniyle problemlere neden olmaktadır [19].

Tablo 1. Süt endüstrisi atık sularının genel bileşimi [7]

Parametre	Miktar
Kati madde	3300-57045 mg/L
Süt yağı, yağ, gres	14000-24500 mg/L
Azot	30-46 mg/L
Fosfor	30-650 mg/L
KOİ	1-10 g/L
BOİ	0.3-5.9 g/L

## ATIK SU ARITMA YÖNTEMLERİ

Atık suyun arıtılmasının ilk amacı; biyolojik oksijen ihtiyacının (BOİ) azaltılması, iz organik bileşenlerin ve toksik kimyasalların uzaklaştırılması, sürdürülebilir çevre için nitrat ve fosfatın azaltılması, patojen bakterilerin azaltılması veya uzaklaştırılmasıdır. İkinci amaç ise çamurdan enerji ve biyolojik gübre elde edilmesidir [20]. Süt endüstrisini içine alan tüm tarım ve gıda endüstrileri atıkları, yüksek protein ve organik yükleri, değerli besin maddeleri içermeleri nedeniyle toprağın iyileştirilmesinde yani gübre amaçlı olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Süt endüstrisi atıklarının nitrojen, magnezyum, kalsiyum ve fosfor gibi elementler yönünden zengin olması ve ağır metal konsantrasyonunun normal standartların altında olması çevre açısından güvenli olmasını sağlamaktadır [21].

Atık suların arıtılmasında fiziksel, kimyasal, biyolojik, aerobik ve anaerobik yöntemlerin birlikte kullanıldığı çok aşamalı yöntemler uygulanabilmektedir [22]. Süt endüstrisi atık sularının arıtılmasında aerobik ve anaerobik yöntemler kullanılabilir [19]. Bununla birlikte söz konusu proseslerin arazi masraflarındaki değişiklikler, iklim koşulları, çamur geri dönüşümünün gerekli olması gibi dezavantajları bulunmaktadır [23]. Bu yöntemlerden aerobik biyoreaktörlerde yağ ve gresin neden olduğu kalıcı tabaka havalandırma tanklarında biyokütlenin topaklaşmasını ve sediment oluşturma yeteneğini kısıtlamakta ve aynı zamanda biyolojik parçalanma için gerekli olan gaz transferini önlemektedir. Bu durum arıtma prosesinin etkinliğini azaltmakta ve kötü koku oluşumuna neden olmaktadır [19]. Peyniraltı sularının arıtılmasında kullanılan anaerobik yöntemlerin uygulanmasında ise peyniraltı suyunun asidik özellik taşıması, yüksek KOİ'ye sahip olması ve topaklaşmasında bazı güçlüklerle karşılaşılması belirlenen olumsuzluklar arasındadır [9]. Ayrıca arıtılmış atık sular için nanofiltrasyon ve ters ozmoz teknikleri arıtma sonrasında kullanılabilir. Membran teknikleriyle laktoz ve süt proteinlerinden arındırılmış yeniden kullanılabilir su elde edilebilmektedir. Ayrılan laktoz ve protein ise insan tüketimi dışında farklı amaçlar için kullanılmaktadır [16].

### Fiziksel Arıtma

Fiziksel arıtma yöntemlerinde kaba ve çöktülebilir katıların çarpma işlemiyle elenmesi, öğütülmesi, ızgaradaki iri maddelerin tutulması, topaklaştırılması,

yüzdürülmesi ve çöktürülmesi gibi işlemler uygulanmaktadır [24].

### Kimyasal Arıtma

Arıtma işleminde kimyasal reaksiyonlar kullanıldığında bu yöntem kimyasal arıtma olarak tanımlanmaktadır. Zararlı bileşiklerin zararsız forma dönüştürülmesi, biyolojik arıtmadan önce atık suların pH değerlerinin ayarlanması ve nötralizasyon, dezenfeksiyon, klasik biyolojik ve kimyasal arıtma yöntemleriyle uzaklaştırılmayan organik maddelerin giderilmesinde adsorbsiyon işlemlerinin uygulanması kimyasal arıtma kapsamında yer almaktadır [24]. Süt endüstrisi atık sularının fizikokimyasal yöntemler ile etkili bir şekilde arıtılması nedeniyle bu yöntemlerin gelecek vadede uygulamalar olduğu düşünülmektedir [25]. Bu uygulamalardan koagülasyon/flokülasyon yönteminde inorganik, organik ve doğal koagülant maddeler kullanılarak arıtma sonrası muamele gerçekleştirilmektedir [16].

### Biyolojik Arıtma

Biyolojik arıtma ile süzme, çöktürme gibi fiziksel işlemlerle atık sudan ayrılması sağlanamayan kolloidal maddeler (organik maddeler) kararlı hale getirilmektedir [13, 14, 26]. Biyolojik arıtma, aslında doğada kendiliğinden ancak yavaş olarak meydana gelen bir temizleme süreci olarak bilinir. Kontrollü koşullar altında uygulandığında ise optimum çalışma koşullarının sağlanmasıyla işlem yoğunlaştırılarak hızlandırılmaktadır [11].

## BİYOLOJİK ARITMA YÖNTEMLERİ

Biyolojik arıtma yöntemleri olarak aktif çamur prosesi, havalandırma havuzları, stabilizasyon havuzları, damlatmalı filtreler ve biyodiskler (döner diskler) yaygın olarak kullanılmakla birlikte ardışık kesikli reaktörler, anaerobik çamur örtülü reaktörler ve anaerobik filtreler de kullanılabilir [8, 25, 27, 28].

Biyolojik arıtma prosesinde organik materyal sistemde esas görevi yapan kontrollü ortamda geliştirilen mikroorganizmalar tarafından kararlı hale dönüştürülmektedir [13]. Mikroorganizmalar tarafından organik maddenin bir bölümü ayrıştırılarak çeşitli gazlara (CO<sub>2</sub>, N, P vb) dönüştürülmekte; diğer bir bölümü ise hücre materyali, yani yeni mikroorganizmalar haline

getirilmektedir [13, 14, 26]. Bu süreçte mikrobiyolojik oksidasyonla parçalanma ürünleri oluşmakta aynı zamanda yoğun olarak kullanılan mikroorganizmalara kirleticilerin absorblanması ve topaklaşarak uzaklaştırılması sağlanmaktadır [11, 13, 14, 26]. Arıtma sonrasında membran ayırma teknikleri (mikro ve ultrafiltrasyon) kullanılarak biyokütlenin sudan ayrılması, havalandırılması ve ortamdan uzaklaştırılmak istenilen kontaminantların ayrılması sağlanır [9].

Biyolojik arıtmada hem aerobik hem de anaerobik prosesler kullanılabilir. Aerobik uygulamada organik atıklar aerobik mikroorganizmalar tarafından serbest veya çözünür oksijen kullanılarak biyokütle ve CO<sub>2</sub>'e dönüştürülür. Aerobik biyolojik prosesler, organik atıkların muamele edilmesinde yüksek işlem etkinliği sağladığı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Aerobik sistemler ile daha yüksek düzeyde çözünür ve biyolojik olarak ayrıştırılabilir organik materyalin uzaklaştırılabildiği bilinmektedir. Bu sistemlerde elde edilen biyokütlenin daha sağlıklı topaklaştırılması, arıtılmış suda süspansiyon katı madde konsantrasyonunun daha düşük düzeyde olmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak aerobik sistemlerden elde edilen atık suyun kalitesi anaerobik sistemlerden daha üstündür [6,11,23].

Anaerobik yöntemler biyoteknolojik gelişmeler nedeniyle kirlilik kontrolünde tercih edilen yöntemlerdir. Bu yöntemde kompleks organik atıklar oksijensiz ortamda hidroliz, asitogenez ve metanogenez olmak üzere 3 ana basamak yoluyla metan, CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O olarak parçalanmaktadır [11]. Anaerobik yöntemlerin daha az enerji gereksinimi olması (havalandırma gerekliliğinin olmaması), alan kurulum maliyeti gereksiniminin aerobik tesislere göre daha düşük olması, daha az miktarda çamur oluşumunun meydana gelmesi ve bu yöntemle süt endüstrisi atıklarından biyogaz üretimi imkânının bulunması gibi avantajları bulunmaktadır [6, 8, 11].

Sistemden çıkan arıtılmış su kirlilik yükü açısından değerlendirildiğinde aerobik yöntemlerin anaerobik sistemlerden daha üstün olduğu bilinmektedir [11]. Ancak süt endüstrisi atıklarının arıtılmasında aerobik reaksiyonlar daha büyük önem taşımaktadır [29] ve bu yöntemlerden aktif çamur prosesi, süt endüstrisi atıklarının organik materyal yükünün oldukça yüksek olması nedeniyle daha fazla tercih edilmektedir [8].

## AKTİF ÇAMUR PROSESİ

Aktif çamur prosesi biyolojik arıtma yöntemleri içerisinde en fazla kullanılan yöntemdir [30]. Sistem ilk defa 1913-1914 yıllarında Arden ve Lockett'in çalışmaları sonucunda Manchester'da keşfedilmiştir [13]. Organik ve inorganik maddeleri içeren atık su ile canlı ve ölü mikroorganizmaların karışımı aktif çamur olarak bilinmektedir [13, 18].

Aktif çamur prosesinde atık suda bulunan karbon (C), nitrojen (N) ve fosfor (P) biyolojik olarak uzaklaştırılmaktadır [30, 31]. Aktif çamur prosesinde ilk olarak atık su çökeltme tankına alınır ve burada başta büyük boyutlu parçacıklar olmak üzere atık suyun içerisindeki çökebilir unsurlar ayrılır. Ortam pH'sı 5-9

aralığına standardize edilir [29, 30]. Proses biyokimyasal ve fiziksel olmak üzere 2 aşamadan oluşmaktadır [30]. İlk aşama biyokimyasal aşama olarak da bilinen solunum aşamasıdır ve havalandırma tankında gerçekleşir [30, 32]. Fiziksel ve ikincil arıtıcı olarak bilinen sentez aşaması ise ikinci aşamayı oluşturmaktadır [29, 30]. Havalandırma tankında organik materyal içeren atık su havalandırılır (yaklaşık 6-8 saat kadar) bu esnada süspansiyon ve çözünür formdaki organik materyal çamur mikroorganizmaları tarafından absorpsiyon ve adsorpsiyon yoluyla parçalanır [23, 29, 33, 34]. Arıtmanın fiziksel aşaması çökeltme tankında gerçekleşirken reaksiyon sonucunda oluşan yeni hücreler, çamur şeklinde topaklaşarak sıvı kısımdan ayrılır [30, 32]. Topaklaşan materyalin son çökeltme tankında bekleme süresi en fazla 6 saat civarında olmalıdır [29]. Aktif çamur olarak adlandırılan çöktürülen biyokütlenin bir kısmı havalandırma tankına geri gönderilirken kalan fazla çamur atık olarak uzaklaştırılır [34]. Bu biyolojik arıtma yönteminde organik materyalin bir kısmı yeni hücre sentezinde kullanılırken bir kısmı da serbest enerjiye dönüşür [13, 18, 32, 34] CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NO<sub>3</sub> ve SO<sub>4</sub> gibi daha stabil son ürünler oluşur [29]. Aktif çamur prosesinin basit bir gösterimi Şekil 1'de verilmiştir [22].

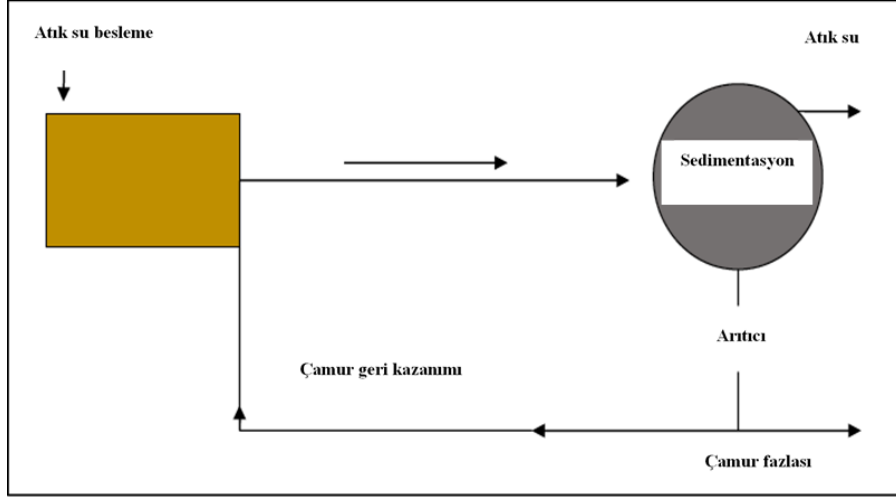
Şekil 1'de görüldüğü gibi içerisinde topak oluşturan süspansiyon halinde biyokütle (mikroorganizma topluluğu) bulunan reaktöre biyolojik olarak parçalanabilir organik materyal verilir [35]. Aktif çamur prosesinde, yüksek miktarda mikroorganizma içeren biyolojik oksidasyon (havalandırma) tanklarında, döner silindirik fırçalı yüzey havalandırıcılar veya basınçlı püskürtücüler ile ortama hava verilir [36]. Havalandırma tankında çözünür oksijen konsantrasyonunun 3-5 mg/L aralığında olması oldukça önemlidir. Karışımın havalandırma tankından sedimentasyon tankına akışı ile aktif çamurun büyük kütleler halinde çökmesi sağlanır [22]. İşlem sonunda reaktör içerisinde elde edilen biyokütle karışımı ve su ayrılır, elde edilen çamur reaktöre geri verilir [35]. Söz konusu prosesin avantaj ve dezavantajları Tablo 2'de verilmiştir.

## AKTİF ÇAMUR MİKROFLORASI

Aktif çamur oksijenin bol olduğu havalandırılmalı ortamlarda organik maddelerin yükseltgenmesiyle kendi enerji ve sentez gereksinimlerini karşılayan ve bu şekilde kirliliği uzaklaştıran topaklaşma eğilimindeki mikroorganizma grupları olarak bilinir [34, 37]. Başlangıçta aktif çamur ekosisteminin mikroflorası hakkında çok az bilgi bulunmaktaydı. 1935 yılında Butterfield tarafından yapılan çalışma ile çamur sonuçlarına göre *Zooglea ramigera*'nın atıksu arıtımı açısından tek bakteri olduğuna görüşü öne sürülmüştür. 1950'li yılların başlarında yapmış oldukları çalışmalarda aktif çamur oluşumunda farklı bakterilerin varlığı düşünülmüş; fakat çamur içerisindeki oransal dağılımları belirlenememiştir [38]. Bu görüşlerin sonrasında yapılan çalışmalarda aktif çamurun mikroskopik incelenmesi sonucunda topluluğun bakteriler, mantarlar, algler, protozoalar, filamentöz mikroorganizmalar, virüsler, sinek larvaları, kurtlar ve rotiferlerden oluştuğu, ancak bu karma kültürde en önemli bileşenin bakteriler olduğu

belirlenmiştir [29, 32, 37]. Bakterilerin yanı sıra serbest yüzen siliatlar, askıda siliatlar ve rotiferler, aktif çamur prosesinin başarısından sorumlu diğer mikroorganizmalardır [39]. Baskın olan organotrofik bakterilerin çamur floklarına dahil olduğu ama bazılarının ise sıvı içerisinde serbest olarak dolaştığı bilinmektedir [40]. Topluluk mikroorganizmalar arasında

işbirliği ve iletişimi arttırdığı bilinen hücre dışı polimerik yapıda eksopolisakkarit bir materyal vasıtasıyla bir arada tutulmaktadır. Aktif çamur prosesinde meydana gelen topaklaşma mekanizması ile mikroorganizmaların işlem görmüş atık sudan ayrılmasını kolaylaşmaktadır [32].



Şekil 1. Aktif çamur prosesinin gösterimi

Tablo 2. Avantaj ve dezavantajlarıyla aktif çamur prosesi [8, 34]

Avantajları	Dezavantajları
• Düşük kurulum maliyeti	• Yüksek enerji sarfıyatı
• Yüksek atık kalitesi ile düşük ayak izinin olması	• Yüksek miktarda çamur üretimi
• Kolay uygulanabilir olması	• Köpük oluşumu
• Kompakt dizaynının yeterli olması küçük alan gereksinimi olması	• Oluşan çamurun bertaraf edilmesi için uygun yöntemlerin gerekliliği
• KOİ içeriğinin genel olarak düşük olmasına bağlı olarak başarılı bir nitrifikasyonun sağlanması	• Prosesin etkili kontrolünün gerekliliğinin olması
• Yüksek atık yükünün sisteme alınabilmesi ve toksik bileşenlerin seyreltilmesi	• Proses esnasında çamurun aktivitesini koruması gerekliliği
• Küçük sistemler için kullanılması	• Atığın kompozisyonuna bağlı arıtma başarısının değişmesi

Aktif çamur mikroflorasında yer alan her bir mikroorganizmanın arıtma prosesinde ayrı bir görevi bulunmaktadır. Genel olarak topaklaşmayı sağlayan mikroorganizmalar, saprofitler, diğer canlılarla beslenen organizmalar ve zararlı mikroorganizmalar bu mikroflorada yer almaktadır. [37]. Bu topluluk içerisinde bakteriler ve mantarlar organik maddeleri ayrıştırarak çoğalırken; protozoalar (tek hücreli hayvanlar) ise bakterilerle ve mantarlarla, çok hücreli hayvanlar da tek hücrelilerle beslenmektedir [13]. Aktif çamurda yer alan mikroorganizmalar ve mikroflora içerisindeki görevlerine ilişkin detaylar aşağıda belirtilmiştir.

### Bakteriler

Aktif çamur topluluğu içerisinde ekosistemin toplam populasyonunun %95'lik kısmını bakterilerin oluşturduğu ve uygun çevresel koşullar altında aktif çamur prosesinde organik materyal ve besin maddelerini atık sudan etkili bir şekilde uzaklaştırdıkları bilinmektedir [30]. Proseste yer alan bakteriler hem topaklaşmadan sorumlu hem de saprofit özelliğe sahip olabilmektedir.

Saprofitler organik materyalin parçalanmasından sorumludur. İlk olarak organik materyal birincil saprofitler tarafından sonrasında çıkan metabolitler ise ikincil saprofitler tarafından parçalanır. Saprofitler çoğunlukla Gram (-) bakterilerden oluşurken, mantarlar, mayalar ve kamçılı protozoaların da organik maddelerin parçalanmasında görev aldıkları bilinmektedir [37].

Aktif çamur içerisinde bulunan flokların oluşumuna yeteneğine sahip bakteriler atık suda bulunan organik materyal üzerinde büyüyerek floklar oluşturur. Flokların oluşumuna katkıda bulunurken, flokların oluşumunu engelleyen bakterilerin iskelet oluşumu yoluyla katkıda bulunur. Eksopolisakkarit materyal vasıtasıyla da diğer bakteriler bu iskelet yapıya tutunmakta ve flokların büyümesini (topaklaşmayı) sağlamaktadır. Aktif çamur mikroflorasında bulunan ve sistemin önemli bir parçası olan topaklaşmadan sorumlu mikroorganizmaların görevi çamurun atık sudan ayrılmasını sağlamaktır. *Zooglea ramigera* bakterisi başta olmak üzere birçok bakteri bu mekanizmanın parçasıdır [37].

Aktif çamurdaki mikrobiyel denge oldukça önemlidir. Filamentli (ipliksi) bakterilerin arıtma prosesinde küçük parçaları tutma ve bu şekilde arıtma çıkış suyundaki bulanıklığı azaltma görevi bulunmaktadır. Belirli miktarda filamentli bakteri varlığı aktif çamur uygulaması açısından faydalı iken, bu bakterilerin miktarının az olması ise küçük ve kolay dağılabilen flokların oluşumuna neden olmaktadır. Bu koşullar altında oluşan

çamurun çökme kabiliyeti iyi olmasına karşın çıkış suyunun karakteristiğinde bozulmalar meydana gelmektedir [36]. Filamentli bakterilerin miktarı arttığında ise şişkin çamur durumunun ortaya çıktığı ve çamur çökmesi sorununun meydana geldiği bilinmektedir [36, 40]. Aktif çamurda rastlanan bakteri genusları ve görevleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Aktif çamurda bulunan başlıca bakteri genusları ve fonksiyonları [40, 41]

Genus	Görevi
<i>Zooglea</i>	Mukoz madde üretimi
<i>Pseudomonas</i>	Karbonhidratların parçalanması, mukoz madde üretimi, denitrifikasyon
<i>Bacillus</i>	Proteinleri parçalanması
<i>Arthrobacter</i>	Karbonhidratların parçalanması
<i>Microtrix</i>	Yağların parçalanması, filamentöz büyüme
<i>Nocardia</i>	Filamentöz büyüme, köpük oluşumu
<i>Sphaerotilus</i>	Filamentöz büyüme
<i>Acinetobacter</i>	Fosforun uzaklaştırılması
<i>Nitrosomonas</i>	Nitrifikasyon
<i>Nitrobacter</i>	Nitrifikasyon
<i>Achromobacter</i>	Denitrifikasyon
<i>Cytophaga</i>	Polimerik substratların parçalanması

### Protozoalar

Aktif çamur içerisinde bakterilerin predatorü olarak görev alan protozoalar, atık su içerisindeki dağılmış katı madde miktarının ve çözünür BOİ'nin azaltılmasına yardımcı olmaktadır [40]. Protozoalar aktif çamur prosesinin diğer canlılarla beslenen organizmalar grubunda yer alırlar ve çoğunlukla bakteriler ile yaşamlarını sürdürürler [37]. Aktif çamurda bulunduran protozoalar bakteriler tarafından oluşturulan floğa tutunarak burada çoğalmaya başlarlar [40]. Tipik bir aktif çamur içerisinde yaklaşık olarak  $5 \times 10^4$  protozoa olduğu bildirilmiştir [42]. Protozoaların toplam çamur ağırlığının % 5-10'unu oluşturduğu ve aktif çamur topaklarının üzerinde 230 çeşitten fazla protozoa bulunduğu

bilinmektedir [37, 41]. Aktif çamurda bazı durumlarda amoeba (amip) ve flagellate (kamçılılar) da bulunmasına rağmen siliatlar aktif çamurdaki protozoaların çoğunluğunu oluşturmaktadır [37, 42]. Flagellatların varlığı yetersiz arıtma ve genç biyokütle yaşı ile ilişkilidir. Amipler ve flagellatlar süspanse katı madde miktarı yüksek atıklarda görülürler. Serbest yüzücü siliatlar, ince silleri vasıtasıyla hareket eder ve besinlerine bu şekilde ulaşırlar. Saplı tüylü siliatlar ise silleri ile atık sudaki katı materyallere tutunurlar ve besinleri kendilerine çekerler. Atık suyun oldukça temiz olduğu ve askıda katı madde miktarının düşük olduğu dönemde baskın durumdadırlar [43-45]. Aktif çamur içerisindeki siliatların en baskın olan türleri *Opercularia*, *Vorticella*, *Aspidisca*, *Carchesium* ve *Chilodonella*'dir [42].

Protozoalar arıtma prosesinde proses aşamalarının indikatörü olarak kullanılabilir. Sağlıklı aktif çamur ve atık su kalitesi için varlıkları önemlidir. Protozoaların herhangi bir türünün varlığı sistemin doğru işlediğinin bir göstergesidir [43-45]. Protozoalar aynı zamanda aktif çamur içerisindeki patojenik bakteri ve virüs miktarının önemli düzeyde azaltılmasından sorumludur [42] ve arıtma sürecinin başlangıcında

oldukça aktiflerdir. Bu dönemde arıtma ve buna bağlı olarak oksijen kullanımı yüksek düzeydedir. Ancak hareketli bir yapıya sahip olmaları nedeniyle protozoalar bu süreçte hafif kahverengimsi renkte bir çamur oluşmasına ve atık suyun bulanıklıklaşmasına neden olmaktadır. Arıtmanın ilerleyen aşamalarında atıktaki besin miktarının azalmasıyla birlikte daha kompleks yapıya sahip ve daha az besin gereksinimi olan protozoa çeşitlerinden yüzücü siliatlar ve bu koşullarda canlılığını koruyabilen bakteriler baskın duruma gelirler. Bu dönem genel anlamıyla aktif çamurun olduğu dönemdir ve çamur rengi kahverengi olarak karakterize edilir. Atık miktarının giderek azaldığı son dönemde mikroorganizmalar iç solunum yoluyla parçalanırlar, siliatlar ve rotiferler gibi yüksek yapıllı canlılar var olurlar. Arıtmanın bu sürecinde çamur fiziksel olarak zor çöken ve koyu kahverengi renkte ve daha az aktif özelliktedir [37].

### Rotiferler

Rotiferler yaşlanmış (olgunlaşan) aktif çamur içerisinde yer alan çok hücreli organizmalardır. Serbest halde dağılmış olan bakterilerin uzaklaştırılması ve mukusla çevrelenmiş dışkı topakları oluşumuna yardımcı olmak gibi görevleri bulunmaktadır. Aktif çamur içerisinde yer alan en bilinen 4 rotifer türü *Philodina*, *Habrotricha*, *Notommata* ve *Lecane*'dir [42]. Genel olarak iyi çalışan atık su arıtma tesislerinde bulunan rotiferler, suyun olduğu bütün habitatlarda bulunan en küçük ve en basit çok hücreli mikroorganizmalardır. Rotiferler, yüksek miktarda çözünmüş oksijene ihtiyaç duyarlar, dolayısıyla onların varlığı suyun biyolojik saflığının bir göstergesidir [43-45].

### Nematodes ve Flatworms (Kurtçuklar)

Kurtçuklar organik çamurda yaşamlarının yanı sıra atık su arıtma proseslerinde damlatmalı filtrelerde ve aktif çamurda biyolojik sümüksü yapılar içinde yaşarlar. Bu

organizmalar atık su arıtma tesislerine ilk olarak arıtma tesislerine akış ve sızma yoluyla toprağa tutunarak ulaşırlar. Zorunlu aerob olmaları nedeniyle sadece aerobik arıtma sistemlerinde, büyük ama değişken miktarlarda bulunurlar. Katı organik maddeleri parçalarlar. Nematode (solucan)'un bulunması mikroflora aktivitesini ve parçalanmayı destekler. Aktif çamur sistemlerinde nematode'lar, toprak partiküllerinde tüneller açarak oksijen difüzyonunu sağlarlar [43-45].

### Aktif Çamur İçerisinde Yer Alan Diğer Mikroorganizmalar

Algler sağlık açısından tehlike teşkil etmezken su ve atık su arıtma tesislerinde tıkanma vb. problemlere neden olmaktadır. Fungi (mantarlar) su ve atık su uygulamalarında minör düzeyde öneme sahiptirler. Organik materyali kullanarak beslenirler. Su yassı kurtları alglere beslenen havuzların daha az derin kısımlarında görülürler. Varlıkları proses problemlerinin biyolojik göstergesidir. Çözünür oksijen miktarının azalmasıyla canlılıkları azalır. Tubifexler (çamur kurtları) yağlı organik madde yükü yüksek ve oksijen konsantrasyonu düşük olan yüzey sularında dayanıklı flora olarak bulunabilmektedir. Bu nedenle aktif çamur florasında söz konusu canlılarında yer alabilecekleri bildirilmektedir [43-45]. İlâveten zararlı mikroorganizmaların varlığı aktif çamur prosesini olumsuz yönde etkilemektedir. *Sphaerotilus natans* ve mantarlardan *Geotrieheum* mantarları, mikroorganizmalar arası uyumu bozan zararlı mikroorganizmalardır [37].

### SONUÇ

Süt endüstrisi atık sularının kompozisyonu ürün çeşitliliği, üretim yöntemi, kullanılan temizlik ajanları, dezenfektanlar olmak üzere farklı parametrelere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Yüksek BOİ, KOİ, askıda toplam süspanse katı madde miktarı, yağ ve gres içermeleri nedeniyle süt endüstrisi atık sularının en etkin şekilde arıtılması gerekmektedir. Yüksek organik materyal yükü nedeniyle süt endüstrisi atık sularının biyolojik yöntemlerle daha etkin şekilde arıtılması sağlanmaktadır. İkincil kirletme olmadan daha düşük uygulama maliyeti ile gerçekleştirilen biyolojik arıtma yöntemlerinden aktif çamur prosesi ise bu yöntemlerden en popüler olanıdır. Yöntemde doğada yavaş olarak süregelen biyolojik oksidasyonun hızlandırılması esastır. Aktif çamur prosesinde topaklaşma eğiliminde ve saprofit özellikte olan bakteriler başta olmak üzere protozoalar, rotiferler, kurtçuklar, mantarlar görev alan mikroorganizmalar arasındadır. Atık su içerisindeki organik materyal bu mikroorganizmalar tarafından solunum ve sentez aşamalarıyla daha stabil son ürünlere parçalanarak aktif çamur kütlesine dönüştürülmektedir. Ancak işlem sonrası açığa çıkan çamur miktarının fazla olması yöntemin dezavantajıdır. Aktif çamur prosesi ile açığa çıkan fazla çamurun değerlendirilmesi konusunda yeni gelişmelerin yöntemin uygulanabilirliğini ve devamlılığını sağlayacağı düşünülmektedir.

### KAYNAKLAR

- [1] Sarkar B., Chakrabarti P.P., Vijaykumar A., Kale V. (2006). Wastewater treatment in dairy industries-possibility of reuse. *Desalination*, 195, 141-152.
- [2] Gürtekin, E. (2008). Süt endüstrisi atıksuyunun arıtımında ardışık kesikli reaktöre zeolit ilavesinin etkisi. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları.
- [3] Koyuncu, M., Tunçtürk, Y. (2014). Sütçülük atık sularının arıtılma gereksinimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2), 88-93.
- [4] Lumina, P., Pavithra, M.P. (2018). Treatability studies of dairy wastewater by electrocoagulation process. *International Journal of Applied Engineering Research*, 13(7), 249-252.
- [5] Orhon, D., Gorgon, E., Grimly, G., Rattan, N. (1993). Biological treatability of dairy wastewaters. *Water Research*, 27, 625-633.
- [6] Banu, J.R., Anandan, S., Kaliappan, S., Yeom, I. (2008). Treatment of dairy wastewater using anaerobic and solar photocatalytic methods. *Solar Energy*, 82, 812-819.
- [7] Karadag, D., Köroğlu, O. E., Ozkaya, B., Cakmakci, M., Heaven, S., Banks, C. (2014). A review on fermentative hydrogen production from dairy industry wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(11), 1627-1636.
- [8] Demirel, B., Yenigün, O., Onay, T.T. (2005). Süt endüstrisi atıksularının havasız arıtımı. *İTÜ Dergisi, Su Kirletmesi Kontrolü*, 15(1-3), 3-16.
- [9] Farizoğlu, B., Keskinler, B., Yıldız, E., Çakıcı, A. (2004). Peyniraltı sularının arıtıldığı jet loop membran biyoreaktörün membran filtrasyonu özelliklerinin araştırılması. *Su Kirletmesi Kontrolü Dergisi*, 14(2), 1-8.
- [10] Bilir-Ormanci, F.S. (2009). Detection of the important pollution parameters in dairy plants Wastewater. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 56, 137-139.
- [11] Chan, Y.J., Chong, M.F., Law, C.L., Hassell, D.G. (2009). A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 155, 1-18.
- [12] Stainer R.Y., Adelberg E.A., Ingraham J.L. (1976). *The Microbial World*. 4th Edition, Prentice-Hall International, INC, New Jersey, 871.
- [13] Anonim (2011). Atık su Yönetimi ve Çevre. <http://www.iski.gov.tr/Web/statik.aspx?KID=1001217> (Erişim Tarihi 19.01.2011).
- [14] Bylund, G. (2015). *Dairy Processing Handbook*. Tetra Pak Second Edition. Processing Systems AB, Sweden, 486 p.
- [15] Porwal, H.J., Mane, A.V., Velhal, S.G. (2015). Biodegradation of dairy effluent by using microbial isolates obtained from activated sludge. *Water Resources and Industry*, 9, 1-15.
- [16] Kushwaha, J.P., Srivastava, V.C., Mall, I.D. (2011). An overview of various technologies for the treatment of dairy wastewaters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 442-452.
- [17] Tikariha ,A., Omprakash, S. (2014). Study of characteristics and treatments of dairy industry

- waste water. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 2(1), 16-22.
- [18] Özdemir, İ., Altıok, E., Gökkaya, D.S., Ötleş, S., Kabay, N., Yüksel, M. (2018). Peyniraltı Suyunun Fraksiyonlarına Ayrılmasında Bütünleşik Membran İşlemlerinin Uygulanabilirliği. *Akademik Gıda*, 16(4), 371-380.
- [19] Jung, F., Cammarota, M.C., Freire, D.M.G. (2002). Impact of enzymatic pre-hydrolysis on batch activated sludge systems dealing with oily wastewaters. *Biotechnology Letters*, 24, 1797-1802.
- [20] Sharma, N., Bhatnagar, P., Chatterjee, S., Goswami, P. (2017). Waste water microbes and environmental "clean up": Roadmap to environmental sustainability. *International Journal of Advanced Research in Science, Engineering and Technology*, 4(2), 3341-3350.
- [21] Frac, M., Jezierska-Tys, S., Oszust, K., Gryta, A., Pastor, M. (2017). Assessment of microbiological and biochemical properties of dairy sewage sludge. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14, 679-688.
- [22] Goli, A., Shamiri, A., Khosroyar, S., Talaiekhosani, A., Sanaye, R., Azizi, K. (2019). A review on different aerobic and anaerobic treatment methods in dairy industry wastewater. *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 6(1), 113-141.
- [23] Deshmukh D.S. (2017). Wastewater generation and its treatment in dairy industries. *International Journal of Application of Engineering and Technology*, 2(3), 25-35.
- [24] Eltem, R. (2001). Atık sular ve Arıtım, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Yayın No: 172, İzmir.
- [25] Yonar, T., Sivrioğlu, Ö., Özençin, N. (2018). Physico-chemical treatment of dairy industry wastewaters: A review. In: *Technological Approaches For Novel Applications in Dairy Processing* (Ed. N. Koca), IntechOpen Limited, UK.
- [26] Berkün, M. (2006). Atık Su Arıtma Ve Deniz Deşarjı Yapıları. Seçkin Yayıncılık, Ankara.
- [27] Carta-Escobar, F., Pereda-Marin, J., Alvarez-Mateos, P., Romero-Guzman, F., Duran-Barrantes, M.M., Barriga-Mateos, F. (2004). Aerobic purification of dairy wastewater in continuous regime. Part I: Analysis of the biodegradation process in two reactor configurations. *Biochemical Engineering Journal*, 21, 183-191.
- [28] Eroğlu, V. (2008). Atık suların tasfiyesi. Su Vakfı Yayını, İstanbul. Atık Su Yönetimi ve Çevre. <http://www.iski.gov.tr/Web/statik.aspx?KID=1001217> (Erişim Tarihi 19.01.2011).
- [29] Atamer M. (2005). Sütçülük Atıkları, Çevre Sorunları Ve Arıtma Yöntemleri. Süt Endüstrisinde Sanitasyon. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- [30] Martins, A.M.P, Pagilla, K, Heijnen J.J, Van Loosdrecht, M.C.M. (2004). Filamentous bulking sludge-a critical review. *Water Research*, 38, 793-817.
- [31] Cronje, G.L, Beeharry, A.O., Wentzel, M.C., Ekama, G.A. (2002). Active biomass in activated sludge mixed liquor. *Water Research*, 36, 439-444.
- [32] Vatansever, A. (2005). Aktif çamur yumaklaşmasında kalsiyum iyonu konsantrasyonunun etkisi. Yüksek Lisans Tezi. ODTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [33] Balasubramanian, R., Anirbid, S., Sivakumar, P., Anbarasu, K. (2018). Production of biodiesel from dairy wastewater sludge: A laboratory and pilot scale study. *Egyptian Journal of Petroleum*, 27, 945-953.
- [34] Judal, A.L., Bhadania, A.G., Upadhyay, J.B. (2015). Biological unit operation for waste water treatment: Aerobic Process. *International Conference of Advance Research and Innovation (ICARI-2015)*.
- [35] Byrne, R. J. (2002). Design and operation of dairy effluent treatment plants. In: *Encyclopedia of Dairy Science*, Hubert Roginski (Editor), Volume 2, Academic Press.
- [36] Özdemir, Z., Güzeloğulları, S., Sofu, A., Ekinci, F.Y. (2008). Aktif çamurdaki ekzopolisakkaritler. [cevre.club.fatih.edu.tr/webyeni/konfreweb/2008\\_pdf/sayfa388.pdf](http://cevre.club.fatih.edu.tr/webyeni/konfreweb/2008_pdf/sayfa388.pdf). (Erişim tarihi 11.02.2011).
- [37] Tanyolaç, A., Çelebi, S. S. (1992). Endüstriyel atık su arıtımı. TMMOB Kimya Mühendisleri Odası, Ankara Şubesi.
- [38] Dias, F.F., Bhat, J.V. (1964). Microbial Ecology of Activated Sludge. *American Society for Microbiology*, 12(5), 412-417.
- [39] Anonim. (2019). <http://omucevre.blogspot.com/2007/09/aktif-amur-mikrobiyolojisi.html>
- [40] Horan (1990). *Biological Wastewater Treatment Systems: Theory And Operation*. Wiley, New York, USA.
- [41] Haliki, A., Özdemir, G., Uzel A. (2004). Aktif çamur sistemlerinde sorun yaratan filamentli mikroorganizmaların izolasyonu ve kontrol stratejileri üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21(3-4), 275-277.
- [42] Wendorff, W.L. (1998). *Treatment of dairy wastes*. In: *Applied Dairy Microbiology*, Emler H. Marth, James L. Steele, Marcel Dekker INC, 461-484.
- [43] Gray, N.F. (2004). *Biology of wastewater treatment* (Second Edition). Series on Environmental Science and Management. Vol. 4 Hardcover. Imperial College Press.
- [44] Spellman, F.R. (1999). *Microbiology for Water and Wastewater Operators*. 1st Edition. CRC Press.
- [45] Spellman, F.R. (2013). *Handbook of Water and Wastewater Treatment Plant Operations*. 3rd Edition. CRC Press.

## Geleneksel Bir Meyve Çerezi: Pestil

Osman Onur Kara<sup>1</sup> , Erdoğan Küçüköner<sup>2</sup> <sup>1</sup>Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Antalya İl Müdürlüğü, Antalya<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 09.04.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 02.04.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): osmanonurkara@gmail.com (O.O. Kara)

☎ 0 242 643 60 12 - 2170 📠 0 242 643 60 08

### ÖZ

Pestil, pek çok farklı meyveden üretilebilen geleneksel bir meyve çerezidir. Karbonhidrat, enerji, mineraller ve lif açısından zengin bir gıda maddesidir. Soğukta depolanmaya ihtiyaç duymaz, serin ve kuru ortamda oda koşullarında muhafaza edilebilir. Ayrıca hafif olması nedeni ile kolay taşınıp depolanabilme özelliğine sahiptir. Pestil farklı şekillerde üretilmekle birlikte, ülkemizde geleneksel olarak üretilen pestiller, meyve suyu ya da püresi ile nişasta karışımının ısıtılıp, ince bir tabaka halinde dökülerek kurutulmasıyla elde edilmektedir. Kurutma işlemi güneşte kurutularak ya da sıcak hava kurutucularla gerçekleştirilir. Bu çalışmada pestil üretimi, bileşimi ve besin değeri, üretiminde kullanılan bileşenler, paketlenme ve depolanması gibi konular hakkındaki bilgiler derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Pestil, Meyve çerezi, Kurutulmuş gıda

### A Traditional Fruit Snack: Fruit Leather

#### ABSTRACT

Fruit leather is a traditional fruit snack, which can be produced from a variety of fruits. It is high in carbohydrate, energy, minerals and fiber. It does not require cold storage. It can be kept under ambient room conditions in cool and dry place. Due to its reduced weight, it can be shipped and stored easily. Fruit leathers can be produced by different methods; however, in Turkey, fruit juice or puree and starch mixture are heated and then poured as thin layer in a traditional production. It is dried in this shape, and drying is performed under sun light or in hot air dryers. In this study, the production methods, composition and nutritional values, ingredients used in the production, packaging and storage of fruit leathers are reviewed.

**Keywords:** Fruit leather, Fruit snack, Dried food product

### GİRİŞ

Meyveler yaş haldeyken kısa sürede bozulan gıdalardır [1]. Bu bağlamda dayanıklılıklarını arttırmak, besin değerlerini daha uzun süre koruyabilmek için geçmişten günümüze farklı işlemler uygulanmaktadır. Bu işlemlerden birisi de meyvelerin kurutulmuş bir meyve çerezi olarak pestile işlenmesidir. Pestil, farklı şekillerde üretilmekle birlikte nemli meyve püresinin düz bir zemine ince bir tabaka halinde dökülerek, kohesif derimsi yapı

sağlanana kadar kurutulmasıyla elde edilen bir ürün olarak tanımlanır [2]. Elma, üzüm, dut, kayısı, muz, kiraz, portakal, armut, ananas, erik, çilek, mandalina ve şeftali gibi pek çok farklı meyveden ayrıca domates ve kabaktan pestil üretilebilmektedir (Şekil 1) [3, 4, 5]. Özellikle küçük ezik ve çürüklere sahip meyveler ya da taze tüketime uygun olmayan fazlaca olgun olanlar, pestile işlenerek değerlendirilebilmektedir [3]. Pestil, yenilmesi kolay ve paketlemeye uygun olması nedeni ile hemen her yerde tüketilebilen bir meyve çerezidir. Hafif



oldukları için depolanmaları kolaydır ve soğukta depolanmaya ihtiyaç duymazlar. Bu özellikleri ile gezginler, kampçılar, piknikçiler gibi gıdalarını yanlarında taşıyanlar için pratik bir seçenektir [6, 7].

Pestil, deriye benzeyen parlak görünümü nedeniyle İngilizce'de "fruit leather" olarak adlandırılır [8]. Günümüzde tüketicilerin sağlıklı ve fonksiyonel

özelliklere sahip gıdalara yönelmeleri, bir meyve ürünü olan pestile olan ilgiyi de artırmış, son yıllarda başta Avrupa olmak üzere uluslararası pazarlardaki talebi gitgide artan bir ürün olmuştur [4, 9]. Ülkemizde çeşitli yörelerde geleneksel olarak üzüm, dut, erik, elma ve kayısı gibi değişik meyvelerden üretilip yıl boyu tüketilmektedir [10].



a)



b)

Şekil 1. a) İncir pestili [11] b) Altınçilek pestili

## PESTİLİN KİMYASAL BİLEŞİMİ VE BESİN DEĞERİ

Pestil, şekerleme ya da atıştırmalık olarak tüketilir. Bununla beraber kurutma işlemi boyunca suyun uçurulmasıyla meyvedeki şekerlerin, asitlerin, vitaminlerin ve minerallerin konsantrasyonuna hale gelmesinden dolayı, besin değeri yüksek bir gıdadır [6, 12]. Özellikle içerdiği yüksek şekerden dolayı iyi bir karbonhidrat ve enerji kaynağıdır [13]. Bu özelliği onu, enerji gereksinimi

fazla olan çocuklar ve gençler için iyi bir atıştırmalık yapar. Ayrıca yüksek lif içeren meyvelerden elde edilenleri önemli bir diyetel lif kaynağıdır [14]. Meyve kurumada tüketimini arttırmak için de, pestil tüketimi pratik bir yoldur [12].

Farklı meyvelerden üretilen pestillerin kimyasal bileşim değerleri üzerine yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Farklı meyvelerden üretilen pestillerin kimyasal bileşimi [15]

Bileşen (%)	Dut	Erik	Kayısı	Üzüm
Nem	14.3	19.5	17.3	11.3
Toplam Şeker	83.4	79.0	80.1	87.6
Protein	2.0	2.0	1.9	4.1
Toplam Kül	1.4	1.6	3.5	1.6
Ham Yağ	0.4	0.1	2.6	0.6

Tablo 2. Farklı meyvelerden üretilen pestillerin mineral değerleri [15]

Bileşen (mg/kg)	Dut	Erik	Kayısı	Üzüm
Demir	14	11	46	13
Bakır	10	6	9	10
Fosfor	401	821	865	1099
Potasyum	3881	8061	15206	5173
Sodyum	215	245	207	203
Kalsiyum	2507	3828	2318	2563
Magnezyum	47	68	72	65

Yapılan bir başka çalışmada, ülkemizdeki yerel marketlerden alınan üzüm, dut ve kayısı pestillerinin bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir [16]. Pestil örneklerinde nem değerleri %11.8-18.3 arasında ve kurumada bazında sırasıyla, kül değerleri %0.2-3.6 arasında, protein değerleri %3-4.6 arasında, yağ değerleri %0.3-3.4 arasında, karbonhidrat değerleri %73.7-82.4, enerji değerleri 321.5-356.4 kcal/100 g

arasında bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada bazı mineral madde konsantrasyonları da ölçülmüş; kalsiyum 25.2-207.6 mg/100 g, demir 0.3- 12.0 mg/100 g, magnezyum 29.3-66.8 mg/100 g, çinko 0.3-12.8 mg/100 g değerleri aralığında tespit edilmiştir. Pestillerin genel karakteristik olarak karbonhidrat, enerji ve mineral madde açısından zengin ürünler oldukları farklı meyve pestilleri

kullanılarak yapılmış olan bu çalışma sonuçlarında da gözlenmektedir.

Pestillerde incelenen bir diğer fizikokimyasal özellik de gıda ürünleri açısından önemli bir kalite faktörü olan su aktivitesidir. Gıdalarda mikrobiyal gelişim, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar, lipid oksidasyonu, tekstürel değişim, tat ve aroma gibi pek çok önemli olay, su aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir [17]. Yapılan farklı çalışmalarda pestillerde bulunan su aktivitesi değerleri ( $a_w$ ); elma pestilinde 0.7 [7], mango pestilinde 0.62 [18], durian isimli meyvenin pestilinde 0.57-0.62 [19], ananas pestilinde 0.44-0.54 [8], papaya pestilinde 0.50-0.52 [20] şeklindedir. Gıdalarda 0.6  $a_w$ 'nin altındaki su aktivitesi değerlerinde mikrobiyal gelişimin gerçekleşmediği bildirilmiştir [21]. Farklı çalışmalarda elde edilen pestillerin nem oranlarına bakıldığında ise; üzüm pestillerinde %13.6-16.3 arasında, dut pestillerinde %11.8-13.8 arasında, kayısı pestillerinde %13-18.3 arasında [16], bir diğer çalışmada kayısı pestillerinde %13.12-14.39 arasında [22], mango pestillerinde %17.2 [18] şeklindedir. Meyvelerde nem oranının %15 ve altında olmasının mikrobiyal gelişimi ve bazı kimyasal reaksiyonları (lipid oksidasyonu, enzimatik olmayan esmerleşme, şeker kristalizasyonu, vb.) kısıtladığı bildirilmiştir [23]. Sonuç olarak, pestillerin genelde orta seviyede su aktivitesi ve düşük nem oranlarına sahip oldukları görülmektedir. Düşük nem değerleri ve içerdikleri meyvenin doğal asitliği, pestilleri mikrobiyolojik açıdan daha güvenilir ve dayanıklı kılmaktadır [24]. Uygun biçimde kurutulup paketlenenler takdirde bu ürünler soğuk zincire gerek duyulmadan aylarca muhafaza edilebilir. Mango pestilleri üzerine yapılan bir çalışmada, düşük nem oranı (%17.2), su aktivitesi (0.62) ve pH (3.8) değerlerinin kombinasyonu ile herhangi bir kimyasal koruyucu kullanılmadan, oda sıcaklığında ürünlerin altı ay boyunca mikrobiyolojik açıdan stabil kaldıkları bildirilmiştir [18].

Kayısı pestilleri üzerine yapılan bir çalışmada, farklı şartlarda kurutulmuş elde edilen kayısı pestillerinde toplam fenolik bileşik miktarı, gallik asit eşdeğerinde 110-121 mg/100 g değerleri arasında bulunmuş ve taze meyveye göre (60.34 mg/100 g) pestillerde fenolik bileşik konsantrasyonları daha yüksek miktarda bulunmuştur. Aynı çalışmada antioksidan aktivite değerleri ise pestillerde %8.91-27.82 değerleri arasında bulunmuş taze meyve antioksidan aktivite değerinden (%46.52) düşük olduğu gözlenmiştir [22]. Yapılan bir diğer çalışmada ise dut pestilinde toplam fenolik bileşik miktarı, gallik asit eşdeğerinde 4.79 mg/g, erik pestilinde 28.36 mg/g olarak, antioksidan aktivite oranları ise dut pestilinde %40.05 ve erik pestilinde %90.92 olarak bulunmuştur [25]. Mango pestili üzerine yapılan bir çalışmada ise 80°C'de kurutma ile elde edilen pestilde, meyve püresindeki  $\beta$ -karoten miktarının %75'i kadar  $\beta$ -karoten korunurken, 90°C'de kurutma sonucu ise %35'den azı korunabilmiştir [26]. Meyvelerin fenolik bileşikler, karotenoitler gibi sağlık açısından faydalı özelliklere sahip biyoaktif bileşenlerce zengin olduğu bilinmektedir [27]. Son ürünlerdeki miktarları; kullanılan meyve türü, kullanılan diğer bileşenlerin miktarı ve kurutma şartları gibi farklı etmenlere bağlı

olmakla birlikte [22, 25, 28], pestil bu bileşenlere kaynak olma özelliğini korumaktadır.

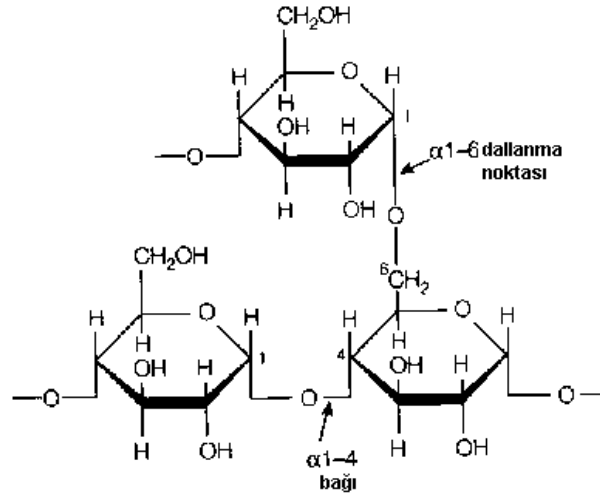
## PESTİL ÜRETİMİNDE KULLANILAN BİLEŞENLER

Pestil üretiminde meyve püresi ya da meyve suyu konsantresi kullanılmaktadır. Ayrıca fizikokimyasal ve duyu özelliklerini iyileştirmek için şeker, asit, nişasta ya da pektin gibi bileşenler de ürün bileşiminde yer alır [8]. Ülkemizde üretilen pestillerde jelleştirici olarak nişasta veya nişasta içeren buğday unu kullanılır ve kullanılan katkı maddeleri içinde en önemlisidir [15, 23].

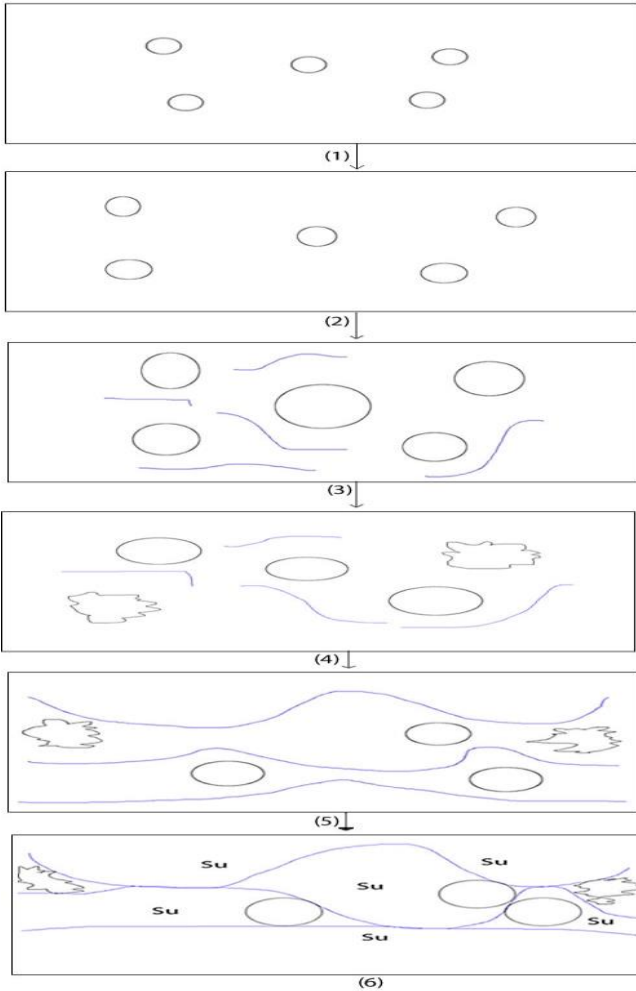
Nişasta, başlıca amiloz ve amilopektin moleküllerinden oluşan, bitkilerde bulunan bir depo polisakkaritidir. Amiloz,  $\alpha$ -1,4 glukozidik bağlarla bağlanmış (Şekil 2), düz glukoz zincirlerinden oluşmaktadır. Amilopektin ise  $\alpha$ -1,4 glukozidik bağları ile bağlanmış glukoz zincirlerinin yanında  $\alpha$ -1,6 bağlanmalarla yan (Şekil 2), zincirler oluşturmaktadır. Amilozun çözünürlüğü yüksektir ve düz zincir yapısından dolayı sert jel ve güçlü film oluşturma özelliğine sahiptir. Halbuki amilopektin, yumuşak jel ve zayıf film oluştururken sıvı dispersiyonda da daha stabildir, su içerisinde çözünmekten çok şişme özelliği göstermektedir. Nişasta granülü %70-80 amilopektin ve %20-30 amiloz içermektedir [29]. Nişasta granülündeki amiloz-amilopektin oranı, nişastanın gıda endüstrisi açısından sahip olduğu fonksiyonel özellikler olan jellatinizasyon, çirilenme ve jelleşme özelliklerini doğrudan etkilemektedir [29, 31]. Nişasta, pestilde suyu bağlama özelliği ile ürünün tamamen kurumasını önleyerek ürünün yenilebilir kendine has kıvamının oluşmasını sağlar. Nişastanın yapısal formülü Şekil 2'de gösterilmiştir.

Ürüne yapımı esnasında katılan nişasta granülleri, progresif ısıtma ile sıra içerisinde şişerek kristalliklerini ve moleküler organizasyonlarını kaybederler. Bu olaya jellatinizasyon denir. Şişen granüle amiloz çözünerek granülün dışına çıkar. Çözünerek granül dışına çıkan amiloz molekülleri ortamda koloidal çözülmüş halde bulunurlar. Amilopektin molekülleri ise kısmi olarak çözünmektedirler. Şişen nişasta granüllerinden bazıları bu esnada koparak parçalanır [33]. Kopma ve parçalanma ile nişasta moleküllerinde küçülme gerçekleşmekte ve ortamın viskozitesi artmaktadır. Bu olaylar sonucunda viskozitenin en yüksek hale geldiği durum ise çirilenme olarak adlandırılır [34]. Çirilenme sırasında nişasta moleküllerinin kısalması ile nişastanın daha az su emmesi sağlanmaktadır. Böylelikle daha sonra üründe su salma gerçekleşmemekte ve sertleşme ile pestile has yapı elde edilmektedir [35, 36].

Çirilenmiş nişasta soğutulduğunda ya da kurutma esnasında jelleşme meydana gelir. Nişasta moleküllerinin sulu ortamda yeniden birleşmeye başlamaları ile üç boyutlu ağ yapısının oluşmasına jelleşme denir [37]. Kurutma sırasında daha önceden granüllerden çıkmış amiloz molekülleri ile granüller arasında yeniden bir yakınlaşma ile kesişme bölgeleri oluşmaktadır. Daha sonra bu kesişme bölgeleri tamamen kapanarak iç kısımlarında su bulunan sıkışmış jel yapı elde edilir [31, 38]. Nişastanın jelleşmesi Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 2. Nişastanın yapısal formülü [32]



Şekil 3. Nişastanın jelleşmesi [38]

1- Su içinde nişasta granülleri 2- Isıtma ile granüllerin şişmesi 3- Amiloz zincirlerinin granül dışına çıkışı 4- Şişen nişasta granüllerin bazılarının kopuşu 5- Kurutma sırasında amiloz zincirleri ile nişasta granülleri arasında yaklaşmanın gerçekleşmesi 6- Amiloz zincirleri ile nişasta granülleri arasında oluşan kesişme bölgelerinin tamamen kapanması ile jel yapının oluşması

Pestilde tatlandırmak, ekşiliği azaltmak amacıyla ise şeker (sakkaroz), bal, mısır ya da glukoz şurubu ve sakkarin bazlı tatlandırıcılar kullanılabilir [39, 40]. Tatlandırıcılar, pestilde tatlılık sağlama fonksiyonunun yanında kurumaddenin artırılmasına ve pestilin jel yapısının sağlanmasına da katkı sunmaktadırlar [41].

Pestil üretiminde kurutma boyunca ve depolama esnasında enzimatik olmayan esmerleşme sonucu ürün renginde koyulaşma veya esmerleşme görülebilmektedir. Bu durum özellikle elma, armut, kayısı ve muz gibi açık renkli meyvelerde öne çıkar. Kurutma sıcaklığı, kurutma süresi, su aktivitesi, pH ve ürün bileşimi enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarını etkileyen etmenlerdir. Kurutma sıcaklığının ve süresinin artışı bu reaksiyonları hızlandırır. Asitlik artışı, reaksiyon hızını sınırlandıran bir etmenddir. Su aktivitesi ise çok düşük ve çok yüksek değerlerde iken enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları azalmakta, 0.6-0.7  $a_w$  değerlerinde maksimum değere çıkmaktadır[17, 42]. Pestilde bu reaksiyonların oluşumunu önlemek için sitrik asit ya da askorbik asit kullanılır [3, 43]. Doğrudan limon suyu kullanılarak da aynı etki sağlanabilmektedir [44]. Asit ilavesi, yüksek şeker konsantrasyonu ile birlikte pestilin jelleşmesine de katkı sunmaktadır. Ayrıca, asit ilavesinin kurutma boyunca üründe bakteri yıkımını arttırdığı bildirilmiştir [45].

Pestile tarçın, nane gibi baharatlar ve fındık, fıstık ve ceviz gibi çerezler de eklenebilmektedir [6]. Yağ ve proteince zengin gıdaların karbonhidrat emilimini yavaşlatmasından dolayı [46], zengin şeker içeriğine sahip bir ürün olan pestilin, ceviz, fındık gibi yağ ve proteince zengin yiyeceklerle birlikte tüketilmesi, kan şekeri seviyesinin düşmesine katkıda bulunabilir.

## PESTİL ÜRETİMİ

Genel olarak meyvelerden pestil yapım aşamalarının; meyvenin hazırlanması, ısıtma, meyve püresinin hazırlanması, katkıların ilave edilerek karıştırılması ve kurutma ile pestilin eldesi şeklinde olduğunu bununla beraber bu prosesin, kullanılan meyve, katkı maddeleri

ve kurutma metoduna göre değişebileceği bildirilmiştir [43]. Ülkemizde de yöreye göre farklı uygulamalar olmakla birlikte geleneksel tarzda üzüm, erik ve kayısı pestillerinin üretimi aşağıda anlatıldığı şekilde yapılmaktadır.

Ülkemizde geleneksel yöntemlerle başlıca üretilen pestil üzüm pestilidir. Geleneksel üzüm pestili yapımında öncelikle meyvelerin temiz ve kullanıma uygun hale gelmesi için yıkama ve ayıklama işlemi yapılmaktadır. Daha sonra sap ve salkımlarından ayrılan üzümler parçalanarak bir pres yardımıyla preslenir. Bu aşamada bir bez yardımıyla süzme işlemi yapılarak çekirdek vb. parçalar ayrılır. Çekirdeklerinden ayrılan şıraya asitliği gidermek için %70 civarı kalsiyum karbonat içeren pekmez toprağı eklenip, tortunun kazanın dibine çökmesi beklenerek tekrar süzme yapılır. Asitlik giderilmek istenmezse bu işlem uygulanmaz. Bu aşamada şıranın bir bölümü nişasta veya un bulamacı

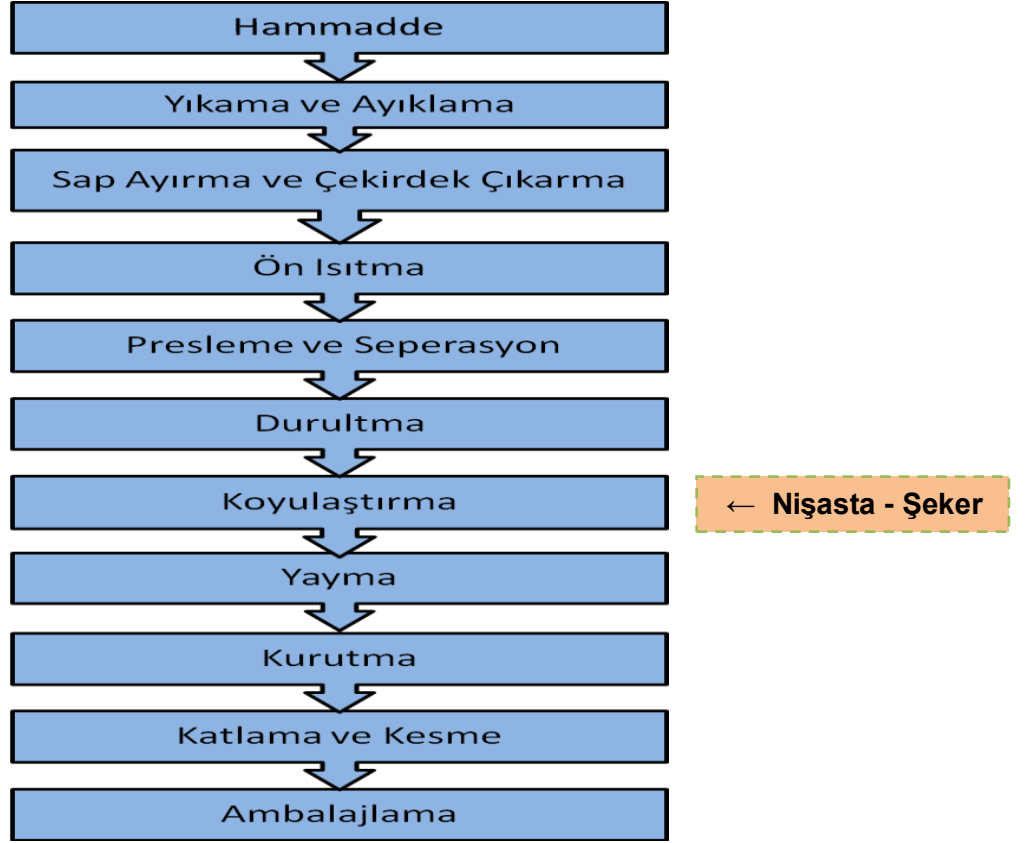
hazırlamak için ayrılır. Kazanda kalan kısım yaklaşık 30 dakika kadar kaynatıldıktan sonra nişasta veya un bulamacı da kazana eklenir ve istenen kıvama kadar kaynatılarak herle elde edilir. Herleler, güneş görecekt yerlere serilmiş olan bezlere, ince bir tabaka halinde dökülürken bir taraftan da mala benzeri bir araçla üzerleri düzeltilerek yayılmaları sağlanır (Şekil 4). Geleneksel olarak yapılan erik ve kayısı pestilinde ise çekirdekleri ayrılan meyveler ezildikten sonra palperden geçirilerek ya da manuel olarak meyve püresi ya da pulpu elde edilir. Daha sonra bir taraftan kaynamakta olan pulpa nişasta veya un bulamacı üzüm pestili üretimine benzer şekilde eklenir. İstenen kıvama gelen herleler kurutmak için bezlere yayılırlar. Güneş altında genelde bir iki günde kuruyan pestiller, kuruduklarında bezden sıyrılıp çıkarılarak depolanabilirler [15, 23, 35, 47]. Pestil üretim akım şeması Şekil 5'te gösterilmiştir.



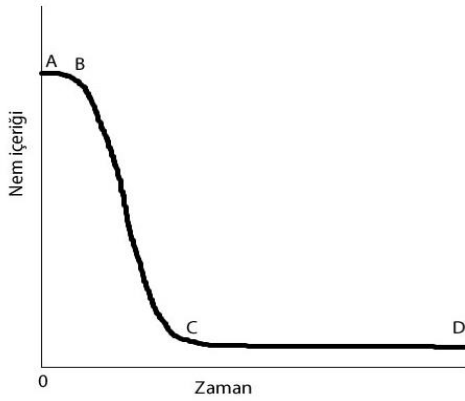
Şekil 4. Herlenin yayılması [48]

Pestiller güneşte ya da sıcak havalı kurutucular gibi endüstriyel kurutucularda kurutulabilir [6, 49]. Güneşte kurutmada, ortamın ısınması doğal olarak güneş ışınlarıyla gerçekleştiği için ucuz bir metottur. Ayrıca yatırım maliyeti düşüktür. Pek çok gıdada başarıyla kullanılmaktadır. Bununla beraber kurutma işleminin uzun sürmesi, işlemin açıkta yapılması nedeniyle çevresel kontaminasyonlara maruz kalma olasılığı, hava koşullarındaki değişim ve iş gücü gereksinimi gibi dezavantajları vardır [40]. Sıcaklık değeri, ortamdaki nem oranı ve hava sirkülasyonu, kurutma işlemini doğrudan etkileyen etmenlerdir. Eğer sıcaklık düşerse ve ortam nemi yüksekse gıda daha yavaş kurur ve üründe istenmeyen mikroorganizma gelişimi gerçekleşebilir [50]. Bu nedenle daha güvenli ve kontrol edilebilir bir kurutma prosesi ile kaliteli ürün eldesi için endüstriyel kurutma yöntemleri kullanılmaktadır [23, 51]. Pestil üretiminde bu amaçla güneşte kurutmanın yanında sıcak havalı konvektif tip kurutucular yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kurutucular, hızlı kuruma ve standart ürün eldesi sağlarlar ve hijyen açısından oldukça güvenilirlerdir [52]. Kurutma boyunca kurutma kinetiğinin etkisiyle üründe fiziksel ve kimyasal değişimler gerçekleşir. Kurutmada zamanla nem içeriğinde meydana gelen değişim, Şekil 6'da kurutma eğrisinde gösterilmiştir. Eğride üç temel bölüm gözlenir.

İlk bölüm (A-B)'de, gıdanın iç ısı, yüzeyinde buharlaşmaya neden olur. Yüzey sıcaklığı kurutma havasının yaş termometre sıcaklığına geldiği zaman bu bölüm son bulur. İkinci bölüm (B-C), sabit oran periyodudur. Havadan, gıda yüzeyine olan ısı transferine paralel olarak yüzeyden su sürekli hareketli hava akımına aktarılır. Üçüncü bölüm (C-D), düşen oran periyodudur. Başlangıçta yüzeyde bulunan su buharlaşmıştır. Ürünün merkezindeki su sürekli yüzeye geçer. Bu periyotta kuruma oranı düşmektedir. Yüzey sıcaklığı kurutma havasının kuru termometre sıcaklığına gelinceye kadar artar. Bu nedenle gıdada ısı zararları genelde düşen oran periyodunda gerçekleşmektedir [53, 54, 55]. Sabit oran periyodu boyunca gıda yüzeyi ıslaktır. Düşen oran periyodunda ise kurudur. Bu nedenle sabit oran periyodunun çok uzun olması halinde gıdada bozulma riski oluşur. Gereğinden kısa olması da yüzeyin aşırı sertleşmesiyle kabuk bağlamaya neden olur [53]. Sabit oran periyodunda kurutmanın başarılı gerçekleşmesi için kurutma havasının; orta derecede yüksek sıcaklık, düşük bağıl nem ve yüksek hava akışı özelliklerini sağlaması gereklidir [54]. Düşen oran periyodunda ise hava sıcaklığı ve ürün kalınlığı önemli etkiye sahipken hava akış hızı kurutma üzerinde çok etkili olmamaktadır [56].



Şekil 5. Pestil üretim akım şeması [15, 35]



Şekil 6. Nem içeriği zaman kurutma eğrisi [57]

Kurutma işleminde sıcaklığın kontrolü çok önemlidir. Çok yüksek sıcaklık sertleşmeye ve suyun çıkışının engellenmesine neden olur. Ayrıca dökülen herlerin kalınlığı da önemlidir. Çok ince olması ürünü kırılgan yapar ve kuruduktan sonra yüzeyden çıkarmayı zorlaştırır. Kalın olması halinde ise yeterli kurumaz ve bu durum depolamada ürünün bozulmasına neden olur [18]. Pestiller dış kenarlarından merkeze doğru kururlar. Kurumayı kontrol için pestilin birkaç yerine parmakla bastırılır. Çentik veya çukur oluşmuyorsa kuruma tamamlanmıştır. Ya da kenarından kaldırıp çekince kuruma yüzeyinden kolayca sıyrılıyorsa kuruduğu anlaşılmaktadır [6]. Bir diğer yolda doğrudan orta kısmına dokunmaktır. Merkezi nemliyse pestil kurumamıştır [44]. Pestil gereğinden fazla kurutulursa

kırılgan ve ufalanır halde olur. Tam kurumazsa da depolamada küflenerek bozulmaktadır [6].

Kurutma pestil üretimindeki en önemli aşamadır [28]. Pestilde kurutma sıcaklığı, hava akışı ve örnek kalınlığının kuruma karakteristikleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, hava akışı hariç çalışılan değişkenlerin ürün nemi üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir [23]. Yapılan bir başka çalışmada kurutma hava sıcaklığının, hava neminin ve hava akış hızının, jackfruit isimli meyvenin pestilinin kurutulması üzerine etkileri incelenmiş, kurutma sıcaklığı arttıkça kuruma oranının arttığı ve son üründeki nem oranının düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca artan hava bağıl nemi kuruma oranını düşürmüştür, kurutma süresini ve son ürün nem oranını arttırmıştır. 1.5 m/s üzerinde hava akış hızı kullanılmasından jackfruit pestilinin kurutulmasında kaçınılması gerektiği bildirilmiştir. Çünkü bu değerlerin üzerindeki hızlarda kuruma oranı hava akışından bağımsız gerçekleşmiştir. Ürün rengi ise 50°C'nin üzerindeki sıcaklıkta belirgin değişiklik göstermiştir. Bu nedenle pestilin kurutulması için optimum sıcaklığın 50°C olduğu bildirilmiştir. Bağıl nem oranı ve hava akış hızı ise ürün rengini etkilememiştir [9]. Durian isimli meyvenin pestilinde kurutma şartlarının optimizasyonu üzerine yapılan bir çalışmada ise, sıcak hava kabin tip kurutucuda ve fırında kurutularak üretilen durian pestillerinin bazı fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Sıcaklık ve zaman bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, her iki değişkeninde duyuşal özellikleri belirgin şekilde etkilediği tespit edilmiştir. Kabinde kurutulmuş ürünün Hunter b değeri hariç, sonuçlar kurutma koşullarının nem, su aktivitesi, enzimatik

olmayan esmerleşme, tekstür ve C vitamini değerlerini belirgin bir şekilde etkilediğini göstermiştir. Her iki kurutucu ile elde edilen pestiller, tat, aroma, tekstür, görünüm ve genel kabul edilebilirlik açısından yapılan duyuusal değerlendirmeden olumlu sonuçlar almışlardır [28]. Papaya ve elma karışımından, üç farklı sıcaklıkta (55, 65 ve 75°C'ler) kurutma ile elde edilen pestillerdeki C vitamini korunumu üzerine yapılan bir çalışmada ise, meyve püresindeki C vitamini miktarı 31,23 mg/100 g iken, 55°C'de kurutulmuş pestilde 23.42 mg/100 g, 65°C'de kurutulmuş pestilde 21.86 mg/100 g ve 75°C'de kurutulmuş pestilde 17.18 mg/100 g olarak bulunmuştur. Kurutma sıcaklığı yükseldikçe kurutma süresi kısalmış ve bu çalışmada bu durum C vitamini korunumunu arttırmıştır [58]. Çilek pestili üzerine yapılan bir başka çalışmada ise yine üç farklı sıcaklıkta (55, 65 ve 75°C'ler) kurutma ile elde edilen pestillerdeki fenolik bileşik miktarlarının yükselen kurutma sıcaklığı ile belirgin şekilde azaldığı (55°C > 65°C > 75°C), bu çalışmada düşük sıcaklık ve uzun kurutma süresinin fenolik bileşik korunumunu daha iyi sağladığı ve 10 haftalık depolama boyunca fenolik bileşik miktarlarının stabil kaldığı bulunmuştur [59].

## PAKETLEME VE DEPOLAMA

Pestil üretiminde önemli bir unsur da paketlemedir. Paketleme materyalinin, kolay kullanılabilir ve aynı zamanda ürünün tüketimini kolaylaştırıcı olması gerekir. Ayrıca pestil, yüksek oranda higroskopik bir üründür. Yapısal olarak ortam neminden kolaylıkla etkilenebilmektedir. Depolanmasında ürünlerdeki nem değişiminin tekstürel özelliklerini etkilemesi de karşılaşılabilen bir sorundur. Bu nedenle kullanılan ambalajın nem geçirgenliği çok önemlidir. Üretim sonrası uygun paketleme materyali ile derhal paketlenmelidir [60]. Bu amaçla, selofan kağıt ya da polietilen ambalaj malzemeleri kullanılabilir [61]. Ambalajlanan pestil, temiz ve kuru bir ortamda depolanmalıdır [15]. Pestil depolama ile ilgili literatürde yer alan bir çalışmada, iki farklı elma püresi formülasyonundan elma pestilleri hazırlanmış ve bunların kurutma sonrası ve depolama boyunca esmerleşme indeksi, antioksidan aktivite gibi bazı parametrelerindeki değişimler değerlendirilmiştir. İlk elma püresi formülasyonunda şeker ve sitrik asit bulunurken, ikinci formülasyonda bunlara ek olarak potasyum metabisülfid yer almıştır. Yedi aylık depolama sonunda asitlikteki değişimin ihmal edilebilir olduğu, su aktivitesinin değişmediği ve maya-küf sayılarının depolama boyunca düşük kaldığı bildirilmiştir. Ayrıca her iki formülasyonda da depolama boyunca esmerleşme indeksi sürekli artmakla birlikte potasyum metabisülfid eklenen formülasyonda bu artış daha sınırlı olmuştur. Yine antioksidan aktivitesindeki azalma, potasyum metabisülfid eklenen formülasyonda %15,9 iken diğer formülasyonda %47 olmuştur [7]. Yapılan başka bir çalışmada ise, papaya püresine sakkaroz ve kükürtdioksit ekleyerek elde edilmiş olan pestilde, kükürtdioksitin depolama ve işlem boyunca renkteki değişimi azalttığı belirlenmiştir [20]. Üç farklı formülasyondan hazırlanan durian pestilleri ile yapılan bir çalışmada da pestiller on iki hafta depolanarak fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuusal özellikleri

incelenmiştir. On iki haftalık depolama sonunda tüm durian pestillerinin stabil olduğu ve küf sayılarının düşük olduğu tespit edilmiştir [62]. Yapılan bir diğer çalışmada ise, dört farklı ambalaj malzemesi kullanarak durian pestilinde depolama stabilitesi çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan ambalajlar, lamine alüminyum folyo, yüksek yoğunluklu polietilen, düşük yoğunluklu polietilen ve polipropilendir. Depolama oniki hafta boyunca sürdürülmüştür. Depolama sonunda enzimatik olmayan esmerleşme tüm ürünlerde artarken en fazla artış düşük yoğunluklu polietilen ambalajda bulunan üründe gerçekleşmiştir. Toplam mezofilik bakteri ve maya-küf sayıları ise tüm örneklerde depolama boyunca düşük kalmıştır. Örneklerde yapılan duyuusal analiz sonuçlarına göre ise tüm örnekler depolama boyunca panelistlerce kabul edilebilir bulunmuştur [63]. Bu çalışmada sonuçlarından da pestillerin uygun şart ve koşullarda depolandıkları takdirde, genel olarak, fizikokimyasal ve mikrobiyolojik olarak oldukça stabil ürünler oldukları gözlenmektedir.

## PESTİLİN KULLANIM ALANLARI

Pestil, atıştırmalık meyve çerezi olarak tüketiminin yanında, bisküvi, kurabiye, dondurma gibi çeşitli gıdalarda bileşen olarak yer almakta [19], pasta dolgusu olarak ve tatlılarda da kullanılabilir [64, 44]. Ayrıca gıdalarda raf ömrünü uzatmak için yenilebilir film olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [65]. Ülkemizde de pestilden ballı tatlı, muska, pikolalı köme, çokopestil gibi ürünler geliştirildiği bildirilmiştir [10].

## SONUÇ

Geleneksel kurutulmuş meyve çerezi olan pestiller, özellikle enerji, mineral madde ve lif açısından zengin gıdalardır. Pestil geleneksel bir ürün olmakla birlikte endüstriyel olarak da üretimi yapılmaktadır. Dayanıklı olması, hafif olması, kolay paketlenmesi ve kolay tüketimi gibi özellikleri ile gitgide artan bir popülarite ve talebe sahiptir. Ayrıca üretildikleri meyveler dolayısıyla barındırdıkları fenolik bileşikler, karotenoidler gibi fonksiyonel bileşenler de, gelecekte üretim koşullarının daha da geliştirilerek, yaygın üretilen ve tüketilen, alternatif bir atıştırmalık olabilmeleri açısından bu ürünleri daha cazip kılmaktadır. Meyveciliğe olan ilginin artması ve bu alandaki gelişmeler, meyvelerin değerlendirilmesi ve katma değer sağlanması açısından farklı ürünlere işlenmelerini gerekli kılmaktadır. Meyvelerin kurutulması ya da pestile işlenmesi, özellikle fonksiyonel gıda pazarına yönelik, yurtiçi ve ihracat için önemli potansiyele sahip seçeneklerdir. Bu bağlamda ürünlerin fonksiyonel özelliklerinin ortaya konması, üretim metotları, depolama ve paketlenmeleri ile ilgili çalışmaların yapılmasının yanında özellikle ürün tanıtımına da ağırlık verilmelidir.

## KAYNAKLAR

- [1] Topdaş, E.F., Başlar, M., Ertugay, M.F. (2011). Elmaların ozmotik kurutulması üzerine ultrases işleminin etkisi. *Akademik Gıda*, 9(5), 6-10.
- [2] Moys, A.L. (1981). Drying of apple pures. *Journal of Food Sciences*, 46(3), 939-942.

- [3] Raab, C., Oehler, N. (1976). Making Dried Fruit Leather. Oregon State University Extension Service.
- [4] Che Man, Y.B., Sin, K.K. (1997). Processing and consumer acceptance of fruit leather from the unfertilised floral parts of jackfruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75(1), 102-108.
- [5] Johnson, M.M. (1983). Fruit leather. Montana State University Cooperative Extension Service.
- [6] Ayotte, E. (1980). Fruit leather. Alaska Cooperative Extension Service. Fairbanks, Alaska.
- [7] Ruiz, N.A.Q., Demarchi, S.M., Massolo, J.F., Rodoni, L.M., Giner, S.A. (2012). Evaluation of quality during storage of apple leather. *Food Science and Technology*, 47(2), 485-492.
- [8] Phimpfarian, C., Jangchud, A., Jangchud, K., Therdthar, N., Prinyawiwatkul, W., No, H.K. (2011). Physicochemical characteristics and sensory optimization of pineapple leather snack as affected by glucose syrup and pectin concentrations. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 972-981.
- [9] Chowdhury, M.M.I., Bala, B.K., Haque, M.A. (2010). Mathematical modeling of thin-layer drying of jackfruit leather. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(6), 797-805.
- [10] Yıldız, O., Aliyazıcıoğlu, R., Şahin, H., Aydın, Ö., Kolaylı, S.A. (2011). Akdut (*Morus alba*) pekmezi, pestili ve kömesinin üretim metotları. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(1), 44-53.
- [11] Anonim, (2015a). Erişim tarihi:22.08.2015 [www.semireraslan.com](http://www.semireraslan.com).
- [12] Doymaz, İ. (2012). Evaluation of some thin-layer drying models of persimmon slices (*Diospyros kaki* L.). *Energy Conversion and Management*, 56, 199-205.
- [13] Nas, S., Nas, M. (1987). Pekmez ve pestilin yapılışı, bileşimi ve önemi. *Gıda*, 12(6), 347-352.
- [14] Madhar, K., Parimita. (2016). Studies on Development of Tomato Leather Prepared for Geriatric Nutrition. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 6(1), 1000446.
- [15] Ekşi, A., Artık, N. (1984). Pestil işleme tekniği ve kimyasal bileşimi. *Gıda*, 9(5), 263-266.
- [16] Cagindi, O., Ötles, S. (2005). Comparison of some properties on different types of pestil: a traditional product in Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 897-901.
- [17] Sablani, S.S., Rahman, M.S. (2008). Fundamentals of Food Dehydration. Food Drying Science and Technology. Edited by Hui, Y.H., Clary, C., Farid, M.M., Fasina, O.O., Noomhorm, A., Welti-Chanes, J. DEStech Publications, Inc. 439 North Duke St., 1st Floor Lancaster, Pennsylvania 17601 U.S.A., 792p.
- [18] Azeredo, H.M.C., Brito, E.S., Moreira, G.E.G., Farias, V.L., Bruno, L.M. (2006). Effect of drying and storage time on the physico-chemical properties of mango leathers. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(6), 635-638.
- [19] Irwandi, J., Che Man, Y.B., Yusof, S., Selamat, J., Sugisawa, H. (1998). Effect of glucose syrup solid, sucrose, hydrogenated palm oil and soy-lecithin on sensory acceptability of durian leather. *Journal of Food Processing and Preservation*, 22(1), 13-25.
- [20] Chan, H.T., Cavaletto, C.G. (1978). Dehydration and storage stability of papaya leather. *Journal of Food Science*, 43(6), 1723-1725.
- [21] Troller, J.A. (1980). Influence of water activity on microorganisms in foods. *Food Technology*, 34, 76-80.
- [22] Suna, S., Tamer, C.E., Incedayı, B., Sınır, G.Ö., Çopur, Ö.V. (2014). Impact of drying methods on physicochemical and sensory properties of apricot pestil. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 13(1), 47-55.
- [23] Maskan, A., Kaya, S., Maskan, M. (2002). Hot air and sun drying of grape leather (pestil). *Journal of Food Engineering*, 54(1), 81-88.
- [24] Madhav, K., Parimita, E. (2016). Development of fruit leather fortified with Calcium. *International Journal of Home Science*, 2(1), 277-279.
- [25] Şengül, M., Yıldız, H., Güngör, N., Okçu, Z. (2010). Total phenolic content, antioxidant activity, some physical and chemical properties of Pestil. *Asian Journal of Chemistry*, 22(1), 448-454.
- [26] Guarte, R.C., Pott, I., Mühlbauer, W. (2005). Influence of drying parameters on  $\beta$ -carotene retention in mango leather. *Fruits*, 60(4), 255-265.
- [27] Hung, P.V., Duy, T.L. (2012). Effects of drying methods on bioactive compounds of vegetables and correlation between bioactive compounds and their antioxidants. *International Food Research Journal*, 19(1), 327-332.
- [28] Che man, Y.B., Jaswir, I., Yusof, S., Selamat, J., Sugisawa, H. (1997). Effect of different dryers and drying conditions on acceptability and physicochemical characteristics of durian leather. *Journal of Food Processing and Preservation*, 21, 425-441.
- [29] Jane, J. (2009). Structural features of starch granule II. Chapter six. Starch Chemistry and Technology, Third Edition. Edited by BeMiller, J., Whistler, R., Academic Press, 193-236p.
- [30] Svihus, B., Uhlen, A.K., Harstad, O.M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 122, 303-320.
- [31] Anonim, (2012). Batur, A. Tahıl Teknolojisi I. [www.kirklareli.edu.tr/download//by-files/56412277.html](http://www.kirklareli.edu.tr/download//by-files/56412277.html).
- [32] Anonim, (2016). [www.geocities.ws/parrun2000/carbohydrate.html](http://www.geocities.ws/parrun2000/carbohydrate.html).
- [33] Blazek, J., Copeland, L. (2009). Effect of monopalmitin on pasting properties of wheat starches with varying amylose content. *Carbohydrate Polymers*, 78(1), 131-136.
- [34] Gönül, M. (1978). Nişastanın gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda*, 3(3), 113-119.
- [35] Batu, A., Kaya, C., Çatak, J., Şahin, C. (2007). Pestil üretim tekniği. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 71-81.
- [36] Anonim, (2013). Şekerli Ürünler Teknolojisi. [www.drkc.110mb.com/sugarsubj%20\(7\).pdf](http://www.drkc.110mb.com/sugarsubj%20(7).pdf).
- [37] Biliaderis, C.G. (2009). Structural transitions and related physical properties of starch. Chapter eight.

- Starch Chemistry and Technology, Third Edition. Edited by BeMiller, J., Whistler, R., Academic Press, 293-372p.
- [38] Anonim, (2014). Starch Gelatinization and Pasting, Gelation and Uglification. <http://www.cfs.purdue.edu/class/f&n630/gelatinizati on.ppt>.
- [39] Anonim, (1985). Maltodextrin builds solids base in fruit leathers. *Prepared Foods*, 154(6), 140.
- [40] Doymaz, İ., İsmail, O. (2011). Drying characteristics of sweet cherry. *Food and Bioproducts Processing*, 89(1), 31-38.
- [41] Vatthanakul, S., Jangchud, A., Jangchud, K., Therdthai, N., Wilkinson, B. (2010). Gold kiwifruit leather product development using quality function deployment approach. *Food Quality and Preference*, 21, 339-345.
- [42] Bonazzi, C., Dumoulin, E. (2011). Quality changes in food materials as influenced by drying processes. *Modern Drying Technology*, 3: Product Quality and Formulation, First Edition. Edited by Tsotsas E., Mujumdar, A.S. Wiley-VCH Verlag GmbH&C.
- [43] Ruiz, N.A.Q., Demarchi, S.M., Giner, S.A. (2011). Research on dehydrated fruit leathers. *11. International Congress on Engineering and Food*. Atina, Yunanistan.
- [44] Brown, S. (2009). Fruit Leathers. Food Safety&Nutrition. Washington State University, Clark County Extension.
- [45] Liess, D., 2003. New recommendations for drying fruit leather and meat jerky. Colorado State University Cooperative Extension.
- [46] Anonim, (2017). How does eating affect your blood sugar. <https://www.healthline.com/health/and-after-effect-eating-blood-sugar#carbohydrates3>.
- [47] Nas, S., Gökalp, H.Y. (1993). Kuşburnu ve pestil teknolojisi ve gıda değeri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2), 142-150.
- [48] Anonim, (2015b). [www.haberkelkit.com/haber-kelkit-in-ilk-pestil-fabrikasi-uretime-basladi-7996.html](http://www.haberkelkit.com/haber-kelkit-in-ilk-pestil-fabrikasi-uretime-basladi-7996.html).
- [49] Huang, X., Hsieh, F. (2005). Physical properties, sensory attributes and consumer preference of pear fruit leather. *Journal of Food Science*, 70(3), 177-186.
- [50] Hughes, K.V., Willenberg, B.J. (2004). Quality for keeps: Drying foods. University of Missouri Extension.
- [51] Doymaz, İ., 2010. Effect of citric acid and blanching pre-treatments on drying and rehydration of Amasya red apples. *Food and Bioproducts Processing*, 88, 124-132.
- [52] Kingsly, A.R.D., Singh, R., Goyal, R.K., Singh, D.B. (2007). Thin-layer drying behaviour of organically produced tomato. *American Journal of Food Technology*, 2(2), 71-78.
- [53] Wagner, M.K., Mennes, M.E., Johnson, C.E. (1987). Drying Food at Home. Historical documents of the Purdue Cooperative Extension Service, 939.
- [54] Ramaswamy, H., Marcotte, M. (2006). Food Processing Principles and Applications. CRC Press, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, 420p.
- [55] Jaturonglumlert, S., Kiatsiriroat, T. (2010). Heat and mass transfer in combined convective and far-infrared drying of fruit leather. *Journal of Food Engineering*, 100, 254-260.
- [56] Fellows, P.J. (1998). *Food Processing Technology*. Woodhead Publishing Limited, 505p, Abington Hall, Abingdon, Cambridge, CB1 6AH, England.
- [57] Sunderland, R. (2001). Hot air dryers. Snack food processing. Lancaster, Technomic Publishing Company, 205-226p.
- [58] Fulchand, C.R., Gunvantiao, J.V., Pralhad, I.M. (2015). Studies on effect of drying temperature and storage time on vitamin-C retention capacity and moisture content of papaya-apple fruit leather. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 34(4), 319-323.
- [59] Nikagolla, N.G.D.N., Gama-Arachchige, N.S. (2016). Antioxidant content, microbial quality and consumer preference of one-ingredient strawberry fruit leather. *Proceedings of Postgraduate Institute of Science Research Congress*, 7-8 Ekim 2016, Sri Lanka.
- [60] Valenzuela, C., Aguilera, J.M. (2015). Effects of different factors on stickiness of apple leathers. *Journal of Food Engineering*, 149, 51-60.
- [61] Dauthy, M.E. (1995). Fruit and vegetable processing. *FAO Agricultural Services Bulletin*, 119, 25-109.
- [62] Irwandi, J., Che Man, Y.B. (1996). Durian leather: Development, properties and storage stability. *Journal of Food Quality*, 19(6), 479-489.
- [63] Irwandi, J., Che Man, Y.B., Yusof, S., Jinap, S., Sugisawa, H. (1998). Effects of type of packaging materials on physicochemical, microbiological and sensory characteristics of durian fruit leather during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 427-434.
- [64] Babalola, S.O., Ashaye, O.A., Babalola, A.O., Aina, J.O. (2002). Effect of cold temperature storage on the quality attributes of pawpaw and guava leathers. *African Journal of Biotechnology*, 1(2), 61-63.
- [65] Kaya, S., Maskan, A. (2003). Water vapor permeability of pestil (a fruit leather) made from boiled grape juice with starch. *Journal of Food Engineering*, 57(3), 295-299.



## Probiyotik ve Prebiyotiklerin Bağırsak-Beyin Aksına Etkisi

Merve Özer<sup>1</sup> , Gonca Özyurt<sup>2</sup> , Şebnem Tellioglu Harsa<sup>1</sup>  

<sup>1</sup>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gülbahçe, Urla, İzmir

<sup>2</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Psikiyatrisi Anabilim Dalı, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 30.04.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 07.03.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [sebnemharsa@iyte.edu.tr](mailto:sebnemharsa@iyte.edu.tr) (Ş.T. Harsa)

☎ 0 232 750 62 91 📠 0 232 750 61 96

### ÖZ

Tüm dünyada değişen beslenme dinamikleri ile insanlar, sağlıklı yaşamı destekleyecek fonksiyonel besinler tüketmeye yönelmektedir. Günümüz yaşam koşullarında yaşanan stres düzeyi ve duyu değişimleri gibi psikolojik belirtilerin bağırsak mikrobiyotasını olumsuz yönde etkilemektedir. Bireylerde görülen nöropsikiyatrik bozukluklar, gama-amino bütirik asit vb. nörotransmitterlerin salınımindaki değişimlerde rol oynarken, fonksiyonel gıda bileşenleri terapötik ürün olarak bu nöropsikiyatrik bozukluklar üzerinde etkili olabilmektedir. Derlemenin amacı, prebiyotik ve probiyotiklerin ve bunları içeren fonksiyonel gıdaların mikrobiyota sağlığı, dolayısıyla bağırsak-beyin aksı üzerindeki olumlu katkılarının incelenmesidir. Probiyotik ve prebiyotik tanımı, sentezledikleri nörotransmitterler, nöropsikolojik sağlık üzerindeki etkileri, bağırsaklardaki metabolik bozuklukların nöropsikiyatrik rahatsızlıkların meydana gelmesindeki rolü, bağırsak-beyin ekseninin bu mekanizmadaki önemi bilimsel araştırmalar ve güncel literatür ışığında sunulmaktadır, bu disiplinlerarası alanda gıda biyobilimlerinin katkısının ve öneminin altı çizilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Psikobiyotik, Fonksiyonel Gıda, Beslenme, Nöropsikiyatrik bozukluklar, Nörotransmitter

### Effect of Probiotics and Prebiotics on Gut-Brain Axis

#### ABSTRACT

People have been started to consume functional foods that promote health with changing nutritional dynamics all over the world. Psychological signs such as level of daily stress and emotional changes affect the microbiota negatively. Neuropsychiatric disorders cause irregular release of neurotransmitters like gamma-aminobutyric acid; therefore, functional food ingredients can be used as therapeutic agents. The purpose of this study is to review the positive impacts of prebiotics, and probiotics, and functional foods containing these ingredients on the gut-brain axis through the health of microbiota. The definition of probiotics and prebiotics and their neurotransmitters secreted, the effects on neuropsychological health, the role of intestinal metabolic disorders in the formation of neuropsychiatric diseases, the importance of gut-brain axis on this mechanism are presented in the light of scientific researches and current literature. In this study, the contribution of food biosciences into this interdisciplinary area is highlighted.

**Keywords:** Psychobiotics, Functional foods, Nutrition, Neuropsychiatric disorders, Neurotransmitter

#### GİRİŞ

Birçok ülkede benzer yöntemler kullanılarak yapılan araştırmalar sonucunda, psikiyatrik bozuklukların toplumda oldukça yaygın olarak görüldüğü ortaya

konulmuştur. Bir yıl süreyle 17 ülkede gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, psikiyatrik bozuklukların bu ülkelerdeki nüfusun %4.5-26'sında rastlandığı tespit edilmiştir. Ülkemizde ise 12 aylık Türkiye Ruh Sağlığı Profili' adlı çalışmada bu oran %17.2 olarak

bulunmuştur. Bu sonuç, toplumdaki altı kişiden birinde, psikiyatrik bozukluk tanısının konulabileceğini göstermektedir [1]. Bu hastalıklar bireylerin günlük yaşamda okul, iş ve sosyal ilişkilerini önemli şekilde etkilemektedir. Genellikle, psikiyatrik bozukluklar için, nörotransmitterlere etki ederek aktivitesini regüle edebilecek farmakolojik tedavi uygulanmaktadır. Ancak bu tedavi sürecinde baş ağrısı, mide bulantısı, cinsel işlev bozukluğu ve heyecan gibi yan etkileri üretebilmektedir [2]. Son on yılda yapılan nörogastroenteroloji alanındaki araştırmalar "bağırsak-beyin eksenini" olarak adlandırılan, gastrointestinal (GI) sistem ve merkezi sinir sistemleri arasında bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu iletişim ağı enterik sinir sistemi, otonom sinir sistemi, nöroendokrin sistemi ve bağırsıklık sistemi aracılığı ile gerçekleşir [3]. Psikiyatrik bozukluklar, merkezi sinir sistemine etkisinden dolayı gastrointestinal mikrobiyomdaki değişiklikler ile ilişkilendirilmektedir [4, 5]. Bu da yeni psikotrop tedavileri için potansiyel bir hedef haline getirilmiştir. Ayrıca GI bozukluklar ve psikiyatrik bozukluklar eş zamanlı ortaya çıkabilecek hastalıklar olarak belirtilmiştir [6]. Mikrobiyom, 100 trilyon mikroorganizma içeren karmaşık bir mikrobiyal ekosistemde bağırsak sisteminde etkilidir [7]. Bireylerin bağırsak mikrobiyotası; doğum şekli, genetik yatkınlık, yaş, fiziksel aktivite, çevresel faktörler, stres, enfeksiyon, diğer hastalıklar ve antibiyotik kullanımına bağlı olarak etkilenir [8, 13]. Beslenmenin de psikiyatrik bozukluklar üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir. Beyin yapısı ve işlevi; mineraller, vitaminler, yağlar ve amino asitleri besinlerinin alımına bağlıdır [14]. Balık, meyve ve bakliyat gibi besinler tüketilmesiyle gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar sonucunda, beslenme ve nörolojik sistem sağlığı arasında ilişkili olduğu ortaya konmuştur [15, 16]. Ayrıca başka bir araştırma konusu ise probiyotiklerin bağırsak-beyin eksenine olumlu etkisinin olduğunu göstermiştir. Probiyotiklerin GI bozukluğu üzerinde tıbbi etkisi olduğu bilinmektedir [17]. Ancak, bağırsak-beyin ekseninin ilişkisi ortaya çıktıktan sonra probiyotiklerin bu eksene ve merkezi sinir sistemine etkisi ile nörotransmitter aktivitesini değiştirerek anksiyete üzerine olumlu etkisi olduğu çalışmalarca desteklenmiştir (Tablo1) [18]. Derleme çalışması, probiyotik ve prebiyotiklerin ve bu fonksiyonel bileşenlerin kullanılmasıyla üretilen fonksiyonel gıdaların önemi ile mikrobiyota-bağırsak beyin eksenini ve nöropsikiyatrik hastalıklar üzerindeki etkisinin incelenmesini amaçlamaktadır.

## PROBİYOTİKLER

Son yıllarda tüketiciler daha sağlıklı besinler tüketmeye önem verdikleri için fonksiyonel besinler tüketmeye tercih etmektedirler. Buna bağlı olarak son yıllarda probiyotiklere olan ilgi tüm dünyada artmıştır [19]. Probiyotik özellik gösteren bazı mikroorganizmaların yoğurt, peynir, kefir, boza vb geleneksel gıdalardaki varlığı bilinmekte olup, binlerce yıldır insanlar tarafından bu fermente besinlerle birlikte tüketilmektedir [20- 22]. Probiyotikler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütüne (FAO) göre, vücuda yeteri kadar alındığında konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar olarak

tanımlanmaktadır [23]. Probiyotikli ürünlerin tüketiminin, sağlığın korunması, bağırsak ve vücut sağlığının güçlendirilmesi ve diğer hastalıklarla mücadelede yararlı etkileri vardır ve bu bakterilerin insan sağlığına yararları da uzun süredir bilinmektedir. Bu yararlarının en önemlileri gastrointestinal sistemin düzenlenmesi yönündedir. Fakat bunun yanı sıra daha birçok hastalığın önlenmesi ve iyileşmesine de katkıları vardır. Örneğin; probiyotiklerin, hiperkolesteroleminin önlenmesi, kolon/mesane kanserine karşı koruma, osteoporozun önlenmesi, ishalden korunma, kabızlığın hafifletilmesi ve ürogenital enfeksiyonun önlenmesi gibi tedavi edici (terapötik uygulamalar) özelliklerinin yanı sıra, bağırsıklık sistemini geliştirdiği, normal bağırsak mikroflorasını patojenlere karşı koruduğu ve kan basıncını azalttığı gibi yararlarının da bulunduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir [22, 24, 25]. İnsan sağlığı üzerine, tüm bu yararlı etkileri ve tedavi edici özelliklerinden dolayı probiyotik bakteri içeren fonksiyonel ürünlere ilgi giderek artmıştır. Bu nedenle yeni birçok probiyotikli ürün piyasada yer almaya devam etmektedir [19]. Bu ürünlerin başında ise yoğurt, dondurma, süt tozu, çeşitli peynirler, soğuk sütlü tatlılar gibi birçok süt ve süt ürünü gelmektedir [26].

Ticari olarak potansiyeli olabilecek probiyotik bakterilerinin gıdalarda kullanılması ve suş seçimleri yeni ürünlerin oluşturulması ve var olan ürünlerin ise fonksiyonelliğinin artırılmasında önemlidir. Bu kriterler göz önüne alındığında *Bifidobacterium* sp. ve *Lactobacillus* sp. türlerinin insan bağırsağında baskın olarak görülmelerinden ve GRAS (genellikle güvenilir kabul edilen) listesinde yer almalarından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadırlar [23, 25]. Bu probiyotik türleri ek olarak *Saccharomyces* sp., *Enterococcus* sp., *Propionibacterium* sp. ve *Lactococcus* sp. türleri de sağlık üzerine olumlu etkileri olduğu için ticari olarak daha az yaygın kullanılmaktadırlar [27]. Yapılan bilimsel çalışmalarda probiyotik içeren gıdaların probiyotik miktarlarının tüketim anında minimum  $10^6$  - $10^7$  kob/mL olması bildirilmektedir [28]. Bireylerde probiyotik bakterilerin etkisini görmek için ise sindirilen minimum probiyotik mikroorganizma miktarı  $10^8$  - $10^9$  kob/mL olması istenmektedir [29].  $10^9$  kob/mL probiyotik bakterinin sindirim sistemine geçmesi için günde 100 gram probiyotikli ürün veya ürünlerin tüketilmesi tavsiye edilmektedir [25]. Çakır'ın [30] yaptığı çalışmada insan sağlığına etki etmesi için probiyotik bakterilerin gıda üretim hattı boyunca, depolama ve raf ömrü süresince canlı kalabilmesi gerektiğini belirtmiştir. Ayrıca tüketildikten sonra sindirim sisteminde canlı kalabilmesi ve bu canlılığı tüm sistemde sürdürebilmesi de sağlık ve fonksiyonelliği açısından diğer önemli husustur. Bu nedenle; düşük pH değerlerine dayanıklılık, gastrik sıvı, safra, pankreas, bağırsak ve bağırsak sıvılarına karşı dirençli olmaları gerekmektedir [31].

## PREBİYOTİKLER

Prebiyotikler, mikrobiyotadaki bazı mikroorganizmaları çoğaltmasını ve seçici olarak aktivasyonunu sağlayarak konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyebilen oligosakkarit yapısında sindirilmeyen gıda bileşenleridir [32]. Pankreas enzimlerine ve mide asidine karşı

direncinden dolayı prebiyotik olarak inulin, fruktooligosakkarit (FOS) ve galaktooligosakkarit (GOS) yaygın olarak kullanılmaktadırlar [33]. İnsanların sindirim sisteminde prebiyotiği parçalayan sindirim enzimleri bulunmadığından ve bu bileşiklerin tamamı sindirilemediğinden dolayı emilimle kana karışamazlar. Fakat, bağırsakta probiyotik bakterilerin yardımıyla fermantasyona uğradıktan sonra enerji verirler ve bu kompleks karbonhidratlar kolonda metabolize edilip kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) üretirler [34]. Kısa zincirli yağ asitlerinin sindirimi yavaşlattığı, kan şekeri seviyesini dengede tuttuğu bilinmektedir [35]. Prebiyotikler ayrıca obezite, diyabet çeşitli metabolik rahatsızlıkların önlenmesinde ve tedavisinde son yıllarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadırlar [36, 37]. GOS ve FOS'ların alımı gastrointestinal sistemde pozitif metabolik etkisi bulunan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi probiyotik türlerinin oranını arttırmaktadır [38]. Bu olumlu özellikleri nedeniyle gıda sanayinde çok yaygın bir kullanım alanına sahiptirler [39].

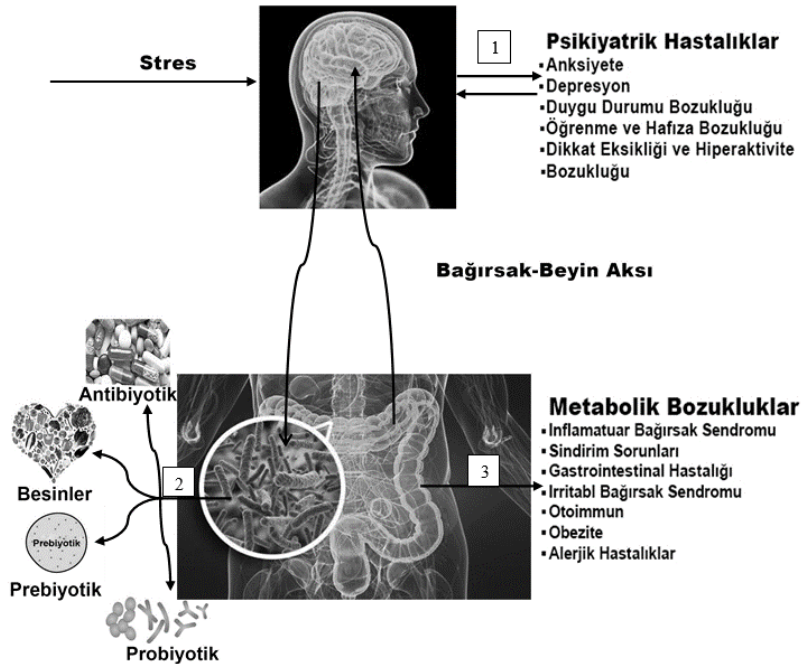
## NÖROPSİKİYATRİK HASTALIKLAR

Probiyotikler ve prebiyotikler bağırsak mukoza salgısını artırırken, enteroendokrin hücreleri ile etkileşen kolesistokini (CCK), peptid tirozin tirozin (PYY) ve glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) gibi bağırsak hormonlarının salınmasını sağlayan SCFA'ların üretimini de artırır [40]. Bu sebeple nöropsikiyatrik bozuklukların

irritabl bağırsak sendromuyla (IBS) ilişkisi olabilir [41]. Bu çalışmalar son yıllarda bağırsak mikrobiyotasının beyin-bağırsak eksenini ve davranışlar üzerine olan etkileri açısından ilgi odağı olmuştur [42].

Probiyotik, prebiyotik, diyet ürünleri ve çeşitli yararlı besinlerin tüketilmesiyle mikrobiyotaya olumlu şekilde etkilenirken strese maruz kalındığında, antibiyotik gibi çeşitli ilaçların kullanılmasıyla birlikte mikrobiyotaya olumsuz etkilenmektedir. Bağırsak mikrobiyotaya dengesinin bozulması patojenlerin sebep olduğu GI hastalıklar olan; irritabl bağırsak sendromu (IBS) ve inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) vb metabolik bozukluklar meydana gelmektedir [43, 44]. Bağırsak mikrobiyotasının bozulması ve bağırsak- beyin ekseninin olumsuz etkilenmesiyle, çeşitli psikiyatrik bozuklukların ortaya çıktığı gözlenmiştir [45]. Şekil 1'de mikrobiyotaya-beyin arasındaki ilişki ve mikrobiyotaya üzerinde etkili dış etkenler görülmektedir.

Şekil 1'de görüldüğü üzere, "Stres" bağırsak mikrobiyotasının dengesini bozarak metabolik bozukluklara neden olmaktadır. Stresin, bağırsak-beyin eksenindeki bu etkisi dış etmenlere bağlı olarak değişmektedir. Bu dış etmenler, örneğin antibiyotikler, bağırsak- beyin aksına etki ederek hem 1 numaradaki gibi psikiyatrik hastalıkların, hem de 3 numaradaki metabolik bozukluklara yol açmasıyla çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir.



Şekil 1. Bağırsak ve/veya beyin aksına bağlı meydana gelen psikiyatrik ve metabolik hastalıklar

Yapılan araştırmalarda probiyotiklerin ve prebiyotiklerin insan vücudu için çeşitli yararlı etkileri ortaya konmuştur. Hatta ticari ürünlerde probiyotik ve prebiyotiğin bir arada kullanılmasıyla elde edilen simbiyotik fonksiyonel gıdaların; bağırsak sağlığını destekleyici, hastalıkları önleyici ve tedaviye yardımcı oldukları, yapılan bilimsel çalışmalarda kanıtlanmıştır [31]. Bu bakterilerin bağırsak

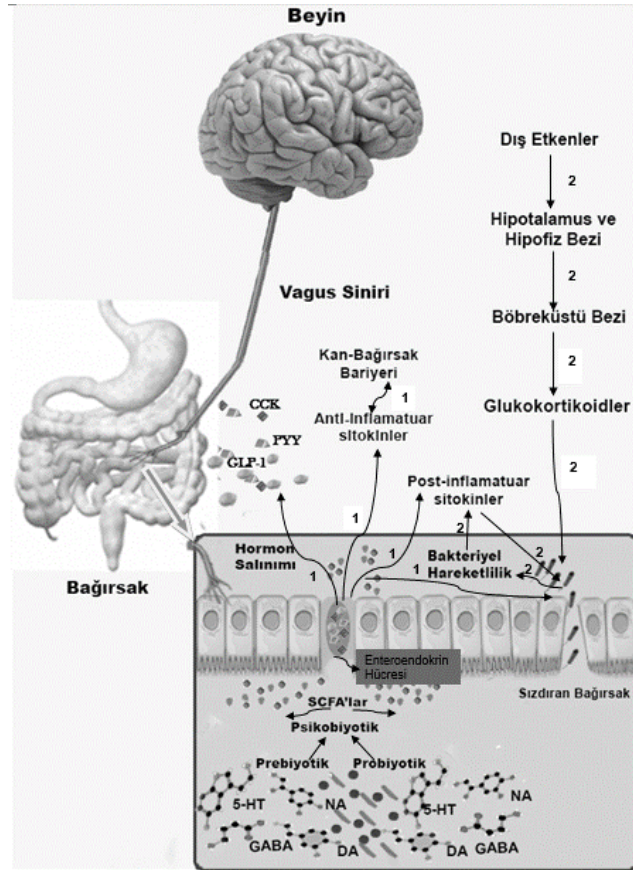
sistemini güçlendirmesi, bireyleri gıda kaynaklı patojenlere karşı koruması gibi yararlı etkileri ele alınmıştır [46].

Vücuttaki en geniş mukozal yüzeye sahip bölge, intestinal epiteldir. Tükettiğimiz gıdalar sindirim sisteminde bağırsak duvarından emildikten sonra

vücuda girmiş olur. Sağlıklı bireylerde bu durum, yabancı antijen ve bakteriler için bağırsak epitelindeki bağ doku proteinleri ile birlikte mukus tabakasının fiziksel bir bariyeri oluşturmasıyla gerçekleşmektedir [47]. Mikrobiyotanın değişmesi sonucu bağırsak epitel duvarındaki geçirgenliğin artması (sızdıran bağırsak) ve mikro hasarların oluşmasıyla, mikroorganizmalar tarafından üretilen zararlı maddeler sistemik dolaşıma karışmaktadır [48]. Bu durum ayrıntılı olarak şekil 2'de belirtilmektedir. Probiyotik bakteriler ile prebiyotiklerin birlikte en önemli yararlı etkilerinden biri bağırsak yüzeyine yapışarak immün sistem modülasyonu sağlaması ile patojen bakterilerin kolonizasyonunu azaltmaları ve zarar gören bağırsak mukozanın iyileşmesine yardımcı olmalarıdır [49, 50]. Bu durumda sindirilmiş olan gıda parçacıklarının bağırsak epitel duvarından süzülerek vücuda girişine müsaade ederken, zararlı maddelerin geçişini de engellerler. İnsanlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, prebiyotiklerin intestinal hormonlar ve doyma üzerine etkisi araştırılmıştır. İki haftalık prebiyotik tedavisi sürecinde bağırsak mikrobiyotasının fermentasyonu sonucunda, bağırsak fonksiyonunu düzenleyici etkisi olduğu, açlık durumunu azaltmada etkili olduğu ve postprandiyal hiperglisemiye düzelttiği gözlenmiştir. Bu etkiler sırasında plazma GLP1 ve PYY'nin arttığı saptanmıştır [51].

## MİKROBİYOTANIN BAĞIRSAK-BEYİN EKSENİNDEKİ ROLÜ

Son zamanlarda yapılan başka bir önemli çalışma ise bağırsak sağlığının direk olarak beyin ile bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır [52]. Çünkü bağırsak mikrobiyotası, prebiyotikleri ve diyet polisakkaritlerini fermente ve hidrolize ederek, propiyonat, asetat ve bütirat gibi SCFA'ları üretmektedirler. SCFA'lar, konakçının enerji gereksinimi için çeşitli metabolik aktiviteler ile yağ ve glikozun biyosentezi için kullanılır [53]. SCFA'ların gıda-enerji alımında ve inflamatuvar süreçlerde düzenleyici etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Bundan dolayı SCFA'lar besin alımının azalması ve tokluk hissini artırması ile yakından ilişkilidirler [54]. Bağırsak mikrobiyotasındaki SCFA, safra asidi ve biyoaktif lipidler gibi metabolitlerin, enteroendokrin hücreleri serotonin (5-HT), dopamin (DA), gamma amino bütirik asit (GABA) ve noradrenalin (NA) gibi monoaminler, farklı hormonlar üzerindeki etkisi bağırsak ve beyin sağlığını ortak olarak ilgilendirir. Bu nörotransmitterler ayrıca, enteroendokrin hücrelerini uyarak insülin salınımını tetikleyerek, GLP-1, PYY ve CCK gibi bağırsak hormonlarının artışıyla kan şekerini düzenleyerek, inkretin hormon peptidleri salgılanmasıyla GI sistem, yağ dokusu, beyin ve karaciğer gibi organ ve dokuları olumlu olarak etkilemektedirler [55]. Enteroendokrin hücrelerinin uyarılmasıyla GLP gibi inkretin hormonlarının ve PYY'nin plazma seviyeleri artırılmasıyla birlikte oral glukoz toleransı ve insülin duyarlılığı iyileşir.



Şekil 2. Bağırsak-beyin eksenine genel bakış [40]

Bağırsak sistemi-beyin iletişimi vagus siniri ile gerçekleşir. Şekil 2'de 1 numaralı oklar psikobiyotik (psikiyatrik bozukluklar üzerinde olumlu etkiye sahip olan probiyotikler) etkisini, 2 numaralı oklar ise sızdıran bağırsağın beyne olan etkisini gösterir. Psikobiyotikler SCFA'ları katalize eder ve bağırsak mukozal enteroendokrin hücreleri ile etkileşime girmesiyle PYY, CKK ve GLP-1 gibi bağırsak hormonlarının üretimini artırır. SCFA'lar ve bağırsak hormonları dolaşıma girer ve merkezi sinir sistemine geçebilir. Bağırsakta bulunan psikobiyotikler enterik sinir sisteminin sinapslarında nörotransmisyonu modüle eden DA, 5-HT, NA ve GABA nörotransmitter üretimini artırır. Strese ve benzeri dış etkenlere bağlı olarak glukokortikoid bağırsak epiteli üzerinde fonksiyonel bozukluklar oluşur. Ayrıca pro-inflamatuar bileşenlerin göçünü sağlamasıyla inflamasyonu artırır ve immünolojik yanıt yoluyla pro-inflamatuar sitokinlerde artırır. Bu sitokinler, kan-beyin bariyerlerinin bütünlüğünü bozmasıyla patojenik ve inflamatuvar elementlere erişime izin verir. Pro-inflamatuar sitokinleri bağırsak bariyerinin bütünlüğünü azaltırken, psikobiyotikler bağırsak bariyerinin işlevinin geri kazanmasını sağlar, glukokortikoid konstrasyonlarını ve pro-inflamatuar sitokinleri azaltır. Ayrıca anti-inflamatuar konsantrasyonunu artıran sitokinler kan-beyin bariyerini, bağırsak bariyerini ve genel inflamasyonu azaltır.

Ağırlıklı olarak karbonhidratlı besinlerin tüketildiği diyetlerin fermantasyonu sonucunda SCFA'ların sistemik dolaşıma karışmasıyla beyin işlevleri etkilenmektedir [56]. Vagus siniri; beyin, mide ve bağırsaklar arasında direk olarak bağ kurmaktadır. Bu sinir yoluyla bağırsaklardaki sinirsel, hormonal ve bakteriyel değişim beyne iletilir [57-59]. Bağırsak mikrobiyotası merkezi sinir sistemi (CNS) ve bağırsaklık sistemini; endokrin (hipotalamus-hipofiz-adrenal aks), bağırsaklık (kemokinler, sitokin), otonom sinir sistemi ve enterik sinir sistemi mikrobiyota-bağırsak-beyin etkileşim sırasıyla uyarır [52]. Yaşanan stres ve duygusal değişimler bağırsak mikrobiyotasının olumsuz etkilenmesine neden olur [60]. Psikiyatrik bir bozukluk olan major depresif bozuklukta interlökin, tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$ , C reaktif protein ve inflamatuvar biyolojik belirteçlerin artmış olduğu gösterilmiştir [61]. Bağırsak mikrobiyotası bağırsaklığı düzenleyip, bağırsaklık sistemi üzerine etki ettiği için de patojenler doğrudan ve dolaylı olarak inflamasyon (yangı) ve ağrıya neden olmaktadır [62]. Başka bir çalışmada beyindeki 5-HT, DA ve NA gibi monoamin düzeyleri ve plazmadaki sitokin düzeyleri ile psikiyatrik bozuklukların ilişkili olabileceği belirtilmiştir [63]. Bu rahatsızlıklar için, 1910 yılında ilk olarak probiyotikler tedavi amaçlı kullanılmıştır [64]. Probiyotiklerin çeşitli suşları GABA, 5-HT ve histamin gibi nörotransmitterleri üretilen salgıdır. Probiyotik bakteriler tarafından üretilen, beyin kimyasalları ve vücudun ürettiği hormonlar olan bu nörotransmitter maddeler de enterik sinir ve/veya enterokromafin hücreleri aracılığıyla CNS'yi uyarmaktadırlar [65, 66].

Çeşitli çalışmalarda belirli probiyotiklerin sağlıklı kişiler de dahil olmak üzere insan beyninin etkinliği, beyin gelişimi ve davranışlar üzerine olumlu etkilere sahip olduğunu gözlemlemiştir [67]. Flint [68] çalışmasında modern yaşamımızdaki gelişmelerin örneğin; dezenfektan temizlik ürünlerinin yoğun bir şekilde kullanılması ve diyetdeki değişikliklerin, antimikrobiyal tedavilerin mikrobiyota üzerinde kalıcı etkileri olduğunu belirtmiştir. Bağırsak mikrobiyotasındaki bozukluklar, metabolik bozukluklar, psikiyatrik bozuklukların tedavisi için probiyotik ve prebiyotiklerin kullanıldığı birçok klinik çalışmalar yapılmıştır (Tablo 1) [69, 73]. Tüm bu rahatsızlıkların önlenmesi için farklı probiyotik suşlar kullanılmış olup, GI sistemde varolan patojen, probiyotik ve dost mikroorganizmaların, sırasıyla vücudumuzun bağırsaklık sistemini, nöral yolak ve merkezi sinir sistemini uyardığı ortaya konmuştur [42, 47, 74].

*Lactobacillus reuteri* için bildirilen duyuşal sinirlerinin modülasyonu yoluyla mikrobiyota, bağırsak-beyin aks ile etkileşime girebilir. Bu da kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını inhibe edip uyarının artmasını sağlayarak intestinal hareketliliği ve ağrı algılamasını modüle edebilir [75]. Duyuşal hafıza ve duyuşal tepkilerin oluşmasına bağlı vücudun ürettiği hormonlardan etkilenen amigdala beyin önemli bir bölgesidir. Bağırsak mikrobiyotasının herhangi olumsuz bir durumla karşılaşmasıyla ile amigdalada nörotransmitter değişiklikleri olup korku, kaygı ve benzer duyguların oluşmasına neden olur [76, 77].

Barret ve ark.'nın [65] yaptığı çalışmada *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* probiyotik suşlarının GABA sentezleme yeteneğinden bahsetmiştir. Tüm bu çalışmaların sonucu olarak probiyotiklerin ve prebiyotiklerin anksiyete belirtileri ve depresif belirtiler üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir [77].

Gıda maddelerinin seçimi psikolojik yapıyı etkileyerek duyuşal etkileşimlerimiz üzerinde rol oynamaktadırlar [108]. Örneğin; stresin, vücuttaki kortizol salınımını arttırmasıyla aşırı yeme isteğine neden olduğu düşünülmektedir [109, 110]. Stresin yeme isteğini arttırmasının yanı sıra demir, magnezyum ve çinko gibi bazı maddelerin vücuttaki eksikliği ile dopamin ve serotonin eksikliğine de yol açar [109, 111, 112]. Kimyasal vücutta doğal olarak üretilen ve nörotransmitter olarak görev yapar, dopamine ve endorfin beyindeki zevk ve ödül sisteminde olduğu gibi ayrıca hafızada etkilidir. Nörotransmitter ve endorfin seviyeleri ilaç kullanımı, kötü beslenme, stres, uykusuzluk ve antidepresan kullanımı gibi sebeplerle Şekil 1' deki 2. numaralı ok işareti ile gösterilmektedir) düştüğünde depresif belirtiler, dikkat dağınıklığı ve yeme isteği gibi belirtiler görülür.

Tablo 1. Probiyotik ve prebiyotiklerin, gastrointestinal ve/veya nöropsikiyatrik hastalıklar üzerindeki etkileri

Probiyotik ve Prebiyotik	Hastalık	Klinik Çalışması	Denek	Çalışma Sonucu	Kaynak
<i>L. salivarius</i> veya <i>B. infantis</i>	IBS	Randomize kontrollü	Sağlıklı bireyler	<i>B. infantis</i> IBS' de daha etkili olduğu gözlenmiştir.	[78]
<i>L. helveticus</i> NS8	Anksiyete benzeri davranış bozuklukları	Morris su labirenti	Fareler	Bu davranış bozuklukları üzerinde probiyotığın tedavi edici etkisi olduğu gözlenmiştir.	[79]
Prebiyotik, Galakto-oligosakkarit	Anksiyete bozukluğu	Anksiyete testi	Lipopolisakkarit enjekte edilen fareler	Beyin fonksiyonlarında etkili olduğu ve anti-enflamatuar özelliği sayesinde anksiyeteyi azalttığı gözlenmiştir.	[80, 81]
<i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i> ve <i>L. fermentum</i>	Diyabet ve beyin fonksiyonları üzerine olumsuz belirtileri	Morris su labirenti	Diyabetik fareler	Beyin fonksiyonlarını olumlu yönde etkilediği görülmüştür.	[82]
<i>L. reuteri</i>	Bakteri enfeksiyonu ( <i>Citrobacter rodentium</i> )		Fareler	Enfeksiyon kaynaklı streste azalma görülmüştür.	[83]
Prebiyotik, kitosan oligosakkarit	Öğrenme ve hafıza bozuklukları, dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu (ADHD)	Morris su labirent testi	Sıçanlar	Enflamatuar sitokinleri baskıladığı ve ADHD tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur.	[84]
<i>B. bifidum</i> BB-02 ve <i>B. lactis</i> BL-01+ inulin	Gastrointestinal enfeksiyonlar	Randomize çift kör plasebo	Yaşlı bireyler	Zararlı mikroorganizmalara karşı doğal bir savunma oluşturmuştur.	[85]
<i>L. acidophilus</i>	Candida enfeksiyonu		Otistik çocuklar	Probiyotiklerin, gastrointestinal sistemdeki Candida türlerinin gelişmesini önlediği gözlemlenmiştir.	[86]
<i>L. helveticus</i> içeren fermente süt	Uyku bozukluğu	Randomize çift kör plasebo kontrollü	Bireyler	<i>Lactobacillus helveticus</i> içerikli ürünün placebodan daha etkili olduğu bulunmuştur.	[87, 88]
<i>B. longum</i> R0175 ve inulin maltodekstrin ve askorbik asit	Ülseratif kolit hastalığı	Randomize kontrollü	Bireyler	Simbiyotik terapinin daha etkili ve güvenli olduğu çalışmalarda görülmüştür.	[89]
<i>L. acidophilus</i> Rosell-52 ve <i>B. longum</i> Rosell-175	Stresten kaynaklı karın ağrısı ve mide bulantısı vb hastalıklar	Randomize çift kör plasebo kontrollü	Sağlıklı bireyler	Strese bağlı olan bu hastalıkların etkilediği GI sistemi iyileştirmiştir.	[90]
<i>L. rhamnosus</i> GG ve / veya prebiyotiklerin polidekstroz / GOS	Nörotransmitter seviyelerinin değişmesine bağlı kronik viseral hiperaljezi	Viseral duyarlılık testi	Fareler	PDX / GOS veya <i>L. rhamnosus</i> alan viseral hiperaljezi görülmemiştir. <i>L. rhamnosus</i> ile nörotransmitter seviyelerinin terapötik etkisi görülmüştür.	[91]
<i>L. rhamnosus</i> R0011 ve <i>L. helveticus</i> R0052	Kronik strese bağlı IBD, IBS gibi GI hastalıklar		Sıçanlar	Mukoza savunmayı artırır ve strese maruz kalmış bağırsakları bu stresten korumuştur.	[92]
<i>L. rhamnosus</i> (R0011) + <i>L. helveticus</i> (R0052)	Sterese maruz kalmasıyla görülen hafıza bozuklukları	Davranış Testi	<i>Citrobacter rodentium</i> enfeksiyonu olan fareler	Hafıza bozukluklarını önlediği gözlemlenmiştir.	[93, 94]
<i>L. rhamnosus</i> GG	Asperger sendromu (AS) ve ADHD, atopik hastalıklar	Randomize seçilmiş kontrollü	Bebek, çocuklar	Probiyotik verilen çocuklarda, AS ve ADHD riski daha az görülebilir.	[95, 96, 97]
<i>L. helveticus</i> R0052 ve <i>B. longum</i> R0175	Viseral ağrı	Ex-vivo sistemde Gen etkisinin incelenmesi	Strese maruz kalmış fareler	Kronik strese bağlı viseral ağrı tedavi edici etkisi olup, ağrıyı azaltmıştır.	[98]
<i>L. helveticus</i> R0052, <i>B. longum</i> R0175 ve kombinasyonları	Stres, kaygı ve depresyon gibi psikiyatrik bozukluklar	Randomize çift kör plasebo kontrollü	Sağlıklı bireyler ve sıçanlar	Probiyotik karışımlarının tüketmesiyle kaygı ve depresyon düzeyleri azalmıştır.	[99]

Tablo 1. Probiyotik ve prebiyotiklerin, gastrointestinal ve/veya nöropsikiyatrik hastalıklar üzerindeki etkileri (Devam)

Probiyotik ve Prebiyotik	Hastalık	Klinik Çalışması	Denek	Çalışma Sonucu	Kaynak
<i>B. animalis</i> subsp <i>lactis</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> ve <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Duygu durum bozukluğu	Randomize kontrollü	Sağlıklı kadınlar	Beyindeki bazı bölgelerin duygu iletimi ve duygu durumunu olumlu yönde etkiler	[100]
<i>L. plantarum</i> WCFS1	Otizmlı çocuklarda görülen davranış bozuklukları	Randomize çift kör plasebo kontrollü	3-16 yaş arasındaki otizmlı çocuklar	Antisosyal davranış, kaygı ve iletişim bozuklukları olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir.	[101]
<i>Lactobacillus helveticus</i> ROO52	İntörlökin eksikliği IL-10	Kontrollü	Fareler	Anksiyete düzeyini azaltmıştır.	[102]
<i>L. helveticus</i> NS8	Obezite, stres, anksiyete, anti-inflamatuar sitokin IL-10, 5-HT	Davranış Testi	Strese maruz kalan yetişkin sıçanlar	Antidepresan etki göstermiştir. Ayrıca 5-HT ve sentezini düzenler	[103]
<i>B. longum</i> 1714 ve <i>B. breve</i> 1205	Strese bağlı psikiyatrik rahatsızlıklar	Kontrollü	Fareler	<i>B. longum</i> 1714 hastalıklarda pozitif ve terapötik etki göstermiştir.	[104]
<i>B. bifidum</i> , <i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. salivarius</i> , ve <i>Lc. lactis</i>	Depresyon	Randomize çift kör plasebo kontrollü	Sağlıklı bireyler	Depresif belirtilerin düzeyini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir.	[105]
<i>B. infantis</i>	Depresyon	Zorunlu yüzmeye testi	Glukozla beslenmiş sıçanlar	Antidepresan etkisi görülmüş olup, depresif belirtilerin kaybolduğu gözlemlenmiştir.	[106]
<i>L. rhamnosus</i>	Anksiyete ve depresyon	Zorunlu yüzmeye testi	Sağlıklı ve vagus siniri kesilmiş (Vagotomi) fareler	GABA, CNS etki ederek, stresle ilgili hastalıklara terapötik etki göstermiştir. Vagotomi uygulanan farelerde duygu durumu değişiminin olmadığı, bağırsak-beyin aksının önemi gözlemlenmiştir.	[107]

## SONUÇ

Değişen beslenme alışkanlıkları ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan metabolik rahatsızlıklar, ülkemizde ve dünyada giderek daha da yaygınlaşmaktadır. Özellikle gelişme çağındaki çocuklarda görülen yeme bozuklukları, obezite ve buna bağlı olarak çeşitli sindirim problemlerine sebep olurken; hiperaktivite, dikkat dağınıklığı ve anksiyete gibi birçok psikiyatrik belirtiyi de beraberinde getirebilmektedir. Yeme alışkanlıklarının belirlendiği gelişme çağında düzenli olarak tüketilen probiyotikli ürünlerin, bağırsak mikrobiyotasını düzenleyip geliştirdiği için sağlık sorunlarının önlenmesinde önemli rol oynadığı ile ilgili çalışmalar bu derlemede özetlenmiştir. Probiyotiklerden GABA, 5-HT ve DA gibi nörotransmitter aktivitesi gösterenlerin tüketilmesinin; bazı metabolik hastalıklar ile depresif bozukluk ve anksiyete bozukluğu üzerinde terapötik etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir. Terapötik etkiye sahip olan probiyotikler ile ilgili araştırmalar güncel olup, nörotransmitter içeren bazı nutrasötikler mevcut iken, nöropsikiyatri alanında etkin olabilecek FGB ve fonksiyonel gıdalarla ilgili araştırmalara uluslararası literatürde de henüz rastlanmamaktadır. Dolayısıyla, bu

alanda kullanılmak üzere probiyotik bakteri preparatları, prebiyotikler ve hastalık hedefli (terapötik) yeni fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi ve üretilmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu derleme; yukarıda önemi vurgulanan probiyotik ve/veya prebiyotiklerin, konakçının GI sistemine gıda yoluyla taşınması ve nörotransmitter sentezleme mekanizmaları ile fizyolojik etkilerinin incelenmesi çalışmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte, nörotransmitter üreticisi yeni ve özgün probiyotik özelliklere sahip suşların izolasyonu, saflaştırılması, karakterizasyonu ve bunların gıdalara entegrasyonu ile ilgili araştırmaların başlatılmasına katkı sağlayacak niteliktedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Kılıç, C. (2017). Ruhsal Hastalıklara Bağlı Hastalık Yükü. HÜTF Ulusal Hastalık Yükü Çalışması Sonuçları ve Çözüm Önerileri. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Nisan 18, 2017, Ankara, 3p.
- [2] Anderson, H.D., Pace, W.D., Libby, A.M., West, D.R., Valuck, R.J. (2012). Rates of 5 common antidepressant side effects among new adult and

- adolescent cases of depression: a retrospective US claims study. *Clinical Therapeutics*, 34(1), 113-123.
- [3] Foster, J.A., McVey, K.A. 2013. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36(5), 305-312.
- [4] Jiang, H., Ling, Z., Zhang, Y., Mao, H., Ma, Z., Yin, Y., Wang, W., Tang, W., Tan, Z., Shi, J., Li, L., Ruan, B. (2015). Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 186-194.
- [5] Kelly, J.R., Borre, Y., O'Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P.J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A.E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J.F. ve Dinan, T.G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatr Research*, 82, 109-118.
- [6] Walker, E.A., Katon, W.J., Jemelka, R.P., Roy-Bryne, P.P. (1992). Comorbidity of gastrointestinal complaints, depression, and anxiety in the Epidemiologic Catchment Area (ECA) Study. *The American Journal of Medicine*, 92(1A), 26-30.
- [7] Mangiola, F., Ianiro, G., Franceschi, F., Fagioli, S., Gasbarrini, G., Gasbarrini, A. (2016). Gut microbiota in autism and mood disorders. *World Journal of Gastroenterology*, 22(1), 361-368.
- [8] Petra, A.I., Panagiotidou, S., Hatzigelaki, E., Stewart, J.M., Conti, P., Theoharides, T.C. (2015). Gut-microbiota-brain axis and its effect on neuropsychiatric disorders with suspected immune dysregulation. *Clinical Therapeutics*, 37(5), 984-995.
- [9] Goodrich, J.K., Waters, J.L., Poole, A.C., Sutter, J.L., Koren, O., Bleckham, R., Beaumont, M., Van Treuren, W., Knight, R., Bell, J.T., Spector, T.D., Clark, A.G., Ley, R.E. (2014). Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*, 159(4), 789-799.
- [10] Yatsunenkov, T., Rey, F.E., Manary, M.J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M.G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R.N., Anokhin, A.P., Heath, A.C., Warner, B., Reeder, J., Kuczynski, J., Caporaso, J.G., Lozupone, C.A., Lauber, C., Clemente, J.C., Kinghts, D., Knight, R., Gordon, J.I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222-227.
- [11] Markle, J.G., Frank, D.N., Mortin-Toth, S., Robertson, C.E., Feazel, L.M., Rolle-Kampczyk, U., von Bergen, M., McCoy, K.D., Macpherson, A.J., Danska, J.S. (2013). Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science*, 339(6123), 1084-1088.
- [12] David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A.V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., Biddinger, S.B., Dutton, R.J., Turnbaugh, P.J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559-63.
- [13] O'Mahony, S.M., Marchesi, J.R., Scully, P., Codling, C., Ceolho, A.M., Quigley, E.M., Cryan, J.F., Dinan, T.G. (2009). Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biological Psychiatry*, 65(3), 263-267.
- [14] Logan, A.C., Jacka, F.N. (2014). Nutritional psychiatry research: an emerging discipline and its intersection with global urbanization, environmental challenges and the evolutionary mismatch. *Journal of Physiological Anthropology*, 33(1), 22.
- [15] Sánchez-Villegas, A., Delgado-Rodríguez, M., Alonso, A., Schlatter, J., Lahortiga, F., Serra Majem, L., Martínez-González, M.A. (2009). Association of the Mediterranean dietary pattern with the incidence of depression: the Seguimiento Universidad de Navarra/University of Navarra follow-up (SUN) cohort. *Archives of General Psychiatry*, 66(10), 1090-1098.
- [16] Akbaraly, T.N., Brunner, E.J., Ferrie, J.E., Marmot, M.G., Kivimaki, M., Singh-Manoux, A. (2009). Dietary pattern and depressive symptoms in middle age. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 195(5), 408-13.
- [17] Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S., Kim, H.Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-85..
- [18] Logan, A.C., Katzman, M. (2005). Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Medical Hypotheses*, 64(3), 533-538.
- [19] Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467-483.
- [20] Kopp-Hoolihan, L. (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of American Dietetic Association*, 101(2), 229-238.
- [21] Şengün, İ.Y. (2011). Fermente gıdaların üretiminde kullanılan laktik asit bakterileri. *Biological Diversity and Conservation*, 4(1), 42-53.
- [22] Ranadheera, R.D., Baines, S.K., Adams, M.C. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, 43(1), 1-7.
- [23] Douglas, C.L., Sanders, M.E. (2008). Probiotics and prebiotics in dietetics practice. *Journal of The American Dietetic Association*, 108(3), 510-521.
- [24] Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B.C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11(1-2), 1-17.
- [25] Akan, E., Kınık, Ö. (2015). Gıda üretimi ve depolanması sırasında probiyotiklerin canlılıklarını etkileyen faktörler. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(2), 155-166.
- [26] Anal, A.K., Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240-251.
- [27] Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36(9-10), 895-904.
- [28] FAO/WHO (2001). Health and nutritional properties of in food including powder milk with live lactic acid bacteria. *Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization*



- Expert Consultation Report*. Ocak, 1-4, 2001, Cordoba, Argentina, 30p.
- [29] Tripathi, M.K., Giri, S.K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241.
- [30] Çakır, İ. (2006). Mikroenkapsülasyon Tekniğinin Probiyotik Gıda Üretiminde Kullanımı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Mayıs 24-26, Bolu, Türkiye, 693-696p.
- [31] Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S., Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26, 927-939.
- [32] Thomas, L.V. (2016). Probiotics— the journey continues. *International Journal of Dairy Technology*, 69(4), 469-480.
- [33] Ramchandran, L., Shah, N.P. (2010). Characterization of functional, biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 43(5), 819-827.
- [34] Dülger, D., Sahan, Y. (2011). Diyet lifin özellikleri ve sağlık üzerindeki etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 147-157.
- [35] Causey, J.L., Feirtag, J.M., Gallaher, D.D. Tunland, B.C., Slavin J.L. (2000). Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutrition Research*, 20(2), 191-201.
- [36] Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan, K., Coxam, V., Davicco, M.J., Leotoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N.M., Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Meheust, A. (2010). Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *The British Journal of Nutrition*, 104(52), 1-63.
- [37] Yoo, J.Y., Kim, S.S. (2016). Probiotics and prebiotics: present status and future perspectives on metabolic disorders. *Nutrients*, 8(3), 173.
- [38] García-Peris, P., Velasco, C., Lozano, M.A., Moreno, Y., Paron, L., de la Cuerda, C., Breton, I., Cambor, M., García-Hernández, J., Guarner, F., Hernández, M. (2012). Effect of a mixture of inulin and fructo-oligosaccharide on Lactobacillus and Bifidobacterium intestinal microbiota of patients receiving radiotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutricion Hospitalaria*, 27(6), 1908- 1915.
- [39] Gutierrez-Gomez, V., Fournier, C., Sauvage, C., Vilain, A.C., Just, N., Wallaert, B. (2005). Réactions anaphylactiques induites par l'inuline Anaphylactic reactions to inulin. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 45(6), 493-495.
- [40] Sarkar, A., Lehto, S.M., Harty, S., Dinan, T.G., Cryan, C.F., Burnet, P.W.J. (2016). Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria–Gut–Brain Signals. *Trends in Neurosciences*, 39(11), 763-781.
- [41] Pinto-Sanchez, M.I., Hall, G.B., Ghajar, K., Nardelli, A., Bolino, C., Lau, J.T., Martin, F.P., Cominetti, O., Welsh, C., Rieder, A., Traynor, J., Gregory, C., De Palma, G., Pigrau, M., Ford, A.C., Marci, J., Berger, B., Bergonzelli, G., Surette, M.G., Collins, S.M., Moayyedi, P., Bercik, P. (2017). Probiotic *Bifidobacterium longum* NCC3001 reduces depression scores and alters brain activity: a pilot study in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 153(2), 448-459.
- [42] Evrensel, A., Ceylan, M.E. (2015). Bağırsak beyin eksenini: Psikiyatrik bozukluklarda bağırsak mikrobiyotasının rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 7(4), 461-472.
- [43] Lee, K.N., Lee, O.Y. (2014). Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology*, 20(27), 8886-8897.
- [44] Li, J., Butcher, J., Mack, D., Stintzi, A. (2015). Functional impacts of the intestinal microbiome in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(1), 139-153.
- [45] Erbay-Gönenir, L., Seçkin, Y. (2016). Yeme bozuklukları. *Güncel Gastroenteroloji*, 20(4), 473-477.
- [46] Fooks, L.J., Gibson, G.R. (2002). In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microbiology Ecology*, 39(1), 67-75.
- [47] Borre, Y.E., Moloney, R.D., Clarke, G., Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2014). The impact of microbiota on brain and behavior: mechanisms & therapeutic potential. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 817, 373-403.
- [48] Hornig, M. (2013). The role of microbes and autoimmunity in the pathogenesis of neuropsychiatric illness. *Current Opinion in Rheumatology*, 25(4), 488-795.
- [49] Önal, D., Beyatlı, Y., Aslım, B. (2005). Probiyotik Bakterilerin Epitel Yüzeylere Yapışması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(9), 1-10.
- [50] Ouwehand, A.C., Tuomola, E.M., Tölkö, S., Salminen, S. (2001). Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1-2), 119-126.
- [51] Cani, P.D., Lecourt, E., Dewulf, E.M., Sohet, F.M., Pachikian, B.D., Naslain, D., De Backer, F., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M. (2009). Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(5), 1236-1243.
- [52] Mayer, E.A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(8), 453-466.
- [53] Yıldırım, A.E., Altun, R. (2014). Obezite ve Mikrobiyota. *Güncel Gastroenteroloji*, 18(1), 106-111.
- [54] Everard, A., Cani, P.D. (2013). Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology*, 27(1), 73-83.
- [55] Cani, P., Everard, A., Duparc, T. (2013). Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism. *Current Opinion in Pharmacology*, 13(6), 935-940.

- [56] Macfarlane, S., Macfarlane, G.T. (2003). Regulation of short-chain fatty acid production. *The Proceedings of The Nutrition Society*, 62(1), 62-72.
- [57] Wang, X., Wang, B.R., Zhang, X.J., Xu, Z., Ding, Y.Q., Ju, G. (2002). Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. *World Journal of Gastroenterology*, 8(3), 540-545.
- [58] Borovikova, L.V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G.I., Watkins, L.R., Wang, H., Abumrad, N., Eaton, J.W., Tracey, K.J. (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405, 458-462.
- [59] Perez-Burgos, A., Wang, B., Mao, Y.K., Mistry, B., Mcvey Neufeld, K.A., Bienenstock, J., Kunze, W. (2013). Psychoactive bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) elicits rapid frequency facilitation in vagal afferents. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 304(2), G211-220.
- [60] Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2012). Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, 37(9), 1369-1378.
- [61] Miller, A.H., Maletic, V., Raison, C.L. (2009). Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biological Psychiatry*, 65(9), 732-741.
- [62] Chiu, I.M., Heesters, B.A., Ghasemlou, N., Von Hehn, C.A., Zhao, F., Tran, J., Wainger, B., Strominger, A., Muralidharan, S., Horswill, A.R., Bubeck Wardenburg, J., Hwang, S.W., Carroll, M.C., Woolf, C.J. (2013). Bacteria activate sensory neurons that modulate pain and inflammation. *Nature*, 501(7465), 52-57.
- [63] Tamam, L., Zeren, T. (2002). Depresyonda Serotonerjik Düzenekler. *Klinik Pskiyatri Dergisi*, 5(4), 11-18.
- [64] Philips, J.G.P. (1910). The treatment of melancholia by the lactic acid bacillus. *Journal of Mental Science*, 56(234), 422-430.
- [65] Barrett, E., Ross, R.P., O'Toole, P.W., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. (2012).  $\gamma$ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of Applied Microbiology*, 113(2), 411-417.
- [66] Thomas, C.M., Hong, T., van Pijkeren, J.P., Hemarajata, P., Trinh, D.V., Hu, W., Britton, R.A., Kalkum, M., Versalovic, J. (2012). Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *PLoS one*, 7(2), e31951.
- [67] Umbrello, G., Esposito, S. (2016). Microbiota and neurologic diseases: potential effects of probiotics. *Journal of Translational Medicine*, 14, 298.
- [68] Flint, H.J. (2012). The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutrition Reviews*, 70(1), 10-13.
- [69] Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M.A., Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*, 28(2), 203-209.
- [70] Martinez, I., Lattimer, J.M., Hubach, K.L., Case, J.A., Yang, J., Weber, C.G., Louk, J.A., Rose, D.J., Kyureghian, G., Peterson, D.A., Haub, M.D., Walter, J. (2013). Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *The ISME Journal*, 7(2), 269-280.
- [71] Bäckhed, F., Manchester, J.K., Semenkovich, C.F., Gordon, I.J. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *PNAS*, 104(3), 979-984.
- [72] Tarr, A.J., Galley, J.D., Fisher, S.E., Chichlowski, M., Berg, B.M., Bailey, M.T. (2015). The prebiotics 3'Sialyllactose and 6'Sialyllactose diminish stressor-induced anxiety-like behavior and colonic microbiota alterations: Evidence for effects on the gut-brain axis. *Brain, Behaviour, and Immunity*, 50, 166-77.
- [73] Burokas, A., Arboleya, S., Moloney, R.D., Peterson, V.L., Murphy, K., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2017). Targeting the microbiota-gut-brain axis: prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and reverse the impact of chronic stress in mice. *Biological Psychiatry*, 82(7), 472-487.
- [74] Tillisch, K. (2014). The effects of gut microbiota on CNS function in humans. *Gut Microbes*, 5(3), 404-410.
- [75] Kunze, W.A., Mao, Y.K., Wang, B., Huizinga, J.D., Ma, X., Forsythe, P., Bienenstock, J. (2009). *Lactobacillus reuteri* enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(8B), 2261-2270.
- [76] Davis, M., Walker, D.L., Miles, L., Grillon, C. (2010). Phasic vs sustained fear in rats and humans: Role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 105-135.
- [77] Cowan, C.S.M., Hoban, A.E., Ventura-Silva, A.P., Dinan, T.G., Clarke, G., Cryan, J.F. (2018). Gutsy moves: The amygdala as a critical node in microbiota to brain signaling. *BioEssays*, 40(1), 1-12.
- [78] O'mahony, L., McCarthy, J., Kelly, P., Hurley, G., Luo, F., Chen, K., O'sullivan, G.C., Kiely, B., Collins, K., Shanahan, F., Quigley, E.M.M. (2005). *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*, 128(3), 541-551.
- [79] Luo, J., Wang, T., Shan, L., Xu, H., Wei, L. ve Feng, J. (2014). Ingestion of *Lactobacillus* strain reduces anxiety and improves cognitive function in the hyperammonemia rat. *Sciences CHINA Life Sciences*, 57(3), 327-35.
- [80] Savaignac, H.M., Couch, Y., Stratford, M., Bannerman, D.M., Tzortzis, G., Anthony, D.C., Burnet, P.W.J. (2016). Prebiotic administration normalizes lipopolysaccharide (LPS)-induced anxiety and cortical 5-HT<sub>2A</sub> receptor and IL-1 $\beta$  levels in male mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 52, 120-131.

- [81] Williams, S., Chen, L., Savignac, H.M., Tzortzis, G., Anthony, D.C., Burnet P.W.J. (2016). Neonatal prebiotic (BGOS) supplementation increases the levels of synaptophysin, GluN2A-subunits and BDNF proteins in the adult rat hippocampus. *Synapse*, 70(3), 121-125.
- [82] Davari, S., Talaei, S.A., Alaei, H., Salami, M. (2013). Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome-gut-brain axis. *Neuroscience*, 240, 287-296.
- [83] Mackos, A.R., Galley, J.D., Eubank, T.D., Easterling, R.S., Parry, N.M., Fox, J.G., Lyte, M., Bailey M.T. (2016). Social stress-enhanced severity of *Citrobacter rodentium* induced colitis is CCL2-dependent and attenuated by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Mucosal Immunol*, 9(2), 515-526.
- [84] Jia, S., Lu, Z., Gao, Z., An, J., Wu, X., Li, X., Dai, X., Zheng, Q., Sun, Y. (2016). Chitosan oligosaccharides alleviate cognitive deficits in an amyloid- $\beta$ 1-42-induced rat model of Alzheimer's disease. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 416-25.
- [85] Bartosch, S., Woodmansey, E.J., Paterson, J.C., McMurdo, M.E., Macfarlane, G.T. (2005). Microbiological effects of consuming a synbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, and oligofructose in elderly persons, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 40(1), 28-37.
- [86] Kałużna-Czaplińska, J., Błaszczuk, S. (2012). The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*, 28(2), 124-126.
- [87] Yamamura, S., Morishima, H., Kumano-go, T., Suganuma, N., Matsumoto, H., Adachi, H., Sigedo, Y., Mikami, A., Kai, T., Masuyama, A., Takano, T., Sugita, Y., Takeda, M. (2009). The effect of *Lactobacillus helveticus* fermented milk on sleep and health perception in elderly subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(1), 100-105.
- [88] Benton, D., Williams, C., Brown, A. (2007). Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(3), 355-361.
- [89] Haskey, N., Dahl, W.J. (2009). Synbiotic Therapy Improves Quality of Life and Reduces Symptoms in Pediatric Ulcerative Colitis. *ICAN: Infant, Child, & Adolescent Nutrition*, 1(2), 88-93.
- [90] Diop, L., Guillou, S., Durand, H. (2008). Probiotic food supplement reduces stress-induced gastrointestinal symptoms in volunteers: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Nutrition Research*, 28(1), 1-5.
- [91] Kannampalli, P., Pochiraju, S., Chichlowski, M., Berg, B.M., Rudolph, C., Bruckert, M., Miranda, A., Sengupta, J.N. (2014). Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) and prebiotic prevent neonatal inflammation-induced visceral hypersensitivity in adult rats. *Neurogastroenterol Motil*, 26, 1694-1704.
- [92] Zareie, M., Johnson-Henry, K., Jury, J., Yang, P.C., Ngan, B.Y., McKay, D.M., Soderholm, J.D., Perdue, M.H., Sherman, P.M. (2006). Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut*, 55(11), 1553-1560.
- [93] Gareau, M.G., Wine, E., Rodrigues, D.M., Cho, J.H., Whary, M.T., Philpott, D.J., Macqueen, G., Sherman, P.M. (2011). Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 60(3), 307-317.
- [94] Rodrigues, D.M., Sousa, A.J., Johnson-Henry, K.C., Sherman, P.M., Gareau, M.G. (2012). Probiotics are effective for the prevention and treatment of *Citrobacter rodentium*-induced colitis in mice. *The Journal of Infectious Diseases*, 206(1), 99-109.
- [95] Pärty, A., Kalliomäki, M., Wacklin, P., Salminen, S., Isolauri, E. (2015). A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood: a randomized trial. *Pediatric Research*, 77(6), 823-828.
- [96] Kalliomäki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P., Isolauri, E. (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 357(9262), 1076-1079.
- [97] Pessi, T., Sütas, Y., Hurme, M., Isolauri, E. (2000). Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Clinical and Experimental Allergy*, 30(12), 1804-1808.
- [98] Ait-Belgnaoui, A., Payard, I., Rolland, C., Harkat, C., Braniste, V., Théodorou, V., Tompkins, T.A. (2018). *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus helveticus* synergistically suppress stress-related visceral hypersensitivity through hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 24(1), 138-146.
- [99] Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejd, A., Bisson, J.F., Rougeot, C., Pichelin, M., Cazaubiel, M., Cazaubiel, J.M. (2011). Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *The British Journal of Nutrition*, 105(5), 755-764.
- [100] Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B., Guyonnet, D., Legrain-Raspaud, S., Trotin, B., Naliboff, B., Mayer, E.A. (2013). Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*, 144(7), 1394-401.
- [101] Parracho, H., Gibson, G.R., Knott, F., Bosscher, D., Kleerebezem, M., McCartney, A.L. (2010). A double-blind, placebo-controlled, crossover-designed probiotic feeding study in children diagnosed with autistic spectrum disorders. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 5(2), 69-74.
- [102] Ohland, C.L., Kish, L., Bell, H., Thiesen, A., Hotte, N., Pankiv, E., Madsen, K.L. (2013). Effects of *Lactobacillus helveticus* on murine behavior are

- dependent on diet and genotype and correlate with alterations in the gut microbiome. *Psychoneuroendocrinology*, 38(9), 1738-47.
- [103]Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan, Y., Jin, F. (2015). Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, 310, 561-77.
- [104]Savignac, H.M., Tramullas, M., Kiely, B., Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2015). Bifidobacteria modulate cognitive processes in an anxious mouse strain. *Behavioural Brain Research*, 287, 59-72.
- [105]Steenbergen, L., Sellaro, R., van Hemert, S., Bosch, J.A., Colzato, L.S. (2015). A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 258-264.
- [106]Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., Dinan, T.G. (2008). The probiotic Bifidobacteria infantis: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 43(2), 164-174.
- [107]Bravo, J.A., Forsythe, P., Chew, M.V., Escaravage, E., Savignac, H.M., Dinan, T.G., Bienenstock, J., Cryan, J.F. (2011). Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(38), 6050-6055.
- [108]Gibson, E.L. (2006). Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways. *Physiology & Behavior*, 89(1), 53-61.
- [109]Greeno, G.G., Wing, R.R. (1994). Stress-induced eating. *Psychological Bulletin*, 115(3), 444-464.
- [110]Gonzalez-Bono, E., Rohleder, N., Helhammer, D.H., Salvador, A., Kirschbaum, C. (2002). Glucose but not protein or fat load amplifies the cortisol response to psychosocial stress. *Hormones and Behavior*, 41(3), 328-333.
- [111]Robbins, T.W., Fray, P.J. (1980). Stress-induced eating: Fact, fiction or misunderstanding? *Appetite*, 1(2), 103-133.
- [112]Benton, D., Donohoe, R.T. (1999). The effects of nutrients on mood. *Public Health Nutrition*, 2(3A), 403-409.
-

## Fermente Sosis Formülasyonlarında Uygulanan Yenilikçi Yaklaşımlar

Meltem Serdaroğlu , Gamze İpek 

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

Geliş Tarihi (Received): 09.11.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 02.04.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [meltem.serdarpoglu@ege.edu.tr](mailto:meltem.serdarpoglu@ege.edu.tr) (M. Serdaroğlu)

☎ 0 232 311 13 14 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Son yıllarda, tüketicilerin sağlıklı beslenme konusundaki bilinç düzeyi ve beklentilerindeki değişim ile birlikte, gıda endüstrisinde kolesterol, yağ ve tuz içeriği azaltılmış aynı zamanda fonksiyonel olarak geliştirilmiş daha sağlıklı gıda ürünlerinin formüle edilmesine yönelik araştırma ve geliştirme (Ar-Ge) çalışmaları hız kazanmıştır. Yüksek oranda doymamış yağ, kolesterol ve tuz içermeleri, kürlenme katkısı olarak kullanılan nitritin karsinogen N-nitrozamin bileşiklerinin oluşumuna neden olması tüketicilerin fermente et ürünlerine kaygıyla yaklaşmalarına neden olmaktadır. Bu nedenle sağlığı ön planda tutan, fonksiyonel olarak geliştirilmiş, besleyici değeri yüksek ürün formülasyonlarının geliştirilmesi konusunda çalışmalar sürdürülmektedir. Bu makalede, fermente et ürünlerinde hayvansal yağın ve kullanılan doğal olmayan katkı maddelerinin olumsuz etkilerini azaltacak ve/veya ortadan kaldıracak sağlıklı ürün formülasyonlarının geliştirilmesi konusunda yürütülen çalışmalar derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fermente Sosisler, Sucuk, Nitrit, Tuz, Diyet Lifi

### Novel Approaches on Fermented Sausage Formulations

#### ABSTRACT

In recent years, research and development studies have accelerated to formulate healthier, functional food products with a reduced fat, cholesterol, and salt content in food industry as a result of the changes in consumer expectations. Meat and meat products are important sources of proteins, vitamins and minerals, but they also contain saturated fatty acids, cholesterol, salt and nitrite which interacts with secondary amines to form carcinogenic N-nitrosamine compounds. Therefore, healthy product formulations to reduce and/or eliminate negative effects of animal fat, salt and nitrite additives in fermented meat products have been continuously studied. In this study, researches on healthy fermented meat product formulations to reduce and/or eliminate negative effects of animal fat and some additives in fermented meat products are presented.

**Keywords:** Fermented sausages, Sucuk, Nitrite, Salt, Dietary fiber

#### GİRİŞ

Tüketicilerde son yıllarda belirgin olarak gelişen diyet ve sağlık arasındaki yakın ilişki farkındalığı et endüstrisini daha sağlıklı ürün formülasyonlarının geliştirilmesi konusunda motive etmekte; et ürünleri formülasyonlarında yağın azaltılması, yağ asidi kompozisyonunun modifikasyonu, sağlık üzerine olumlu

etkileri olan fonksiyonel bileşenlerin kullanılması ve sentetik katkı maddelerinin doğal katkı maddeleri ile değiştirilmesi konularındaki araştırma- geliştirme çalışmaları yoğunlaşmaktadır.

Et ve et ürünlerinin fermente edilerek işlenmesi, bilinen en eski koruma tekniklerindedir. Fermente et ürünleri, düşük pH ve su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu,

düşük nem içeriği ile uzun raf ömrüne sahip olan ürünlerdir. Fermente sosisler, et ve yağın boyutlarının küçültülmesi, baharatlar, şeker, tuz ve kürlenme maddelerinin (nitrit) eklenmesi, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve belirli bir sıcaklık ve bağlı nemde fermentasyon ve olgunlaştırma işlemi uygulanması sonucu üretilen et ürünleridir [1, 2]. Karbonhidratlar, proteinler ve yağlarda fermentasyon ve olgunlaşma sırasında gerçekleşen değişimlerle birlikte, fermente sosislerde karakteristik renk, lezzet ve tekstür gelişmekte, mikrobiyolojik güvenilirlik sağlanmakta ve raf ömrü uzatılmaktadır [3, 4]. Fermente sosislerin yüksek oranda doymuş yağ ve kolesterol içermesi, genelde kurutma işlemi sonrasında tuz oranının artması ve ürün formülasyonunda kullanılan nitrat ve türevlerinin sağlığa olumsuz etkileri sebebiyle sağlıklı diyetteki tüketimini sınırlandırmaktadır. Fermente sosislerde yağ, teknolojik kalite ve duyuşal özellikleri olumlu yönde etkilemektedir, ancak, yüksek oranda doymuş yağ ve kolesterol içeren ürünlerin fazla miktarlarda tüketilmesinin ve kalp damar hastalıkları ve bazı kanser türlerinin gelişimi ile yakın ilişkili olduğu bilinmektedir [5]. Bu nedenle formülasyonda yağın azaltılması ve bitkisel yağlar kullanılarak yağ asitleri kompozisyonunun modifiye edilmesi birçok çalışmaya konu olmuştur. Fermente et ürünleri yüksek oranda tuz (NaCl) içermektedir [6], ürün kalitesini etkilemeden günlük tuz tüketimini azaltmak amacıyla NaCl yerine KCl, CaCl<sub>2</sub>, ve MgCl<sub>2</sub> gibi diğer tuzlar veya maya ekstraktları ile birlikte veya tek başına kullanılması ve bu formülasyon değişikliklerinin engel teknolojileri ile kombine edilmesi, güncel alternatif uygulamalar arasında yer almaktadır [7]. Fermente et ürünlerinde nitrit, karakteristik renk ve lezzet oluşumuna önemli katkı sağlamakta, oksidasyonun engellenmesinde rol oynamakta ve en önemlisi *Clostridium botulinum* sporlarının inhibisyonunu sağlamaktadır [8]. Ancak kanserojen nitrozamin bileşiklerinin oluşumunda rol oynayan kalıntı nitrit miktarının azaltılması amacıyla nitrit alternatifi olarak kullanılacak doğal katkı maddeleri arayışı sürdürülmektedir [9].

Et endüstrisinde daha sağlıklı formülasyonların geliştirilmesi konusundaki çalışmalar; yağ, kolesterol ve tuz miktarının azaltılması, yağ asidi profilinin modifiye edilmesi, biyoyararlılığın artırılması, prebiyotik ve probiyotikler, vitaminler, mineraller ve doğal antioksidanlar gibi katkıların kullanılması gibi konular üzerinde odaklanmaktadır [10].

Bu derlemede, fermente et ürünlerinde sağlıklı ürün formülasyonlarının geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmalar literatüre dayandırılarak incelenmiştir.

## FERMENTE ET ÜRÜNLERİ FORMÜLASYONLARINDA YAĞ ASİTLERİ MODİFİKASYONU

Hayvansal yağ, et ürünlerinde karakteristik lezzet, sululuk, tekstür ve ısı transfer hızını belirleyen önemli bir bileşendir. Fermente sosislerde kurutma işlemi sonrasında ürün kompozisyonundaki miktarı %30-40 düzeylerine ulaşabilen granüler yapıdaki hayvansal yağın et partikülleri ile oluşturduğu mikro kapiler kanallar

sayesinde, ürünün kuruması sırasında suyun merkezden dışarıya doğru uzaklaşmasını sağlamak gibi önemli bir işlevi de bulunmaktadır [5]. Ürün formülasyonundaki yağın duyuşal ve teknolojik kalite üzerine olumlu etkileri olmakla birlikte, yüksek miktarda yağ ve kolesterol tüketiminin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri tüketicilerin et ürünlerine olan talebini kısıtlamaktadır. Dünya Sağlık Teşkilatı [11], günlük toplam kalori ihtiyacının en çok %30'unun yağlardan, toplam enerji ihtiyacının ise en çok %10'unun doymuş yağlardan karşılanması ve günlük alınan kolesterol miktarının, 300 mg'ı geçmemesi gerektiğini belirtmektedir. Bu nedenlerle, son yıllarda et endüstrisi et ürünlerinde daha sağlıklı yağ asidi kompozisyonları sağlayan yenilikçi formülasyonların geliştirilmesi konusundaki çalışmalara hız vermiştir. Et ürünlerinde toplam kaliteyi etkilemeksizin yağ miktarını azaltmak amacıyla; nispeten yağsız hammadde kullanımı, yağ ikamesi olarak ve formülasyondaki fazla suyu absorbe edebilmek amacıyla bitkisel ve hayvansal kaynaklı çeşitli protein ve polisakkaritlerin eklenmesi ve yağın emülsifiye edilerek kullanılması yoluyla formülasyondaki yağ miktarının seyreltilerek azaltılması gibi çeşitli stratejiler uygulanmaktadır [12, 13].

Formülasyondaki yağ miktarının doğrudan azaltılması, ürünün fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir [13, 14]. Yağı azaltılan fermente sosislerde ürün tekstürü ve duyuşal kalite olumsuz olarak etkilenmekte ve yağın azaltılması nedeniyle kuruma problemleri de ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, yağın azaltılması ürünlerin oksidatif reaksiyonlara olan dayanıklılığını artırmaktadır. Isıl işlem gören sucuk formülasyonlarında %20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 oranlarında sığır et yağı kullanılmış ve ürün kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Yağ oranının artmasına bağlı olarak sertlik ve sakızimsılık değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Yağ oranı ve depolama periyodu renk ve oksidasyon üzerinde etkili olmuştur. En yüksek dış yüzey parlaklık değerinin %50 yağ kullanılan örneklerde olduğu, kırmızılık değerlerinin depolama boyunca azaldığı ve sarılık değerlerinin artan yağ miktarına karşılık azaldığı saptanmıştır. En düşük TBA değeri (0.25 mg MA/kg örnek) 1. haftada %20 yağlı örneklerde gözlenmiş olup depolamaya bağlı olarak artmıştır [15].

Fermente sosislerde yağ asidi profilinin doymamış yağ asitlerince zenginleştirilmesi amacıyla modifiye edilmesi genellikle ürün formülasyonunda yer alan hayvansal yağın, sağlıklı bitkisel yağlar ile yer değiştirilmesi ile mümkün olmaktadır. Bitkisel yağların kolesterol içermemesi ve hayvansal yağlardan daha yüksek oranda doymamış yağ asitlerini içermesi fermente sosislerde yağ asidi modifikasyonu ve kolesterol miktarının azaltılması amacıyla kullanımlarını yaygınlaştırmaktadır [13]. Bu konuda yapılan araştırmalar incelendiğinde, bitkisel kaynaklı yağlardan genellikle soya yağı [16], pamuk yağı [17], zeytinyağı [18], hidrojene bitkisel yağlar [19], fındık yağı [20], mısır yağı [21], keten tohumu yağı [22], palm yağı ve interesterifiye hurma çekirdeği yağlarının [23] hayvansal yağ ile yer değiştirilerek kullanılmasının yağ asidi modifikasyonunu sağladığı ve kolesterol miktarını

azaltıldığı belirtilmektedir. Geçgel ve ark. [24], sucuk formülasyonunda sığır et yağının %10, 20, 30 oranlarında soğuk pres ceviz, fındık, aspir yağları ve zeytinyağı ile ikame edildiğinde, artan bitkisel yağ ikamesinin ve 90 günlük depolama süresinin serbest yağ asitliği ve peroksit değerlerinde artışa neden olduğu ve çoklu doymamış yağ asitleri içeriğinin en çok %30 ceviz yağı eklenen sucuklarda saptandığını bildirmişlerdir.

Fermente et ürünlerinde bitkisel kaynaklı yağların hayvansal yağlar yerine kullanılması, sağlıklı yağ asidi kompozisyonunun elde edilmesini sağlamakla birlikte bazı teknolojik sorunlara neden olabilmektedir. Yapılan araştırmalar, bitkisel kaynaklı yağların fermente et ürünlerinde dokuda yumuşama, görünümde bozukluk, dilimleme zorluğu ve yağ oksidasyonunun hızlanması gibi problemleri de beraberinde getirdiğini ortaya koymaktadır [13]. İlikkan ve ark. [25], sığır et yağı ile formüle edilen sucuklara %2.5 ve 5 oranlarında fındık yağı ilavesinin ürün kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kullanılan fındık yağı oranındaki artışa bağlı olarak daha parlak yüzey görünümü sağlandığı, dokuda yumuşama olduğu ve TBARS değerlerinde artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Nacak [26], ısıtma işlem görmüş dana sucuklarında sığır et yağının %15 ve 30 oranlarında zeytinyağı ile ikame edilmesinin peroksit, TBARS ve toplam karbonil değerlerinin artışına neden olduğunu saptamıştır. Bitkisel kaynaklı yağların kullanımı ile ortaya çıkan bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak amacıyla yağların enkapsüle edilerek ve/veya emülsiyon olarak kullanılması konusunda çeşitli araştırmalar sürdürülmektedir [27-29]. Kuru fermente sosis formülasyonunda domuz sırt yağı ikamesi olarak keten tohumu yağı doğrudan, aljinat veya soya proteini ile emülsiyon edilerek kullanılmış, aljinat ile emülsiyon edilen keten tohumu yağı eklenen örnekler dışında diğer gurupların kontrol örnekleri ile benzer özellikleri taşıdığı saptanmıştır [30]. İspanyol tipi fermente sosis olan Chorizo formülasyonunda, zeytinyağı, keten tohumu ve balık yağı, glukomannan içeren konjak matriks içinde stabilize edilmiş, örneklerde n-6/n-3 oranının arttığı duyusal özelliklerin ise olumsuz etkilendiği saptanmıştır [31]. Emülsiyon edilerek kullanılan bitkisel yağlar, et sistemlerinde su ve yağı tutarak su tutma kapasitesinin artmasını sağlamaktadır. Isıtma işlem görmüş sucuklarda keten tohumu yağı ve fıstık yağı ile hazırlanan soğuk jel emülsiyonların hayvansal yağ ile %20 oranında yer değiştirilmesi sucukların TBARS değerlerinin artmasına neden olmakla birlikte teknolojik kalite ve duyusal özelliklerin gelişmesini sağlamıştır [22]. Kurutulmuş fermente sosislerde karagenan ve keten tohumu yağı ile hazırlanan O/W jel emülsiyonları %26.3, 32.8 ve 39.5 oranlarında kullanılmış, O/W jel emülsiyonu kullanılan guruplarda  $\alpha$ -linolenik asit miktarı artmış, peroksit ve TBARS değerleri kontrol örnekleriyle benzer bulunmuştur [32].

#### FERMENTE SOSİSLERDE DİYET LİFİ KULLANIMI

Diyet lifleri sindirime dirençli oligosakkaritler ve fruktooligosakkaritler olarak tanımlanır ve sudaki çözünürlüklerine göre çözünen ve çözünmeyen lifler olarak sınıflanır [33]. Diyet liflerinin, kalp damar

hastalıkları, yüksek tansiyon, diyabet ve obezite gibi önemli sağlık problemleri üzerine olumlu etkileri söz konusudur [34]. Diyet lifleri yüksek su ve yağ tutma, mineral ve organik molekül bağlama kapasitesine sahiptir [5, 35, 36, 37]. Yağı azaltılmış fermente sosislerde ortaya çıkan duyusal ve teknolojik problemler diyet liflerinin ilavesi ile azaltılabilmektedir. Et ürünlerinde şeftali, elma ve, buğday, yulaf lifleri [38], turuncu albedosu [39], soya [40], havuç [41], portakal [42], kara havuç liflerinin [5] ve inülinin [43] kullanımı araştırılmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde, yağı azaltılmış fermente sosislere diyet lifi ilavesi ile ürün tekstürünün olumlu yönde etkilendiği, duyusal kalitenin geliştiği, kalıntı nitrit miktarının azaldığı, pişirme ve ağırlık kayıplarının azaldığı, lipid oksidasyonunun yavaşladığı, kolesterol ve enerji miktarının azaldığı bulgulanmıştır. Kuru fermente tavuk sosisleri formülasyonunda %9 mısır yağı ile birlikte %7 oranında inülin kullanılmış, fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kaliteyi etkilemediği bildirilmiştir. İnülin ilave edilen örneklerin yağ ve protein değerleri, inülin kullanılmayan örneklerle kıyasla azalırken karbonhidrat değerleri önemli düzeyde artmış ( $P<0.05$ ), inülin ile formüle edilen örneklerin, daha sert ve daha az elastik olduğu ( $P<0.05$ ), duyusal açıdan ise önemli fark oluşturmadığı saptanmıştır [43]. Akoğlu ve ark. [44], bakteriyel selüloz fermente sucuk üretiminde yağ ikamesi olarak kullanılabilirliğini, bakteriyel selüloz kullanılan örneklerin kontrol örneklerinden farklı duyusal özellikler göstermediğini bildirmişlerdir. %20 domuz yağı ile formüle edilen fermente sosislerde domuz sırt yağı %25, 50 ve 75 oranında kollajen ve diyet lifi (MCG 0018) karışımı ile yer değiştirilerek kullanılmış, diyet lifi içeren karışımın kullanım miktarına bağlı olarak yağ içeriği önemli ölçüde azalırken, nem, protein ve kül içeriği artmış, depolama sırasında lipid oksidasyonunun azaltılması ve duyusal özelliklerin korunmasında etkili olduğu saptanmıştır [45]. Jung ve ark. [33], %1.5 pirinç kepeği lifi ve %1.5 buğday liflerinin olgunlaşma ve depolama sırasında fermente sosislerin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir. Diyet lifi eklenmiş gurupların olgunlaşma dönemlerinde hızlı bir pH düşüşü gerçekleştiği, su aktivitesi değerlerinin daha yüksek seyrettiği rapor edilmiş, fermente sosislerde laktik asit bakterileri sayıca en çok pirinç kepeği lifli kullanılan guruplarda saptanmış olup fermente sosislerde diyet liflerinin eklenmesi, laktik bakterilerin ve fermantasyon gelişimini teşvik ettiğini ve fonksiyonel fermente sosislerin geliştirilmesinin mümkün olduğu belirtilmiştir.

#### FERMENTE SOSİS FORMÜLASYONLARINDA TUZ MİKTARININ AZALTILMASI

Yüksek oranda tuz (NaCl) tüketiminin hipertansiyon, kalp-damar hastalıkları, diyabet ve böbrek hasarı gibi sağlık problemleri ile yakın ilişkisi olduğu bilinmektedir [46]. Dünya Sağlık Teşkilatı, tuz tüketiminin günde 5 g'dan fazla olmaması gerektiğini önermektedir [11]. Ülkemizde ve dünyada tuz tüketimi, günlük alım miktarlarının (9-12 g/gün) oldukça üzerindedir. Tuz, et ürünlerinde lezzetin geliştirilmesinde ve mikrobiyal güvenliğin sağlanmasında önemli etkilere sahip olmanın yanı sıra, et ürünlerinde olgunlaşma süresince

biyokimyasal ve enzimatik reaksiyonları etkileyerek miyofibriler proteinlerin çözünürlüğünü, dolayısıyla tekstür gelişimi ve ürün lezzetinin oluşmasına katkı sağlamaktadır. Tuzun antimikrobiyal etkisi, mikroorganizmaların gelişmesi için mevcut serbest su miktarı olarak tanımlanan su aktivitesini ( $a_w$ ) azaltma özelliğine dayanır, buna bağlı olarak patojen mikroorganizmaların ozmotik şoka maruz kalmasıyla hücre ölümleri gerçekleşmekte ve böylece mikrobiyal üreme kontrol altında tutularak ürünün raf ömrü uzamaktadır [7]. Tüm bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda, et ürünlerinde tuz miktarının azaltılmasının üründe kalite problemlerine neden olacağı, aynı zamanda da ürünün mikrobiyolojik güvenilirliğinin de azalacağı görülmektedir.

Et ürünlerinde algılanan tuzluluğunun, tüketicilerin üründen beklediği tekstür ve lezzet farklılıkları olmadan ve mikrobiyolojik güvenirliliğin sınırlanmadan azaltılması, tuzun işlevlerini yerine getiren düşük sodyum karışımları, tuz alternatifleri, lezzet artırıcıların kullanılması ve yüksek basınç ve ultrases uygulamaları gibi tekniklerin üretim sürecine dahil edilmesi ile mümkün olmaktadır [7]. Fermente sosis formülasyonlarında tuz miktarının %40-50 oranlarında azaltılması, ürünlerin tekstür, lezzet ve duysal özelliklerini olumsuz etkilemekte, %16 gibi düşük oranda azaltılması ile daha olumlu sonuçlar elde edilebilmektedir [47], NaCl yerine KCl [48] ve CaCl<sub>2</sub> [49] kullanılması duysal açıdan bir fark oluşturmamaktadır. Isıl işlem görmüş fermente sosislerde tuzun azaltılması amacıyla %25+75 oranlarında kullanılan NaCl ve KCl karışımının neden olduğu kalite problemleri lizin, taurin, disodyum inosinat, disodyum guanilat ve lizin eklenmesi ile giderilmiştir [50]. Düşük yağ ve tuz oranına sahip kuru fermente sosis formülasyonlarına *Debaryomyces hansenii* suşu inoküle edilmiş ve ürün kalitesi değerlendirilmiştir, tuz (%17-20) ve yağ (%10-16) miktarındaki azalmalar, sosislerin, sertlik ve çiğnenebilirlik değerlerinde artışa neden olmuş, maya inokülasyonunun, yağı veya tuzu azaltılmış kuru fermente sosislerde aroma ve lezzeti artırdığı saptanmıştır [47].

Yüksek basınç uygulaması (HPP), tuzu azaltılmış et ürünleri üretiminde başarılı bir şekilde uygulama alanı bulmaktadır [51]. HPP, 300-600 MPa basınç aralıklarında, düşük sıcaklıklarda mikroorganizmaların hücre yapısını etkileyen, ürünün lezzet, tekstür, görünüm ve besin değerine ise olumsuz etkisi olmayan bir koruma tekniğidir [52]. HPP ile *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* ve *L. monocytogenes* gibi patojenlerin yanı sıra mayalar, *Pseudomonas* ve laktik asit bakterileri gibi bozulma yapan mikroorganizmaların da etkisiz hale getirildiği saptanmıştır [53].

Ultrases uygulaması 1 W/cm<sup>2</sup>'den daha yüksek yoğunluklarda ve 20 ile 100kHz arasındaki frekanslarda uygulanan yüksek ses dalgaları ürünlerin redoks reaksiyonları, enzim inaktivasyonu ve protein ekstraksiyonu amacıyla kullanılan ısıl olmayan koruma yöntemidir [54]. Ultrases uygulaması mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlayan bir yöntem olmakla birlikte etin tuzlanması sırasında tuz

transferini artırması nedeniyle işlenmiş et ürünlerinin raf ömrünü, lezzetini, sertliğini ve sululuğunu artırma ve tuz miktarının azaltılmasına yönelik bir uygulama olarak görülmektedir [7].

## FERMENTE SOSİSLERDE NİTRİT ALTERNATİFİ KATKILAR

Et ve et ürünlerinde nitrat ve nitrit tuzları kullanımının, karakteristik renk ve lezzet gelişimini hızlandırmak, lipit oksidasyonunu kontrol etmek ve özellikle vakum altında ambalajlanmış et ürünlerinde *C.botulinum* ve sporlarına karşı antimikrobiyal etki sağlamak gibi önemli fonksiyonları bulunmaktadır [55]. Bununla birlikte nitrit, sekonder aminler ve diğer azotlu maddelerle reaksiyona girerek karsinojenik N-nitroso bileşiklerinin oluşmasına yol açmaktadır [56, 57]. Yapılan araştırmalar, işlenmiş etlerden nitrat/nitrit alımı ve kanser gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğu sonucunu ortaya koymaktadır [58]. Bu nedenle, nitrit/nitrat kullanımına ilişkin yasal sınırlamalar getirilmiştir, Avrupa Komisyonu Yönergesi (2006/52/EC) [59], kuru fermente et ürünlerinde maksimum nitrat ve nitrit seviyesini 150 ppm ve nitrit içermeyen uzun süre kürlenmiş et ürünlerinde maksimum nitrat seviyesi 250 ppm olarak belirlenmiştir. Ülkemizde ısıl işlem uygulanmayan et ürünleri (fermente sucuk ve pastırma hariç) için maksimum nitrat seviyesi 150 ppm olarak belirlenmiştir [60]. Et ürünleri formülasyonlarında nitrit ve nitratlar potansiyel sağlık riskleri nedeniyle tüketiciler üzerinde olumsuz etkiye neden olmaktadır. Tüketici taleplerini karşılamak amacıyla et ürünlerinde nitrit ve nitratların kullanım miktarının azaltılması veya bu katkı maddelerinin diğer bazı doğal katkılarla ikame edilme olanağının araştırılması et endüstrisi Ar-Ge faaliyetlerinde önemli bir gündem oluşturmaktadır [56, 61].

Nitrit ve nitratlar, çoğunlukla sentetik katkı maddeleri olarak tanınmakta, diyetle tüketilen tüm nitrit ve nitratların karsinojen olduğu ve doğal kaynaklardan elde edilemeyeceği yönünde yanlış düşünceler bulunmaktadır. Ancak, bazı yeşil yapraklı ve kök bitkiler ve meyveler topraktaki nitratı doğal olarak özümlemekte ve bünyelerinde nitrat barındırmaktadırlar. Nitrat içeren sebzeler tüketildiğinde, ağız florasında bulunan bakteriler nitratı nitrite indirgemekte, ardından nitrit midedeki asidik ortamda nitrik okside dönüşmektedir [61]. Sebzeler arasında nitrat konsantrasyonu açısından önemli farklılıklar bulunmakta olup, nitrat içeriği 1-10.000 mg/kg gibi geniş bir aralıkta değişebilmektedir [56].

Et ürünlerinde kullanılan nitrit ve kalıntı nitrit miktarının azaltılması, bitkisel kaynaklı doğal katkıların, organik asitlerin, mikrobiyal kaynakların kullanımı, ışınlama, yüksek basınç ve engel teknolojisi uygulamaları ile sağlanabilmektedir [56, 62]. Bileşimlerinde doğal olarak nitrat içeren bitkisel kaynaklı katkıların yaygın olarak kullanımı söz konusudur [63, 64]. Gabaya ve ark. [65], taze ispanaktan izole ettikleri *Staphylococcus carnosus*'un kürlenmiş domuz eti örneklerinde kalıntı nitrit miktarının azaltılmasında, doğrudan nitrit ile muamele edilmiş örneklere kıyasla daha başarılı olduğunu tespit etmişlerdir. Bitkisel kaynaklı katkıların bir diğer avantajı ise, yağ oksidasyonunu yavaşlatma



etkileridir. Sığır eti sucuk örneklerinde %0.12 pancar tozu ve 50 mg/kg nitrit kullanılan grupta yağ oksidasyonunun en düşük düzeyde gerçekleştiği saptanmıştır [66]. Kurcubic ve ark. [67], fermente sosislerde nitrit yerine %3'lük 30.0 g/kg ve %10'luk 12.5 g/kg Rus hibisküsü ekstraktı eklenmesinin yağ oksidasyonunu yavaşlattığı, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis* ve *Aspergillus niger*'in daha düşük konsantrasyonlarda inhibisyonunu sağladığı ve ürünün duyu özelliklerini olumsuz yönde etkilemediğini ortaya koymuşlardır. Fermente domuz sosisinde %0,8 ve 1,0 oranında siyah pirinç kepeği tozu kullanılmış, lipit oksidasyonunun yavaşlattığı ve sosislerin, 120 ppm nitrit kullanılan kontrol örneklerine kıyasla daha yüksek seviyelerde antosiyaninler, toplam fenolik madde ve antioksidan özellik gösteren bileşikler içerdiği saptanmıştır [68]. Fermente et ürünlerinde kullanılan nitrat/nitrit miktarını ve kalıntı nitrit miktarını azaltmak starter kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanımıyla da mümkün olabilmektedir. Paik ve Lee [69], kimchiden izole edilen, nitrit indirgeme yeteneğine sahip *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, ve *Lactobacillus sake* kültürlerinin fermente sosislerde nitritin indirgenmesinde başarılı sonuç verdiğini saptamıştır. Yapılan başka bir çalışmada *Escherichia coli* ve/veya *L. casei*'nin fermente sosislerde kalıntı nitrit miktarını azalttığı saptanmıştır [70]. Sun ve ark. [71], *L. pentosus*, *L. curvatus* ve *L. sake* starter kültürlerinin fermente, kurutulmuş sosis örneklerinde kalıntı nitrit miktarının azaltılmasında başarılı sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Çin'e özgü fermente kuru sosislerde nitrit miktarını azaltıcı etkiye sahip *Lactobacillus* suşu kullanılmış, olgunlaşma aşamasında nitrit hızlı bir şekilde azalmış, ortam asitliğinde artış meydana gelmiş ve Enterobacteriaceae sayısının azalması sağlanmıştır [72]. Fermente et ürünlerinde daha düşük seviyelerde nitrit kullanımı ve kalıntı nitrit miktarının azaltılmasına yönelik girişimlerde, engel teknolojisi de önerilen uygulamalardan biridir. Bu uygulamalar, gama, elektron ve X-ray ışınları, HPP, ozon, vurgulu elektrik alan, vurgulu UV ışınları, ultrases, ohmik, mikrodalga ve radyofrekans, gibi ısı olmayan koruma tekniklerini kapsamaktadır [73]. HHP özellikle *C. botulinum* sporlarını inaktive etmek ve mikrobiyolojik güvenliği sağlama konusunda geniş bir kullanım alanına sahiptir ve uygulandığı gıdanın duyu kalitesini de koruyan termal olmayan bir koruma tekniğidir [74]. Yapılan bir çalışmada, düşük asitli fermente et ürününde biyokoruyucu kültürler olarak *Enterococcus faecium* ve 600 MPa, 5 dk HHP işleminin, kombine şekilde uygulanmasının olumlu sonuç verdiği rapor edilmiştir [55]. Benzer bir uygulamada 10 ve 20 kGy gama ışınları ile birlikte 0, 150 ve 300 ppm konsantrasyonlarda nitrit kullanılmış, *C. botulinum* sporları (107 spor/g) üzerinde etkileri incelenmiş, 150 ppm nitritin, olgunlaştırma sonunda, mikroorganizma başlangıç sayısını ancak yarısına kadar indiremediği, >10 kGy kullanılan ışınlanmanın ise kalıntı nitrit miktarını azaltmada tek başına olumlu sonuç verdiği bildirilmiştir [75].

## DIĞER DOĞAL KATKILAR VE UYGULAMALAR

Son yıllarda tüketicilerin gıda ürünlerinin doğal katkı ve bileşenler ile formüle edilmesi konusundaki taleplerinin artmasıyla birlikte, et ürünleri formülasyonlarında ürün kalitesini ve teknolojik özellikleri iyileştirmek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan sentetik katkı maddelerinin yerine doğal katkı maddelerinin kullanılması yaygınlaşmaktadır [76, 77]. Doğal kaynaklı antioksidanlar, fenolik bileşikler, doğal renklendiriciler ve probiyotikler fermente et sosislerde kullanılan doğal katkı maddelerine örnek olarak verilebilir [78].

Yüksek polifenol içeriğine sahip meyve, sebze tozları, prüreleri ve ekstraktları, otlar ve baharatlar fenolik bileşen içerikleri nedeniyle et ürünlerinde oksidasyon sırasında oluşan serbest radikallere karşı yüksek antioksidan etki göstermektedir [79, 80]. Bunların yanı sıra et ve et ürünlerinde mineral maddeler (kalsiyum, potasyum, demir, fosfor vb.) ve vitaminler (A vitamini, β-karoten, askorbik asit ve α-tokoferol) potansiyel antioksidan kaynakları olarak kullanılmaktadır [81, 82].

α-tokoferol düşük nitrit seviyelerinde et rengine olumlu etkilerinden dolayı iyi bir kürlenme yardımcı maddesidir [83], fermente sosis formülasyonuna 200 ppm α-tokoferol ilavesinin, ürünün raf ömrünü artırdığını, lipit oksidasyonunu yavaşlattığı ve lezzete herhangi olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir [84]. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*), Lamiaceae familyasına ait, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanan bir antioksidandır [85]. Biberiye, yapısında bulundurduğu antioksidan etkili fenolik bileşikler sayesinde lipit oksidasyonunu yavaşlatmaktadır [86]. Bu nedenle biberiye ve biberiye ekstraktlarının et ve et ürünlerinde kullanımı oldukça yaygındır [87, 88]. %20 domuz yağı eklenen fermente keçi eti ile çalışılan bir çalışmada ise %0.025 ve 0.050 oranlarında biberiye ekstraktı kullanılmış ve vakum paketlenmiş örneklerde, 30°C'de 90 gün depolama periyodu boyunca oksidatif stabilite incelenmiştir. En düşük TBARS değerlerinin son ürün ve depolama boyunca %0.050 oranında biberiye ekstraktı kullanılan örneklerde olduğu bildirilmiştir [89]. Yapılan bir çalışmada kuru kürlenmiş fermente sosis (Chorizo, İspanya) örneklerinde doğal ve sentetik antioksidanların etkileri incelenmiş, antioksidan içermeyen kontrol (C), BHT, üzüm çekirdeği ekstraktı (GRA) ve kestane ekstraktı (CHE) gruplarının olgunlaşma sonunda TBARS değerlerinin C > BHT > GRA > CHE olduğu ve en yüksek antioksidan etkinin kestane ekstraktına ait olduğu saptanmıştır [90]. Zeng ve ark. [91], yarı kuru kürlenmiş fermente sosis (Cantonese, Çin) örneklerinde, 0.6 g/kg BHT, 0.3 g/kg taze zencefil ve 0.3 g/kg biberiye, 0.3 g/kg meyankökü ve 0.3 g/kg biberiye, 0.3 g/kg α-tokoferol ve 0.3 g/kg biberiye olmak üzere 4 farklı formülasyon denemişlerdir. 28 günlük depolama boyunca α-tokoferol ve biberiye eklenen örneklerin en düşük peroksit değerlerine sahip olduğu saptanmıştır. Aquilani ve ark. [92], üzüm çekirdeği ve kestane ekstraktının kuru fermente domuz sosisi örneklerinde oksidatif etkisini incelemişlerdir. Kestane ekstraktı kullanılan örneklerin TBA değerleri, üzüm çekirdeği kullanılanlara kıyasla daha düşük bulunmuştur. Biberiye ekstraktının farklı damlacık çaplarına (d43, 0.2 ve 4.6

µm) sahip O/W (su içinde yağ) emülsiyonu içerisindeki etkileri çiğ fermente sosis örneklerinde incelenmiştir. Çiğ fermente sosis formülasyonlarında %0.48 (w/w) biberiye özütü ile hazırlanan O/W emülsiyonlu grupların, TBARS ve peroksit değerleri incelenerek, kontrol gruplarına kıyasla önemli ölçüde lipid oksidasyonunu geciktirdiği saptanmıştır [93].

Karotenoidler, antioksidan ve antikanserijen etkilerinin yanı sıra fermente sosislere doğal renklendirici olarak da kullanılmaktadır [78], aynı zamanda asidik pH'ya sahip olmaları nedeniyle mikroorganizma gelişimini de yavaşlatmaktadır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, fermente sucuklara %0.6, 0.9 ve 1.2 oranlarında likopen eklenmiş ve 21 gün olgunlaştırma sonunda ürün kalitesi incelenmiştir. Artan konsantrasyonlarda likopen kullanılması yağ oksidasyonunun önemli oranda yavaşlamasını sağlamış, ürün tekstürü ve duyuşal özellikleri olumlu yönde etkilenmiştir [98]. Yapılan bir çalışmada fermente domuz sosisinde (Sai Krok Isan, Tayland) siyah pirinç kepeği tozu (BCP) kullanılmış, sonuç olarak BCP'nin doğal fonksiyonel bir gıda renklendirici ve antioksidan potansiyele sahip olduğunu göstermiştir [68].

Bitkisel ekstraktlar ve baharatlar içerdikleri fenolik asitler, tanenler, flavonoidler ve fenolik diterpenler sayesinde antioksidan ve antimikrobiyal etki gösteren doğal katkı maddeleridir. Et ürünlerinde; üzüm çekirdeği, yeşil çay, zeytin yaprağı, kakao yaprağı, brokoli, yeşil yapraklı sebze özleri, keçiboynuzu meyvesi, kızılçık, nar, kimchi, biberiye ve melisa ekstraktları antioksidan etkileri nedeniyle araştırmalara konu olan katkılardır [79]. Ribas-Agusti ve ark. [95], kuru fermente sosislere kakao ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının içerdikleri polifenoller nedeniyle yağ oksidasyonunu önemli oranda yavaşlattıkları ve ürünün duyuşal özellikleri üzerine olumsuz etki göstermedikleri belirtilmiştir. Bitkisel ekstraktların yanında farklı baharatlarında antioksidan etki gösterdiği bilinmektedir, çemenotu, ginseng, hardal, biberiye, adaçayı, tarçın, karanfil, yenibahar, kimyon, kişniş, mercanköşk, kekik, kırmızıbiber, karabiber ve zencefil, fermente sosislere antimikrobiyal etkileri saptanmış baharatlardır [78, 83].

İnsan vücudunda bağırsak florası dengesinin sağlanmasında etkin rol oynayan probiyotikler etde lezzet gelişiminin ve mikrobiyolojik güvenirliliğin sağlanması yönünde önemli etkilere sahiptir. Fermentasyonu işlemi sonunda sindirilebilirlik artmakta, fermente et ürünlerinde besinlerden faydalanmayı artıran probiyotiklerin kullanılması da ürünlerin besleyicilik değerinin artmasını sağlamaktadır [96, 97]. *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. casei*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Pediococcus acidilactici* en çok kullanılan probiyotik kültürlerdir [78]. Son yıllarda probiyotik kültürlerin fermente sosislere kullanımı yaygınlaşmıştır, kullanılan probiyotiklerin suşunun ve dozunun doğru seçildiğinden emin olunması etki mekanizmasını arttırmaktadır [96]. Fermente sosislere mikrobiyolojik güvenirliliği arttırmak amacıyla kullanılan probiyotik kültürler, patojenik bakterileri veya gastrointestinal sistem içindeki patojenleri inhibe etmek gibi iki farklı etki mekanizmasına sahiptirler [98]. Koyun

eti ile hazırlanmış fermente sosislere yaygın olarak kullanılan starter kültürlerin (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis*) probiyotik suşları kullanılmış, geleneksel ve probiyotik kültür eklenen sosislerin teknolojik özellikleri karşılaştırılmıştır. Starter kültür olarak *L. acidophilus*'un kullanılması, *B. animalis*'in kullanılmasından daha etkili bulunmuştur. Son üründe lactobacilli ( $10^7$  kob/g) ve bifidobacteria ( $10^3$  kob/g) sayısı teknolojik özellikleri etkilememiş, duyuşal özellikleri olumlu karşılanmıştır.

## SONUÇ

Son yıllarda tüketicilerin bilinç düzeyi ve beklentilerindeki değişimlerle birlikte, gıda endüstrisinde yağ azaltılmış ve fonksiyonel bileşenlerce zenginleştirilmiş, daha sağlıklı et ürünlerinin formüle edilmesi konusundaki Ar-Ge çalışmaları hız kazanmıştır. Fermente et ürünlerinin daha sağlıklı formülasyonlar ile üretilmesi konusunda yapılan çalışmaların; yağın azaltılması ve bitkisel yağların kullanımıyla yağ asidi modifikasyonunun sağlanması, tuz ve nitrit miktarının azaltılması konuları üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Yağın azaltılması nedeniyle karşılaşılan kalite problemleri formülasyona diyet liflerinin ilavesi ile mümkün olabilmektedir. Bitkisel yağların yenilikçi teknikler ile formülasyona taşınması doğrudan kullanımda karşılaşılan problemleri engellediği gibi yağın formülasyonda azalmasını da sağlayabilmektedir. Fermente sosislere kullanılan tuz miktarının azaltılması tuz alternatifi katkıların yanı sıra güncel teknolojilerde kullanılarak çalışmalara konu olmaktadır. Bunlara ilaveten yasal sınırlandırmalara sahip nitrit miktarının, doğal katkılarla ya da güncel teknolojiler kullanılarak azaltılması konusunda çalışmalar sürdürülmelidir. Sağlıklı ürün formülasyonları geliştirilirken ürünün duyuşal ve teknolojik kalitenin de göz önünde bulundurulması düşünüldüğünde doğal alternatif katkı maddelerinin kullanımları araştırılırken güncel teknolojiler ile birlikte kullanımları konusunda çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 116O506 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Gökalp, H.Y., Kaya, M., Zorba, O. (2004). Engineering of Meat Products Processing (Turkish), 4th Ed., pp. 208–209, Atatürk University Publication No. 786, Erzurum, Turkey.
- [2] Öz, E., Kabil, E., Kaban, G., Kaya, M. (2018). Effect of autochthonous *Pediococcus acidilactici* on volatile profile and some properties of heat-treated sucuk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(9), e13752.
- [3] Karaçil, M.Ş., Acar Tek, N. (2013). Dünyada üretilen fermente ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 163-173.

- [4] Kumar, P., Chatli, M.K., Verma, A.K., Mehta, N., Malav, O.P., Kumar, D., Sharma, N. (2017). Quality, functionality, and shelf life of fermented meat and meat products: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2844-2856.
- [5] Ekici, L., Ercoşkun, H. (2007). Et ürünlerinde diyet lifi kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 83-90.
- [6] Muguerza, E., Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2004). New formulations for healthier dry fermented sausages: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 452-457.
- [7] Inguglia, E.S., Zhang, Z., Tiwari, B.K., Kerry, J.P., Burgess, C.M. (2017). Salt reduction strategies in processed meat products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 70-78.
- [8] Sindelar J.J., Milkowski, A.L. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric oxide*, 26(4), 259-266.
- [9] 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 Chemistry*, 118(2), 245-250.
- [10] Jiménez Colmenero, F., Herrero, A., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C. (2012). Meat and functional foods. In Handbook of meat and meat processing. Edited by Y. H. Hui, Boca Raton: CRC Press. Taylor & Francis Group, 225–248p.
- [11] World Health Organisation. Food based dietary guidelines in the WHO European Region. [http://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0017/150083/E79832.pdf](http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0017/150083/E79832.pdf) (accessed October 16, 2014).
- [12] Chizzolini, R., Zanardi, E., Dorigoni, V., Ghidini, S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(4-5), 119-128.
- [13] Jiménez-Colmenero, F., Salcedo-Sandoval, L., Bou, R., Cofrades, S., Herrero, A.M., Ruiz Capillas, C. (2015). Novel applications of oil structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44(2), 177-188.
- [14] Kayaardı, S., Gök, V. (2003). Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Science*, 66(1), 249-257.
- [15] Öven, D.C., Karakaya, M., Ünal, K., Babaoğlu, A.S. (2017). Determination of some physicochemical and textural properties of the sucuk with fat content in various rates. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 31(3), 94-100.
- [16] Muguerza, E., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2003). Improvement of nutritional properties of Chorizo de Pamplona by replacement of pork backfat with soy oil. *Meat Science*, 65(4), 1361-1367.
- [17] Vural, H. (2003). Effect of replacing beef fat and tail fat with interesterified plant oil on quality characteristics of Turkish semi-dry fermented sausages, *European Food Research and Technology*, 217(2), 100-103.
- [18] Yıldız- Turp, G., Serdaroglu, M. (2005). Effect of partial replacement of beef fat with pre-emulsified olive oil on some quality characteristics of Turkish fermented sausage (sucuk). *51st International Congress of Meat Science and Technology*, August 7-12, 2005, Baltimore, Maryland USA, 843-847p.
- [19] Gökoğlu, N., Yerlikaya, P. (2006). Et ve Ürünlerinde Yağ Oranını Azaltma Stratejileri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, 2006, Bolu, Türkiye, 517-520p.
- [20] Yıldız-Turp, G., Serdaroğlu, M. (2008). Effect of replacing beef fat with hazelnut oil on quality characteristics of sucuk—A Turkish fermented sausage. *Meat Science*, 78(4), 447-454.
- [21] Yıldız-Turp, G., Serdaroğlu, M. (2008). Fatty acid composition and cholesterol content of Turkish fermented sausage (sucuk) made with corn oil. *54th International Congress of Meat Science and Technology*, August 10-15, 2008, Cape Town, South Africa. 9-15p.
- [22] Serdaroğlu M., Kavuşan H.S., İpek G., Öztürk B. (2018). Effects of hot gelled linseed/peanut oil as beef fat replacer in heat treated fermented sausages on lipid oxidation. *2nd International Symposium on Lipid Oxidation and Antioxidants*, June 4-6, 2018, Graz, Avusturya, 86-87p.
- [23] Özer, C.O., Kılıç, B. (2017). Effects of replacement of beef fat with interesterified palm kernel oil on the quality characteristics of Turkish dry-fermented sausage, *Meat Science*, 131, 18–24.
- [24] Geçgel, Ü., Yılmaz, İ., Ay, A., Apaydın, D., Dülger, G.Ç. (2016) Soğuk pres yağlar ilave edilerek üretilen fermente sucukların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(4).
- [25] İlikkan, H., Ercoşkun, H., Vural, H., Şahin, E. (2009) The effect of addition of hazelnut oil on some quality characteristics of Turkish fermented sausage (sucuk), *Journal of Muscle Foods*, 20(1), 117-127.
- [26] Nacak, B. (2015). Farklı Yağ Formülasyonlarına Sahip Isıl İşlem Görmüş Dana Sucuklarında Lipid Ve Protein Oksidasyonu Mekanizmalarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [27] Xiong, G., Wang, P., Zheng, H., Xu, X., Zhu, Y., Zhou, G. (2016). Effects of Plant Oil Combinations Substituting Pork Back-Fat Combined with Pre-Emulsification on Physicochemical, Textural, Microstructural and Sensory Properties of Spreadable Chicken Liver PÂTÉ. *Journal of Food Quality*, 39(4), 331-341.
- [28] Pintado, T., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona, P., Jimenez-Colmenero, F. (2016). Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters. *Food Science and Technology International*, 22(2), 132-145.
- [29] Serdaroğlu, M., Nacak, B., Karabıyıkoglu, M., Keser, G. (2016). Effects of partial beef fat replacement with gelled emulsion on functional and quality properties of model system meat emulsions. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(6) 744-751.

- [30] Stajić, S., Stanišić, N., Lević, S., Tomović, V., Lilić, S., Vranić, D., Jokanović, M., Živković, D. (2018). Physico-chemical characteristics and sensory quality of dry fermented sausages with flaxseed oil preparations. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(4), 367-375.
- [31] Jiménez-Colmenero, F., Triki, M., Herrero, A.M., Rodríguez-Salas, L., Ruiz-Capillas, C. (2013). Healthy oil combination stabilized in a konjac matrix as pork fat replacement in low-fat, PUFA-enriched, dry fermented sausages. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 158-163.
- [32] Alejandre, M., Poyato, C., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2016). Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat science*, 121, 107-113.
- [33] Jung, J.T., Lee, J.K., Choi, Y.S., Lee, J.H., Choi, J.S., Choi, Y.I., Chung, Y.K. (2018). Effect of rice bran and wheat fibers on microbiological and physicochemical properties of fermented sausages during ripening and storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(2), 302.
- [34] Anderson, J.W., Baird, P., Davis, R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., Williams, C.L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition reviews*, 67(4), 188-205.
- [35] Mehta, N., Ahlawat, S.S., Sharma, D.P., Dabur, R.S. 2015. Novel trends in development of dietary fiber rich meat products—a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 633-647.
- [36] Choi, Y.S., Kim, H.W., Hwang, K.E., Song, D.H., Jeong, T.J., Kim, Y.B., Jeon, K.H., Kim, C.J. (2015). Effects of fat levels and rice bran fiber on the chemical, textural, and sensory properties of frankfurters. *Food Science and Biotechnology*, 24(2), 489-495.
- [37] Zhu, Y., Chu, J., Lu, Z., Lv, F., Bie, X., Zhang, C., Zhao, H. (2018). Physicochemical and functional properties of dietary fiber from foxtail millet (*Setaria italica*) bran. *Journal of Cereal Science*, 79, 456-461.
- [38] Garcia, M.L., Dominguez, R., Galvez, M.D., Casas, C., Selgas, M.D. (2002). Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60(3), 227-236.
- [39] Çoksever, E. 2009. Farklı oranlarda turunc albedosu ilavesinin sucuk kalitesi üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya, Türkiye, 99s.
- [40] Campagnol, P.C.B., Dos Santos, B.A., Wagner, R., Terra, N.N., Pollonio, M.A.R. (2013). The effect of soy fiber addition on the quality of fermented sausages at low-fat content. *Journal of Food Quality*, 36(1), 41-50.
- [41] Eim, V.S., Simal, S., Rosselló, C., Femenia, A., Bon, J. (2013). Optimisation of the addition of carrot dietary fibre to a dry fermented sausage (sobrassada) using artificial neural networks. *Meat Science*, 94(3), 341-348.
- [42] Yalınkılıç, B., Kaban, G., Ertekin, Ö., Kaya, M. (2015). Determination of volatile compounds of sucuk with different orange fiber and fat levels. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(2), 233-239.
- [43] Menegas, L.Z., Pimentel, T.C., Garcia, S., Prudencio, S.H. (2013). Dry-fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil: Physicochemical, microbiological, and textural characteristics and acceptability during storage. *Meat Science*, 93(3), 501-506.
- [44] Akoğlu, A., Çakır, İ., Akoğlu, İ.T., Karahan, A.G. and Çakmakçı, M.L. (2015). Effect of bacterial cellulose as a fat replacer on some quality characteristics of fat reduced sucuk, *GIDA/The Journal of Food*, 40(3): 133-139 pp.
- [45] Ham, Y.K., Hwang, K.E., Kim, H.W., Song, D.H., Kim, Y.J., Choi, Y.S., Kim, C.J. (2016). Effects of fat replacement with a mixture of collagen and dietary fibre on small calibre fermented sausages. *International journal of food science & technology*, 51(1), 96-104.
- [46] Aburto, N.J., Ziolkovska, A., Hooper, L., Elliott, P., Cappuccio, F.P., Meerpohl, J.J. (2013). Effect of lower sodium intake on health: Systematic Review and Meta-Analyses. *BMJ*, 346, f1326.
- [47] Corral, S., Salvador, A., Belloch, C., Flores, M. (2014). Effect of fat and salt reduction on the sensory quality of slow fermented sausages inoculated with *Debaryomyces hansenii* yeast. *Food Control*, 45, 1-7.
- [48] Corral, S., Salvador, A., Flores, M. (2013). Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat Science*, 93(3), 776-785.
- [49] dos Santos, B.A., Campagnol, P.C.B., Fagundes, M.B., Wagner, R., Pollonio, M.A.R. (2015). Generation of volatile compounds in Brazilian low-sodium dry fermented sausages containing blends of NaCl, KCl, and CaCl<sub>2</sub> during processing and storage. *Food Research International*, 74, 306-314.
- [50] dos Santos, B.A., Campagnol, P.C.B., Morgano, M.A., Pollonio, M.A.R. (2014). Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl. *Meat Science*, 96(1), 509-513.
- [51] Ros-Polski, V., Koutchma, T., Xue, J., Defelice, C., Balamurugan, S. (2015). Effects of high hydrostatic pressure processing parameters and NaCl concentration on the physical properties, texture and quality of white chicken meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 31-42.
- [52] Giménez, B., Graiver, N., Califano, A., Zaritzky, N. (2015). Physicochemical characteristics and quality parameters of a beef product subjected to chemical preservatives and high hydrostatic pressure. *Meat science*, 100, 179-188.
- [53] Rubio, R., Bover-Cid, S., Martin, B., Garriga, M., Aymerich, T. (2013). Assessment of safe enterococci as bioprotective cultures in low-acid fermented sausages combined with high hydrostatic pressure. *Food Microbiology*, 33(2), 158-165.
- [54] Kentish, S., Feng, H. (2014). Applications of power ultrasound in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5, 263-284.

- [55] Bedale, W., Sindelar, J.J., Milkowski, A.L. (2016). Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat science*, 120, 85-92.
- [56] Öztürk, B., Serdaroğlu, M., Ergezer, H. (2015). Et ve et ürünlerinde nitrit-nitrat; kullanım avantajları. yasal sınırlamalar ve güncel alternatif yaklaşımlar. *Akademik Gıda*, 13(3) 257-264.
- [57] Cantwell, M., Elliott, C. (2017). Nitrates, nitrites and nitrosamines from processed meat intake and colorectal cancer risk. *Journal of Clinical Nutrition & Dietetics*, 3(4), 27.
- [58] Abid, Z., Cross, A.J., Sinha, R. (2014). Meat, dairy, and cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100, 386-393.
- [59] European Commission, (2006) European Directive 2006/52/EC of the European Parliament and of the Council of 5 July 2006 amending Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners and Directive 94/35/EC on sweeteners for use in foodstuffs, Official Journal of the European Union, L204 (2006), pp.10-22.
- [60] TGK, (2013). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Yayımlandığı R. Gazete: 30.06.2013/28693.
- [61] Horsch, A. (2013). The effect of pH and nitrit concentration on the antimicrobial impact of celery juice compared with sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. PhD Dissertation, Graduate Theses and Dissertations, Iowa State University, 13-63p.
- [62] Yıldız Turp, G.; Sucu, C., (2016). Et Ürünlerinde nitrat ve nitrit kullanımına potansiyel alternatif yöntemler. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(2), 231-242.
- [63] Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Jeddi, S., Azizi, F., Ghasemi, A., Hadaegh, F. (2016). Nitrate and nitrite content of vegetables, fruits, grains, legumes, dairy products, meats and processed meats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 93-105.
- [64] Haugaard, P., Hansen, F., Jensen, M., Grunert, K.G. (2014). Consumer attitudes toward new technique for preserving organic meat using herbs and berries. *Meat Science*, 96(1), 126-135.
- [65] Gabaza, M., Claeys, E., Smet, S.D., Raes, K. (2013). Potential of fermented spinach extracts as a nitrite source for meat curing. *59th International Congress of Meat Science and Technology*, August 18-23, 2013, Izmir, Turkey, 1-5p.
- [66] Sucu, C., Turp, G.Y. (2018). The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat Science*, 140, 158-166.
- [67] Kurćubić, V.S., Mašković, P.Z., Vujić, J.M., Vranić, D.V., Vesković-Moračanin, S.M., Okanović, D.G., Lilić, S.V. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of *Kitaibelia vitifolia* extract as alternative to the added nitrite in fermented dry sausage. *Meat Science*, 97(4), 459-467.
- [68] Loypimai, P., Moongngarm, A., Naksawat, S. (2017). Application of natural colorant from black rice bran for fermented Thai pork sausage–Sai Krok Isan. *International Food Research Journal*, 24(4), 1529.
- [69] Paik, H.D., Lee, J.Y. (2014). Investigation of reduction and tolerance capability of lactic acid bacteria isolated from kimchi against nitrate and nitrite in fermented sausage condition. *Meat Science*, 97(4), 609-614.
- [70] Kim, H.S., Hur, S.J. (2018). Effect of six different starter cultures on the concentration of residual nitrite in fermented sausages during in vitro human digestion. *Food Chemistry*, 239, 556-560.
- [71] Sun, F., Kong, B., Chen, Q., Han, Q., Diao, X. (2017). N-nitrosoamine inhibition and quality preservation of Harbin dry sausages by inoculated with *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. *Food Control*, 73, 1514-1521.
- [72] Chen, X., Li, J., Zhou, T., Li, J., Yang, J., Chen, W., Xiong, Y.L. (2016). Two efficient nitrite-reducing *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented pork (Nanx Wudl) as competitive starter cultures for Chinese fermented dry sausage. *Meat science*, 121, 302-309.
- [73] Ojha, K.S., Kerry, J.P., Duffy, G., Beresford, T., Tiwari, B.K. (2015). Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44(1),
- [74] Alahakoon, A.U., Jayasena, D.D., Ramachandra, S., Jo, C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 37-49.105-116.
- [75] Dutra, M.P., de Cássia Aleixo, G., Ramos, A.D.L.S., Silva, M.H.L., Pereira, M.T., Piccoli, R.H., Ramos, E.M. (2016). Use of gamma radiation on control of *Clostridium botulinum* in mortadella formulated with different nitrite levels. *Radiation Physics and Chemistry*, 119, 125-129.
- [76] Ahmad, S.R., Gokulakrishnan, P., Giriprasad, R., Yatoo, M.A. (2015). Fruit-based natural antioxidants in meat and meat products: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(11), 1503-1513.
- [77] Kurt, Ş. (2016). The effects of grape seed flour on the quality of Turkish dry fermented sausage (sucuk) during ripening and refrigerated storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 300.
- [78] Denктаş, S. (2017). Et ve et ürünlerinde fonksiyonelliğın artırılması. *Kocatepe Veterinary Journal*, 10(2), 6-117.
- [79] Hygreeva, D., Pandey, M.C., Radhakrishna, K. (2014). Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products *Meat Science*, 98(1), 47-57.
- [80] Shah, M.A., Bosco, S.J.D., Mir, S.A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), 21-33.
- [81] Falowo, A.B., Fayemi, P.O., Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review, *Food Research International*, 64, 171-181.
- [82] Jiang, J., Xiong, Y.L., (2016), Natural antioxidants as food and feed additives to promote health

- benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*, 120, 107-117.
- [83] Humada, M.J., Sañudo, C., Serrano, E. (2014). Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, colour and cooking losses in meat from Tudanca bulls finished on semi-extensive or intensive systems and slaughtered at 12 or 14 months. *Meat Science*, 96(2), 908-915.
- [84] Magrinyà, N., Bou, R., Tres, A., Rius, N., Codony, R., Guardiola, F. (2009). Effect of tocopherol extract, *Staphylococcus carnosus* culture, and celery concentrate addition on quality parameters of organic and conventional dry-cured sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 8963-8972.
- [85] Karakaya, M., Bayrak, E., Ulusoy, K. (2011). Use of natural antioxidants in meat and meat products. *Journal of Food Science and Engineering*, 1(1), 1.
- [86] Martin, D., Salas-Perez, L., Villalva, M., Vazquez, L., Garcia-Risco, M.R., Jaime, L., Reglero, G. (2017). Effect of alkylglycerol-rich oil and rosemary extract on oxidative stability and antioxidant properties of a cooked meat product. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(7), 1600412.
- [87] Pires, M.A., Munezata, P.E., Villanueva, N.D., Tonin, F.G., Baldin, J.C., Rocha, Y.J., Carvalho, L.T., Rodrigues, I., Trindade, M.A. (2017). The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. *Journal of Food Quality*, Article ID 2409527.
- [88] Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Joković, N., Jokanović, M., Ivić, M., Šojić, B., Škaljac, S., Stojanović, P., Mihajilov-Krstev, T. (2018). Inhibition of *Salmonella Enteritidis* growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food Control*, 90, 332-343.
- [89] Nassu, R.T., Gonçalves, L.A.G., da Silva, M.A.A.P., Beserra, F.J. (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63(1), 43-49.
- [90] Lorenzo, J.M., González-Rodríguez, R.M., Sánchez, M., Amado, I.R. and Franco, D. (2013). Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylatedhydroxytoluene, BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage "chorizo". *Food Research International*, 54(1), 611-620.
- [91] Zeng, X., Bai, W., Lu, C., Dong, H. (2017). Effects of Composite Natural Antioxidants on the Fat Oxidation, Textural and Sensory Properties of Cantonese Sausages during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2), e13010.
- [92] Aquilani, C., Sirtori, F., Flores, M., Bozzi, R., Leuret, B., Pugliese, C. (2018). Effect of natural antioxidants from grape seed and chestnut in combination with hydroxytyrosol, as sodium nitrite substitutes in Cinta Senese dry-fermented sausages. *Meat Science*, 145, 389-398.
- [93] Erdmann, M.E., Lautenschlaeger, R., Schmidt, H., Zeeb, B., Gibis, M., Brüggemann, D.A., Weiss, J. (2017). Influence of droplet size on the antioxidant efficacy of oil-in-water emulsions loaded with rosemary in raw fermented sausages. *European Food Research and Technology*, 243(8), 1415-1427.
- [94] Calvo, M.M., Garcia, M.L., Selgas, M.D. (2008). Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel. *Meat Science*, 80(2), 167-172.
- [95] Ribas-Agustí, A., Gratacós-Cubarsí, M., Sárraga, C., Guàrdia, M.D., García-Regueiro, J.A., Castellari, M. (2014). Stability of phenolic compounds in dry fermented sausages added with cocoa and grape seed extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 329-336.
- [96] Doğu, S.Ö., Sarıçoban, C. (2014). Probiotic meat products and nutrition. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(4), 183-189.
- [97] Yıldırım, H., Kılıç, G.B., Karahan, A.G. (2017). Probiotic yeasts and their properties. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(10), 1148-1155.
- [98] Holko, I., Hrabě, J., Šalaková, A., Rada, V. (2013). The substitution of a traditional starter culture in mutton fermented sausages by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*. *Meat Science*, 94(3), 275-279.

## Pastacılık Ürünlerinde Probiyotiklerin Kullanım Potansiyeli

İlkin Yücel Şengün<sup>1</sup> , Ceren Kutlu<sup>2</sup> 

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

Geliş Tarihi (Received): 08.01.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 06.05.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [ilkin.sengun@ege.edu.tr](mailto:ilkin.sengun@ege.edu.tr) (İ. Yücel Şengün)

☎ 0 232 311 30 28 📠 0 232 342 75 92

### ÖZ

Son yıllarda, probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesi ile birlikte, farklı gıda gruplarının probiyotik içeren formülasyonlarla üretimi güncel araştırma konusu haline gelmiştir. Marketlerde yer alan probiyotik gıdalar genel olarak probiyotik süt ve probiyotik yoğurt ile sınırlıdır. Bununla birlikte son yıllarda üretim ve depolama süreçleri boyunca probiyotiklerin canlılığını destekleyen yeni ürünlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar tüm Dünya'da artış göstermiştir. Bu kapsamda yapılan çalışmalar, sütlü tatlı, dondurma ve çikolata gibi pastacılık ürünlerinin, probiyotik gelişimini destekleyici bileşenler kullanılarak geliştirilen formülasyonları sayesinde, probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürebilmeleri için uygun ortamlar olabileceğini göstermiştir. Bu derlemenin amacı, probiyotik ilaveli pastacılık ürünlerinin üretimi ile depolama koşullarında bu ürünlerde probiyotiklerin canlı kalma durumlarının araştırıldığı çalışmaları incelemektir.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, Çikolata, Dondurma

### Potential Usage of Probiotics in Pastry Products

#### ABSTRACT

In recent years, with the determination of the positive effects of probiotic microorganisms on human health, the production of different food groups with probiotic-containing formulations has become a current research topic. Probiotic products available in the markets are generally limited with probiotic milk and probiotic yoghurt. Moreover, in recent years, the studies on the development of new products that support the viability of probiotics throughout the production and storage processes have shown an increase in all over the world. The studies in this perspective have shown that the pastry products such as dairy desserts, ice cream and chocolate could be suitable environments for surviving the probiotic microorganisms through their formulations, which are developed using ingredients supporting the growth of probiotics. The purpose of this review is to analyze the studies investigating the production of patisserie products fortified with probiotics and the survival of probiotics in these products during storage conditions.

**Keywords:** Probiotic, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, Chocolate, Ice cream

#### GİRİŞ

Probiyotikler, yeterli miktarda alındığında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalardır [1]. Gıdalarda kullanılan probiyotik mikroorganizmalar; sindirim sistemi boyunca canlı kalabilen, mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı

dayanıklılık gösteren, hızlı gelişip sindirim sisteminde kolonize olabilen, etkili ve güvenli olmalarının yanı sıra canlılıklarını ürünün raf ömrü boyunca sürdürebilen mikroorganizmalardır. Bu özellikleri gösteren mikroorganizmalar arasında genellikle bağırsaklardan izole edilen *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*,

*Streptococcus* ve *Saccharomyces* cinslerine ait suşlar bulunmaktadır [2].

Probiyotik taşıyıcı ürünler arasında fermente süt ürünleri, canlı probiyotik hücrelerle desteklenmiş süt ve süt ürünleri, hububat ve/veya meyve-sebze bazlı ürünler ile tablet, kapsül veya granül formundaki farmasötik ürünler yer almaktadır [3]. Genel yaklaşım, gıdaların tüketimi sırasında en az  $10^6$  kob/g seviyesinde probiyotik içermesi gerektiği yönündedir [4, 5]. Literatürde yer alan çalışmalarda, probiyotik gıdaların tüketicilere sağlık yararları sunabilmeleri için depolama süresi boyunca  $10^6$ - $10^9$  kob/mL aralığında değişen seviyelerde canlı probiyotik mikroorganizma içermesi gerektiği bildirilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliğinde probiyotik gıdaların içermesi gereken canlı hücre sayısı en düşük  $10^6$  kob/g olarak belirtilmiştir [6]. Benzer şekilde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) de bir gıdanın probiyotik özellikle olabilmesi için en az  $10^6$  kob/g probiyotik mikroorganizma içermesi gerektiğini belirtmekte, ancak Kanada ve Brezilya'da bu değerler sırasıyla  $10^9$  kob/g ve  $10^{8-9}$  kob/g olarak bildirilmektedir [7-10]. İtalya'da ise probiyotik ürünler için İtalya Sağlık Bakanlığı tarafından belirlenen kriter, gıdanın minimum  $10^9$  kob/g seviyesinde canlı probiyotik içermesi yönündedir. Ayrıca Bifidobakteriler için tüketim esnasında alınması tavsiye edilen miktar  $10^6$  kob/g olarak bildirilmektedir [11]. Genel olarak, bağırsaklarda yaklaşık  $10^9$  adet canlı hücrenin taşınabilmesi için probiyotik ürünlerin düzenli olarak 100 g/gün olacak şekilde tüketilmesi gerektiği belirtilmektedir [12].

Probiyotik gıdaların sağlık üzerine olumlu etkilerinin belirlendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Probiyotiklerin özellikle sindirim sistemi (GIS) üzerine olumlu etkiler

gösterdiği, kandaki kolesterol seviyesini düşürdüğü, gıda alerjilerini önlediği, bağışıklık sistemini desteklediği, antimikrobiyal, antioksidan, antimutajenik ve antikarsinojenik etkileri olduğu belirlenmiştir [13-19]. Özellikle bağışıklık sisteminin modülasyonu, probiyotiklerin en iyi kanıtlanmış sağlık yararlarıdır. Çevresel faktörler, beslenme, ilaç ve stres gibi etmenler bağırsak florasının kompozisyonunu ve/veya aktivitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bağırsak sisteminde oluşan bu sorunlar probiyotik mikroorganizma ilavesi ile ya da floranın spesifik bileşenlerini (örn. Bifidobakteriler) prebiyotikler ile desteklemek suretiyle onarılabilmektedir. Bu şekilde iki farklı yolla konakçının bağırsak florasının yeniden en verimli hale gelebileceği ve sindirim sistemindeki enfeksiyonlara karşı direncin artmasına büyük katkı sağlayacağı bildirilmektedir [20]. Ticari uygulamalarda probiyotik seçiminde dikkat edilmesi gereken kriterler Tablo 1'de özetlenmiştir. Probiyotik seçiminde önemli kriterlerden biri olarak probiyotiğin izole edildiği kaynak gösterilmektedir [21]. Probiyotik mikroorganizmalar çoğunlukla insan veya hayvan dışısından izole edilmektedir [22]. Probiyotik kullanımında insan orijinli suşların seçimi, bu mikroorganizmaların sindirim boyunca canlılıklarının devamının sağlanması açısından önem taşımaktadır [4]. Bununla birlikte fermente ürünler de probiyotik izolasyonu açısından önemli kaynaklardır [23]. Farklı faktörlerden etkilenme oranları karşılaştırıldığında *Lactobacillus* cinsine ait türlerin diğer türlere kıyasla daha dayanıklı olduğu ve bu nedenle ticari uygulamalarda kullanımlarının daha yaygın olduğu görülmektedir [24]. En yaygın kullanılan türler arasında ise *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei/paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. johnsonii*, *L. salivarius* ve *L. reuteri* yer almaktadır [21].

Tablo 1. Ticari uygulamalarda probiyotik seçiminde dikkat edilmesi gereken kriterler (Vasiljevic ve Shah [21]'den adapte edilmiştir)

Kriter	Özellik
Güvenlik kriterleri	Orijin Patojenite Toksik etki, antibiyotik direnci olmaması
Teknolojik kriterler	Genetik olarak stabil suşlar Proses ve depolama sırasında canlı kalabilme Olumlu duyuşsal özellikler Faj dayanıklılığı Endüstriyel ölçekte üretilebilir olması
Fonksiyonel kriterler	Mide koşullarına tolerans Safra tuzlarına tolerans Mukozal yüzeylere tutunabilme Onaylanmış ve rapor edilmiş sağlığa yararlı etkiler
Fizyolojik kriterler	Bağışıklık sistemi modülasyonu Gastrointestinal patojenlere karşı antagonistik etki Kan kolesterol seviyesinin düşürülmesi Laktöz intoleransına yararlı etki Antimutajen ve antikanserojen özellikler

Fonksiyonel gıdalar; vücudun temel besin ihtiyacını karşılamamanın dışında insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerine faydalar sağlayan, çeşitli hastalık risklerinin azaltılması gibi olumlu etkiler gerçekleştiren ve daha sağlıklı bir yaşama ulaşmada önemli yer tutan gıdalar ya da gıda bileşenleridir [25]. Fonksiyonel gıda

pazarının önemli bir kısmını oluşturan probiyotik gıdalar ise probiyotik mikroorganizma içeren taşıyıcı gıdalar şeklinde tanımlanmaktadır [26]. Bu gıdaların fonksiyonel özellikleri çoğunlukla probiyotik bakteriler ve bu bakterilerin fermantasyon sırasında ürettikleri metabolitler ile ilişkilidir [27]. Probiyotiklerin başta süt



ürünleri olmak üzere, et, tahıl, meyve ve sebze ürünlerinde başarılı uygulamaları bulunmaktadır [28-33]. Probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde en çok üzerinde durulan gıdalar yoğurt ve fermente süt içecekleri olmasına karşın, olgunlaşma süresi ve raf ömrü daha uzun olan peynirlerde probiyotiklerin kullanılması konusunda yapılan çalışmalar, bu ürün grubunun probiyotikler açısından önemli bir potansiyel olduğunu ortaya koymaktadır [34]. Son yıllarda farklı gıdaların probiyotik mikroorganizmaların taşıyıcısı olarak kullanımı ile ilgili çalışmalar tüm Dünya'da artış göstermesine rağmen, pastacılık ürünlerinde probiyotiklerin kullanımı üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır.

Pastacılık ürünleri tuzlu hamur çeşitleri (poğaç, bök, galeta, simit vb.), tatlı kuru pasta çeşitleri (kurabiye, beze vb.), hamur tatlı çeşitleri (baklava, şöbiyet, fıstıklı sarma vb.), pasta çeşitleri (yaş pastalar, cheesecake, tiramisu vb.), sütlü tatlı çeşitleri (sütlaç, keşkül, supangle vb.), dondurma çeşitleri ve çikolata çeşitleri olmak üzere farklı alt gruplardan oluşmaktadır. Ürünün içerdiği protein, şeker ve yağ miktarı, ürünün pH değeri, su aktivitesi ve ortamda bulunan antimikrobiyal etkili maddeler, probiyotik mikroorganizmaların gıda içerisindeki canlılıklarını etkileyen faktörlerden bazılarıdır. Gıdalar, özellikle de süt ürünleri, probiyotik mikroorganizmaların insan sindirim sistemine yerleştirilmesinde ideal araçlar olarak kabul edilmektedir [35]. Gıda üretimi ve depolamasında olduğu gibi sindirim sisteminde de probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını koruması ve mide asitliği, safra ve sindirim sistemindeki enzimlere karşı direnç, epitele tutunabilme, antimikrobiyal özellik gösterme ve antibiyotik direnci, probiyotiklerin canlılıklarını sürdürdürebilmelerini belirleyen önemli faktörler olarak düşünülmektedir [36]. Günümüzde pastacılık ürünlerinin probiyotik ilavesi ile üretiminin yapılmadığı görülmektedir. Bu ürün grubunda probiyotiklerin kullanımını sınırlayan en önemli faktör, pastacılık ürünlerinin birçoğunun üretim basamağında ısı işlem uygulamasının yer almasıdır. Bununla birlikte, ısı işlem uygulaması yapılmadan üretimi yapılabilen sütlü tatlılar, dondurma, çikolata gibi ürünlerde probiyotik kullanımının mümkün olabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

### Probiyotiklerin Dondurma Üretiminde Kullanımı

Dondurma; süt, çeşitli tatlandırıcılar, stabilizatörler, emülsiyon ediciler ve aroma maddeleri gibi bileşenlerin bir araya getirilerek dondurulmasıyla elde edilen bir üründür. Dondurma matrisi, süt proteinleri, yağ, laktoz ve diğer bileşikleri içeren kompozisyonu nedeniyle probiyotikler için iyi bir taşıyıcı özelliğine sahiptir. Ürünün dondurularak muhafaza edilmesi ve pH değerinin 5.5-6.5 arasında olması probiyotiklerin canlılığını desteklemede önemli faktörlerdir. Bu konuda yapılan farklı çalışmalarda probiyotik ilave edilerek üretilen dondurmaların depolama süresi boyunca canlılıkları incelenmiştir (Tablo 2).

Dondurma işleminin hücre membranına zarar vermesi, hücre dehidrasyonu ve bu nedenlerle hücre metabolik aktivitelerinde azalma/zarara neden olduğu bildirilmesine karşın, probiyotik ilavesi ile üretilen dondurmalarda hücre canlılığının depolama süresince incelendiği çalışmalar (Tablo 2), dondurmanın probiyotikler açısından önemli bir potansiyel olduğunu ortaya koymuştur.

Dondurma üretimi amacıyla hazırlanan miksin ürün haline dönüşürken hacminde artış olmaktadır. Overrun olarak adlandırılan bu hacim artışı dondurma üretiminde istenen duyu özelliklerinin eldesinde büyük önem taşımaktadır. Probiyotik kültür ilavesi ile hacim artışı oranı arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere yapılan bir çalışmada [44], probiyotik ilavesinin hacim artışı oranını etkilediği ve bu etkinin kullanılan probiyotik suşlarına bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri bu sonucu, kullanılan suşların farklı seviyelerde asit üretmesi ve dolayısıyla ortam asitlik değerinin, karışımın donma noktası ve protein yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olması ile ilişkilendirmişlerdir.

Dondurma üretiminde probiyotik kullanımı, dondurma için önemli kalite parametrelerinden bir diğeri olan erime hızını da etkilemektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar sonucunda probiyotik ilavesinin, dondurma karışımının viskozitesi ve donma noktasını artırması nedeniyle erime süresini de arttırdığı belirlenmiştir [44-45]. Parussolo ve ark. [46] tarafından yapılan çalışmada, laktik kültür ve prebiyotik ilavesi ile üretilen dondurmanın görünüm, renk, aroma ve doku dahil birçok kalite özelliğinin kabul edilebilir olduğu ve besinsel, fonksiyonel olarak zenginleştirilmiş ürünlerin geliştirilmesinde uygulanabileceği ortaya konulmuştur. Dertli ve ark. [47] tarafından yapılan çalışmada belirlenen en önemli husus, dondurmanın herhangi bir stabilizatör kullanılmadan fermente olarak üretilebileceğidir. Araştırmacılar bu uygulamanın gelecekte özellikle süt endüstrisinde yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi açısından önemli endüstriyel uygulamalar olabileceğini ileri sürmektedir.

### Probiyotiklerin Sütlü Tatlı ve Pasta Çeşitleri Üretiminde Kullanımı

Tüketime Hazır Sütlü Tatlılar; "Pastörize ve homojenize inek sütüne sakkaroz, invert şeker veya glukoz şurubundan bir veya birkaçı ve mamulün çeşidine göre pirinç unu, buğday unu, yenilebilir nişasta, irmik, pirinç, tane veya öğütülmüş badem, fındık, ceviz gibi kuruyemişler, damla sakızı, kakao, karamel sosu, peynir telemesi, tavukgöğsü eti vb. çeşni ve lezzet verici maddeler katılmak suretiyle tekniğine uygun olarak pişirilerek, keşkül, sakızlı muhallebi, sütlaç, supangle, krem karamel, hoşmerim, fıstıklı krem şokola, tavukgöğsü gibi tüketime hazır hale getirilmiş mamul" olarak tanımlanmaktadır [48]. Yeni teknolojilerin ve malzemelerin kullanılmasıyla klasik tatlılara alternatif ürünler sunan sütlü tatlılara olan talep, farklı özelliklere sahip yeni lezzetler ve daha yüksek besin değeri içermesi sebebiyle önemli ölçüde artmaktadır [49].

Tablo 2. Dondurma üretiminde probiyotiklerin kullanım potansiyelinin incelendiği çalışmalar [37-43].

Ürün	İçindekiler	Probiyotik	Depo	Depo Öncesi (kob/g)	Depo Sonrası (kob/g)	Kaynak
Probiyotik Dondurma (Butiá)	Süt (UHT), krema, süttozu, emülsifikatör, stabilizatör (guar gum, Butiá püresi, karboksimetilselüloz şeker),	<i>Bifidobacterium lactis</i> BL-04	90 gün/ -18°C	10 <sup>12</sup>	10 <sup>6-7</sup>	[37]
Probiyotik Dondurma (Yarım yağlı)	Süt (UHT), yağsız süt, krema, yağsız süttozu, sakkaroz, stabilizatör (guar gum), jelatin, mısır nişastası.	<i>L. acidophilus</i> LA-05, <i>L. casei</i> 01	90 gün/ -18°C	10 <sup>11</sup> 10 <sup>11</sup>	7.5×10 <sup>8</sup> 8.1×10 <sup>8</sup>	[38]
Probiyotik Dondurma	Yağsız süttozu, sakkaroz, krema, stabilizatör, su.	<i>L. acidophilus</i> DSM 20079	30 gün/ -20°C	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	[39]
Probiyotik Dondurma (Keçi sütü)	Süttozu (keçi sütü), emülsifikatör, stabilizatör, tatlandırıcı (guava), yağ ikame maddesi, mısır şurubu, şeker.	<i>B. lactis</i> BLC1	120 gün/ -18°C	10 <sup>9</sup>	10 <sup>6-7</sup>	[40]
Probiyotik Dondurma	Süt (pastörize), krema, şekerlendirilmiş yumurta sarısı, yağsız süttozu, sakkaroz, glikoz, E471, E410, E412, E466.	<i>L. acidophilus</i> LMGP-21381	45 hafta / - 15°C ve - 25°C	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	[41]
Probiyotik Dondurma	Süt (UHT), krema (%55), yağsız süttozu, sakkaroz, aroma (vanilya), emülgatör, stabilizatör.	<i>L. acidophilus</i> DSMZ 20079, <i>B. bifidum</i> DSMZ 200456	90 gün/ -20°C	10 <sup>7</sup> 10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup> 10 <sup>7</sup>	[42]
Probiyotik Dondurma	Süt, krema, yağsız süttozu, şeker, stabilizatör (E412, E415, E407, E401, dekstroz), aroma (vanilya), su.	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> LA-14, <i>B. lactis</i> BL-01.	90 gün / -18°C	10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>	[43]

Süt bazlı tatlıların çoğu, süt proteinleriyle etkileşime giren ve nişasta ve/veya birkaç hidrokolloid türü de dahil olmak üzere ürün kararlılıklarını etkileyen bazı bileşenlerden oluşmaktadır [50]. Örneğin; peynir altı suyu proteinlerinin bu tip ürünlerde kullanılması, ürün sertliği, kabul edilebilirliği ve canlı probiyotik mikroorganizma sayısını etkileyebilmektedir [51-53]. Probiyotik bakterilerin süt ürünlerinde kullanımıyla ilgili en temel problem, probiyotiklerin yavaş gelişmesi ve depolama sırasında canlı hücre sayısının düşmesidir [54]. Örneğin probiyotik *B. lactis* Bb-12 (9.9×10<sup>7</sup> kob/mL) ve *B. longum* BB536 (9.2×10<sup>6</sup> kob/mL) ilavesiyle üretilen

Cheddar peynirlerinde 6 aylık olgunlaştırma periyodu sonunda *B. lactis* Bb-12 sayısı ≥10<sup>8</sup> kob/g, *B. longum* BB536 ise 10<sup>5</sup> kob/g seviyelerine düşmüştür [55].

Probiyotik mikroorganizmaların gıda içerisinde gelişimini iyileştirmek amacıyla uygun kültür seçimi, enkapsülasyon gibi hücreyi koruyacak yeni formların oluşturulması ve ortama prebiyotik maddelerin ilavesi gibi stratejilerden yararlanılmaktadır [54, 56, 57].

## Probiyotiklerin Çikolata ve Kakaolu Tatlı Üretiminde Kullanımı

Çikolata temel bileşenlerini kakao yağı, şeker ve kakao parçacıkları oluşturmaktadır. Yapısında polifenoller ve flavonoidler (kateşin, epikateşin ve prosiyanidin) gibi yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip biyoaktif bileşikler içeren çikolatanın raf ömrü boyunca probiyotik hücrelerin korunması için ideal bir taşıyıcı olduğu ve GIS'in olumsuz ortamlarını tolere edebildiği farklı araştırmacılar tarafından belirlenmiştir [58-61]. Bununla birlikte çikolata üretiminde probiyotiklerin gelişimini etkileyen en önemli faktörlerin su aktivitesi ( $a_w$ ), OR potansiyeli ve sıcaklık olduğu bildirilmektedir [62].

Silva ve ark. [63] tarafından yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* LA-3 ve *B. lactis* BLC1 kültürleri bitter çikolata üretiminde kullanılmıştır. Örnekler; su aktivitesi ( $a_w$ ), pH, yüzey rengi ve morfolojisi, sertlik, mikrobiyolojik kalite, duyuşal kabul edilebilirlik ve canlı probiyotik mikroorganizma miktarları açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca, yapay sindirim sisteminde probiyotiklerin canlılığı, çikolataya ilave edilmeden ve ilave edildikten sonra incelenmiştir. Çikolataya ilave edilmeden alınan probiyotiklerin yapay sindirim sistemindeki mide sıvısı ve safra tuzuna karşı dayanıksız olduğu ve sayılarının azaldığı, çikolata ilave edilerek alınan probiyotiklerin ise GIS'den fazla etkilenmediği ve sayılarında belirgin bir azalma olmadığı tespit edilmiştir. Başlangıç probiyotik sayısının (8 log kob/g) depolama (25°C/120 gün) sonunda *L. acidophilus* LA-3 ve *B. lactis* BLC1 için sırasıyla 1.4 log kob/g ve 0.7 log kob/g azaldığı tespit edilmiştir. Duyusal açıdan örnekler arasında fark olmadığı, bitter çikolatanın probiyotikler için iyi bir taşıyıcı olduğu sonucuna varılmıştır.

Kemsawasd ve ark. [64] tarafından yapılan çalışmada, beyaz çikolata, sütlü çikolata (%10 kakaolu) ve bitter çikolataya (%50 kakaolu), immobilizasyon tekniği ile probiyotik olarak *L. casei* 01 ve *L. acidophilus* LA-05 eklenmiş ve çikolatalar 4°C ve 25°C olmak üzere iki farklı depolama sıcaklığında 60 gün boyunca depolanarak probiyotiklerin canlılığı incelenmiştir. Tüm çikolata çeşitlerinde başlangıç probiyotik sayısı *L. casei* 01 ve *L. acidophilus* LA-05 için sırasıyla  $6.6 \times 10^{10}$  kob/g ve  $8.1 \times 10^{10}$  kob/g olarak belirlenmiştir. *L. casei* 01 hücrelerinin ortam koşullarına *L. acidophilus* LA-05 hücrelerinden daha dirençli olduğu, depolama süresi sonunda, probiyotik ilaveli bitter çikolataların tüm test koşullarında yüksek düzeylerde probiyotik hücre bulundurabilen en iyi yapıya sahip örnek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çikolata çeşitlerine ve probiyotik suşlara bakılmaksızın, probiyotiklerin canlılıklarını daha iyi koruyabilmeleri için 4°C'lik depolamanın daha uygun olduğu tespit edilmiştir.

Aragon-Alegro ve ark. [65] tarafından yapılan bir çalışmada ise köpük kıvamında çikolatalı mus tatlısına probiyotik olarak *L. paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 ve prebiyotik olarak inülin eklenerek hem probiyotik hem de sinbiyotik ürün elde edilmeye çalışılmıştır. Kontrol, probiyotik, probiyotik+prebiyotik örneklerde 4°C'de 28 günlük depolama süresince kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal analizler yapılmıştır. Sadece probiyotik içeren

örnekte başlangıç hücre sayısı 7.38 log kob/g iken depolama sonunda bu sayının 7.88 log kob/g'a ulaştığı, probiyotik ve prebiyotiği bir arada içeren örnekte ise başlangıç probiyotik sayısı 7.32 log kob/g iken depolama sonunda bu sayının 7.33 log kob/g ulaştığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak prebiyotik ilavesinin probiyotiklerin canlılığını 0.5 log kob/g düzeylerinde etkilediği ve elde edilen ürünün duyuşal açıdan kaliteyi olumlu veya olumsuz yönde etkilenmediği belirtilmiştir.

Romano ve ark. [66] tarafından yapılan çalışmada mus tatlısı toz karışımına *L. rhamnosus* GG ve *L. rhamnosus* RBM52 (9 log kob/g) ilaveli kestane ekstraktından eklenerek üretim yapılmış ve probiyotiklerin canlılığı depolama süresince kontrol edilmiştir. Probiyotik ilaveli mus tatlısının 90 günlük depolama süresi sonunda 8 log kob/g probiyotik hücre içerdiği tespit edilmiştir.

Çikolata ve kakaolu tatlı üretiminde probiyotiklerin kullanım potansiyelinin incelendiği çalışmalarda *B. lactis*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* türlerinin bu ürün grubunda başarıyla kullanılabilirliği belirlenmiştir. Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, probiyotik ilavesi ile üretilen çikolata ve kakaolu tatlılar ile kontrol örnekleri arasında duyuşal açıdan fark bulunmadığı, tüm çikolata çeşitlerinin probiyotikler için koruyucu yapılar olarak davrandığı ve dolayısıyla bu ürün grubunun probiyotikler için iyi bir taşıyıcı olduğu görülmektedir.

## Probiyotiklerin Diğer Pastacılık Ürünlerinde Kullanımı

Probiyotiklerin kullanım potansiyellerinin incelendiği diğer pastacılık ürünleri arasında süt içermeyen jöleli tatlılar, puding ve yöreye özgü geleneksel olarak üretilen bazı tatlılar yer almaktadır. Probiyotik içeren jöleli tatlıların süt ürünlerine alerjisi olanlar, vejeteryanlar ve çocuklar için tercih sebebi olabileceği bildirilmektedir [67]. Talebzadeh ve Sharifan [68] tarafından yapılan bir çalışmada jöleli tatlı karışımına jelleşme öncesi *L. acidophilus* LA-05 ilavesi yapılmış (11 log kob/g) ve ürün iki farklı sıcaklıkta (7°C ve 25°C) 6 hafta depolanmıştır. Kitozan kaplı probiyotiklerin canlılığını 30 günden daha fazla sürdürdüğü ve yapay sindirim sistemindeki fiziksel stabilite ve metabolik aktivite bakımından daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Abdel-Latif ve Saad [69] tarafından yapılan bir çalışmada probiyotik ve *Staphylococcus aureus* içeren dört farklı formüle sahip (Kontrol, *S. aureus*, *S. aureus* + *B. lactis* BB-12 ve *B. lactis* BB-12) pirinçli puding hazırlanmış ve depolama süresince (4±1°C/14 gün) canlı probiyotik mikroorganizma sayısı ve prebiyotiğin *S. aureus* üzerine inhibe edici etkisi incelenmiştir. *S. aureus* sayısının, *B. lactis* BB-12 eklenmiş örneklerde depolamanın 3. ve 7. günlerinde anlamlı seviyede azaldığı, bununla birlikte 14. günün sonunda kontrol örneği ile probiyotik ilaveli örnekler arasında heterojen doku ve sinerezis oluşumu nedeniyle önemli fark olduğu belirlenmiştir.

Trujillo-de Santiago ve ark. [70] tarafından yapılan bir çalışmada, şekerli keçi sütü *B. infantis* veya *L.*

*acidophilus* ile fermente edilerek probiyotik bir oblea (gofret tipi susuz geleneksel Meksika tatlısı) geliştirilmiştir. İnce tabaka formülasyonun homojenlik ve pürüzsüzlük üzerindeki etkisinin yanı sıra, bu formülasyonda kullanılan katkı maddeleri (inulin, dirençli nişasta ve jelatin), probiyotik bakterilerin üretim sırasında (özellikle de kurutma) çevre koşullarına dirençli hale gelmesinde önemli bir rol oynamıştır. Çalışmada incelenen en yüksek kurutma sıcaklığında (75°C) dahi *B. infantis* ve *L. acidophilus*'un canlılıklarını sürdürdüğü (yaklaşık 8-9 log kob/g) tespit edilmiştir.

Aboufazli ve ark. [71]'in yaptığı çalışmada, soya sütüyle Hindistancevizi ve/veya sığır sütlerini belirli oranlarda karıştırarak *L. acidophilus* LA-05 ve *B. bifidum* BB-12 içeren dondurulmuş fermente tatlılar üretilmiş ve -20°C'de 90 günlük depolama sürecinde tatlıların duyuşal özellikleri ve içerdikleri canlı probiyotik sayıları değerlendirilmiştir. Depolama sonunda *L. acidophilus* LA-05 içeren Hindistancevizi sütü kullanılarak üretilen tatlının en yüksek canlı probiyotik içerdiğine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçları, dondurulmuş fermente tatlılarda farklı süt türlerinin kullanımının, tatlıların fiziksel ve duyuşal özellikleriyle birlikte probiyotiklerin canlılığını da olumlu yönde etkilediğini göstermiştir.

Heenan ve ark. [72] tarafından yapılan diğer bir çalışmada, dondurulmuş soya tatlısına inoküle edilen *L. acidophilus* MJLA1, *L. rhamnosus* 100-C, *L. paracasei* 01, *B. lactis* BBDB2, *B. lactis* BB-12 ve *S. boulardii* 74012'nin canlı kalma durumları 6 aylık depolama süresi boyunca incelenmiştir. Vejetaryen soya tatlısında başlangıç probiyotik sayısı 10<sup>6</sup> kob/g iken depolama sürecinde *S. boulardii* 74012 dışında ortama ilave edilen tüm mikroorganizmaların sayısının 10<sup>7</sup> kob/g seviyelerine ulaştığı, *L. acidophilus* MJLA1 inoküle edilen ürün ile kontrol örneği arasında duyuşal açıdan fark bulunmadığı, *S. boulardii* 74012 inoküledi üründen kontrol ve *L. acidophilus* MJLA1 içeren üründen farklı olarak istenmeyen lezzetlerin geliştiği belirlenmiştir.

Klu ve ark. [73] tarafından yapılan çalışmada ise besleyici özellikte ancak düşük su aktivitesine sahip fıstık ezmesinin probiyotikler için uygun bir taşıyıcı gıda olup olmadığı araştırılmıştır. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* ve *Lactococcus*'un birden fazla suşunu içeren ticari probiyotik karışımlar yağlı ve az yağlı fıstık ezmelerine 7 log kob/g seviyesinde ilave edilmiş ve örnekler 4, 25 ve 37°C'de 12 ay boyunca saklanmıştır. Farklı sıcaklıklarda depolanan örneklerde en yüksek hücre sayısının *Bifidobacterium* cinsine ait suşlarda olduğu ve bunu sırasıyla *Lactobacillus*, *Streptococcus/Lactococcus* suşlarının takip ettiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada fıstık ezmesini farklı sıcaklıklarda depolamanın probiyotiklerin gelişimini etkilediği, ancak üründeki yağ miktarının probiyotiklerin gelişimi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

## SONUÇ

Pastacılık ürünlerinde başarıyla kullanılabileceği belirlenen probiyotikler arasında *B. infantis*, *B. lactis*, *L.*

*acidophilus*, *L. paracasei*, *L. casei* ve *L. rhamnosus*, *S. boulardii* yer almaktadır. Probiyotik ilavesi yapılarak üretilen pastacılık ürünlerinden özellikle dondurma ve çikolatanın, hücreyi koruyan bir yapıya sahip olması nedeniyle probiyotikler için iyi birer taşıyıcı oldukları görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar, probiyotiklerin pastacılık ürünlerinde kullanımının ürünün duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilemediği, bu ürünlerin tüketimi ile özellikle de sindirim sistemi üzerine olumlu etkiler sağlandığı ve bu nedenlerden dolayı pastacılık ürünlerinin, ağırlıklı olarak süt ürünlerinden oluşan probiyotik gıda pazarına önemli bir alternatif olabileceğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte dondurma, çikolata ve kakaolu tatlılar dışında yer alan diğer pastacılık ürünlerinde de probiyotiklerin kullanım potansiyelinin değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## KAYNAKLAR



- [1] Food And Agriculture Organization ve World Health Organization, (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food: Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, FAO/WHO, London.
- [2] Marsh, A.J., Hill, C., Ross, R.P., Cotter, P.D. (2014). Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives. *Trends Food Science Technology*, 38, 113-124.
- [3] Doyle, M.P., Steenson, L.R., Meng, J. (2013). Bacteria in food and beverage production. In: The Prokaryotes, Bacteriology and Biotechnology, 4<sup>th</sup> edn, Edited by E. Rosenberg. Springer-Verlag, New York; 241-256p.
- [4] Boylston, T.D., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B., Reinheimer, J.A. (2004). Incorporation of *Bifidobacteria* into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 14, 375-387.
- [5] Kailasapathy, K., Rybka, S., 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. their therapeutic potential and survival in yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 52, 28-35.
- [6] Anon., (2017). Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği, Ek 15-Sağlık Beyanları ve Beyan Koşulları. (Sayı: 29960), Ankara.
- [7] ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), (2008). Alimentos Com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegações de propriedade funcional aprovadas. <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/wuE> (Erişim Tarihi: 02.12.17).
- [8] FDA (U.S. Food and Drug Administration), (2009). Food labeling guide. College Park: Office of Nutritional Products, Labeling, and Dietary Supplements.
- [9] Health Canada, (2009). Accepted claims about the nature of probiotic microorganisms in food. [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/claims-reclam/probiotics\\_claims-allegations\\_probiotiques-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/claims-reclam/probiotics_claims-allegations_probiotiques-eng.php) (Erişim Tarihi: 21.12.17).
- [10] CFIA (Canadian Food Inspection Agency), (2015). Guidance document repository. Probiotic claims. <http://www.inspection.gc.ca/food/labelling/food->

- labelling-for-industry/health clams/eng/1392834838383/1392834887794?chap=9 (Erişim Tarihi: 21.12.17).
- [11] Roy, D. (2001). Media for the isolation and enumeration of Bifidobacteria in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 69, 167-182.
- [12] Karimi, R., Mortazavian, A.M., Cruz, A.G. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: storage: A review. *Dairy Science and Technology*, 91, 283-308.
- [13] Rasic, J.L. (2003). Microflora of the intestine probiotics. In B. Caballero, L. Trugo, & P. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of food sciences and nutrition*, Oxford: Academic Press, 3911-3916.
- [14] Foulque Moreno, M.R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 1-24.
- [15] McFarland, L.V. (2007). Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 5, 97-105.
- [16] Sanders, M.E., Guarner, F., Guerrant, R., Holt, P.R., Quigley, E.M., Sartor, R.B., Mayer, E.A. (2013). An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut*, 62, 787-796.
- [17] Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O.N. (2014). Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yoğurt. *Food Chemistry*, 156, 264-270.
- [18] Chaikham, P. (2015). Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. *Food Bioscience*, 12, 61-66.
- [19] Dasari, D., Kathera, C., Janardhan, A., Kumar, A.P., Viswanath, B. (2016). Surfacing role of probiotics in cancer prophylaxis and therapy: A systematic review. *Clinical Nutrition*, 31333-4(16), 0261-5614.
- [20] Fooks, L.J., Fuller, R., Gibson, G.R. (1999). *Prebiotics, probiotics and human gut microbiology*, 9, 53-61.
- [21] Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2008). Probiotics From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18, 714-728.
- [22] Rivera-Espinoza, Y., Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27, 1-11.
- [23] Heller, K.J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 374-379.
- [24] Tripathi, M.K., Giri, S.K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241.
- [25] Shiby, V.K., Mishra, H.N. (2013). Fermented milks and milk products as functional foods a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 482-496.
- [26] Başığit, G., Karahan, A., Kılıç, B. (2007). Fermente et ürünlerinde fonksiyonel starter kültürler ve probiyotikler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 64(2), 60-69.
- [27] Şengün, İ.Y., Doyle, M.P. (2017). Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications. In Chapter 9: Microbiology of Fermented Foods, Edited by İ.Y. Şengün. CRC Press (ISBN 978-1-4987-6369-1), Taylor & Francis Group, Boca Raton, 213-260p.
- [28] Sidira, M., Saxami, G., Dimitrellou, D., Santarmaki, V., Galanis, A., Kourkoutas, Y. (2013). Monitoring survival of *Lactobacillus casei* ATCC 393 in probiotic yogurts using an efficient molecular tool. *Journal Dairy Science*, 96, 3369-3377.
- [29] Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Vanzela, E.S.L., Stringheta, P.C., de Oliveira Pinto, C.L., Martins, J.M. (2013). Products of vegetable origin: a new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International*, 51, 764-770.
- [30] Rubio, R., Jofré, A., Martín, B., Aymerich, T., Garriga, M. (2014). Characterization of lactic acid bacteria isolated from infant faeces as potential probiotic starter cultures for fermented sausages. *Food Microbiology*, 38, 303-311.
- [31] Sidira, M., Karapetsas, A., Galanis, A., Kanellaki, M., Kourkoutas, Y. (2014). Effective survival of immobi-lized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and in-vestigation of the microbial dynamics. *Meat Science*, 96, 948-955.
- [32] Ghosha, K., Ray, M., Adaka, A., Halder, S.K., Das, A., Jana, A., Parua, S.M., Vágvölgyi, C., Das Mohapatra, P.K., Pati, B.R., Mondal, K.C. (2015). Role of probiotic *Lactobacillus fermentum* KKL1 in the prepa-ration of a rice based fermented beverage. *Bioresource Technology*, 188, 161-168.
- [33] Mridula, D., Sharma, M. (2015). Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legu-me and soymilk. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 482-487.
- [34] Gürsoy, O., Kınık, Ö. (2001). Peynir üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımı: Probiyotik peynir. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(1), 105-116.
- [35] Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Collins, J.K., Stanton, C. (2002). Cheese delivering biocultures-probiotic cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 57(2), 71-78.
- [36] Ranadheera, R.D.C.S., Baines, S.K., Adamsa, M.C. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, 43, 1-7.
- [37] Cruxen, C.E.S., Hoffmann, J.F., Zandon, G.P., Fiorentini, A.M., Rombaldi, C.V., Chaves, F.C. (2017). Probiotic butia (*Butia odorata*) ice cream: Development, characterization, stability of bioactive compo-unds, and viability of *Bifidobacterium lactis* during storage. *Food Science and Technology*, 75, 379-385.
- [38] Chaikham, P., Rattanasena, P. (2017). Combined effects of low-fat ice cream supplemented with probiotics on colon microfloral communities and their metabolites during fermentation in a human gut reactor. *Food Bioscience*, 17, 35-41.
- [39] Ergin, F., Atamer, Z., Arslan, A.A., Goçer, E.M.C., Demir, M., Samtlebe, M., Hinrichs, J., Küçükçetin, A. (2016). Application of cold- and heat-adapted

- Lactobacillus acidophilus* in the manufacture of ice cream. *International Dairy Journal*, 59, 72-79.
- [40] Silva, A.S., Honjaya, E.R., Inay, O.M., Costa, M.R., Souza, C.H.B., Santana, E.H.W. (2015). Potentially probiotic ice cream from goat's milk: Characterization and cell viability during processing, storage and simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 452-457.
- [41] Nousia, F.G., Androulakis, P.I., Fletouris, D.J. (2011). Survival of *Lactobacillus acidophilus* LMGP-21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability. *Dairy Technology*, 64, 130-136.
- [42] Turgut, T., Çakmakçı, S. (2009). Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3), 444-451.
- [43] Akın, M.B., Akın, M.S., Kırmacı, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, 104, 93-96.
- [44] Salem, M.M., Fathi, F.A., Awad, R. (2005). Production of probiotic ice cream. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(3), 267-271.
- [45] EL-Sayed, H.S., Salama, H.H. (2014). Production of synbiotic ice cream. *International Journal of Chemtech Research*, 7, 138-147.
- [46] Parussolo, G., Busatto, R.T., Schmitt, Pauletto, J.R. (2017). Synbiotic ice cream containing yacon flour and *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *LWT-Food Science and Technology*, 82, 192-198.
- [47] Dertli, E., Toker, O.S., Durak, M.Z., Yilmaz, Tatlısu, N.B., Sagdic, O., Cankurt, H. (2016). Development of a fermented ice-cream as influenced by *in situ* exopolysaccharide production: Rheological, molecular, microstructural and sensory characterization. *Carbohydrate Polymers*, 136, 427-440.
- [48] TSE (2010). Tüketime Hazır Sütü Tatlılar Standardı TSE K 98, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- [49] Morais, E.C., Lima, G.C., Morais, A.R., Bolini, H.M.A. (2015). Prebiotic and diet/light chocolate dairy dessert: chemical composition, sensory profiling and relationship with consumer expectation. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 424-430.
- [50] Dello Staffolo, M., Martino, M., Bevilacqua, A. (2007). Texture and sensory properties of dairy desserts with dietary fibres of different sources. *Acta Alimentaria*, 36, 343-354.
- [51] Akalin, A.S., Unal, G., Dinkci, N., Hayaloglu, A.A., 2012. Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science* 95: 3617-3628.
- [52] Fritzen-Freire, C.B., Prudêncio, E.S., Pinto, S.S., Muñoz, I.B., Müller, C.M.O., Vieira, C.R.W., Amboni, R.D.M.C. (2013). Effect of the application of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. *Food Research International*, 52. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02>.
- [53] Frederico, C., Pinto, T.B., Castro, E.M., Sugimoto, H.H., De Santana, E.H., Alegro L.C.A., De Souza, C.H.B. (2016). Probiotic dairy dessert supplemented with whey protein concentrate: effect on the viability of *Lactobacillus acidophilus*, on texture, physicochemical and sensory features. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55(1), 48-56.
- [54] El-Dieb, S.M., Abd Rabo, F.H.R., Badran, S.M., Abd El-Fattah, A.M., Elshagabee, F.M.F. (2012). The growth behavior and enhancement of probiotic viability in bioyoghurt. *International Dairy Journal*, 22(1), 44-47.
- [55] Brearty, S.M., Ross, P., Fitzgerald, G.F., Collin, J.K., Wallace, J.M., Stanton, C. (2001). Influence of two Commercially Available Bifidobacteria Cultures on Cheddar Cheese. *International Dairy Journal*, 11(8), 599-610.
- [56] Oliveira, R.P.S., Perego, P., Oliveira, M.N., Converti, A. (2012). Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. *LWT- Food Science and Technology*, 44(2), 520-523.
- [57] Mitropoulou, G., Nedovic, V., Goyal, A., Kourkoutas, Y. (2013). Immobilization technologies in probiotic food production. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 5, 716-861.
- [58] Mandal, S., Hati, S., Puniya, A.K., Singh, R., Singh, K. (2013). Development of symbiotic milk chocolate using encapsulated *Lactobacillus casei* NCCDC 298. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 1031-1037.
- [59] Gadhiya, D., Patel, A., Prajapati, J.B. (2015). Current trend and future prospective of functional probiotic milk chocolates and related products - a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 33, 295-301.
- [60] Laličić-Petronijević, J., Popov-Raljić, J., Obradović, D., Radulović, Z., Paunović, D., Petrušić, M., Pezo, L. (2015). Viability of probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* HN019 and their impact on sensory and rheological properties of milk and dark chocolates during storage for 180 days. *Journal of Functional Foods*, 15, 541-550.
- [61] Todorovic, V., Redovnikovic, I.R., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M., Sobajic, S. (2015). Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 137-143.
- [62] Kingwatee, N., Apichartsrangkoon, A., Chaikham, P., Worametachanon, S., Techarung, J., Pankasemsuk, T., 2015. Spray drying *L. casei* 01 in lychee juice varied carrier materials. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 847-853.
- [63] Silva, M.P., Tulini, F.L., Marinho, J.F.U., Mazzocato, M.C., De Martinis, E.C.P., Luccas, V., Favaro-Trindade, C.S. (2017). Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1: Evaluation of

- chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 640-647.
- [64] Kemsawasd, V., Chaikham, P., Rattanasena, P. (2016). Survival of immobilized probiotics in chocolate during storage and with an in vitro gastrointestinal model. *Food Bioscience*, 16, 37-43.
- [65] Aragon-Alegro, L.C., Alarcon Alergo, J.H., Cardarelli, H.R., Chiu, M.C., Saad, S M.I. (2007). Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 669-675.
- [66] Romano, A., Blaiotta, G., Di Cerbo, A., Coppola, R., Masi, P., Aponte, M. (2014). Spray-dried chestnut extract containing *Lactobacillus rhamnosus* cells as novel ingredient for a probiotic chestnut mousse. *Journal of Applied Microbiology*, 116, 1632-1641.
- [67] Luckow, T., Delahunty, C. (2004). Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. *Food Research International*, 37, 805-814.
- [68] Talebzadeh, S., Sharifan, A. (2016). Developing probiotic jelly desserts with *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Processing and Preservation*, ISSN: 1745-4549.
- [69] Abdel-Latif, E., Saad, M.F. (2016). Effect of *Bifidobacterium lactis* on Quality of Rice Pudding as a Probiotic Food Carrier. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(8), 362-371.
- [70] Trujillo-de Santiago, G., Sáenz-Collins, C.P., Rojas-de, Gante C. (2012). Elaboration of a probiotic oblea from whey fermented using *Lactobacillus acidophilus* or *Bifidobacterium infantis*. *Journal of Dairy Science*, 95, 6897-6904.
- [71] Aboulfazli, F., Shori, A.B., Baba, A.S. (2016). Effects of the replacement of cow milk with vegetable milk on probiotics and nutritional profile of fermented ice cream. *LWT-Food Science and Technology*, 70, 261-270.
- [72] Heenan, C.N., Adams, M.C., Hosken, R.W., Fleet, G.H. (2004). Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 37, 461-466.
- [73] Klu, Y.A.K., Phillips, R.D., Chen, J. (2014). Survival of four commercial probiotic mixtures in full fat and reduced fat peanut butter. *Food Microbiology*, 44, 34-40.
-

## Ekmek ve Bazı Tahıl Ürünlerinde Okratoksin A Bulunurluğu ve Toksik Etkileri

Sultan Mehtap Büyüker<sup>1</sup>  <sup>1</sup>Üsküdar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Programı, Üsküdar

Geliş Tarihi (Received): 30.11.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 08.07.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [sultanmehtap.buyuker@uskudar.edu.tr](mailto:sultanmehtap.buyuker@uskudar.edu.tr) (S.M. Büyüker)

☎ 0 216 400 22 22 📠 0 216 474 12 56

### ÖZ

Okratoksin A (OTA), *Aspergillus* ve *Penicillium* türü küfler tarafından üretilen ve çeşitli tahıl türlerinde saptanmış olan bir okratoksin türüdür. Tahıl ürünlerinin tüketilmesi ile OTA toksisitesi arasındaki ilişki Balkan Endemik Nefropatisi olarak isimlendirilen hastalığın görülmesi ile ortaya çıkmıştır. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar OTA'nın nefrotoksik, teratojenik, immunosupresif, hepatotoksik, genotoksik, hücre ölümünü ve lipid peroksidasyonunu artırıcı etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır. OTA, tahıllarda yaygın olarak bulunan bir mikotoksindir. Bu nedenle beslenmemizin temel unsuru olan ekmek ve benzeri ürünlerdeki OTA miktarı toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır. Ekmek, tüm dünyada karbohidrat ve protein kaynağı olarak çok fazla miktarda tüketilmektedir. Bu çalışmada dünyada ve ülkemizde ekmek ve benzeri ürünler ile yapılmış farklı çalışmaların sonuçları incelenerek karşılaştırılmıştır. Avrupa Birliği Komisyonu'na göre tahıl ürünlerinde alınmasına izin verilen maksimum OTA miktarı 3 ng/g'dir. Yapılmış olan çalışmalarda OTA yönünden tespit edilen sonuçlara baktığımızda, Fas'ta yapılan çalışmada 100 örnekten 26'sında OTA değeri  $13 \pm 1.5$  ng/g olarak limit değerin üzerinde bulunmuştur. Adana'da yapılmış olan diğer bir çalışmada ise 136 ekmek örneği çalışılmış ve bunların %70'inde limit değerin üzerinde OTA tespit edilmiştir. İncelen diğer çalışmalarda ise OTA bulunurluğunun limit değerlerin altında olduğu ancak mısır ekmeğinde OTA bulunurluğu diğer ekmek türlerine oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir. İncelemeler sonucunda, ekmekle ve diğer gıdalarla birlikte alınan toplam OTA miktarının limit değerleri aşabilmesi durumu göz önüne alındığında ekmek ve benzeri ürünlerde OTA bulunurluğunun sağlık sorunlarına neden olabileceği bildirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekmek, Okratoksin A, Unlu mamüller

### Presence of Ochratoxin A in Bread and Some Cereal Products and Its Toxic Effects

#### ABSTRACT

Ochratoxin A (OTA) is produced by *Aspergillus* and *Penicillium* species of fungi, and it is found in various types of grain. The relationship between the consumption of cereal products and OTA toxicity has revealed the appearance of a disease called Balkan Endemic Nephropathy. Studies on experimental animals revealed that OTA has an accelerating effect on nephrotoxic, teratogenic, immunosuppressive, hepatotoxic, genotoxic, cell death and lipid peroxidation. For this reason, the OTA content of bread products, the major component of our nutrition, is important in terms of public health. Bread is consumed all over the world as a source of carbohydrates and proteins. In this study, studies on OTA presence in bread products were screened and compared. According to the Commission of the European Union, the maximum amount of OTA allowed in cereal products is 3ng/g. Studies on OTA in foods showed in Morocco, the value of OTA in 26 of 100 samples was above the limit value of  $13.0 \pm 1.5$  ng/g. In a study in Adana, Turkey, 136 bread samples were studied and 70% of them had the OTA content above the limit value. In other studies, it was stated that the availability of OTA is below the limit values, but the availability of OTA in maize bread is higher than other types of bread. Results of various studies indicated that the presence of OTA in bread products



could cause health problems, given that the total OTA amount taken with bread and other foods could exceed the limit values.

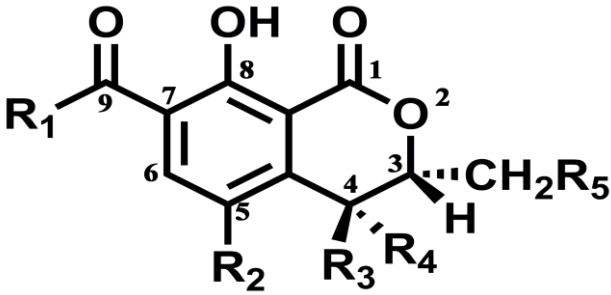
**Keywords:** Bakery products, Bread, Ochratoxin A

## GİRİŞ

Okratoksinler, *A. ochraceus*(*A.alutaceus*), *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. sclerotium*, *A. albertensis*, *A. wentii*, *A. auricomus*, *A. niger var.*, *A. sulphureus* (*A. fresenii*) ve *P. viridicatum* (*P.verrucosum*) küfleri tarafından üretilen mikotoksinlerdir [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Okratoksin 1965 yılında Van der Merwe ve ark. tarafından tanımlanmış ve üretici küf olması nedeniyle bu ismi almıştır [7]. Okratoksinlerin gıdalarda sıklıkla rastlanmasından dolayı en çok bilinen ve toksik olan metaboliti okratoksin A (OTA)'dır. Okratoksin A tahıllarda yaygın olarak bulunan bir mikotoksindir [8]. Mısır, buğday, arpa gibi ürünlerde ve hayvansal gıdalarda OTA kontaminasyonu görülebilmektedir. OTA'nın yapılan çalışmalarda anne sütünde de tespit edilmiş olması toksinin kontamine gıdalarla alınabildiğini göstermektedir[9]. OTA, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından "Grup 2B" olası karsinogen olarak sınıflandırılmıştır OTA dolaylı karsinogen etki gösterdiği için epigenetik karsinogen olarak da tanımlanmaktadır. [10-16].

## OKRATOKSİN A'NIN KİMYASAL YAPISI

OTA, okratoksinler içindeki en toksik metabolittir. Kimyasal adı; L-fenilalanin-N-[[5-kloro-3,4 dihidro- 8 hidroksi -3-metil-1 okso-1H-2-benzopirran-7-il] karbonil]-[R]-isokumarin [17]. OTA ve türevlerinin kimyasal yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil.1 OTA ve Türevlerinin Kimyasal Yapısı [17]

Okratoksin A ile ilişkili birçok metabolit tanımlanmıştır. OTA'nın dekloro analogu olan okratoksin B [OTB], etil esteri okratoksin C, izokumarin türevi okratoksin α (OTα) ve onun dekloro analogu okratoksin β(OTβ). Tablo 1'de OTA ve türevleri görülmektedir [17].

OTA, kristalize, renksiz, suda az ve sulu sodyum bikarbonat çözeltilerinde iyi çözünebilir [18, 19] ve pKa değeri 7.1 olan zayıf asit özellikle bir bileşiktir [3]. OTA UV ışık altında asit ortamlarda yeşil, alkali ortamlarda mavi floresans verir. OTA asidik veya nötral pH' da, polar çözücülerde (etanol, metanol, ksilen ve kloroform gibi) iyi çözünür. Petrol eteri ve doymuş

hidrokarbonlarda çözünmez. OTA'nın stabilitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Asidite ve yüksek sıcaklığa karşı dirençlidir. Bu nedenle kontamine olmuş yiyeceklerden OTA'nın uzaklaştırılması çok zordur [16].

## OKRATOKSİN OLUŞTURAN KÜFLER

Okratoksinler, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsi küfler tarafından üretilmektedirler. *Aspergillus ochraceus* OTA üreten ilk tür olduğu için önemlidir. 2004 yılında OTA üreten benzer özellikte ikinci bir tür bulunmuştur ve *A.westerdijkiae* olarak isimlendirilmiştir [20, 21]. Daha sonraki yıllarda benzer yapıya sahip küf türü *A.steynii* tanımlanmıştır [22]. Bu küf türlerinin *A.ochraceus*'dan çok daha fazla oranda OTA ürettiği tespit edilmiştir. *Aspergillus* türleri arasında *Nigri Aspergillus carbonarius*'un önemli OTA üreticisi olduğu bilinmektedir. Üzümlerde ve üzümde elde edilen ürünlerde, üzüm sularında, şaraplarda [23, 24] ve bazı kahve çekirdeklerinde [25, 26] OTA oluşturmaktadır. Okratoksijenik izolatlardan *A.niger*'e ait olanların oranı *A.carbonarius* türüne ait olanlardan çok daha azdır [27]. *A.lacticefeatus* ve *A.sclerotium* türlerinde OTA ürettiği rapor edilmiştir [26]. Diğer *Aspergillus section circumdati* türleri de *Aspergillus cretensis*, *A.flocculosus*, *A.pseudoelegans*, *A.roseoglobulosus*, *A.sclerotium*, *A.sulphureus* ve *Neopetromyces muricatus* [20, 28], *A.melleus*, *A.ostianus*, *A.persii* ve *A.petrakii*, *Aspergillus section flavi*, *Petromyces albertensis* türlerinde OTA üretmektedir. *Penicillium verrucosum* türünün tahıllarda (arpa, buğday ve diğerlerinde) [29], *Penicillium nordicum* ise salam ve domuz jambonunda [30] OTA varlığından sorumludur.

## OTA TOKSİSİTESİ

OTA memeli canlıların çok büyük bir bölümünde nefrotoksik etki göstermektedir [31]. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar OTA'nın nefrotoksik, teratojenik, immünosupresif, hepatotoksik, genotoksik, hücre ölümünü ve lipid peroksidasyonunu artırıcı etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır [32-35]. OTA'nın akut toksisitesi hayvanların türüne, cinsiyetine ve aldıkları toksin miktarına bağlıdır. Ağızdan alımda köpeklerde LD<sub>50</sub> 0.2 mg/kg vücut ağırlığı, erkek sıçanlarda (dişiler daha hassas) 30.3 mg/kg olarak verilmiştir. OTA'nın intraperitoneal yolla alındığında ağızdan alımından daha toksik olduğu bildirilmektedir. OTA birçok hayvan türünde böbrekler başta olmak üzere toksik etki gösterir [36]. Diğer toksik etkileri, kalp ve karaciğer dokularında patolojiler, sıçanlarda koagülasyon faktörünün düşmesi, farelerde miyelotoksikoz şeklindedir [37].

## GIDALARDA OTA VARLIĞI

Yapılan çalışmalarda birçok tarım ürününde, işlenmiş yiyeceklerde OTA varlığı belirlenmiştir [38]. Okratoksinler; arpa, mısır, buğday, çavdar ve yulafın

yanı sıra fasulye, incir, kuru üzüm, zeytin, kabuklu yemişler, kahve tohumu, baharatlar ve greyfurt suyunda da bulunabilmektedirler [39, 40]. Şifalı bitkiler ve bitki çayları, eğer uygunsuz ve küf üremesine elverişli ortamlarda saklanmışsa kullanmadan önce mikotoksin analizi yapılmalıdır. Kahvede olduğu kadar, bira gibi fermantasyon ürünlerinde de OTA kalıntılarında rastlanmıştır. OTA kontaminasyon düzeyi en çok tahıl (özellikle mısır, buğday, arpa), ve hayvansal gıdalarda gözlenmiştir [40, 41]. OTA'nın yiyecek ve yemlerde

bulduğunu gösteren çalışmalar vardır. Kontaminasyon genellikle ılıman iklim, hasat ve hasat sonrası depolama koşulları ile yakından ilişkilidir [1, 40]. OTA oluşumu başlıca sıcaklık, ürünün nem miktarı ve tipi, diğer mikroflora varlığı, mevcut küfün suyu ve tohumun kalitesine bağlıdır [1]. Toksinin üretimi pH 5.5' ta demir, bakır ve çinko varlığında maksimumdur. İliman iklim koşullarında *Penicillium* türleri OTA'nın ana kaynağıdır [40, 9].

Tablo 1. OTA türevi metabolitleri karakteristik oluşumu [17]

İsim	R1	R2	R3	R4	R5
Doğal okratoksinler					
Okratoksin A	Fenilalanin	Cl	H	H	H
Okratoksin B	Fenilalanin	H	H	H	H
Okratoksin C	Etil-ester, Fenilalanin	Cl	H	H	H
Okratoksin A metilester	Metil-ester, Fenilalanin	Cl	H	H	H
Okratoksin B metilester	Metil-ester, Fenilalanin	H	H	H	H
Okratoksin B Etil-ester	Etil-ester, Fenilalanin		H	H	H
Okratoksin α	OH	Cl	H	H	H
Okratoksin β	OH	H	H	H	H
4RHidroksiokratoksin A	Fenilalanin	Cl	H	OH	H
4sHidroksiokratoksin A	Fenilalanin	Cl	OH	H	H
10Hidroksiokratoksin A	Fenilalanin	Cl	H	H	OH
OTA' nın tirozin analogu	Fenilalanin	Cl	H	H	H
OTA' nın serin analogu	Serin	Cl	H	H	H
OTA' nın hidrokspiroline analogu	Hidroksiprolin	Cl	H	H	H
OTA' nın lysine analogu	Lysine	Cl	H	H	H
Sentetik okratoksinler					
d-Okratoksin A	d-fenilalanin	Cl	H	H	H
Okratoksin A Etilamid	Etilamid, Fenilalanin	Cl	H	H	H
O-metil Oktatoksin A	Fenilalanin, OCH <sub>3</sub>	Cl	H	H	H

## EKMEK VE BAZI TAHIL ÜRÜNLERİNDE OTA VARLIĞI

Ülkemizde ve tüm dünyada tahıl ürünlerinin tüketimi oldukça yüksektir ve bunun büyük bir bölümünü işlenmiş ürün olan ekme ve benzeri ürünler oluşturmaktadır. Avrupa Birliği'ne göre tahıl ürünlerinde alınmasına izin verilen maksimum OTA miktarı 3 ng/g'dır [42]. Araştırmacılar yapılan çalışmalar sonucunda organik ekmekte, fırından veya marketten alınan ekmeğe oranla OTA varlığının daha yüksek olduğu tespit etmişlerdir. Bunun nedenlerinden en önemlisi market ekmeğindeki eklenmiş olan koruyucu ve hümektanların var olması ki son yıllarda tüketicilerin bu tür koruyucu maddelerin kullanılması konusunda çok ciddi bir baskısının olduğu belirtilmiştir. Fakat bu koruyucu maddelerin suboptimal düzeyde kullanılmasının küf oluşumunu stimüle ettiği bildirilmiştir [43].

İspanya'da L. Gonzales- Osnaya ve ark. [44] tarafından, 2007 yılında ekme örneklerinde yapılmış olan bir çalışmada OTA kontaminasyonunun 0.62 ng/g olduğu tespit edilmiştir. Ekme tüketiminin ise günde 156 g olduğu ve ortalama 60 kg ağırlığında bir yetişkinin günlük OTA alımının 1.6 ng/kg olduğu bildirilmiştir. Bu değerinde tolere edilebilir günlük değerlerin %32 ve %10' nu oluşturduğu görülmektedir. Ancak araştırmacıların

yaptığı bu çalışmada diğer yiyeceklerden de alınan OTA miktarı hesaplandığında (üzüm, kahve vb.) günlük OTA alımının daha yüksek değerlerde olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu çalışmada ekme yoluyla OTA alımının önlenmesinin gerekliliği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır.

Juan ve ark. [47], 2008'de Portekiz'de yaptıkları bir çalışmada farklı fırınlardan, şekerleme dükkanlarından ve süpermarketlerden toplanan beyaz ekme ve mısır ekmeği örneklerindeki OTA kontaminasyon düzeylerini incelemişlerdir. 31 tanesi beyaz ekme, 30 tanesi mısır ekmeği olmak üzere, 61 örnekle çalışmışlar ve sonuç olarak OTA kontaminasyonunun 0.23 ng/g olduğu tespit etmişlerdir. Buğday ekmeği için tahmin edilen günlük alım 0.20 ng/kg (vücut ağırlığı) va/gündür. Portekiz'de ekme tüketiminin dörtte birini mısır ekmeğinin oluşturduğu düşünülürse mısır ekmeği için tahmin edilebilen günlük alım 0.16 ng/kg va/gün veya 1.12 ng/kg va/hafta olabileceği belirtilmiştir. Portekiz'de yapılmış olan bu çalışma mısır ekmeğinin buğday ekmeğine göre daha fazla OTA kontaminasyonuna maruz kaldığını göstermektedir. Ancak analiz edilen örneklerde OTA alımının tolere edilebilir haftalık değerlerinin üzerine çıkmadığı, en kontamine örnekte bile haftalık alınabilir miktarın %12.5'nin bulunduğu ve

OTA kontaminasyonunun potansiyel bir tehlike oluşturmadığı bildirilmiştir.

Karagözlü ve Karapınar [46], buğday, mısır unu, yulaf gevreği, yulaf ezmesi, yulaf unu ve müsliden oluşan 100 adet gıda örneğinin 4'ünde 0.27-9.84 ppb düzeyinde OTA tespit etmişler ve sonucun OTA yönünden herhangi bir tehlike olmadığını, ancak OTA ile ilgili daha çok çalışma yapılmasının gerekliliğini vurgulamışlardır.

Zinedine ve ark. [47] tarafından 2007'de Fas'ın beş farklı şehrinde (Rabat, Temara, Sale, Casablanca ve Meknes) yapılmış çalışmada Ocak ve Ekim ayları arasında perakende satış yapan fırınlardan rastgele toplanmış 100 buğday ekmeği örneğinde OTA varlığını incelemişlerdir. Araştırmacıların yaptığı çalışmada örneklerin 48'inde 0.14-149 µg/kg değerleri arasında OTA tespit edildiği bildirilmiştir. Kontamine olmuş ekmeğin örnekleri arasında 26'sının OTA değerinin (13±1.5ng/g) Avrupa Birliği komisyonunun işlenmiş tahıl ürünlerinde OTA için önerilen maksimum değer olan 3 ng/g'dan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Fas'ta yapılmış olan bu çalışmada ekmeğin örneklerindeki OTA miktarının diğer ülkelere oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Cengiz ve ark. [48], 2007 yılında farklı ekmeğin türlerinde ve unlarda OTA varlığını araştırmış ve 132 farklı tipteki ekmeğin ve un örneğinde çalışma yapmıştır. Bu örnekler 34 beyaz un örneği, 10 tane mısır unu örneği, 14 kepekli un örneği ve 28 kepekli undan yapılmış ekmeğin ve 10 tane mısır unundan yapılmış ekmeğin örneği içermektedir. Bu ekmeğin ve un örnekleri Bursa'daki farklı fırın ve marketlerden ve Bursa Silahlı Kuvvetleri'nin farklı birimlerinden temin edilmiş ve OTA varlığı incelenmiştir. Cengiz ve ark., bu çalışmanın sonucunda örneklerin %83'ünde (110) OTA tespit edilmiş ve 136 örneğin %70'inde ise OTA varlığının limit değerlerin (3 ng/g) üzerinde olduğu bildirilmiştir. Çıkan sonuçların ekmeğin ve un örneklerinde insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek düzeyde olduğu bildirilmiştir.

Koç'un [49] Adana'da yaptığı bir çalışmada 50 adet ekmeğin örneği analiz edilmiş ve 50 ekmeğin 5'inde 0.13-0.98 µg/kg aralığında OTA varlığı tespit edildiğini, OTA miktarının en fazla 0.98ppb olarak pıde ekmeğinde tespit edildiğini bildirmiştir. Bu çalışmada analiz sonuçlarının Türk Gıda Kodeksi'nin ve Avrupa Birliği Komisyonu'nun belirlediği maksimum OTA miktarından 3µg/kg'ın altında olduğu bildirilmiştir.

## SONUÇ

Gıdalarda OTA oluşumu insan sağlığını tehdit eden önemli bir sorundur. Tahıl türleri başta olmak üzere birçok gıdada yaygın olarak bulunan OTA'ya maruziyetin limit değerler içerisinde olması önem taşımaktadır. Çalışmada beslenmemizde büyük önem taşıyan ekmeğin ve benzeri gıdalarda OTA bulunurğunun miktarı bu konuda yapılan çalışmalar incelenerek değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar incelenerek farklı ekmeğin türleri ve benzeri ürünlerdeki OTA miktarlarının düzeyi karşılaştırılmıştır. İncelenmeler sonucunda farklı ülkelere ve şehirlerde yapılmış çalışmalarda farklı ekmeğin türleri ve benzeri gıda

maddelerinde farklı miktarda OTA bulunurluğu bildirilmiştir. Bu çalışmaların bazılarında ekmeğin ve benzeri ürünlerde Avrupa Birliği Komisyonu tarafından tahıl ve türevlerinde OTA için önerilen maksimum değerden (3ng/g) daha fazla ve bazı çalışmalarda ise daha düşük düzeyde olduğu belirtilmiştir. Ekmeklerde çalışmalar sonucunda tespit edilen OTA bulunurğunun en büyük nedenlerinden birinin ekmeğin yapıldığı unda bulunan OTA miktarı olması ve OTA'nın en fazla %20'sinin pişirme esnasında yok olabileceği düşünüldüğünde tahıl ürünlerinin ve unların saklanması ve depolanması sırasında OTA oluşumunun önlenmesinin çok önemli olduğu görülmektedir. Aynı zamanda OTA bulunurluğu limit değerlerin altında çıkan ekmeğin ve benzeri ürünlerinde sürekli olarak tüketildiği düşünüldüğünde ve diğer besinlerde bulunan OTA miktarı ile birlikte artan OTA düzeyinin toksik etki oluşturabileceği görülmektedir. Bu nedenle ekmeğin OTA varlığının insan sağlığı açısından önem taşıdığı görülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Çalışmanın yazım sürecinde göstermiş olduğu akademik ve manevi destekten dolayı Sayın Prof. Dr. Gülden Zehra Omurtag'a teşekkür eder ve saygılar sunarım.

## KAYNAKLAR

- [1] Steyn, P.S., Stander, M.A. (1999). Mycotoxins with special reference to the carcinogenic mycotoxins fumonisins. In: Ballantyne, B., Marrs, TC., Syversen, TLM., eds. *General And Applied Toxicology*. 2nd ed, United Kingdom: Macmillan Reference Ltd.: 2145-2176.
- [2] Lau, B.P.Y., Scott, P.M., Lewis, D.A., Kanhere, S.R. (2000). Quantitative determination of ochratoxin A by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 25, 23-32.
- [3] Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M. (1989). Risk assesment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and Environmental Sciences*, 1(2), 179-248.
- [4] Zinedine, A. (2010). Ochratoxin A in moroccan foods: occurrence and legislation. *Toxins*, 2, 1121-1133.
- [5] Duarte, S.C., Pena, A., Lino, C.M. (2010). Ochratoxin A In Portugal: A review to asses human exposure. *Toxins*, 2, 1228-1249.
- [6] Battacone, G., Nudda, A., Pulina, G. (2010). Effects of ochratoxin A on livestock production. *Toxins*, 2, 1796-1824.
- [7] Van der Merve, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L., Scott, D.B., Theron, J.J. (1965). Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. *Nature*, 205, 1112-1113.
- [8] JECFA [Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives]. Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. Ochratoxin A. WHO Food Additives Series. (2001). *FAO Food and Nutrition Paper*, 74, 281-387.

- [9] Bakırcı, G.T. (2014). Tahıl ve tahıl ürünlerinin aflatoksin, okratoksin a, zearalenon, fumonisin ve deoksinivalenol mikotoksinleri yönünden incelenmesi. *Akademik Gıda*, 12(2), 46-56.
- [10] IARC. IARC Chromatographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans: Some Naturally Occuring Substances, Food Items And Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines And Mycotoxins, Ochratoxin A. Vol. 56, *International Agency For Research On Cancer*. 1993; Geneva, 26-27.
- [11] Pfohl-Leschowicz, A., Manderville, R.A. (2007). Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(1), 61- 99.
- [12] Rezende, E.F., Borges, J.G., Cirillo, M.A., Prado, G., Paiva, L.C., Batista L.R. (2013). Ochratoxigenic fungi associated with green coffee beans [*Coffea Arabica L.*] In conventional and organic cultivation in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2), 377-384.
- [13] Ponsone, M.L., Chiotta, M.L., Palazzini, J.M., Combina, M., Chulze, S. (2012). Control of ochratoxin a production in grapes. *Toxins*, 4, 364-372.
- [14] Bayman, P., Baker, J.L. (2006). Ochratoxins: A global perspective. *Mycopathologia*, 162, 215-223.
- [15] Giray, B., Erkekoğlu, P., Aydın, S., Sabuncuoğlu, S., Şahin, G. (2009). Çocuklarda serum okratoksin A düzeyleri. *Türk Pediatri Arşivi*, 44, 138-142.
- [16] Han, Z., Tangni, E.K., Mavugnu, J.D., Vanhaecke, L., Saeger, S., Wu, A., Callebaut, A. (2013). *In vitro* glucuronidation of ochratoxin a by rat liver microsomes. *Toxins (Basel)*, 5(12), 2671-2685.
- [17] El Khoury, A., Atoui, A. (2010). Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins*, 2, 461-493.
- [18] Betina, B. (1989). *Mycotoxins, Chemical Biological an Enviromental Aspects*. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo 437.
- [19] Sorrenti, V., Di Giacomo, C., Acquaviva, R., Barbagallo, I., Bognanno, M., Galvano, F. (2013). Toxicity of ochratoxin a and its modulation by antioxidants: a review. *Toxins (Basel)* 5(10): 1742-66.
- [20] Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Larsen, T.O., Samson, R.A. (2004). Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium subgenus* *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 49, 201-242.
- [21] Varga, J., Kocsubé, S., Tóth, B., Frisvad, J.C., Perrone, G., Susca, A., Meijer, M., Samson, R.A. (2007). *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriata black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 1925-1932.
- [22] Gil-Serna, J., Patiño, B., Cortés, L., González-Jaén, M.T., Vázquez, C. (2011). Mechanisms involved in reduction of ochratoxin A produced by *Aspergillus westerdijkiae* using *Debaryomyces hansenii* CYC 1244. *International Journal of Food Microbiology*, 151(1), 113-118.
- [23] IARC. IARCH Handbooks of Cancer Prevention. Weight Control and Physical Activity. *International Agency for Research on Cancer*. Lyon, France. 2002.
- [24] Leong, S., Hocking, A.D., Pitt, J.I. (2004). Occurrence of fruit rot fungi [*Aspergillus section Nigri*] on some drying varieties of irrigated grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10, 83-88.
- [25] Taniwaki, M.H., Pitt, J.I., Teixeira, A.A., Iamanaka, B.T. (2003). The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *International Journal of Food Microbiology*, 82(2), 173-9.
- [26] Abarca, M.L., Accensi, F., Bragulat, M.R., Cabañes, F.J. (2001). Current importance of ochratoxin A-producing *Aspergillus* spp. *Journal of Food Protection*, 64, 903-906.
- [27] Samson, R.A., Jens Christan, F. (2004). New Ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus section Nigri*. *Studies in Mycology*, 45-61.
- [28] Hesseltine, C.W., Vandegrift, E.E., Fennell, D.I., Smith, M.L., Shotwell, O.L. (1972). *Aspergilli* as ochratoxin producers. *Mycologia*, 64(3), 539-50.
- [29] Lund, F., Frisvad, J.C. (2003). *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *Journal of Applied Microbiology*, 95(5), 1117-1123.
- [30] Bogs, C., Battilani, P., Geisen, R. (2006). Development of a molecular detection and differentiation system for ochratoxin A producing *Penicillium* species and its application to analyse the occurrence of *Penicillium nordicum* in cured meats. *International Journal of Food Microbiology*, 1;107(1), 39-47.
- [31] Castegnaro, M., Canadas, D., Vrabcheva, T., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I.N., Pfohl-Leschowicz, A. (2006). Balkan endemic nephropathy: role of ochratoxins A through biomarkers. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(6), 519-29.
- [32] Kussak, A., Andersson, B., Andersson, K. (1995). Immunoaffinity column clean-up for the high-performance liquid chromatographic determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and Q1 in urine. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 672(2), 253-259.
- [33] Simon, P., Delsaut, P., Lafontaine, M., Morele, Y., Nicot, T. (1998). Automated column-switching high-performance liquid chromatography for the determination of aflatoxin M1. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 712(1-2), 95-104.
- [34] Dai, Q., Zhao, J., Qi, X., Xu, W., He, X., Guo, M., Dweep, H., Cheng, W.H., Luo, Y., Xia, K., Gretz, N., Huang, K. (2014). MicroRNA profiling of rats with ochratoxin A nephrotoxicity. *BMC Genomics*, 15, 333.
- [35] Bakırcı, G.T., Çakmak, F., Özdemir, D. (2016). Ege Bölgesi'nde satışa sunulan kuru üzümde okratoksin A ve küf ilişkisi. *Akademik Gıda*, 14(4), 407-411.

- [36] Marquardt, R.R., Fronlich, AA. (1992). A review of recent advances in understanding ochratoxigenesis. *Journal of Animal Science*, 70, 3968-3988.
- [37] Boorman, G.A., Eustis, S.L. (1984). Proliferative lesions of the exocrine pancreas in male F344/N rats. *Environ Health Perspect*, 56, 213-217.
- [38] Abrunhosa, L., Paterson, R.R., Venâncio, A. (2010). Biodegradation of ochratoxin A for food and feed decontamination. *Toxins* (Basel), 2(5), 1078-1099.
- [39] McMasters, D.R., Vedani, A., 1999. Ochratoxin binding to phenylalanine-trna synthetase: Computational approach to the mechanism of ochratoxigenesis and its antagonism. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 3075-3086.
- [40] Petzinger, E., Ziegler, K. (2000). Ochratoxin A from a toxicological perspective. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, 91-98.
- [41] Girgin, G., Başaran, N., Şahin, B. (2001). Dünyada ve Türkiye'de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 3, 97-118.
- [42] European Commission, (2006a). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union L*, 364, 5-24.
- [43] Arroyo, M., Aldred, D., Magan, N. (2005). Environmental factors and weak organic acid interactions have differential effect on control of growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* isolates in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 98(3), 223-31.
- [44] González-Osnaya, L., Soriano, J.M., Moltó, J.C., Mañes, J. (2007). Dietary intake of ochratoxin A from conventional and organic bread. *International Journal of Food Microbiology*, 118(1), 87-91.
- [45] Juan, C., Pena, A., Lino, C., Molto, J.C., Manes, J. (2008). Levels of ochratoxin A in wheat and maize bread from the central zone of Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 127, 284-289.
- [46] Karagözlü, N., Karapınar, M. (1998). Bazı tahıl ve ürünlerinde okratoksin A ve fungal kontaminasyon. *Turkish Journal of Biology*, 24, 561-572.
- [47] Zinedine, A., Juan, C., Idrissi, L., Mañes, J. (2007). Occurrence of ochratoxin A in bread consumed in Morocco. *Microchemical Journal*, 87(2), 154-158.
- [48] Cengiz, M., Oruç, H.H., Uzunoğlu, İ., Sonal, S. (2007). Ochratoxin A levels in different types of bread and flour (farklı tip ekmek ve unlarda okaratoksin A düzeyleri). *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(1-2), 7-10.
- [49] Koç, N.F. (2016). Adana'da Fırın ve marketlerde Satışa Sunulan Ekmeklerde Okratoksin A(OTA) Varlığının HPLC Yöntemi ile Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi, Adana.

## Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

**Akademik Gıda** dergisi gıda bilimi ve teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com) web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com) e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirilebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekilde kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Çalışmanın özgünlüğü ve çalışma ile ilgili her türlü etik hususdan yazar(lar) sorumludur.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını,

makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

### Hızlandırılmış Makale Basımı

Dergide "yayımlanmak üzere kabul edilen makalelerin", derginin takip eden ilk sayısında yayımlanmasını talep eden yazar(lar)ın yayıncı kuruluşa makale başına 750 TL ücret ödemesi gerekmektedir. Bu durum hızlandırılmış basım talebi olmayan makaleler için geçerli olmayıp, Akademik Gıda dergisinde makale basımı için yazar(lar)dan herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

### Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz, Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) \*.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayımlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağında (mümkün olduğunca Resmi web

sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

#### **Makale**

[1] Bozkurt, H., İçier, F. (2009). İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 9(1), 6-12.

#### **Kitap**

[2] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

#### **Kitap Bölümü**

[3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

#### **Kongre-Sempozyum Bildirisi**

[4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşı, A., Kınık, Ö. (2004). Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak en geç bir ay içerisinde yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Bu süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

## Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com). Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com).

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- Authors are responsible from the originality of the study and all kinds of ethical issues related to their study.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

### Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

### Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

### Accelerated publication of an article

Articles accepted for publication can be published in the first coming issue of the journal at the charge of €200 per manuscript if the authors request accelerated publication.

### Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.



7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as \*.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

#### Article

- [1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

#### Book

- [2] Kilic, S. (2001). Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

#### Book Chapter

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

#### Proceedings of the Congress-Symposium

- [4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O. (2004). Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

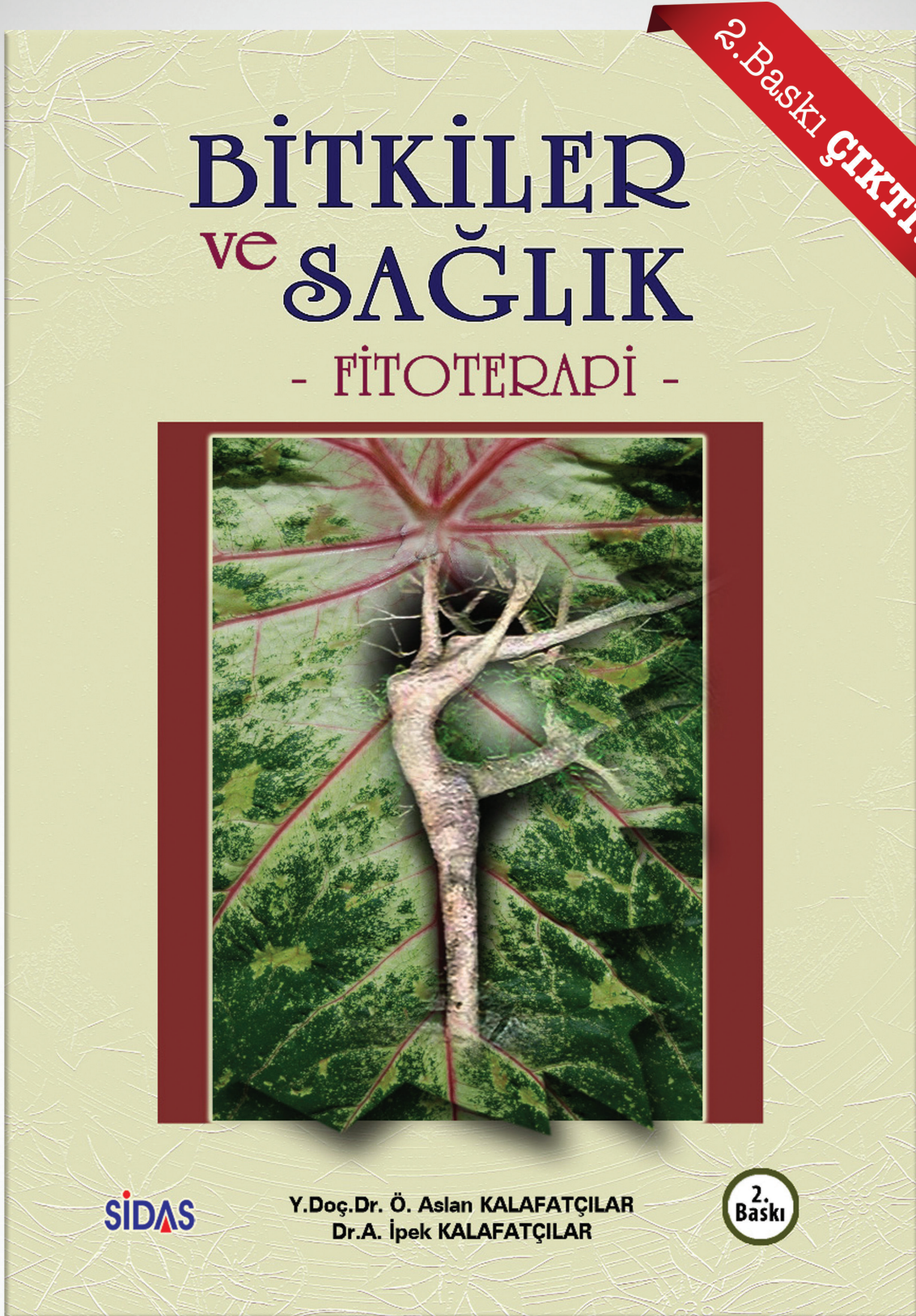
12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office via e-mail within a month.

13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

---

---

[www.gidakitaplari.com](http://www.gidakitaplari.com)



Fevzipaşa Bulv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR  
Tel: 0 232 441 60 01 Fax: 0 232 441 61 06 [sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com)

# Sektörel Yayıncılıkta Çağdaş Yaklaşım...



**SIDAS MEDYA**

Fevzipaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi No:162/302 Çankaya - İZMİR  
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06

[www.foodsektor.com](http://www.foodsektor.com)

[info@foodsektor.com](mailto:info@foodsektor.com)