

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 45

SAYI / NUMBER : 3

YIL / YEAR : 2020

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI**

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF  
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

**Sahibi / Owner**

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

<b>Baş Editör/ Editor-in Chief</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey	Akköse, Ahmet; Atatürk University, Turkey Ank, Gökşen G.; Balıkesir University, Turkey Atalar, İlyas; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey Baysal, A. Handan; İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey Bezirtzoğlu, Eugenia; Democritus University of Thrace, Greece Bozkır, Hamza; Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey Çilak, Gizem Ö.; Hitit University, Turkey Draughon, Ann Tennessee University, USA El Soda, Morsi University of Alexandria, Egypt Erbay, Zafer; Adana Bilim ve Teknik University, Turkey Evren, Mustafa; Ondokuz Mayıs University, Turkey Fogliano, Vincenzo University of Napoli Federico II, Italy Gerçekaslan, K. Emre; Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey Ghosh, Bikash C. National Dairy Research Institute, India Gollop, Natan The Volcani Center, ARO, Israel Griffiths, Mansel University of Guelph, Canada Güneşer, Onur; Uşak University, Turkey Güven, Esra Ç.; İstanbul Teknik University, Turkey Ho, Chi-Tang The State University of New Jersey, USA Hoşoğlu, Müge I.; Gebze Teknik University, Turkey Hüner, İrem D.; Trakya University, Turkey Kahraman, Kevser; Abdullah Gül University, Turkey Karaca, Hakan; Pamukkale University, Turkey Koçan, Deniz; Aksaray University, Turkey Konuskan, Dilşat B.; Mustafa Kemal University, Turkey Kuleşan, Hakan; Süleyman Demirel University, Turkey Meral, Raciye; Yüzüncü Yıl University, Turkey Mete, Aylin A.; Mersin University, Turkey Morales, Francisco J. CSIC Instituto del Fr o, Spain Muhtaba, Mustafa G. Florida Gulf Coast University, USA Mutlu, Türkan K.; Çukurova University, Turkey Öztürk, Fatma; Kâtip Çelebi University, Turkey Paalme, Toomas Tallinn University of Technology, Estonia Parlar, Harun Technical University of Munich, Germany Raspor, Peter University of Primorska, Slovenia Rezessy-Szabo, Judit M. Corvinus University of Budapest, Hungary Sanı, Ferda; Cumburiyet University, Turkey Şengün, İlkin Y.; Ege University, Turkey Soyer, Yeşim; Orta Doğu Teknik University, Turkey Toğay, Sine Ö.; Bursa Uludağ University, Turkey Toker, Ömer S.; Yıldız Teknik University, Turkey Velioglu, Murat; Namık Kemal University, Turkey Yemiş, Gökçe P.; Sakarya University, Turkey Yolaçaner, Elif; Hacettepe University, Turkey Yorulmaz, Aslı; Adnan Menderes University, Turkey Zorba, Murat; Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey
<b>Editörler / Editors</b> AVCI, Ayşe; Sakarya University, Turkey DEMİROK SONCU, Eda; Ankara University, Turkey EYİLER, Esen; Akdeniz University, Turkey TORUN, Mehmet; Akdeniz University, Turkey	
<b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey	
<b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org	
<b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli	
<b>Hazırlayan / Prepared</b> Sim Ajans 58. Sokak No: 20/1 Bahçelievler / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
<b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 06 2020	

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. *Quality characteristics of tarbana produced with different ratios of whole wheat and buckwheat flour* / Farklı oranlarda tam buğday ve kara buğday unu ile üretilen tarhanaların bazı kalite özellikleri ..... **421-432**
- 19160 Gunes, R., Cetin, B. *Investigation of some quality parameters of pickled pepper produced by low value dairy by-products* / Süt endüstrisi yan ürünleri ile üretilen biber turşusunun bazı kalite parametrelerinin araştırılması ..... **448-460**
- Cakmak, H. *Evaluation of foam-mat drying behaviour of crab apple (Malus floribunda) fruit juice and powder quality* / Süs elması (*Malus floribunda*) suyunun köpük kuruma davranışı ve toz ürünün kalite özelliklerinin belirlenmesi ..... **530-543**
- Ozvural, E. B., Celen, E. *Emulsions of orange and coconut oils and their use in peanut butters* / Portakal ve hindistan cevizi yağı emülsiyonları ve fıstık ezmelerinde kullanımları ..... **544-554**
- Coşkun, H., Sarıca, E., Büyüktanır, B., Baş, N., Tanrıku, E., Bıçak, K. N., Güzel, C., Emecen, B. *Some characteristics of "katık keş" a traditional Turkish dairy product* / Geleneksel bir ürünümüz olan katık keşinin bazı özellikleri ..... **564-571**
- Baltacıoğlu, C., Okur, İ., Buzrul, S. *Model based comparison of drying of asparagus (Asparagus officinalis L.) with traditional method and microwave* / Geleneksel yöntem ve mikrodalga ile kuşkonmazın (*Asparagus officinalis L.*) kurutulmasının model tabanlı karşılaştırılması ..... **572-580**
- Ismail Tarhan, İ. *Developing a new esterification method for the determination of fatty acid compositions of marine oil supplements by gas chromatography with orthogonal central composite design and response surface methodology* / Ortogonal merkezi kompozit tasarım ve yüzey cevap metodolojisinden faydalanarak balık yağı gıda takviyelerinin yağ asidi kompozisyonlarının gaz kromatografisi ile tayini için yeni bir esterleştirme metodunun geliştirilmesi ..... **581-589**
- Baysal, G. *In vitro cytotoxicity analysis and synthesis of biocidal allucin/MT/MMA/PEG/POSS nanocomposites for the food packaging* / Gıda ambalajı için biyosidal allisin /MT/MMA/PEG/POSS nanokompozitlerinin sentezi ve in vitro sitotoksitesite analizi . . . **600-611**

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Dinçer, C., Tongur, T., Erkamaz, T. *Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin hibiskus ekstraktlarının kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırılması* / *Investigation of the effect of different extraction methods on the quality properties of hibiscus extracts* . . . **409-420**
- Arslaner, A., M. A. Bayburt Civil peynirinin bazı kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile mineral ve ağır metal içerikleri / Some chemical, biochemical, microbiological properties, mineral and heavy metal contents of Bayburt Civil cheese . . . **433-447**
- Anlı, E. A., Şanlı, T., Şenel, E. *Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının bazı özelliklerinin incelenmesi* / *Investigating some properties of butters produced by using yogurt and kefir* ..... **461-472**
- Köten, M., Ünsal, A. S. *Şanlıurfa yöresine özgü tırnaklı (düz) ekmekte bazı katkı maddelerinin kullanımının ekmek kalitesine etkisi* / *The effect of using some additives on bread quality of "tırnaklı (flat) ekmek" native to Şanlıurfa* ..... **473-484**
- Uzundağ, D., Yüksekdağ, Z. *Uludağ, M. Lactobacillus cinsi bakterilerin liyofilize ekzopolisakaritlerinin bifidobakterilerin gelişimini düzenleyici etkisinin belirlenmesi* / *Determination of the lyophilized exopolysaccharides (L-EPD) of Lactobacillus bacteria bifidogenic growth stimulator effect* ..... **495-505**
- Öztürk, F. *Midye örneklerinde Virio parahaemolyticus'a karşı koruk, limon ve nar suyunun antibakteriyel etkisi* / *Antibacterial effect of unripe grape, lemon and pomegranate juice against Vibrio parahaemolyticus in mussels samples* ..... **506-516**
- Ünal, F. N., Kalyas, A., Gürbüz-Kaçan, Z., Şengül, M., Ürkek, B. *Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi* / *Determination of some quality parameters of commercial kefir* ..... **555-563**

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Aşık-Canbaz, E., Çömlekçi, S., Seydim, A. C. *Et teknolojisinde vurgulu elektrik alan tekniğinin kullanılması* / *Application of pulsed electric field in meat technology* ..... **485-495**
- Baysal, G. *Gıda endüstrisinde nanosistemlerin kullanımı* / *The use of nanosystems in the food industry* ..... **517-529**
- Bektaş, A., Ulusoy, M., Bektaş, V. *Gıda etiketlerinde yer alan bilgilerin sağlıklı algılanma (health halo) etkisi* / *Health halo effect of food labels* ..... **590-599**

## FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN HİBİSKUS EKSTRAKTLARININ KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Cüneyt Dinçer<sup>1,2</sup>, \*Timur Tongur<sup>3</sup>, Taner Erkaymaz<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Antalya, Türkiye

<sup>2</sup> Akdeniz Üniversitesi Finike Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Antalya, Türkiye

<sup>3</sup> Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Antalya, Türkiye

<sup>4</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi Doğal Ürünler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 02.12.2019; Kabul / Accepted: 28.03.2020; Online baskı / Published online: 08.04.2020

Dinçer, C., Tongur, T., Erkaymaz, T. (2020). Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin hibiskus ekstraktlarının kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırılması. *GIDA* (2020) 45(3)409-420 doi: 10.15237/gida.GD19155

Dinçer, C., Tongur, T., Erkaymaz, T. (2020). Investigation of the effect of different extraction methods on the quality properties of hibiscus extracts. *GIDA* (2020) 45(3)409-420 doi: 10.15237/gida.GD19155

### ÖZ

Bu çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemlerinin hibiskus ekstraktlarının kalite özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla termal ekstraksiyon (40 ve 75 °C) ve termosonikasyon (0.031 W/mL, 40 ve 75 °C) uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sürecinde 1., 5., 15. 30., 60. ve 120. dk'larda alınan örneklerde, sıcaklık ve süreye bağlı olarak °Brix ve antosiyanin içeriğinde artış belirlenirken, pH önemli bir değişim seyri göstermemiştir. Ardından örnekler 1.1 °Briks'e kadar ekstrakte edilmiştir. Bu örneklerde antosiyanin içeriği 149.7-156.2 mg/L arasında tespit edilirken, delphinidin-3-sambiosit ve siyanidin-3-sambiosit ise sırasıyla 112.1-120.5 ve 52.35-55.26 mg/L arasında belirlenmiştir. Sakaroz, en yüksek miktardaki şeker olarak belirlenirken, malik asit ise 811.2-932.4 mg/L arasında tespit edilmiştir. Ekstraksiyonların kalite özellikleri üzerine etkisi değerlendirildiğinde bulanıklık değerleri hariç, uygulamalar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Hibiscus sabdariffa* L, ekstraksiyon, termosonikasyon, antosiyanin.

## INVESTIGATION OF THE EFFECT OF DIFFERENT EXTRACTION METHODS ON THE QUALITY PROPERTIES OF HIBISCUS EXTRACTS

### ABSTRACT

In this study, the effect of different extraction methods on the quality properties of hibiscus extracts was investigated. Therefore, thermal extraction (40 and 75 °C) and thermosonication (0.031 W/mL, 40 and 75 °C) applications were performed. In the samples taken at 1<sup>st</sup>, 5<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup>, 60<sup>th</sup> and 120<sup>th</sup> minutes during the extraction, an increase in °Brix and anthocyanin content was determined depending on the temperature and time, while pH did not show a significant difference. The samples were then extracted up to 1.1 °Brix. In these samples, anthocyanin content was determined between 149.7-156.2 mg/L, while delphinidin-3-sambubioside and cyanidin-3-sambubioside were determined between 112.1-120.5 and 52.35-55.26 mg/L, respectively. Sucrose was determined as the highest amount of sugar while malic acid was found between 811.2-932.4 mg/L. When the effects of extractions on the quality characteristics were evaluated, it was determined that there was no statistically significant difference between the applications except turbidity values.

**Keywords:** *Hibiscus sabdariffa* L, extraction, thermosonication, anthocyanin.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ cdincer@akdeniz.edu.tr

☎ (+90) 242 227 2057/2598

☎ (+90) 242 310 6506

Cüneyt Dinçer; ORCID no: 0000-0002-9160-4242

Timur Tongur; ORCID no: 0000-0003-3030-8930

Taner Erkaymaz; ORCID no: 0000-0002-1939-3153



## GİRİŞ

*Hibiscus sabdariffa* L. bitkisi tropikal ve subtropikal iklimlerde yetiştirilebilen, Malvaceae familyasından, çalimsı bir bitkidir (Gedik, 2014). Almanya’da Hibiscus ve Sabdariff-Eibisch, Fransa’da Karkade ve P’Oiselle, İngiltere’de Red sorel ve Roselle, İspanya’da Jamaica, Arabistan’da Karkade, Tayland’da Krachiap daeng gibi isimler ile bilinen bitki ülkemizde bamya çiçeği, kara bamya, Sudan bamyası, hibiskus veya kerkede gibi isimlerle anılmaktadır (Özdoğan, 2001; Gedik, 2014). Bitkinin ticari olarak önemli olan kısmı etli çanak yapraklarıdır (Gedik, 2014). Hibiskus çanak yaprakları önemli miktarda karbonhidrat, protein, ham lif ve organik asit içermesi yanında ticari olarak önemi özellikle antosiyanin içeriğinden kaynaklanmaktadır. Delfinidin-3-sambiosit ve siyanidin-3-sambiosit hibiskus çanak yapraklarında bildirilen başlıca antosiyaninlerdir (Cid-Ortega ve Guerrero-Beltrán, 2015).

Halk arasında farklı hastalıkların tedavisinde uzun yıllardır kullanılan hibiskus ekstraktlarının, son dönemde yapılan çalışmalarda içerdiği biyoaktif maddelere bağlı olarak antioksidan, antibakteriyel, diüretik, ateş düşürücü, tansiyon düşürücü, antikolesterol ve antidiabetik özellikler gösterdiği bildirilmektedir (Da-Costa-Rocha vd., 2014; Cid-Ortega ve Guerrero-Beltrán, 2015). Hibiskus çanak yaprakları (kaliksleri) gıda endüstrisinde bitki çayı, sıcak ve soğuk içecekler, reçel, şekerlemeler, dondurma, çikolata, tatlandırıcılar, puding ve pasta gibi ürünlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır (Da-Costa-Rocha vd., 2014; Cid-Ortega ve Guerrero-Beltrán, 2015).

Hibiskus gibi bitkisel kaynakların gıda endüstrisinde istenen amaca uygun olarak değerlendirilebilmesi için ekstraksiyon, konsantrasyon vb. işlemlere tabi tutulması gerekebilmektedir. Ekstraksiyon, katı ya da sıvı fazda bulunan bir veya birden fazla bileşiğin farklı çözünürlük özelliklerinden yararlanılarak diğer bir sıvı faza alınması olarak tanımlanabilmektedir (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014). Gıda sanayiinde klasik termal ekstraksiyon yöntemlerinin kullanımı oldukça yaygındır. Ancak bu yöntemlerde, çözgen tüketiminin yüksek olmasının yanı sıra, ekstraksiyon süre ve

sıcaklığına bağlı olarak ısıya hassas bileşenlerce zengin ürünlerde arzu edilmeyen olumsuzlukların meydana gelmesi yeni ekstraksiyon yöntemleri ile ilgili çalışmaları hızlandırmıştır. Bu kapsamda termal yonteme kıyasla daha düşük sıcaklıklarda ve kısa sürede ekstraksiyona imkan tanıyan ultrases ekstraksiyonu gibi yöntemler ön plana çıkmaktadır (Ergün vd., 2013).

Ultrases, katı, sıvı ve gazlardan geçebilen, insanların duyma sınırı (16-20 kHz) üzerindeki yüksek frekanslı ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır (Condón vd., 2005; Dinçer ve Topuz, 2018). Ultrases sıvı içerisinde uygulandığında sonikasyon olarak adlandırılmaktadır (Tiware ve Mason, 2011) ve sonikasyonun temel etki mekanizması kavitasyon ile açıklanmaktadır. Ses dalgası sıvının içerisinde geçerken boyuna dalgalar oluşturur ve ardışık olarak kasılıp gevşeme olayları gerçekleşir ve mikro kabarcıklar ve boşluklar oluşur. Sıvı içindeki küçük kabarcıklar ultrases dalgalarının gevşeme-sıkışma hareketleri ile hızlı bir şekilde gelişir ve kritik bir değere ulaştığında patlamaktadır ki buna kavitasyon denir (Piyasena vd., 2003; Tiware ve Mason, 2011). Sonikasyon tek başına uygulanabildiği gibi etkinliği arttırmak için, ısı işlem ile birlikte de kullanılabilir ki bu uygulama termosonikasyon olarak adlandırılmaktadır (Karagöz ve Demirdöven, 2016)

Ultrasonik uygulama, ekstraksiyon işleminde hücre duvarlarını mekanik olarak parçalamakta ve materyal aktarımını sağlamaktadır. Hücre duvarının yıkılmasıyla hücre içindeki bileşenler, hücre dışına kolayca çıkabilmekte bu nedenle ultrases uygulamasıyla yapılan ekstraksiyon işlemi diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha hızlı gerçekleşmektedir. Ultrasonik uygulama ile partikül çapının azalmasına bağlı olarak, katı ve sıvı kısımlar arasındaki yüzey alanı artar. Ultrasesin mekanik aktivitesi, solventin dokulara doğru olan dağılımını hızlandırır. Mekanik olarak hücre duvarı yıkıldığından hücre içi bileşen, çözücü solvente kolayca geçmektedir (Camelo-Méndez vd., 2013, Ergün vd., 2013).

Farklı yöntemler ile gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışmalarında genellikle sistemler ayrı ayrı optimize edilmekte ve optimum şartlardaki uygulamalar mukayese edilmektedir. Bir diğer uygulama ise önceki çalışmalarda ekstraksiyon şartlarının kullanılarak doğrudan sonuçların karşılaştırılması şeklindedir. Söz konusu çalışmalarda örnekler farklı seviyelerde uygulamaya maruz bırakılmakta, farklı seviyelerde suda çözünür kuru madde değerlerine ulaşmakta ve bu sonuçlar mukayese edilmektedir. Ancak ekstraksiyon işlemi yüksek verimin yanı sıra yararlı bileşenlerin zarar görmeden eldesi de önemli bir faktördür. Bu noktadan hareketle, bu çalışmada hibiskus örneklerinin önce farklı yöntemler ile aynı sürelerde gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda pH, suda çözünür kuru madde ve antosiyanin içeriklerinin değerlendirilmesi ve ardından yaklaşık aynı suda çözünür kuru madde içeriğine kadar ekstrakte edilmesiyle bu şartlardaki kalite özelliklerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Çalışmada materyal olarak *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinin kurutulmuş çanak yaprakları (kaliksleri) kullanılmıştır. Antalya'da faaliyet gösteren bir aktardan temin edilen örnekler blendırda (Beko BKK-2155 Maxi El Blandır, Türkiye) öğütüldükten sonra eleklerden (Retsch, Almanya) elenerek partikül büyüklüğünün 0.5-1 mm arasında olması sağlanmıştır.

#### Yöntem

##### Geleneksel termal ekstraksiyon

Öğütülmüş numuneden alınan 2 g örnek 100 mL'lik cam şişelere aktarılmış ardından, katı sıvı oranı 1/40 olacak şekilde üzerine ekstraksiyon sıcaklığındaki (40 °C veya 75 °C) distile su ilave edilmiştir (Ramirez-Rodrigues vd., 2011). Ekstraksiyon çalkalamalı su banyosunda (Mommert WNE 29, SV 2945 Almanya), su banyosundaki su seviyesi şişe içerisindeki seviyenin üzerinde olacak şekilde, 150 d/dk çalkalama hızında gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon süresince düzenli zaman aralıkları ile (1, 5, 15, 30, 60 ve 120. dk) örnekleme yapılmış, çözeltilerde pH, antosiyanin ve suda çözünür kuru

madde içeriği belirlenmiştir. Ardından aynı uygulamalarla bu sefer 1.1 °Briks seviyesine kadar ekstrakte edilen örneklerde belirlenen analizler gerçekleştirilmiştir.

##### Termosonikasyon uygulaması

Termosonikasyon uygulaması ultrasonik banyoda (Çalışkan Ultrasonic cleaner, Türkiye) 40 °C ve 75 °C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta, 40 kHz sabit frekansta ve 0.031 W/mL Akustik Güç Yoğunluğunda (AGY) uygulanmıştır (AGY, Tiwari vd. (2008)'nin rapor ettiği metoda göre kalorimetrik olarak belirlenmiştir). Geleneksel termal ekstraksiyonda olduğu gibi, öğütülmüş numuneden alınan 2 g örnek 100 mL'lik cam şişelere aktarılmış ardından, katı sıvı oranı 1/40 olacak şekilde üzerine ekstraksiyon sıcaklığındaki (40 °C veya 75 °C) distile su ilave edilmiştir.

Ekstraksiyon süresince düzenli zaman aralıkları ile (1, 5, 15, 30, 60 ve 120. dk), çözeltilerde pH, antosiyanin ve suda çözünür kuru madde içeriği belirlenmiştir. Ardından aynı uygulamalarla bu sefer 1.1 °Briks seviyesine kadar ekstrakte edilen örneklerde belirlenen analizler gerçekleştirilmiştir.

##### Suda çözünür kuru madde tayini (SÇKM)

Örneklerin suda çözünebilir kuru madde miktarı refraktometre (PAL- $\alpha$  ATAGO, Tokyo, Japonya) ile oda sıcaklığında ölçülmüştür.

##### pH Ölçümü

Örneklerin pH değerleri oda sıcaklığında dijital pH metre (Orion 4-Star pH meter, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (Ramirez-Rodrigues vd., 2011).

##### Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği örneklerin 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1 noktasına kadar titrasyonu ile potansiyometrik olarak belirlenmiştir ve sonuçlar g malik asit/100 mL ekstrakt cinsinden sunulmuştur (AOAC, 2002).

##### Renk analizi

Örneklerin renk analizi Konica-Minolta CR-400 (Japonya) renk ölçer cihazı ve sıvı kabı kullanılarak yapılmıştır. Renk, L (koyuluk-açıklık), a (yeşillik-

kırmızılık), b (mavilik-sarılık) renk parametreleri cinsinden ifade edilmiştir.

#### **Bulanıklık**

Örneklerdeki bulanıklık değeri ölçümü için örnek 95 mm yüksekliği ve 25 mm çapa sahip örnek kabına yerleştirilmiş ve türbidimetre (Hach 2100 N Turbidimeter, A.B.D.) kullanılarak NTU (Nephelometric Turbidity Unit) değeri cinsinden belirlenmiştir (Tajchakavit vd., 2001).

#### **Toplam monomerik antosiyanin tayini**

Örneklerde toplam monomerik antosiyanin tayini pH diferansiyel metodu ile spektrofotometrik olarak belirlenmiş ve sonuçlar siyanidin-3-glukozit cinsinden mg/L olarak sunulmuştur (Wang ve Xu, 2007).

#### **Antioksidan aktivite tayini**

DPPH radikalinin inhibisyonuna dayalı antioksidan aktivite Fernández-León vd., (2013) tarafından uygulanan yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla uygun oranda seyreltilmiş örnek ekstraktından 50 µL ve üzerine taze hazırlanmış 950 µL 6.10<sup>-5</sup> M DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 516 nm dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen değer ile DPPH çözeltisinin bekleme süresinin başında saf metanole karşı 516 nm dalga boyunda yapılan okumasına göre farkları alınmıştır. Örneklerin antioksidan aktivitesi bu absorbans farkları kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış troluks ile elde edilen eğri yardımıyla mg troluks eşdeğer aktivite / 100 mL ekstrakt cinsinden hesaplanmıştır.

#### **Antosiyanin Kompozisyonunun Belirlenmesi**

Ekstraktların antosiyanin kompozisyonu Li vd. (2010) tarafından uygulanan metot modifiye edilerek Thermo Fisher UHPLC-DAD cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Antosiyaninlerin kromatografik ayırımı GL Sciences Inertsil ODS-4 (4.6 mm ID x 250 mm, 5 µm partikül boyutlu) HPLC kolonunda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A suda %2 (v/v) formik asit ile %5 (v/v) asetonitrilden, mobil faz B ise su-asetonitril (40:58) karışımındaki %2 (v/v) formik asitten oluşmaktadır. Gradyen elüsyon %15 B fazı ile başlamış ve artarak 30. dakikada %25 olmuştur.

Ardından B fazı 40. dakikaya kadar artarak %100'e ulaşmıştır. 45. dakikaya kadar da B fazı başlangıç oranı olan %15'e geri dönmüştür. Akış hızı 1 mL/dk, enjeksiyon hacmi de 20 µL olarak belirlenmiştir. HPLC kolonun ve oto örnekleyicinin sıcaklığı sırasıyla 25 °C ve 10 °C olarak ayarlanmıştır. Antosiyaninlerin kalitatif ve kantitatif tayini maksimum absorbans verdiği 520 nm dalga boyunda yapılmıştır.

#### **Şeker ve organik asit bileşimi**

Şekerlerin ve organik asitlerin tayini Coelho vd. (2018)'nin kullandığı yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Analizler Refraktif İndeks Dedektörlü (RID) Shimadzu LC-20 AD model HPLC cihazı kullanılarak yürütülmüştür. Şeker ve organik asitlerin kromatografik ayırımı Transgenomics ICE ORH-801 jel kolonda (6.5 mm ID x 300 mm) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 0.01 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi kullanılmıştır. İzokritik akış hızı 0.6 mL/dk'dır ve her bir enjeksiyon 25 dakika sürmüştür. Enjeksiyon hacmi 50 µL, HPLC kolonun, otoörnekleyicinin ve RID hücresinin sıcaklığı sırasıyla 65 °C, 10 °C ve 55 °C olarak ayarlanmıştır. Sakkaroz, glikoz, fruktoz ve tartarik asit, sitrik asit, okzalik asit, malik asit, garcinia asidin kalitatif ve kantitatif tayini RID dedektörde pozitif polarizasyonda yapılmıştır.

#### **İstatiksel analizler**

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş analizler paralelli olarak yürütülmüştür. Ortalamalar varyans analizine tabi tutularak, önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya konulmuştur.

#### **SONUÇ VE TARTIŞMA**

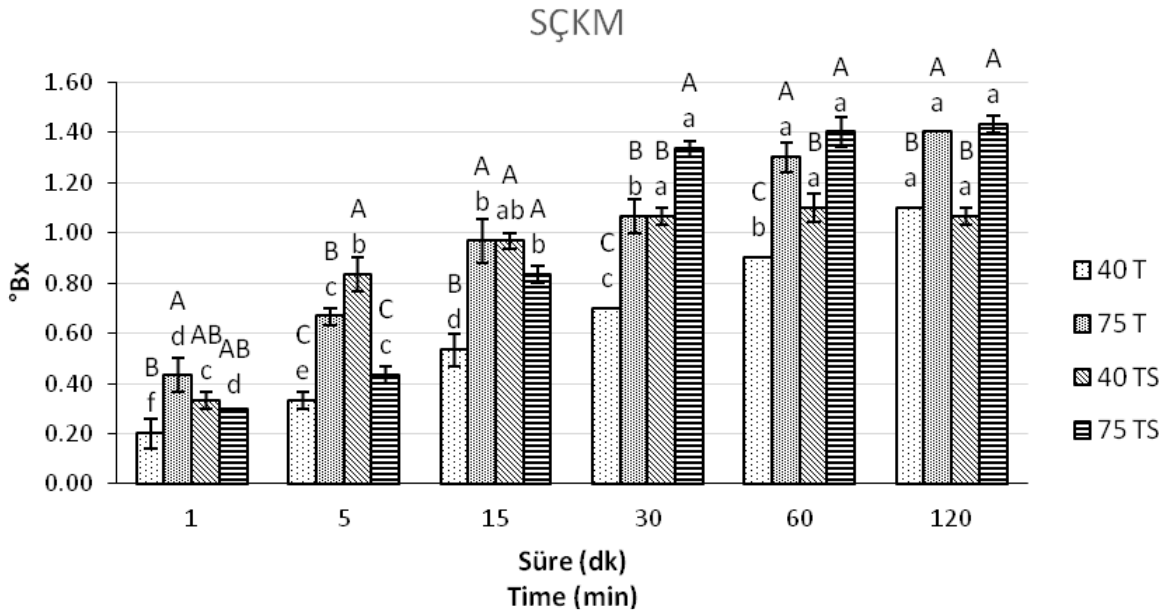
Geleneksel termal ekstraksiyon ve termosonikasyonda, ekstraksiyon süresince düzenli zaman aralıkları ile (1, 5, 15, 30, 60 ve 120. dk) alınan örneklerde belirlenen suda çözünür kuru madde, antosiyanin içeriği ve pH sonuçları Şekil 1-3'de sunulmuştur.

Su banyosunda (150 d/dk) 40 °C'de ekstrakte edilen örnekler incelendiğinde süredeki artışa bağlı olarak °Bx değerlerinin istatistiki açıdan artış

gösterdiği ve 120 dk sonunda yaklaşık 1.1 °Bx'lik değere ulaşıldığı belirlenmiştir. Su banyosunda 75 °C'de ekstrakte edilen örneklerin zamana bağlı °Bx değerleri incelendiğinde ise genel olarak süredeki artışa bağlı olarak istatistiki olarak 15. dk'ya kadar bir artış gösterdiği, 15 ile 30. dk'larda yapılan ölçümlerde istatistiki açıdan bir fark görülmediği belirlenmiştir. Bu ekstraksiyon yönteminde en yüksek briks değerine (1.4 °Bx) 120. dk'da ulaşıldığı ancak 60 ve 120. dk'lar arasında istatistiki açıdan bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ultrasonik banyoda 40 °C'de gerçekleştirilen çalışmada 15. dk'dan sonra örneklerin °Bx değerlerinde istatistiki açıdan bir farklılık belirlenmezken, ultrasonik banyoda 75 °C'de gerçekleştirilen çalışmada ise 30 dk'dan sonra örneklerin briks değerlerinde istatistiki açıdan bir farklılık görülmemiştir. Bununla birlikte en yüksek briks değerine (1.43 °Bx) ultrasonik banyoda 75 °C'de 120 dk ekstrakte edilen örneklerde ulaşılmıştır. Genel bir değerlendirme

yapıldığında 40 °C'de gerçekleştirilen uygulamalardan ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyonun 60. dk'ya kadar istatistiki açıdan daha etkili olduğu görülürken 120. dk'da iki ekstraksiyon işlemi arasında °Bx değerleri bakımından istatistiki açıdan fark olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca 60. dk'dan sonra 75 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinin 40 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinden °Bx değerleri açısından istatistiki olarak önemli seviyede daha yüksek olduğu görülmektedir.

Şekil 2. incelendiğinde en yüksek antosiyanin içeriğine (216.7 mg/L) termosonikasyon ile 75 °C'de 60. dk'da ulaşıldığı görülmektedir. Ayrıca 30. dk'dan itibaren 75 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen anyosiyanin değerlerinin 40 °C'de gerçekleştirilenlerden istatistiki olarak daha yüksek olduğu görülmektedir.

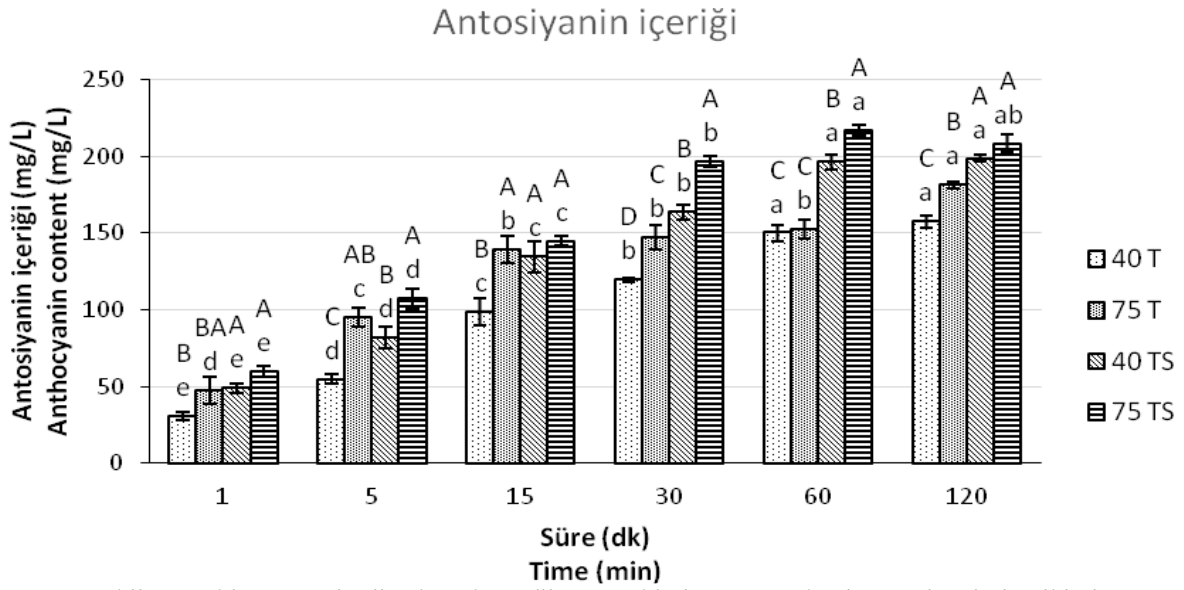


Şekil 1. Farklı yöntemler ile ekstrakte edilen örneklerin zamana bağlı °Bx değerleri

Figure 1. Time-dependent °Bx values of samples extracted by different methods

Aynı süredeki farklı büyük harfler metotlar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir. Ortalama değerler  $\pm$  standart hata. Aynı desendeki farklı küçük harfler aynı metotta süreler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir.

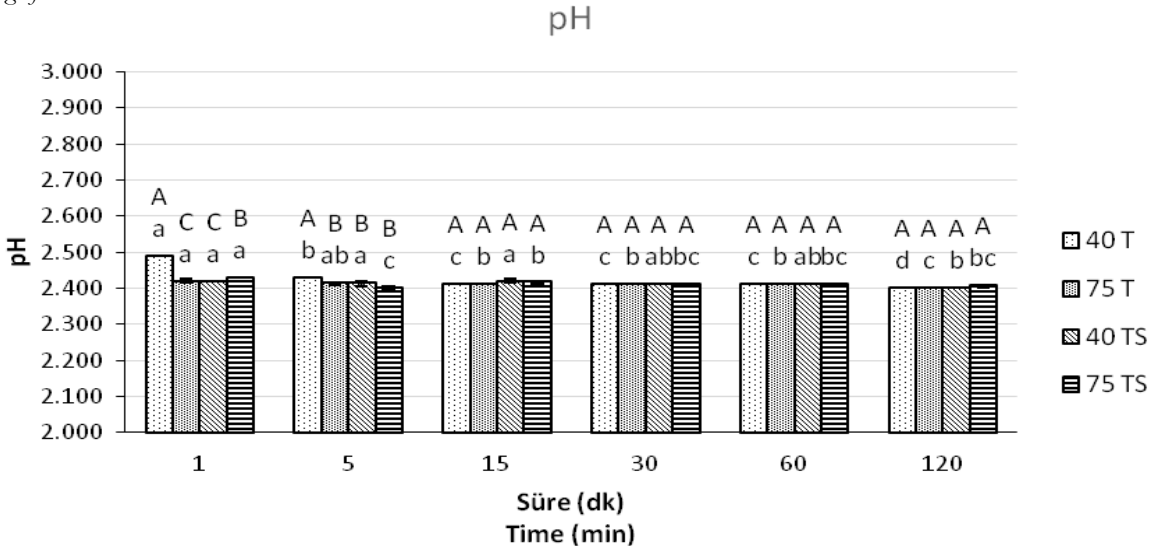
Different capital letters on the same time represent that the difference between the different methods is statistically significant. Mean values  $\pm$  standard error. Different lower case letters in the same pattern represent that the difference between time periods is statistically significant in the same method.



Şekil 2. Farklı yöntemler ile ekstrakte edilen örneklerin zamana bağlı antosiyanin içerikleri  
 Figure 2. Time-dependent anthocyanin content of samples extracted by different methods

Aynı süredeki farklı büyük harfler metotlar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir. Ortalama değerler  $\pm$  standart hata. Aynı desendeki farklı küçük harfler aynı metotta süreler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir.

*Different capital letters on the same time represent that the difference between the different methods is statistically significant. Mean values  $\pm$  standard error. Different lower case letters in the same pattern represent that the difference between time periods is statistically significant in the same method.*



Şekil 3. Farklı yöntemler ile ekstrakte edilen örneklerin zamana bağlı pH değerleri  
 Figure 3. Time-dependent pH values of samples extracted by different methods

Aynı süredeki farklı büyük harfler metotlar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir. Ortalama değerler  $\pm$  standart hata. Aynı desendeki farklı küçük harfler aynı metotta süreler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir.

*Different capital letters on the same time represent that the difference between the different methods is statistically significant. Mean values  $\pm$  standard error. Different lower case letters in the same pattern represent that the difference between time periods is statistically significant in the same method.*

Şekil 3. incelendiğinde genel olarak pH'nın 2.4-2.5 aralığında olduğu görülmektedir. Bununla birlikte 40 °C'de ekstrakte edilen örneklerin pH değerlerinin 1. ve 5. dk.'lardaki ölçümlerde diğer yöntemlere göre istatistiki açıdan daha yüksek olmasının, pH üzerine etkili bileşenlerin bu yöntemde nispeten daha yavaş suya geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. 15. dk'dan sonra gerçekleştirilen ölçümlerde örneklerin pH değerlerinde istatistiki açıdan önemli farklılıklar gözlenmemiştir.

Yukarıda açıklanan ekstraksiyon ön denemeleriyle, örneklerin 120 dk sonunda ulaşılan en düşük seviye olan 1.1 °Briks'e (40 °C'de termal ekstraksiyon) kadar ekstrakte edilmesine karar verilmiştir. Bununla birlikte termal yöntem ile 75 °C'de 1.1 °Bx seviyesine 32dk'da ulaşmıştır. 40 °C'de ultrasonik banyoda örnekler 1.1 Bx seviyesine 29 dk'da, 75 °C'de ise 23 dk'da ulaşmıştır. Aynı koşullarda 1.1 °Bx seviyesine kadar işleme tabi tutulan ekstraktlarda kaba filtre ile süzöldükten sonra Çizelge 1'de görülen fiziksel ve kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Hibiskus ekstraktlarının fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları  
Table 1. Physical and chemical analysis results of hibiscus extracts

	40T	75T	40TS	75TS
pH	2.417±0.003	2.420±0.000	2.413±0.003	2.420±0.000
TTA (g/mL), TTA (g/mL), L	0.377±0.009	0.387±0.003	0.393±0.007	0.397±0.003
a	16.17±0.01	16.15±0.02	16.16±0.01	16.15±0.01
b	0.82±0.02	0.74±0.07	0.84±0.03	0.66±0.08
Bulanıklık (NTU), Turbidity (NTU),	1.15±0.00	1.13±0.02	1.16±0.01	1.14±0.01
TMA (Siyanidin-3-glukozit mg/L), TMA (Cyanidin-3- glucoside mg/L),	10.31±b0.60	12.39±b1.48	18.23±a0.85	16.63±a1.02
TEAK (mg TE/100mL), TEAC (mg TE/100mL)	153.6±a2.4	151.8±a5.5	156.2±a4.4	149.7±a2.4
Delfinidin-3-sambiosit (mg/L) Delphinidin 3-sambubioside (mg/L)	79.99±a1.94	86.91±a1.17	84.61±a2.35	85.38±a1.33
Siyanidin-3-sambiosit (mg/L) Cyanidin 3-sambubioside (mg/L)	120.5±a1.26	112.1±a1.6	117.8±a3.1	114.2±a2.6
Glikoz (mg/L), Glucose (mg/L)	55.26±a1.03	53.57±a1.40	54.19±a0.86	52.35±a1.23
Fruktoz (mg/L), Fructose (mg/L)	1329.7±a18.4	1301.0±a9.2	1362.7±a27.7	1372.6±a54.0
Sakkaroz (mg/L), Sucrose (mg/L)	629.9±a19.7	646.3±a37.0	610.5±a21.8	692.7±a0.1
Malik asit (mg/L), Malic acid (mg/L)	5390.7±a93.8	5332.7±a136.5	5324.5±a72.8	5212.4±a108.8
	811.2±a37.4	880.9±a50.1	845.5±a37.1	932.4±a29.7

40T ve 75T: 40 °C ve 75 °C deki termal ekstraksiyon. 40TS ve 75TS: 40 °C ve 75 °C deki termosonik ekstraksiyon. Aynı satırdaki farklı harfler örnekler arası farkın istatistiksel olarak önemli ( $P<0.05$ ) olduğunu gösterir. Ortalama değer±standart hata.

40T and 75T: Thermal extraction at 40 °C and 75 °C. 40TS and 75TS: Thermosonic extraction at 40 °C and 75 °C. Different letters on the same line represent that the difference between the samples is statistically significant ( $P<0.05$ ). Mean values ±standard error

### pH ve titrasyon asitliği

Çizelge 1. incelendiğinde örneklerin pH değerlerinin 2.4 civarında ve istatistiki açıdan ( $P>0.05$ ) önemli bir değişim göstermediği

belirlenirken titrasyon asitliği değerleri ise 0.37-0.40 g malik asit/100 mL ekstrakt olarak belirlenmiştir. Genel olarak titrasyon asitliği değerlerinde de uygulanan ekstraksiyon

yöntemine göre istatistiki açıdan önemli değişimler gözlenmemiştir. Chumsri vd., (2008) taze ve kurutulmuş hibiskus çanak yapraklarını suda farklı sıcaklık (50, 60 °C), süre (30, 60 dk) ve katı/çözücü oranlarında (1/5, 1/10) ekstrakte ettiği çalışmada, örneklerin ekstraksiyon şartlarında pH değerinin 2.79 ile 2.95, toplam asit miktarının 1.71-3.29 (%) malik asit, toplam çözünebilir katı madde miktarının 5.33-9.80 briks arasında belirlendiğini bildirilmişlerdir. Ayrıca kurutulmuş örneklerde optimum koşulların 1/10 katı/çözücü oranında 50 °C'de ve 30 dk'da gerçekleştirilen ekstraksiyonda elde edildiği rapor edilmiştir. Söz konusu çalışma ile sunulan çalışmanın pH ve titrasyon asitliği değerlerindeki farklılığın temel nedeninin farklı katı/çözücü oranları (1/5, 1/10 ile 1/40) ve ekstraksiyon sıcaklıkları olduğu söylenebilir. Bununla birlikte Chumsri vd., (2008)'nin yürüttüğü çalışmada çözeltilerin daha konsantre olmasına rağmen pH değerinin daha yüksek olmasının ise kullanılan hammadde farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim Ramirez-Rodrigues vd., (2011)'nin katı/çözücü oranı sunulan çalışmada olduğu gibi 1/40 ve 25 °C'de 30, 60, 120 ve 240 dk ile 90 °C'de 2, 4, 8, 16 dk olmak üzere farklı sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirdikleri çalışmada; pH değeri 2.31-2.37 arasında toplam katı miktarı 0.68-1.08 g/100 mL ekstrakt ve titrasyon asitliği ise 0.28-0.44 g malik asit/100mL ekstrakt aralığında belirlenmiştir. Ramirez-Rodrigues vd., (2011) çalışması ile sunulan çalışma sonuçlarının oldukça uyumlu olduğu görülmektedir.

### **Renk ve bulanıklık**

Örneklerin L, a, b renk değerlerinin uygulanan ekstraksiyon yöntemlerine göre önemli bir değişim göstermediği belirlenirken termosonikasyon yöntemiyle ekstrakte edilen örneklerin bulanıklık (NTU) değerlerinin geleneksel yöntem ile ekstrakte edilen örneklerin NTU değerlerine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Nitekim literatürde yer alan çalışmalarda da ultrases ile gerçekleştirilen uygulamaların geleneksel termal yöntemlere kıyasla daha yüksek bulanıklık değerlerine neden olduğu bildirilmektedir (Dinçer ve Topuz, 2015).

Ultrases uygulamasıyla çözeltilerdeki bulanıklık artışı genellikle kavitasyon olgusuyla ilişkilendirilmektedir. Noktasal da olsa kavitasyon süresince meydana gelen yüksek sıcaklık ve basınç değişimleri büyük moleküllerin daha küçük olanlara parçalanmasına neden olabilmektedir. Büyük partiküllerin parçalanması, aslı partikül sayısını artırır, yüzey alanının genişlemesiyle partiküller arasındaki mesafeyi düşürür ve böylece çözelti bulanıklığını arttırabilmektedir (Dinçer ve Topuz, 2015).

Wong vd., (2003) taze hibiskus çanak yapraklarında sıcak su ekstraksiyonu, vidalı pres, blendırda sıcak (100 °C) ve soğuk (27 °C) su ekstraksiyonu olmak üzere farklı ekstraksiyon yöntemlerinin kalite özellikleri üzerine etkilerini araştırmıştır. Wong vd., (2003) uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre L, a, b renk değerlerinde istatistiki açıdan önemli farklılıklar gözlemlendiğini ve sırasıyla L değerinin 22.5-29.8, a değerinin 13.3-18.5 ve b değerinin 4.08-5.47 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ramirez-Rodrigues vd., (2011)'nin 1/40 katı/çözücü oranında ve 25 °C'de 30, 60, 120 ve 240 dk ile 90 °C'de 2, 4, 8, 16 dk olmak üzere farklı sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirdikleri çalışmada; uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre L, a, b renk değerlerinde istatistiki açıdan önemli farklılıklar tespit edildiği ve L, değerinin 35.26-54.18, a değerinin 63.93-67.65 ve b değerinin 45.39-68.76 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bununla birlikte hibiskus ile gerçekleştirilen çalışmalarda da diğer ekstraksiyon çalışmalarında olduğu gibi ekstraksiyon işleminin aynı briks seviyesine göre yürütülmediği düşünüldüğünde elde edilen değerlerin geniş bir aralıkta ve uygulamalara göre önemli farklılıklar göstermesinin nedeni anlaşılabilir.

### **Antosiyenin içeriği ve antioksidan kapasite**

Uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre örneklerin ortalama antosiyenin içeriği 149.7-156.2 siyanidin-3-glukozit mg/L arasında belirlenirken, DPPH yöntemi ile belirlenen Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAK) değerleri ise 80.0-86.9 mg TE /100 mL arasında belirlenmiştir. Bununla birlikte antosiyenin içeriği ve TEAK değerlerinin uygulanan ekstraksiyon



yöntemleri arasında istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermediği tespit edilmiştir.

Wong vd., (2003) taze hibiskus çanak yapraklarında sıcak su ekstraksiyonu, vidalı pres, blendırda sıcak (100 °C) ve soğuk (27 °C) su ekstraksiyonu olmak üzere farklı ekstraksiyon yöntemlerinin kalite özellikleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre (1/40 katı/çözücü oranında) antosiyanin içeriğini 7-42.9 delfinidin-3-glukozit mg/L, arasında rapor etmişlerdir.

Chumsri vd., (2008)'nin kurutulmuş hibiskus çanak yapraklarını 60 °C suda 1/5 ve 1/10 katı/çözücü oranlarında ekstrakte ettiği çalışmada, kurutulmuş örneklerin toplam antosiyanin miktarının 400.67-445.02 siyanidin-3-galaktozit mg/100g arasında, EC<sub>50</sub> antioksidan aktivite değerlerinin ise 50.48-45.05 mg/mL arasında belirlendiği bildirilmiştir.

Cisse vd., (2012) farklı ekstraksiyon prosedürlerinin depolama esnasında hibiskus ekstraktlarındaki renk ve antosiyanin degradasyonuna etkisini araştırmıştır. Sıcak (100 °C'de 30 dk) ve soğuk (30 °C'de 240 dk), pastörize edilmiş (90 °C'de 5 dk) ve edilmemiş olmak üzere dört farklı proses sonucu elde edilen ekstraktlarda en yüksek çözünür kuru madde (48 g/kg) ve antosiyanin içeriği (280 delfinidin-3-ksiloglukozit mg/L) 100 °C'de 30 dk (1:15 örnek su oranında) ekstrakte edildikten sonra pastörize edilmemiş örneklerde tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada ORAC antioksidan aktivite sonuçları ise 159-241 µmol /Trolox g arasında rapor edilmiştir.

Sindi vd., (2014) *Hibiscus sabdariffa*'nın formik asitli ve formik asitsiz, farklı çözücü (su, metanol, etil asetat ve hekzan), farklı süre (3, 5, 10 dk) ve farklı sıcaklıklarda (25°C, 50 °C ve çözümlerin kaynama sıcaklıklarında) ekstraksiyonu ile elde ettikleri ekstraktlarda toplam polifenol, antioksidan kapasite (DPPH, FRAP ve TEAC) ve antosiyanin bileşenlerini belirlemişlerdir. Sonuçlara göre en yüksek antioksidan kapasite formik asitli veya formik asitsiz su ile 100 °C'de 10 dk ekstrakte edilen örneklerde tespit edilmiştir. Bununla

birlikte antioksidan aktivite tayininde farklı yöntemler kullanılması ve aynı yöntemde dahi sonuçların farklı şekillerde sunulması verilerin mukayese edilmesini zorlaştırmaktadır.

### Antosiyanin kompozisyonu

Hibiskus ile yürütülen çalışmalar incelendiğinde, genel olarak delfinidin-3-sambiosit ve siyanidin-3-sambiosit'in majör antosiyaninler olarak rapor edildiği görülmektedir. Bununla birlikte delfinidin-3-glikozid ve siyanidin-3-glikozidin de bazı kaynaklarda hibiskus örneklerinde tespit edildiği rapor edilmektedir. Sunulan çalışmada söz konusu majör antosiyaninlerden delfinidin-3-sambiosit ve siyanidin-3-sambiosit sırasıyla 112.1-120.5 mg/L ve 52.4-55.3 mg/L arasında belirlenirken, delfinidin-3-glikozid ve siyanidin-3-glikozidin antosiyaninleri tespit edilememiştir. Bununla birlikte bu antosiyaninlerin ekstraksiyon yöntemlerine göre istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir.

Sıcak (90 °C) ve soğuk (25 °C) su ile eşdeğer ekstraksiyon koşullarında hazırlanan hibiskus ekstraktlarında, Ramirez-Rodrigues vd., (2011) fizikokimyasal ve fitokimyasal özellikleri değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar 25 °C'de 240 dk ve 90 °C'de 16 dk (1:40 hibiskus:su oranında) ekstrakte edilen örneklerin antosiyanin içeriğinin istatistiki olarak eşdeğer olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte siyanidin-3-sambiosit miktarı (41.62-44.88 mg/L) her iki ekstraktta istatistiki açıdan aynı bulunsun da, sıcak (90 °C) su ile ekstrakte edilen örneklerdeki delfinidin-3-sambiosit miktarı (100.90 mg/L) 25 °C'de ekstrakte edilenlere (87.32 mg/L) kıyasla daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

Sindi vd., (2014) *Hibiscus sabdariffa*'nın formik asitli ve formik asitsiz su ve metanol çözümlerini kullanarak kaynama noktasında 10 dk süre ile gerçekleştirdikleri ekstraksiyon sonucunda örneklerin delfinidin-3-sambiosit içeriğini 2.41-3.687 mg/g arasında, delfinidin-3-glikozid içeriğini 0.15-0.19 mg/g arasında, siyanidin-3-sambiosit içeriğini 1.96-3.81 mg/g arasında ve siyanidin-3-glikozid içeriğini ise 0.46-0.52 mg/g arasında bildirmişlerdir.

Sinela vd., (2017) hibiskus örneklerinde 1/10 katı sıvı oranında, oda sıcaklığında 30 dk'da gerçekleştirdikleri ekstraksiyon sonunda delfinidin-3-sambiosit içeriğini 0.78 mg/mL, siyanidin-3-sambiosit içeriğini ise 0.46 mg/mL olarak rapor etmişlerdir.

### **Organik asit ve şeker kompozisyonu**

Hibiskus örneklerinde tespit edilen şekerlerin uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Tespit edilen şekerler içinde sakaroz en yüksek oranda (5212.4-5390.7 mg/L) belirlenirken fruktoz ise en düşük (610.5-692.7 mg/L) oranda belirlenen şeker olmuştur. Hibiskus ekstraktlarında değerlendirilen organik asitler (tartarik asit, sitrik asit, okzalik asit, malik asit, garcinia asit) içerisinde ise sadece malik asit tespit edilmiştir (811.2-932.4 mg/L). Malik asit içeriği de uygulanan ekstrakt yöntemlerine göre istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermemiştir.

Wong vd., (2002) taze hibiskus kalikslerinde gerçekleştirdikleri çalışmada glikoz içeriğini 1.29 g/100g, fruktoz içeriğini 1.12 g/100g, sakaroz içeriğini ise 0.87 g/100g olarak belirlemişlerdir. Ayrıca organik asitlerden süksinik asit içeriğini 0.51 g/100g, okzalik asit içeriğini 0.43 g/100g, tartarik asit içeriğini 0.17 g/100g, malik asit içeriğini 0.12 g/100g ve askorbik asit içeriğini ise 141.09 mg/100g olarak rapor etmişlerdir. Jung vd (2013) ise kurutulmuş hibiskus kalikslerinin fizikokimyasal ve antimikrobiyal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında fruktoz içeriğini 19.1 g/kg, glikoz içeriğini 23.8 g/kg ve sakkaroz içeriğini ise 5.10 g/kg olarak bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmada maltoz içeriğinin de araştırıldığı ancak tespit edilemediği rapor edilmiştir. Okzalik, tartarik, malik, laktik, asetik, sitrik, süksinik ve fumarik asit gibi organik asitlerin de araştırıldığı çalışmada sadece 274.5 g/kg seviyesinde malik asit rapor edilmiştir.

### **SONUÇ**

Hibiskus örneklerinin ekstraksiyonunda termosoniaksyon işleminin geleneksel termal yöntemine göre daha kısa sürede hedeflenen ekstrakt seviyesini sağladığı belirlenmiştir.

Ekstraksiyon sürecinde sıcaklık ve süreye bağlı olarak suda çözünür kuru madde ve antosiyanin içeriğinde genel olarak artış belirlenirken, pH genel olarak önemli bir değişim göstermemiştir. 1.1 °Briks seviyesine kadar ekstrakte edilen örneklerde delfinidin-3-sambiosit ve siyanidin-3-sambiosit başlıca antosiyaninler olarak belirlenmiştir. Ayrıca ekstraktlarda sakaroz, en yüksek miktardaki şeker olarak belirlenirken, bunu glikoz ve fruktoz takip etmiştir. Ekstraksiyon uygulamalarının kalite özellikleri üzerine etkisi değerlendirildiğinde bulanıklık değerleri hariç, uygulamalar arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Bitki çayı, sıcak ve soğuk içecekler, reçel, şekerlemeler, dondurma, çikolata, tatlandırıcılar, puding ve pasta gibi ürünlerin hazırlanmasındaki kullanım potansiyeli ve analiz sonuçları göz önüne alındığında; hibiskus kaliksleri gıda endüstrisi açısından zengin bir antosiyanin kaynağı olarak dikkat çekmektedir. Hibiskus kalikslerinin endüstriyel ölçekte kullanımında maksimum fayda sağlanması açısından ekstraksiyon şartlarının optimize edilmesi kaçınılmazdır. Diğer taraftan, ekstraksiyon yöntemi ve şartlarının belirlenmesinde, hedef bileşenlerin yüksek verim, düşük enerji gideri ve düşük maliyetle elde edilmesinin yanında ekstraktların kullanım amacına göre renk, bulanıklık vb. fiziksel özelliklerinin de dikkate alınması önem arz etmektedir.

### **TEŞEKKÜR**

Bu çalışmayı FBA-2018-3150 proje numarası ile maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

### **KAYNAKLAR**

AOAC. 2002. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. Washington, DC.

Camelo-Méndez, G. A., Ragazzo-Sánchez, J. A., Jimenez-Aparicio, A. R., Vanegas-Espinoza, P. E., Paredes-López, O., Del Villar-Martinez, A. A. (2013). Comparative study of anthocyanin and volatile compounds content of four varieties of Mexican roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) by

- multivariable analysis. *Plant Food Hum Nutr.* 68(3), 229-234. doi: 10.1007/s11130-013-0360-2.
- Chumsri, P., Sirichote, A., & Itharat, A. (2008). Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract. *Songklanakarın J. Sci. Technol.*, 30(1), 133-9.
- Cid-Ortega, S., Guerrero-Beltrán, J. A. (2015). Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. *J. Food Sci. Technol.* 52(11), 6859-6869. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1800-9>.
- Cisse, M., Vaillant, F., Kane, A., Ndiaye, O., Dornier, M. (2012). Impact of the extraction procedure on the kinetics of anthocyanin and colour degradation of roselle extracts during storage. *J. Sci. Food Agric.*, 92(6), 1214-1221. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4685>
- Coelho, E. M., da Silva Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Sá, A. G. B., Pereira, G. E., de Azevêdo, L. C., dos Santos Lima, M. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *J. Food Compos. Anal.*, 66, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.017>
- Condón, S., Raso, J., Pagán, R. (2005). Microbial inactivation by ultrasound. In: *Novel Food Processing Technologies*. Barbosa-Cánovas, G. V., Tapia, S. M., Cano M. P. CRC Press pp. 423-442. New York.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L.—A phytochemical and pharmacological review. *Food Chem.* 165, 424-443. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>.
- Dinçer, C., Topuz, A. (2015). Inactivation of *Escherichia coli* and quality changes in black mulberry juice under pulsed sonication and continuous thermosonication treatments. *J. Food Process. Preserv.*, 39(6), 1744-1753. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12406>
- Dinçer, C., Topuz, A. (2018). Meyve Suyu İşlemede Ultrases Kullanımı. *Gıda*, 43(4), 569-581. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18037>
- Ergün, A. R., Baysal, T., Bozkır, H. (2013). Ultrases yöntemi ile karotenoidlerin ekstraksiyonu. *Gıda*, 38(4), 239-246. doi: 10.5505/gida.2013.30074.
- Fernández-León, M. F., Fernández-León, A. M., Lozano, M., Ayuso, M. C., Amodio, M. L., Colelli, G., & González-Gómez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli 'Parthenon' stored in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 31(2), 302-313. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.012>
- Gedik, S. (2014). Çukurova koşullarında farklı ekim zamanlarının kerkede (*Hibiscus sabdariffa* L.) bitkisinin çanak yaprak verimi ve kalitesine etkisi. Çukurova Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Y.lisans Tezi.116s.
- Jung, E., Kim, Y., Joo, N. (2013). Physicochemical properties and antimicrobial activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *J. Sci. Food Agric.*, 93(15), 3769-3776. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6256>
- Karagöz, Ş., Demirdöven, A. 2016. Termosonikasyon ve geleneksel ısıtma uygulamalarının havuç suyuna etkileri: pektin metilesteraz inaktivasyonu ve fizikokimyasal özellikler. *Gıda*, 41(5): 345-350. doi: 10.15237/gida.GD16027
- Li, Z., Pan, Q., Cui, X., Duan, C. 2012. Optimization on anthocyanins extraction from wine grape skins using orthogonal test design. *Food Sci. Biotechnol.* 19(4): 1047-1053. doi 10.1007/s10068-010-0147-2.
- Nakilcioğlu, E., Ötleş, S. (2014). Basınçlı Çözgen Ekstraksiyonu ve Gıda Sanayindeki Uygulamaları. *Akademik Gıda*, 12(2).88-94.
- Özdoğan F. P. (2001) Hibiscus sabdariffa'nın fitoterapi açısından değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Eczacılık ve Farmakoloji. Yüksek Lisans175s,
- Piyasena, P. Mohareb, E., Mckellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a

- review. *Int J Food Microbiol*, 87 (3): 207-216, doi:10.1016/S0168-1605(03)00075-8.
- Ramirez-Rodrigues, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., Marshall, M. R. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *J. Food Sci.*, 76(3), C428-C435. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02091.x>
- Sindi, H. A., Marshall, L. J., Morgan, M. R. (2014). Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. *Food Chem.* 164, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.097>
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., Dornier, M. (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chem.* 214, 234-241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.071>
- Tajchakavit, S., Boye, J.I., Belanger, D., Couture, R. 2001. Kinetics of haze formation and factors influencing the development of haze in clarified apple juice. *Food Res. Int.* 34 (5): 431-440. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00188-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00188-5).
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P., Cullen, P. J. (2008). Effects of sonication on the kinetics of orange juice quality parameters. *J. Agric. Food. Chem.*, 56(7), 2423-2428. <https://doi.org/10.1021/jf073503y>.
- Tiwari, B.K., Mason, T.J. (2011). Ultrasound processing of fluid foods. In: Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. Cullen, P.J., Tiwari, B. K., Valdramidis V. (Editors) Academic Press, pp. 135-165, Waltham.
- Wang, W.D. Xu, S.Y. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J. Food Eng.* 82 (3): 271-275. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.018>
- Wong, P. K., Yusof, S., Ghazali, H. M., & Man, C. (2003). Optimization of hot water extraction of roselle juice using response surface methodology: a comparative study with other extraction methods. *J. Sci. Food Agric.*, 83(12), 1273-1278. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1416>
- Wong, P. K., Yusof, S., Ghazali, H. M., Che Man, Y. B. (2002). Physico-chemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Nutrition & Food Science*, 32(2), 68-73. <https://doi.org/10.1108/00346650210416994>



## QUALITY CHARACTERISTICS OF TARHANA PRODUCED WITH DIFFERENT RATIOS OF WHOLE WHEAT AND BUCKWHEAT FLOUR

Oktaý Tomar<sup>1\*</sup>, Abdullah Çağlar<sup>1</sup>, Gökhan Akarca<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli University, Faculty of Agriculture and Natural Science, Arslanbey Campus, Kocaeli, Turkey

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Afyonkarahisar, Turkey

Received / Geliş: 21.11.2019; Accepted / Kabul: 10.04.2020 Published online / Online baskı: 17.04.2020

Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. (2020). *Quality characteristics of tarhana produced with different ratios of whole wheat and buckwheat flour*. GIDA (2020) 45(3) 421-432 doi: 10.15237/gida.GD19152

Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. (2020). Farklı oranlarda tam buğday ve kara buğday unu ile üretilen tarhanaların bazı kalite özellikleri. GIDA (2020) 45(3) 421-432 doi: 10.15237/gida.GD19152

### ABSTRACT

This study aimed to investigate physical, chemical and sensory properties of tarhana, produced by adding buckwheat flour with different ratios. Lightness ( $L^*$ ) value increased in wet samples according to the ratio of buckwheat flour increased, whereas it decreased in dry samples ( $P<0.05$ ). Redness ( $a^*$ ) values decreased in wet samples whereas increased in dry samples. Yellowness ( $b^*$ ) values were higher in wet samples however it decreased with drying process ( $P<0.05$ ). Buckwheat addition decreased viscosity values whereas protein and ash values increased significantly ( $P<0.05$ ). The highest viscosity value was determined in dried control sample with 935cP, while the highest protein, ash, DPPH free radical scavenging activity and total phenolic content values were 15.83%, 3.56%, 161.82 (mg Teq/g) and 14.00 (mg GAE/g) respectively, detected in samples containing 100% buckwheat flour. The highest overall sensory evaluation scores were 5.00 and 7.55 determined in samples containing 25% whole wheat and 75% buckwheat flour ( $P<0.05$ ), respectively.

**Keywords:** Whole wheat, buckwheat, tarhana, celiac, quality

## FARKLI ORANLARDA TAM BUĞDAY VE KARA BUĞDAY UNU İLE ÜRETİLEN TARHANALARIN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİ

### ÖZ

Bu çalışmada; karabuğday ununun değişik oranlarda tarhanaya ilavesi ile elde edilen ürünün fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Karabuğday un oranı arttıkça parlaklık ( $L^*$ ) değerinin yaş tarhana örneklerinde arttığı, ancak kuru tarhana örneklerinde azaldığı ( $P < 0.05$ ), kırmızılık ( $a^*$ ) değerlerinin yaş örneklerde azaldığı, kuru örneklerde arttığı, sarılık ( $b^*$ ) değerlerin ise; yaş örneklerde daha yüksek iken kurutmaya birlikte azaldığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Karabuğday ilavesi ile viskozite değerlerinin azalmasına karşın protein ve kül miktarının önemli derecede arttığı kaydedilmiştir ( $P < 0.05$ ). En yüksek viskozite değerine 935 cP ile kurutulmuş kontrol örneği sahipken, en yüksek protein, kül miktarı, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarına sırasıyla %15.83, %3.56, 161.82 (mg Teq/g) ve 14.00 (mg GAE/g) ile %100 karabuğday unu kullanılmış örneklerde olduğu belirlenmiştir. Örnekler arasında en yüksek genel beğeni puanına 5.00 ve 7.55 ile sırasıyla %25 tam buğday ve %75 karabuğday unu ilavesi ile üretilen örneklerin aldığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Tam buğday, karabuğday, tarhana, çölyak, kalite

\* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ oktay.tomar@kocaeli.edu.tr

☎ (+90) 262 351 4053

☎ (+90) 262 351 4038

Oktaý Tomar; ORCID no: 0000-0001-5761-7157

Abdullah Çağlar; ORCID no: 0000-0002-9716-8795

Gökhan Akarca; ORCID no: 0000-0002-5055-2722

## INTRODUCTION

Tarhana, named differently in various countries, such as atolle in Scotland, talkuna in Finland, thanu in Hungary, kishk and kushuk in Syria, Palestine and Egypt and thrahana in Greece (Aktas et al., 2015), is a food prepared by mixing white wheat flour, yogurt, yeast, vegetables (tomatoes, onions, green peppers and red peppers), salt and spices (mint, oregano, dill, tarhana herb, etc.) and fermenting for 1-7 days (Caglar et al., 2013). Tarhana is a product with an old history produced and used by the Turks in Central Asia according to some sources and introduced to other parts of the world through historical migrations (Alcay et al., 2015).

Yoghurt and flour in tarhana are considered as high-quality protein sources since they complement each other in terms of essential amino acids. Both lactic acid and yeast fermentation occur simultaneously during tarhana production (Gocmen et al., 2004; Celik et al. 2005). Tarhana is a rich source of iron, calcium and zinc and has great nutritional importance (Coskun, 2003). Also, tarhana is suitable for the addition of additives in terms of insufficient nutrients in its composition and various grains and grain derivatives are used for enrichment in tarhana production (Koca et al., 2002; Erkan et al., 2006; Bilgicli and Ibanoglu, 2007; Işık and Yapar, 2017).

Although Tarhana is consumed by healthy individuals without problems, it cannot be consumed by people with metabolic disorders such as celiac. Celiac is a disease that occurs as a result of the abnormal response given by the body's immune system to gluten in cereals such as wheat, barley and rye (Kitan, 2017).

Buckwheat is an annual plant belonging to the *Polygonaceae* family and although it is not a grain, the seeds are usually classified among the cereal grains (Acar et al., 2011; Peng et al., 2012). Buckwheat, which is a plant different from over grained crops such as wheat, rice and barley, is included in the pseudo-cereal group (which is similar to grain) (Wijngaard and Arendt, 2006). The main structural difference that separates

buckwheat from cereals is that it is not a monocotyledonous but a dicotyledonous plant (Dizlek et al., 2009) and it can adapt to grow at high altitudes in a short time (Kan, 2011).

Buckwheat is not cultivated in Turkey but many countries including China, Russia, Ukraine, Kazakhstan, Poland, Brazil, USA, Canada and France. It has economic value, its consumption is increasing every day and it has a versatile use area (Acar et al., 2011; Kan, 2011).

Buckwheat is a very important source for the completion of the lysine amino acid deficiency in wheat flour with its balanced amino acid composition (Wijngaard and Arendt, 2006). Unlike wheat, buckwheat does not contain gluten and is used with other gluten-free cereal flours or starches in the development of new dietary products for celiac patients (Atalay, 2009).

This study aimed to investigate the physical, chemical and sensory properties of a new tarhana product produced by adding buckwheat flour, which has a very rich nutritional value and health benefits, to conventional tarhana in different proportions.

## MATERIALS AND METHODS

### Tarhana production

Tarhana samples used in the study were produced according to the formula described by Erbas et al. (2004), with modifications (Table 1).

Table 1. Raw materials used in tarhana production and their quantities (g).

Raw Material	Amount (g)
Flour	100
Yogurt	40
Tomato paste	10
Onion	5
Ground red pepper	2
Salt	1
Yeast ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	2.5

A certain amount of onion shells are peeled and chopped in a blender (Waring 8011, USA) and flour (whole wheat flour and/or buckwheat), yogurt, salt, ground red pepper and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*, Pakmaya, Turkey) were added according to the formula and the ingredients were mixed. The mixture was kneaded manually approximately for 10 minutes until the mixture got a homogeneous appearance and then

placed in a closed container. Then the mixture was allowed to fermentation process at 30 °C for 5 days. At the end of the fermentation period, it was divided into very small pieces with 3-4 cm thickness (wet tarhana) and dried at 22 °C for 7 days dry (dried tarhana). At the end of this period, the pieces were reduced to homogeneous sizes using a 1 mm sieve (Figure 1).



Figure 1. Tarhana production stages

The amount of whole wheat and buckwheat flours used in the production of samples and the codes of the samples are shown in Table 2.

Table 2. The amounts of whole and buckwheat flour added to the tarhana samples (g).

Sample	WWF (g)	BWF (g)
Control	100	-
TN1	-	100
TN2	50	50
TN3	25	75
TN4	75	25

WWF: Whole wheat flour, BWF: Buckwheat flour

### Physical analyses

#### Color analysis

The color analyses of flours and tarhana samples used in production were carried out using a colorimeter (Konika Minolta Chroma Meter CR-400) and  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values were measured (Akarca et al., 2015).

#### Viscosity

20 g of tarhana sample was taken, added with 200 ml of distilled water (20 °C) and cooked for 5 min. Two-fold of samples were taken from the wet tarhana samples. Viscosity values of tarhana samples (souped) were determined using a Brookfield viscometer (Mod-RVDV ++, Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton Mass., USA) with the spindle no: 4 at 25, 45 and 65 °C and at 5, 20, 30, 60 and 100 rpm rotational speeds (Hayta et al., 2006).



#### **pH value**

The pH values of tarhana samples were determined according to Ohaus pH meter manual (ST 5000, USA) and AOAC 981.12 (AOAC, 2016).

#### **Chemical analyses**

##### **Titrateable acidity**

The titration acidity of Tarhana samples was determined in % lactic acid according to the method specified by TS 2282 (Anonymous, 2004) and Yorukoglu and Dayisoğlu (2016) (Yorukoglu and Dayisoğlu, 2016).

##### **Determination of protein value**

The protein values of flours and tarhana samples used in production were determined according to TS 1620 (Nitrogen was transformed into protein by the 6.25 factor, according to TS 2282) Protein value of tarhana samples was calculated on dry matter % (DM) (Anonymous, 2002; Anonymous, 2004).

##### **Determination of dry matter value**

The moisture content of tarhana samples and whole and buckwheat flours were determined according to TS 2282 (Anonymous, 2004).

##### **Determination of ash value**

Ash contents of samples with two different flour were determined according to the TS 1128 ISO 763 (Anonymous, 2000).

##### **Determination of total phenolics**

Total phenolic contents of flours and tarhana samples in mg GAE/g were determined according to Singleton and Rossi (1965) and Chu and Chen (2006), with modifications. Accordingly, 3 mL purified water and 0.25 mL Folin-Ciocalteu reagent was added to 0.1 mL samples extracted with methyl alcohol and diluted in appropriate ratios. Then 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and 0.9 mL pure water added and the samples were kept in a dark environment for half an hour. At the end of the period, the samples were read by spectrophotometer (Hitachi U-2000) at 760 nm wavelength and the total phenolic contents were calculated using the standard calibration curve drawn with pure gallic acid.

##### **DPPH free radical scavenging activity (mg Teq/g)**

DPPH free radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) scavenging activity of flours and tarhana samples were performed according to Tural and Koca (2008).

##### **Sensory evaluation**

In the sensory evaluation of tarhana samples, the scoring system scale was adopted according to Akarca et al. (2016), with modifications. To determine the sensory characteristics, each tarhana sample was prepared as 100 g tarhana +1000 mL water +40 mL oil +10 g salt and cooked for 5 minutes with continuous stirring over medium heat. Wet tarhana samples were prepared with samples in double volume. Twenty panelists participated in sensory analysis and tarhana soup samples were presented to the panelists in numbered bowls of the same color and shape. Tarhana samples were scored from 1 to 9 for taste and aroma, color, odor, consistency and general evaluation. The scale adopted for sensory analyses were 1-3 (unacceptable), 4-5 (acceptable), 6-7 (good), 8-9 (very good) (Anonymous, 2012; Celik et al., 2010; Onogur and Elmaci, 2012).

##### **Statistical evaluation**

Statistical analysis of the results was performed using SPSS V 23.0.0 statistical package software (SPSS Inc., USA). The data obtained from the study were tested with one-way and two-way analysis of variance methods to test the significant differences between the samples, and the level of significance was set as  $P < 0.05$ . Also, when a difference was observed between the groups, Duncan test was applied to determine the different groups.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The physical and chemical analysis results of the flours used in the production of tarhana samples (whole wheat and buckwheat) are shown in Table 3. It was determined that protein, ash, antioxidant and phenolic contents of buckwheat flour were higher than those of the whole wheat flour while  $L^*$  and  $a^*$  values were lower whereas  $b^*$  values were higher. Demir (2018) reported the  $L^*$ ,  $a^*$  and

*b*\* values of raw materials as 81.30, 2.01 and 13.88, respectively, while ash, moisture and protein contents have been reported as 1.81%, 12.04% and 13.79%, respectively. Kitan (2017) has reported the total phenolic contents as 17.92 and 10.64 mg/kg and the antioxidant values as 4.12

and 1.9 mmol/g. Although the differences between the studies and the findings of our study were not very substantial, it was thought that the type and composition of the raw materials used and process methods caused these differences.

Table 3. The results of chemical and physical analyses of flour used in tarhana production.

Analysis	WWF (g)	BWF (g)
Moisture (%)	12.06±0.56	12.15±0.14
Protein (%)	11.92±0.27	14.94±0.28
Ash (%)	1.202±0.01	1.855±0.01
Total Antioxidant Value (mg Teq/g)	15.91±0.13	131.36±6.46
Total Phenolics (mg GAE/g)	5.66±1.49	21.64±1.93
<i>L</i> *	89.2±0.35	88.19±0.51
<i>a</i> *	6.04±0.04	4.70±0.14
<i>b</i> *	4.25±0.17	4.87±0.29

WWF: Whole wheat flour, BWF: Buckwheat flour, Protein value of flour samples was calculated on dry matter % (DM)

The lowest *L*\* (63.14), *a*\* (12.93) and *b*\* values (14.89) were found in dry tarhana samples containing 75% whole wheat +25% buckwheat (TN1) whereas the highest *L*\* (70.53), *a*\* (11.21) and *b*\* (21.03) values were determined in wet tarhana (Control) samples containing 100%

buckwheat (*P* <0.05; Table 4). According to the analysis of variance, the effects of tarhana type, flour ratio and tarhana type-flour ratio interactions were found to be significant at *P* <0.01 (Table 5).

Table 4. Color, viscosity and pH values of wet and dried tarhana samples.

Sample	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	Viscosity	pH	
Wet	Control	66.23±1.03 <sup>d</sup>	15.79±0.40 <sup>a</sup>	24.09±0.59 <sup>a</sup>	480.00±28.28 <sup>b</sup>	4.84±0.05 <sup>b</sup>
	TN1	68.74±0.04 <sup>c</sup>	14.60±0.16 <sup>b</sup>	24.51±0.75 <sup>a</sup>	275.00±35.36 <sup>c</sup>	4.93±0.04 <sup>a</sup>
	TN2	68.96±0.17 <sup>b</sup>	13.96±1.08 <sup>c</sup>	21.98±3.80 <sup>bc</sup>	520.00±28.28 <sup>a</sup>	4.78±0.04 <sup>c</sup>
	TN3	70.36±0.28 <sup>a</sup>	13.82±0.88 <sup>c</sup>	23.16±3.37 <sup>b</sup>	437.50±17.68 <sup>c</sup>	4.43±0.04 <sup>d</sup>
	TN4	70.53±0.65 <sup>a</sup>	11.21±0.04 <sup>d</sup>	21.03±0.82 <sup>c</sup>	365.00±49.50 <sup>d</sup>	4.88±0.04 <sup>b</sup>
Dried	Control	67.80±1.55 <sup>a</sup>	12.03±0.21 <sup>d</sup>	17.81±0.73 <sup>a</sup>	935.00±21.21 <sup>a</sup>	4.87±0.02 <sup>b</sup>
	TN1	63.14±0.22 <sup>c</sup>	12.93±0.17 <sup>c</sup>	14.89±0.01 <sup>d</sup>	565.00±21.21 <sup>c</sup>	4.90±0.01 <sup>a</sup>
	TN2	63.43±0.54 <sup>bc</sup>	14.11±0.04 <sup>a</sup>	16.10±0.37 <sup>b</sup>	925.00±35.36 <sup>b</sup>	4.83±0.04 <sup>c</sup>
	TN3	64.60±0.25 <sup>b</sup>	13.43±0.16 <sup>b</sup>	15.20±0.64 <sup>c</sup>	697.50±38.89 <sup>d</sup>	4.53±0.04 <sup>d</sup>
	TN4	64.77±0.75 <sup>b</sup>	13.10±0.03 <sup>bc</sup>	17.44±1.39 <sup>a</sup>	725.00±35.26 <sup>c</sup>	4.87±0.05 <sup>b</sup>

<sup>a-d</sup> (L) Values with different letters in the same column differ significantly for each analysis (\**P* <0.05).

Table 5. The results of variance analyses for color, viscosity and pH values of tarhana samples.

Sample	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Viscosity	pH
Tarhana	179.303**	12.633**	73.270**	595.325**	0,527
Flour	4.693*	10.453**	0.807	59.632**	188.798**
Tarhana x Flour	21.090**	19.832**	1.701	6.121**	2.372

\*: statistically significant ( $P < 0.05$ ), \*\*: statistically very significant ( $P < 0.01$ ), \*\*\*: statistically very highly significant ( $P < 0.0001$ )

Parallel to our results, Kitan (2017) has reported that the  $L^*$  value of the samples ranged between 71 and 76 while  $a^*$  value ranged between 1.25 and 5.45 and  $b^*$  value between ranged between 22.6 and 24.18. Tarakci et al. (2013), in tarhana samples prepared by adding different ratios of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.), have reported the  $L^*$  value in the range of 48.52- 64.74,  $a^*$  value in the range of 7.73-9.99 and  $b^*$  value in the range of 18.62-29.9.

The lowest viscosity values of wet and dried tarhana samples were 275 cP and 565 cP, respectively. The highest viscosity value in tarhana samples produced with 100% buckwheat flour was 480 cP while the highest viscosity value in tarhana samples produced with 100% whole wheat flour was 935 cP (Table 4;  $P < 0.05$ ). It was determined that tarhana type, flour ratio and tarhana type-flour ratio interactions had significant effects on viscosity values ( $P < 0.001$ ) (Table 5).

Bilgicli (2009a) has reported that viscosity decreased with increasing buckwheat flour ratio in tarhana samples produced by adding buckwheat flour at different ratios. Tarakci et al. (2013) have reported that the viscosity values of tarhana samples produced by adding cherry laurel at different ratios varied between 1138 cP and 1827 cP at 25°C, 728 cP and 1157 cP 45°C at and 549 cP and 847 cP at 60 °C. The results obtained by the researchers were in line with the findings of our study.

In wet tarhana and dry tarhana samples, the lowest pH values were found to be 4.43 and 4.53, respectively. In the TN3 sample (containing 75%

whole wheat and 25% buckwheat flour) ( $P < 0.05$ ) whereas the highest pH values were 4.93 and 4.90, respectively, in the TN1 sample (containing 100% buckwheat flour) ( $P < 0.05$ ). It was determined that tarhana type, flour ratios and tarhana type-flour ratio interactions had a significant effect on pH values ( $P < 0.01$ ) (Table 5). The findings obtained in our study were parallel to those reported by Kitan (2017) and Unlu (2017).

The titratable acidity (%) results of tarhana samples are shown in Table 6 and the variance analysis results are shown in Table 7. In both wet and dried tarhana samples, the lowest titratable acidity values were found to be 1.21% and 1.20%, respectively, in the samples containing 100% buckwheat while the highest titratable acidity values were determined to 1.52% and 1.47%, respectively, obtained in the samples containing 25% whole wheat and 75% buckwheat ( $P < 0.05$ ). According to the analysis of variance, the effects of tarhana type and flour ratio were found to be significant at  $P < 0.01$ . The titratable acidity values of the samples were in line with those reported by Erkan et al. (2006) and Kitan (2017).

Tarhana type ( $P < 0.0001$ ) and flour type ( $P < 0.0001$ ) had an effects on the protein values (Table 7). The lowest protein values in wet and dried tarhana samples were found to be 16.88% and 14.74%, respectively, obtained in the tarhana samples containing 100% whole wheat flour whereas protein values in wet and dried tarhana samples were found to be 17.54% and 15.83%, respectively, obtained in the samples produced with 100% buckwheat flour ( $P < 0.05$ ).

## The use of whole wheat and buckwheat flour in tarhana

Table 6. Results of the chemical analyses of wet and dried tarhana samples.

Sample	Titratable Acidity (%)	Protein (%)	Dry Matter (%)	Ash (%)	DPPH (mg Teq/g)	Total Phenolics (mg GAE/g)	
Wet	Control	1.22±0.01 <sup>c</sup>	16.88±0.65 <sup>b</sup>	51.58±0.28 <sup>b</sup>	1.83±0.01 <sup>c</sup>	17.28±0.64 <sup>e</sup>	1.40±0.32 <sup>e</sup>
	TN1	1.21±0.01 <sup>c</sup>	17.54±0.14 <sup>ab</sup>	53.60±0.11 <sup>a</sup>	2.02±0.02 <sup>a</sup>	139.70±0.64 <sup>a</sup>	3.59±0.11 <sup>a</sup>
	TN2	1.38±0.04 <sup>b</sup>	17.74±0.13 <sup>a</sup>	51.36±0.03 <sup>b</sup>	1.91±0.02 <sup>b</sup>	80.91±5.78 <sup>c</sup>	2.80±0.66 <sup>c</sup>
	TN3	1.52±0.01 <sup>a</sup>	17.23±0.11 <sup>ab</sup>	53.29±0.03 <sup>a</sup>	1.97±0.01 <sup>ab</sup>	107.43±1.72 <sup>b</sup>	3.15±0.44 <sup>b</sup>
	TN4	1.28±0.04 <sup>bc</sup>	17.07±0.16 <sup>ab</sup>	51.54±0.55 <sup>b</sup>	1.87±0.01 <sup>bc</sup>	52.58±6.00 <sup>d</sup>	1.78±0.52 <sup>d</sup>
Dried	Control	1.22±0.01 <sup>c</sup>	14.74±0.21 <sup>b</sup>	90.27±0.06 <sup>b</sup>	3.15±0.07 <sup>d</sup>	26.52±2.57 <sup>e</sup>	5.14±0.40 <sup>e</sup>
	TN1	1.20±0.01 <sup>c</sup>	15.83±0.25 <sup>a</sup>	90.61±0.07 <sup>a</sup>	3.56±0.01 <sup>a</sup>	161.82±0.21 <sup>a</sup>	14.00±1.84 <sup>a</sup>
	TN2	1.31±0.01 <sup>b</sup>	15.46±0.18 <sup>a</sup>	90.35±0.20 <sup>b</sup>	3.40±0.02 <sup>b</sup>	103.03±3.21 <sup>c</sup>	7.79±0.67 <sup>c</sup>
	TN3	1.47±0.01 <sup>a</sup>	15.69±0.35 <sup>a</sup>	89.71±0.08 <sup>c</sup>	3.48±0.07 <sup>ab</sup>	125.46±0.64 <sup>b</sup>	8.93±0.17 <sup>b</sup>
	TN4	1.24±0.01 <sup>bc</sup>	15.36±0.14 <sup>a</sup>	89.43±0.10 <sup>c</sup>	3.31±0.07 <sup>c</sup>	69.70±11.79 <sup>d</sup>	6.73±0.61 <sup>d</sup>

<sup>a-e</sup> (1) Values with different letters in the same column differ significantly for each analysis (\**P* < 0.05).

Table 7. Variance analysis results of chemical analysis for the tarhana samples.

Sample	Titratable Acidity	Protein (%)	Dry Matter (%)	Ash (%)	DPPH	Total Phenolics
Tarhana	10.316**	56.572***	154812.483**	7084.102**	68.441**	330.491**
Flour	148.368**	29.757***	35.024**	26.295**	429.217**	32.822**
Tarhana x Flour	2.355	0.128	25.749**	11.164**	1.210	12.359**

\*: statistically significant (\**P* < 0.05), \*\*: statistically very significant (\**P* < 0.01), \*\*\*: statistically very highly significant (\**P* < 0.0001)

Demir (2014) have reported that the crude protein content of the gluten-free tarhana samples varied between 16.26 and 16.99%. Cevik (2016) has reported that the protein values of tarhana samples ranged between 12.86% and 13.33%. The values reported by the researchers supported the data obtained in the present study.

The lowest dry matter content in wet tarhana samples was determined to be 51.36% in samples containing 50% whole wheat flour and 50% buckwheat flour whereas the highest dry matter content in wet tarhana samples was determined to be 53.60% in samples produced from 100% buckwheat flour (*P* < 0.05). In dried tarhana samples, the lowest dry matter content was

89.43% in the sample containing 75% whole wheat and 25% buckwheat flour whereas the highest dry matter content was 90.61% in the sample containing 100% buckwheat (*P* < 0.05).

It was determined that tarhana type, flour ratios and tarhana type-flour ratio interactions had a significant effect on dry matter values (*P* < 0.01) (Table 7).

In tarhana standard (IS 2282), it is stated that the lowest dry matter amount of tarhana should be 90% (Anonymous, 2004). Tamer et al. (2007), in 21 tarhana samples, found the mean dry matter value as 88.32%. Unlu (2017) has reported the dry matter content of the samples between 87.8% and

90.8%. The results of researcher study conducted with the results of the present study are in line.

In both wet and dried tarhana samples, the lowest ash contents were found to be 1.83% and 3.15%, respectively, in the samples containing 100% whole wheat flour whereas the highest ash contents were found to be 2.02% and 3.56%, respectively, in the samples produced with 100% buckwheat flour (Table 6;  $P < 0.05$ ). According to the results of the analysis of variance, the effects of tarhana type, flour ratios and tarhana type-flour ratio interaction had a significant effect on ash content at  $P < 0.01$  (Table 7).

Demir (2014), in gluten-free quinoa tarhana trials, have reported that the amount of ash increased as the quinoa ratio increased. Cevik (2016) have reported that the ash contents of tarhana samples produced with different amounts of buckwheat, quinoa and lupine flour varied between 1.37% and 2.26%. These values were similar to the results obtained in the present study.

The lowest DPPH free radical scavenging activity values of wet and dried tarhana samples were 17.28 and 26.52 mg Teq/g, respectively, obtained in the samples containing 100% whole wheat flour whereas the highest DPPH free radical scavenging activity values of wet and dried tarhana samples were 139.70 and 161.82 mg Teq/g, respectively, obtained in the samples containing 100% buckwheat flour ( $P < 0.05$ ).

It was determined that tarhana type, flour ratio and tarhana type x flour ratio interactions had significant effects on DPPH values ( $P < 0.01$ ) (Table 5). Kitan (2017) has reported that the DPPH free radical scavenging activity was in the range of 6.16-10.41 mmol/g Tarakci et al. (2013) determined that this value was between 13.08 and 20.51% in tarhana samples prepared with cherry laurel pulp at different ratios. The values determined by Tarakci et al. (2013) were lower than those obtained in the present study. It was thought that this difference was due to the differences in formulations and raw materials used in productions.

Table 8. Sensory evaluation scores of the tarhana samples.

	Sample	Taste and Aroma	Color	Odor	Consistency	General Evaluation
Wet	Control	4.50±0.71 <sup>d</sup>	6.75±0.35 <sup>b</sup>	7.20±0.28 <sup>a</sup>	4.75±1.06 <sup>a</sup>	4.50±0.71 <sup>b</sup>
	TN1	4.85±0.92 <sup>a</sup>	6.00±1.41 <sup>c</sup>	6.00±1.41 <sup>c</sup>	4.10±0.71 <sup>c</sup>	4.28±1.06 <sup>c</sup>
	TN2	4.75±0.35 <sup>b</sup>	7.25±0.35 <sup>a</sup>	5.50±1.41 <sup>d</sup>	4.50±0.21 <sup>b</sup>	4.50±0.71 <sup>b</sup>
	TN3	4.60±0.57 <sup>c</sup>	6.50±0.71 <sup>c</sup>	6.50±0.71 <sup>b</sup>	4.50±0.71 <sup>b</sup>	5.00±0.01 <sup>a</sup>
	TN4	4.15±0.21 <sup>e</sup>	6.25±0.35 <sup>d</sup>	6.25±0.35 <sup>bc</sup>	4.20±0.71 <sup>bc</sup>	4.25±0.35 <sup>c</sup>
Dried	Control	6.75±0.35 <sup>d</sup>	6.75±0.35 <sup>d</sup>	7.25±0.35 <sup>c</sup>	7.25±0.35 <sup>ab</sup>	7.25±0.71 <sup>b</sup>
	TN1	7.01±0.14 <sup>c</sup>	7.40±0.42 <sup>b</sup>	7.65±0.49 <sup>a</sup>	6.75±0.35 <sup>c</sup>	7.04±0.35 <sup>c</sup>
	TN2	7.45±0.21 <sup>a</sup>	7.25±0.35 <sup>c</sup>	7.25±0.35 <sup>c</sup>	7.50±0.7 <sup>a</sup>	7.25±0.71 <sup>b</sup>
	TN3	7.15±0.21 <sup>b</sup>	7.75±0.35 <sup>a</sup>	7.50±0.71 <sup>b</sup>	7.05±0.35 <sup>bc</sup>	7.55±0.49 <sup>a</sup>
	TN4	6.40±0.57 <sup>e</sup>	6.25±0.35 <sup>e</sup>	6.75±0.35 <sup>d</sup>	7.15±0.21 <sup>b</sup>	6.75±0.35 <sup>d</sup>

<sup>a-e</sup> (d) Values with different letters in the same column differ significantly for each analysis ( $*P < 0.05$ ). 1-3 (unacceptable), 4-5 (acceptable), 6-7 (good), 8-9 (very good).

Table 9. Variance analysis results of sensory evaluation for the tarhana samples.

Sample	Taste and Aroma	Color	Odor	Consistency	General Evaluation
Tarhana	128.669**	4.896	6.799*	113.485**	122.575**
Flour	2.320	1.703	0.576	0.509	1.113
Tarhana x Flour	0.207	1.907	0.677	0.243	0.913

\*: statistically significant ( $P < 0.05$ ), \*\*: statistically very significant ( $P < 0.01$ ), \*\*\*: statistically very highly significant ( $P < 0.0001$ )

In wet and dried tarhana samples, the lowest total phenolic contents were found to be 1.40 and 5.14 mg GAE/g, respectively, in sample produced from 100% whole wheat flour whereas the highest total phenolic contents were found to be 3.59 and 14 mg GAE/g, respectively, in sample produced from 100% buckwheat flour (Table 6;  $P < 0.05$ ). According to the results of the analysis of variance, the effects of tarhana type, flour ratio and the tarhana type- flour ratio interactions were found to be significant at  $P < 0.01$  (Table 7).

Parallel to the findings of the present study, Demir (2018) reported that the total phenolic content was 714-1521 mg GAE/100 g. Degirmencioglu et al. (2016) determined that the total phenolic content in the tarhana samples produced with the addition of oatmeal flour was in the range of 9.98-44.49 mg/g. The researchers stated that the increase in the amount of oatmeal increased the total phenolic content. The values determined in the study were higher than the findings obtained in the present study. It was thought that the differences were associated with the differences in formulations and raw materials used in productions.

Sensory analysis results of tarhana samples are shown in Table 8 while variance analysis results for the sensory analysis are shown in Table 9. The lowest taste and aroma scores of wet and dried samples were 4.15 and 6.40, obtained from the samples containing 75% whole wheat +25% buckwheat flour. The highest taste and aroma score obtained from wet samples were 4.85 obtained from samples containing 100% buckwheat flour while the highest taste and aroma score obtained from dried samples were 7.45

obtained from samples containing 50% whole wheat +50% buckwheat flour ( $P < 0.05$ ). The lowest color score in wet samples was obtained in the sample containing 100% buckwheat flour while the lowest color score in dried samples was obtained in the sample containing 75% whole wheat flour and 25% buckwheat flour ( $P < 0.05$ ) (Table 8). The highest odor scores in dried samples were 7.00 obtained in the control sample while the highest odor scores in wet samples were 7.65 obtain in the sample containing from 100% buckwheat flour ( $P < 0.05$ ). The highest consistency scores in both tarhana types were obtained from control samples with 4.75 and 7.25, respectively, while the panelists gave the lowest consistency scores to the TN1 sample containing buckwheat flour with 4.10 and 6.75, respectively, for both samples ( $P < 0.05$ ). The lowest overall evaluation scores for wet and dried tarhana samples were 4.25 and 6.75, respectively, obtained in the samples containing 75% whole wheat and 25% buckwheat flour. However, the highest overall evaluation scores for wet and dried tarhana samples were 5.00 and 7.55, respectively obtained in the samples containing and 25% whole wheat and 75% buckwheat flour ( $P < 0.05$ ). According to the analysis of variance, the effect of tarhana type on taste and aroma, consistency, and overall evaluation was statistically significant at  $P < 0.01$  while the effect of tarhana type on odor scores was statistically significant at  $P < 0.05$  (Table 9).

Bilgicli (2009b) found that the addition of buckwheat up to 40% increased taste and aroma scores, but added sourness to the product. It has been reported that the highest acceptable scores were also obtained in the 40% buckwheat

formulation. The results reported by the researcher were parallel to those obtained in the present study.

## CONCLUSION

This study aimed to use buckwheat flour at certain ratios as a replacement to wheat flour used in traditional tarhana production and to produce tarhana which can be consumed by celiac patients. Buckwheat has rich ash, protein and antioxidant content compared to whole wheat flour. This nutritional superiority was evident in the tarhana samples produced in the present study. In addition, the increase in the buckwheat flour ratio increased the total phenolic contents of the samples. In terms of sensory characteristics (color, taste, smell, consistency), it was determined that wet tarhana samples did not receive high scores however dry tarhana samples received high sensory scores. As a result of the study, it was determined that buckwheat flour substitution to whole wheat flour yields in a consumable product by both healthy individuals and individuals with celiac disease.

## REFERENCES

- Acar, R.A., Gunes, N., Gummadov, V., Topal, I. (2011). Effects of different plant densities on the yields and some yield components of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Selcuk J Agric Food Sci*, 25: 47-51.
- Akarca, G., Caglar, A., Tomar, O. (2016). The effects spicing on quality of mozzarella cheese. *Mljekarstvo*, 66(2): 112-121, doi: 10.15567/mljekarstvo.2016.0203.
- Akarca, G., Tomar, O., Gok, V. (2015). Effect of different packaging methods on the quality of stuffed and sliced Mozzarella cheese during storage. *J. Food Process Pres*, 39: 2912-2918, doi: 10.1111/jfpp.12542.
- Aktas, K., Demirci, T., Akin, N. (2015). Chemical composition and microbiological properties of tarhana enriched with immature wheat grain. *J Food Process Pres*, 39: 3014-3021, doi: 10.1111/jfpp.12554.
- Alcay, A., Yalcin, S., Bostan, K., Dincel, E. (2015). Dried foods from Middle Asia to Anatolia. *J of Anadolu Bil Vocational School of Higher Education*, 37: 83-93.
- Anonymous (2000). Fruit and vegetable products determination of insoluble ash in hydrochloric acid (TS 1128 ISO 763:2003). Turkish Standards Institute. Ankara, Turkey.
- Anonymous (2002). Macaroni Standard (TS 1620). Turkish Standards Institute. Ankara, Turkey.
- Anonymous (2004). Tarhana Standard (TS 2282). Turkish Standards Institute. Ankara, Turkey.
- Anonymous (2012). Food technology. Making sensory controls. Turkish Ministry of Education. Ankara, Turkey.
- AOAC (2016). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 20<sup>th</sup> Edition, Washington DC, the USA.
- Atalay, M.H. (2009). Utilization possibilities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) milling products in bread making. M.Sc. Thesis, Selcuk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Konya, Turkey, 84 p.
- Bilgicli, N. (2009a). Effect of buckwheat flour on chemical and functional properties of tarhana. *LWT-Food Sci Technol*, 42(2): 514-518, doi: 10.1016/j.lwt.2008.09.006.
- Bilgicli, N. (2009b). Enrichment of gluten-free tarhana with buckwheat flour. *International J Food Sci Nutr*, 60(1): 1-8, doi: 10.1080/09637480802112546.
- Bilgicli, N., Ibanoglu, S. (2007). Effect of wheat germ and wheat bran on the fermentation activity, phytic acid content and colour of tarhana, a wheat flour-yoghurt mixture. *J Food Eng*, 78: 681-686, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.11.012.
- Caglar, A., Erol, N., Elgün, M.S. (2013). Effect of carob flour substitution on chemical and functional properties of tarhana. *J Food Process Preserv*, 37: 670-675, doi: 10.1111/j.1745-4549.2012.00708.x.
- Celik, I., Işık, F., Simsek, O., Gürsoy, O. (2005). The effects of the addition of baker's yeast on the functional properties and quality of tarhana, a



- traditional fermented food. *Czech J. Food Sci*, 23(5): 190-195.
- Celik, I., Işık, F., Yılmaz, Y. (2010). Chemical, rheological and sensory properties of tarhana with wheat bran as a functional constituent. *Academic Food Journal*, 8(3): 11-17.
- Cevik, A. (2016). Utilization of quinoa, buckwheat and lupin flour in tarhana for nutritional enrichment. M.Sc. Thesis, Necmettin Erbakan University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Konya, Turkey, 113 p.
- Chu, S.C., Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of Kombucha. *Food Chem*, 98: 502-507, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.080.
- Coskun, F. (2003). The importance of tarhana in nutrition. *Journal of Food and Feed Science Technology*, 3: 46-49.
- Degirmencioglu, N., Gurbuz, O., Herken, E.N., Yildiz, A.Y. (2016). The impact of drying techniques on the phenolic compound, total phenolic content and antioxidant capacity of oat flour tarhana. *Food Chem*, 194: 587-594, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.065.
- Demir, M.K. (2014). Use of quinoa flour in the production of gluten-free tarhana. *Food Sci Technol Res*, 20(5): 1087-1092, doi: 10.3136/fstr.20.1087.
- Demir, M.K. (2018). Use of whole wheat flour in traditional tarhana production. *Academic Food Journal*, 16(2): 148-155, doi: 10.24323/akademik-gida.449606.
- Dizlek, H., Ozer, M.S., Inanc, E., Gul, H. (2009). Composition of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and its possible uses in food industry. *The Journal of Food*, 34: 337-324.
- Erbas, M., Certel, M., Uslu, M.K. (2004). Effect of fermentation time and storage of the sugars content of wet and dry tarhana. *The Journal of Food*, 29(4): 299-305.
- Erkan, H., Celik, S., Bilgi, B., Koksel, H. (2006). A new approach for the utilization of barley in food products: Barley tarhana. *Food Chem*, 97: 12-18, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.018.
- Gocmen, D., Gurbuz, O., Rousef, R.L., Smoot, J.M., Dagdelen, A.F. (2004). Gas chromatographic-olfactometric characterization of aroma active compounds in sun-dried and vacuum dried tarhana. *Eur Food Res Technol*, 218: 573-578, doi: 10.1007/s00217-004-0913-6.
- Hayta, M., Alpaslan, M., Baysar, A. (2016). Effect of drying methods on functional properties of tarhana: A wheat flour-yogurt mixture. *J Food Eng Physical Prop*, 67(2): 740-744, doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb10669.x.
- Kan, A. (2011). Investigation of some characteristic of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) growing in Konya ecological conditions. *Selcuk J Agr Food Sci*, 25(4): 67-71.
- Kitan, S. (2017). Utilization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) in production of gluten-free tarhana. M.Sc. Thesis, Ondokuz Mayıs University. Graduate School of Natural and Applied Sciences, Samsun, Turkey, 100 p.
- Koca, A.F., Yazici, F., Anil, M. (2002). Utilization of soy yoghurt in tarhana production. *Eur Food Reseach Technol*, 215: 293-297.
- Isik, F., Yapar, A. (2017). Effect of tomato seed supplementation on chemical and nutritional properties of tarhana. *J Food Meas Charact*, 11: 667-674.
- Onogur, A.T., Elmaci, Y. (2012). Sensory Analysis of Food. Sidas Publishing, Izmir, Turkey, 148 p.
- Peng, L., Wang, S., Zou, L., Zhao, J., Zhao, G. (2012). HPLC fingerprint of buckwheat from different habitats and varieties. *Phcog Journal*, 31: 5-10, doi: 10.5530/pj.2012.31.2.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16: 144-158.
- Tamer, C.E., Kumral, A., Asan, M., Sahin. I. (2007). Chemical compositions of traditional tarhana having different formulations. *J Food Proces Pres*, 31: 116-126, doi: 10.1111/j.1745-4549.2007.00113.x.

- Tarakci, Z., Anil, M., Koca, I., Islam, A. (2013). Effects of adding cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) on some physicochemical and functional properties and sensorial quality of tarhana. *Qual Assur Saf Crop*, 5(4): 347-355, doi: 10.3920/QAS2012.0155.
- Tural, S., Koca, I. (2008). Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Science Horticulture*, 116: 362-366, doi: 10.1016/j.scienta.2008.02.003.
- Unlu, U.M. (2017). Effect of carrot dietary fiber and sugar beet fiber on the quality of tarhana. M.Sc. Thesis, Aksaray University. Graduate School of Natural and Applied Sciences, Aksaray, Turkey, 60 p.
- Wijngaard, H.H., Arendt, E.K. (2006). Buckwheat. *Cereal Chem*, 83(4): 391-401.
- Yorukoglu, T., Dayisoğlu, K.S. (2016). Some chemical and functional properties of Maras tarhana. *Atatürk Univ J of the Agricultural Faculty*, 47(1): 53-63.

## BAYBURT CİVİL PEYNİRİNİN BAZI KİMYASAL, BİYOKİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ İLE MİNERAL VE AĞIR METAL İÇERİKLERİ

Ayla Arslaner<sup>1\*</sup>, Mehmet Ali Salık<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bayburt, Türkiye

<sup>2</sup> Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Geliş / Received: 18.01.2020; Kabul / Accepted: 03.04.2020; Online baskı / Published online: 26.04.2020

Arslaner, A., Salık, M.A. (2020). Bayburt civil peynirinin bazı kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile mineral ve ağır metal içerikleri. *GIDA* (2020) 45(3) 433-447 doi: 10.15237/gida.GD19159

Arslaner, A., Salık, M.A. (2020). Some chemical, biochemical, microbiological properties, mineral and heavy metal contents of Bayburt civil cheese. *GIDA* (2020) 45(3) 433-447 doi: 10.15237/gida.GD19159

### ÖZ

Piyasadan temin edilen 20 adet Bayburt Civi peynir örneğinde; pH, asitlik, kurumadde, yağ, protein, kül, tuz oranları sırasıyla, 5.36-6.07; %0.21-1.25; %41.92-57.85; %0.5-26.0; 20.9-35.54; %3.48-16.0 ve %1.51-15.43 aralığında belirlenmiştir. Örneklerin toplam azot, suda çözünen azot, triklorasetik asitte çözünen azot değerleri, olgunlaşma dereceleri ve lipoliz oranları sırasıyla; %3.28-5.57; %0.19-3.33; %0.02-0.69; %4.38-71.2 ve 1.93-12.33 ADV (Asitlik Derecesi Değeri) aralığında bulunmuştur. Araştırma sonuçları, incelenen Bayburt Civi peynir örneklerinin zengin mineral bileşimi yanı sıra, ağır metal içeriği bakımından herhangi bir sağlık riski taşımadığını; ancak kimyasal kompozisyon, olgunlaşma ölçütleri ve mikrobiyal kalite açısından standart özelliklere sahip olmadığını göstermiştir. Coğrafi İşaret potansiyeli taşıyan bu peynirin orijinal özelliklerinin korunarak kalitesinin geliştirilmesi, kırsal kalkınma yanında halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Türkiye'nin peynirleri, Bayburt Civi peynir, peynir özellikleri, mineral, yöresel peynir

### SOME CHEMICAL, BIOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL PROPERTIES, MINERAL AND HEAVY METAL CONTENTS OF BAYBURT CIVIL CHEESE

#### ABSTRACT

The pH, acidity, dry matter, fat, protein, ash, and salt ratios of 20 Bayburt Civil cheese samples were obtained from market were determined as 5.36 to 6.07, 0.21 to 1.25%, 41.92 to 57.85%, 0.5 to 26.0%, 20.9 to 35.54%, 3.48 to 16.0% and, 1.51 to 15.43%, respectively. Total nitrogen, water soluble nitrogen, trichloroacetic acid soluble nitrogen, ripening index and lipolysis rates of the samples were detected between 3.28-5.57%, 0.19-3.33%, 0.02-0.69%, 4.38-71.2%, and 1.93-12.33 ADV (Acid Degree Value) respectively. The research results showed that Bayburt Civil cheese samples in market did not pose any health risks in terms of heavy metal content as well as rich mineral composition; however, they had no standard in terms of chemical composition, ripening properties and microbial quality. Improving product quality of Bayburt Civil cheese, which has the potential of Geographical Indication, is also important for public health as well as rural development.

**Keywords:** Cheeses of Turkey, Bayburt Civil cheese, cheese properties, mineral, traditional cheese

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ aylaarslaner@bayburt.edu.tr,

☎ (+90) 458 211 1153-1658

☎ (+90) 458 211 1173

Ayla Arslaner; ORCID no: 0000-0002-2777-9697

Mehmet Ali Salık; ORCID no: 0000-0003-4727-9830

## GİRİŞ

Ülkemizde coğrafi koşullara, kültürel alışkanlıklara, hayvan tür ve ırklarının farklılığına bağlı olarak alışlagelen yapım teknikleri ile çeşitli yöresel peynirler üretilmektedir. Peynirler; peynir mayası (rennet), asit ve ısı işlem-asit kombinasyonu ile pıhtılaştırılanlar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Fox vd., 2015; Cantürk ve Çakmakçı, 2019). Ayrıca Civil peynir; asit, rennet ve ısı işlemin birlikte kullanıldığı orijinal bir peynir çeşidi olup dördüncü bir grup olarak değerlendirilmektedir (Çakmakçı vd., 2014; Cantürk ve Çakmakçı, 2019).

Erzurum Civil peyniri 06.02.2009 tarihinde Coğrafi İşaret tescili almış (mahreç) ve üretim alanı Erzurum ili ve ilçelerinin oluşturduğu coğrafi bölge ile sınırlandırılmıştır (TÜRK PATENT, 2009). Civil peynir üretiminde sadece yağsız süt, rennet ve tuz kullanılmakta olup, starter kültür ve kalsiyum klorür ( $CaCl_2$ ) gibi herhangi bir katkı maddesi kullanılmamaktadır (TÜRK PATENT, 2009). Yoğun emek isteyen bir üretim tekniğine sahip olan Erzurum Civil peynirinin üretiminde, yağı alınmış süt iki parçaya bölünür. İlk kısım, sütün doğal mikroflorası tarafından asitliği arttırmak için gece boyunca yaklaşık 15-20°C'de dinlenmeye bırakılır. Daha sonra asitlenmiş süt yağsız sütün ikinci kısmına ilave edilerek asitlik 22°SH'a ayarlanır. Asitliği ayarlanmış süt 30°C'ye kadar ısıtılır. Sıvı şirden mayası ilave edilerek ısıtma işlemine devam edilir. Süt içerisinde 52-53°C'de pıhtı parçacıkları oluşmaya başlayınca karıştırma işlemi ile pıhtı parçacıkları bir araya getirilerek kepçenin etrafına sarılması sağlanır. Bu arada meydana gelen pıhtı, yoğurma ve çekme işlemleri ile tel haline getirilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda 58-60 °C'den yüksek sıcaklık uygulamasıyla peynirin lifli yapısının bozulduğu ve teleme ısıtma işleminin 55-60°C'de tamamlandığı ifade edilmektedir (Çakmakçı vd., 2014; Gurkan vd., 2018). Ayrıca günümüzde işletmelerde üretimde doğal yollarla asitliği artırılmış peyniraltı suyu süte karıştırılarak sütün asitliği ayarlanmaktadır (Cambaztepe vd., 2009; Çakmakçı vd., 2014). Lifli yapı kazandırılan peynirler salamura, kuru tuzlama veya vakum ambalajlama yapılmakta, sade ya da Lor peyniri ile birlikte basılarak olgunlaştırma sırasında spontan

olarak küflenen peynirler olmak üzere 5 ayrı çeşit peynir olarak pazarlanmaktadır. Son yıllarda kontrollü küflendirme amaçlı, küf izolasyon ve identifikasyonu sonucu elde edilen toksin oluşturmayan *Penicillium roqueforti* suşları ile küflü Civil peynir üretimi üzerine araştırmalar yapıldığı görülmüştür (Çakmakçı vd., 2012a, b; 2014; 2015; Gürkan vd. 2018). Türkiye'nin Doğu ve Kuzeydoğu kesiminde (Erzurum, Bayburt, Kars, Ardahan, Ağrı, Artvin ve Iğdır gibi) Çeçil peynir, tel peynir, iplik peynir, çekme peynir gibi isimlerle de anılan Civil peynir genellikle küçük aile işletmelerinde üretilmekte iken günümüzde daha çok mandıralar veya küçük süt işletmelerinde üretilmektedir (Arslaner ve Salık, 2017).

Civil peynirin hammaddesi (sütün kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi), üretim metodu (ısı işlem ve süre normları, sütte yağ standardizasyonu, Civil hamuruna uygulanan fiziksel işlemin şekli ve süresi, tuzlama teknikleri) ve muhafaza şartları bölgeler arasında farklılık arz etmekte, bu durum peynirin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal niteliklerini etkilemektedir. Bayburt Civil peyniri üretiminde kullanılan sütün yağ oranı bakımından standardize edilmemesi ve çoğunlukla yağlı süt kullanılması (Arslaner ve Salık, 2017) ve benzerlerine göre daha ince teller halinde işlenmesi ile farklılık göstermektedir

Bu araştırmada, Bayburt İlinde geleneksel olarak üretilen ve yaygın bir şekilde tüketilen Civil peynir örneklerinin bazı kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik özellikleri ile mineral kompozisyonu ve ağır metal içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece ülkemizin yöresel zenginliklerinden biri olan ve bölge kalkınması açısından önemli potansiyele sahip Civil peyniri ile ilgili bir durum tespiti yapılması ve bu konuda bundan sonra yapılacak araştırmalara katkı sağlaması hedeflenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada kullanılan 20 adet Civil peynir örneği Bayburt merkezinde faaliyet gösteren farklı satış noktalarından temin edilmiştir. Peynir örneklerinin satış noktalarında, kuru tuzlanmış, ince telli yapıda, nispeten sarımsı beyaz renkte

olduğu, yaklaşık 1-2 kg'lık poşetlerde vakumlama yapılmadan depolandığı gözlenmiştir. Peynir örnekleri 500 g'lık steril numune poşetlerine alınmış ve en kısa sürede soğuk zincirle laboratuvara getirilip 4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Örneklerde ilk olarak mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiş olup, bunu kimyasal ve diğer analizler takip etmiştir.

### Yöntem

Civil peynir örneklerinde bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve biyokimyasal analizler ile ağır metal ve mineral madde analizleri yapılmıştır. Örneklerde analizler 4 paralel olacak şekilde yürütülmüştür.

### Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler

Peynir örneklerinde; kurumadde ve kül (gravimetrik yöntemle), yağ (Van Gulik bütirometresi kullanılarak Gerber yöntemiyle), protein (mikro-Kjeldahl yöntemiyle belirlenen toplam azot oranlarının (TN) 6.38 ile çarpılmasıyla), tuz (AgNO<sub>3</sub> ile titrasyon yöntemiyle), pH ve titrasyon asitliği (% laktik asit olarak) analizleri Kurt vd. (2012) tarafından verilen metotlara göre yapılmıştır.

Peynir örneklerindeki toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı (TAMB) Plate Count Agar (PCA, Merck) (30-32°C'de 48 saat), koliform grubu bakteri sayımı Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck) (35-37°C'de 24 saat), maya ve küf sayımı Potato Dextrose Agar (PDA, Merck) %10'luk steril tartarik asit çözeltisi ile pH 3.5'e ayarlanarak (25°C'de 3-5 gün), *Escherichia coli* sayımı Chromocult Tryptone Bile X Glucuronide Agar (CTBXA, Merck) (44°C'de 24 saat) (Harrigan, 1998; Halkman, 2005); *Staphylococcus aureus* sayımı Baird Parker Agar (BPA, Merck) (37°C'de 24 saat) (Pichhardt, 2004) kullanılarak belirlenmiştir.

### Biyokimyasal Analizler

Peynir örneklerinde suda çözünen azot (WSN) ve %12'lik triklorasetik asitte çözünen azot (TCA-SN) oranları Kuchroo ve Fox (1982) tarafından verilen metoda göre belirlenmiştir. Bu amaçla, 10 g peynir örneği tartılmış ve üzerine 40°C'de 40 ml su ilave edilerek Ultra Turrax blender ile 2 dakika homojenize edilmiştir. Karışım 40°C'deki su

banyosunda 1 saat tutulduktan sonra 4°C'de 3000g'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdaki yağ tabakası bir spatülle uzaklaştırılarak sıvı kısım Whatman filtre kağıdından (Scliecher & Schuell 589/2) süzülmesi ve elde edilen filtrat saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan filtrattan 10 ml alınarak standart mikro-Kjeldahl metodu ile suda çözünen azot miktarı belirlenmiş (IDF, 1993) ve kalan filtrat TCA'da çözünen azot tayini için kullanılmıştır. Olgunlaşma derecesi (OD) ise suda çözünen azotun toplam azota oranlanması ile belirlenmiştir. TCA'da çözünen azot oranının belirlenmesinde, suda çözünen azot tayini için hazırlanan filtrattan 25 ml alınarak, eşit hacimde %24'lük (w/v) TCA ilave edilerek oda sıcaklığında 2 saat tutulmuştur. Daha sonra karışım Whatman filtre kağıdından (Scliecher & Schuell 589/2) süzülerek, filtrat saf su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Filtrattan 10 ml alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu (IDF, 1993) ile TCA'da çözünen azot miktarı belirlenmiştir.

Peynir örneklerinde lipoliz tayini ise IDF (1991)'ye göre yapılmıştır. Bu amaçla 10 g peynir örneği lipoliz şişesine tartılmış ve üzerine 10 ml BDI çözeltisi (30 g Triton X-100 ve 70 g sodyum tetra fosfat'ın 1 litre sudaki solüsyonu) ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Örnekler ara sıra çalkalanmak suretiyle 15-20 dakika süreyle sıcak su banyosunda tutulmuştur. Su banyosundan alınan şişeler 1 dakika süreyle Gerber santrifüjünde santrifüjlendikten sonra, yağ fazının berrak bir şekilde şişenin boğaz kısmında toplanmasını sağlamak amacıyla yeteri kadar sulu metil alkol (1:1, v/v) ilave edilmiş ve tekrar 1 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Lipoliz şişesinin boğaz kısmında toplanan yağ 1 ml'lik şırınga ile alınarak küçük bir erlene aktarılmış ve tartılmıştır. Tartılan yağın üzerine 5 ml yağ solventi (petrol eteri + n-propanol, 4:1, v/v) ve 2-3 damla %1'lik fenolftalein ilave edilerek berrak pembemsi renk oluşuncaya kadar alkolle hazırlanmış 0.02 N ayarlı KOH ile titre edilmiştir. Harcanan KOH miktarı formülde  $[(V_{\text{örnek (ml)}} - V_{\text{kör (ml)}}) \times 0.02 \times 100 \div \text{örnek miktarı (g)}]$  yerine yazılarak Asit Derecesi Değeri (ADV: meq KOH/ 100 g yağ) olarak lipoliz düzeyi tespit edilmiştir.

**Mineral ve ağır metal içeriğinin belirlenmesi**  
Peynir örneklerin mineral kompozisyonu küçük bir modifikasyonla Ataro vd. (2008) tarafından verilen metoda göre belirlenmiştir. İlk önce peynir örneklerinin kurumadde içerikleri kararlı bir tartıma ulaşınca kadar 70°C'de mikrodalga fırında kurutulmuştur. Kurutulan örneklerden yaklaşık 0.5 g örnek teflon kaplar içerisine tartılarak üzerine hacimce 8:2 oranında karıştırılan nitrik asit (%65)- perklorik asit (%70-72) çözeltisinden 10 ml ilave edilmiştir. Örnekler mikrodalga fırında (Milestone, Ethos Easy) 200°C'de yakıldıktan sonra ultra saf su ile yıkanarak hacimsel kaplara alınmış ve hacim 25 ml'ye tamamlanmıştır. Bu işlemin ardından 0.45 µm filtre kullanılarak örnekler filtre edilmiştir. Daha sonra örneklerin mineral madde içeriği İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (Agilent 7800 ICP-MS) kullanılarak ppb (µg/kg) olarak belirlenmiştir. Kurutulmuş peynir örneklerinde sonuçlar; makro mineraller için ppm (mg/kg), mikro mineraller ile ağır metaller için ppb (µg/kg) olarak verilmiştir.

#### İstatistiksel Analizler

Tüm veriler SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yazılımı kullanılarak istatistiksel açıdan analiz edilmiştir. Varyans analizi (ANOVA) sonucunda önemli çıkan faktörler Duncan çoklu karşılaştırma testi ile %99 güven düzeyinde değerlendirilmiştir.

#### BULGULAR ve TARTIŞMA

##### Bayburt Civil peyniri örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Peynir örneklerinin; pH, asitlik, kurumadde, yağ, protein, kül ve tuz değerleri üzerine örnek değişkeninin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). Peynir örneklerinde pH değerlerinin 5.36 ile 6.07 aralığında değişim gösterdiği ve ortalama 5.59 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Dikbaş vd. (2006), Çeçil peynir örneklerinde pH'nın 4.92-5.67; Cambaztepe vd. (2009) Erzurum Civil peynir örneklerinde 5.13-5.19; Yıldız vd. (2010), Civil peyniri örneklerinde 4.05-4.92; Çakmakçı vd. (2012a) ise, küflü Civil peyniri örneklerinde 5.12-7.93 aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Bayburt Civil peyniri örneklerinde belirlenen pH değerleri

Çakmakçı vd. (2012a) tarafından bildirilen değerlere yakın, diğer çalışmalara göre nispeten daha yüksektir. Civil peynir örneklerinde; asitlik değerlerinin %0.21-%1.25 arasında değiştiği, ortalama %0.65 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer olarak; Bakırcı ve Andıç (1999), Çeçil peyniri örneklerinde asitlik değerlerinin %0.12-1.25; Dikbaş vd. (2006), Çeçil peynir örneklerinde %0.32-1.05, Şengül vd. (2006), Civil peynir örneklerinde %0.63-2.16 aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise Civil peynir örneklerinde asitlik değerlerinin %0.33 ile %1.38 arasında olduğu bildirilmiştir (Cambaztepe vd., 2009). Araştırmada tespit ettiğimiz asitlik değerleri Yıldız vd. (2010) tarafından bildirilen değerlerden (%1.68-3.78) oldukça düşüktür.

Civil peynir örneklerinde kurumadde miktarlarının %41.92 ile %57.85 aralığında değiştiği ve ortalama %50.73 olduğu saptanmıştır. Yangılar ve Kızılkaya (2015), Çeçil peynir örneklerinde kurumadde oranlarının %48.71-51.19 aralığında değiştiğini ve ortalama %49.43 olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Çeçil peynir örneklerinde kurumadde oranlarının %34.8-59.3 aralığında değiştiği ve ortalama %49.59 olduğu tespit edilmiştir (Dikbaş vd., 2006). Çakmakçı vd. (2012a), bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer şekilde, küflü Civil peynir örneklerinde kuru madde miktarını %42.73-54.79 olarak tespit etmişlerdir.

Bayburt Civil peyniri örneklerinde yağ oranları %0.50-%26.0 arasında değişmiştir. İncelenen örnekler arasında 12, 13, 15, 17 ve 18 numaralı örnekler ile diğer on beş örnek arasında yağ oranı bakımından büyük oranda farklılıkların olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Dikbaş vd. (2006), yağ oranlarını %2.0-14.0 aralığında; Şengül vd. (2006), %1.0-7.0; Cambaztepe vd. (2009) %0.16-0.45; Yıldız vd. (2010) %0.50-5.25, Çakmakçı vd. (2012a) ise %1.00-6.20 aralığında bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen bulgular, Şengül vd. (2006), Cambaztepe vd. (2009), Yıldız vd. (2010) ve Çakmakçı vd. (2012a) tarafından rapor edilen ortalama değerlerden oldukça yüksektir. İncelenen örneklerde, protein miktarlarının

%20.90 ile %35.54 arasında değiştiği ve ortalama %27.71 olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Yıldız vd. (2010) Civil peynir örneklerinde protein değerlerini %28.58 ile %36.84 aralığında,

Çakmakçı vd. (2012a) %30.08-43.07; Yangılar ve Kızılkaya (2015) ise Çeçil peyniri örneklerinde protein oranlarını %26.35-27.99 arasında bulmuşlardır.

Çizelge 1 Bayburt Civil peynir örneklerine ait bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları  
Table 1 Some physical and chemical analysis results of Bayburt Civil cheese samples

Örnekler Samples	pH	Asitlik (%) Acidity (%)	KM (%) DM (%)	Yağ (%) Fat (%)	Protein (%)	Kül (%) Ash (%)	Tuz (%) Salt (%)
1	5.47±0.00 <sup>a</sup>	0.80±0.00 <sup>ce</sup>	47.74±1.18 <sup>f</sup>	0.50±0.00 <sup>o</sup>	30.29±0.32 <sup>cd</sup>	8.79±0.04 <sup>i</sup>	7.90±0.00 <sup>a</sup>
2	5.44±0.01 <sup>k</sup>	0.99±0.02 <sup>b</sup>	41.92±0.11 <sup>h</sup>	5.50±0.00 <sup>ğ</sup>	20.90±0.24 <sup>m</sup>	10.54±0.01 <sup>ğ</sup>	10.32±0.16 <sup>f</sup>
3	5.43±0.01 <sup>l</sup>	0.81±0.02 <sup>ce</sup>	46.95±0.09 <sup>f</sup>	6.50±0.00 <sup>f</sup>	26.46±0.03 <sup>g</sup>	9.82±0.02 <sup>h</sup>	8.77±0.17 <sup>g</sup>
4	5.70±0.01 <sup>e</sup>	0.52±0.00 <sup>g</sup>	52.11±0.21 <sup>cd</sup>	3.50±0.00 <sup>i</sup>	31.21±0.03 <sup>ce</sup>	11.03±0.00 <sup>g</sup>	9.01±0.17 <sup>g</sup>
5	5.43±0.01 <sup>l</sup>	0.78±0.02 <sup>c</sup>	45.19±0.03 <sup>g</sup>	1.50±0.00 <sup>n</sup>	26.03±0.79 <sup>ğ</sup>	12.95±0.01 <sup>c</sup>	12.28±0.17 <sup>c</sup>
6	5.44±0.00 <sup>k</sup>	0.70±0.02 <sup>de</sup>	54.52±0.33 <sup>c</sup>	4.50±0.00 <sup>i</sup>	29.88±0.20 <sup>de</sup>	16.00±0.07 <sup>a</sup>	15.43±0.00 <sup>a</sup>
7	5.45±0.01 <sup>i</sup>	0.67±0.02 <sup>e</sup>	50.18±0.61 <sup>e</sup>	3.00±0.00 <sup>l</sup>	31.34±0.33 <sup>c</sup>	11.45±0.08 <sup>f</sup>	10.76±0.00 <sup>c</sup>
8	5.41±0.00 <sup>m</sup>	0.70±0.02 <sup>de</sup>	54.86±0.61 <sup>bc</sup>	1.00±0.00 <sup>o</sup>	32.00±0.27 <sup>bc</sup>	15.40±0.15 <sup>b</sup>	13.68±0.17 <sup>b</sup>
9	5.62±0.01 <sup>g</sup>	0.78±0.02 <sup>c</sup>	52.76±0.21 <sup>c</sup>	9.00±0.00 <sup>c</sup>	25.55±0.21 <sup>ğ</sup>	13.56±0.15 <sup>c</sup>	12.52±0.17 <sup>ce</sup>
10	5.77±0.00 <sup>c</sup>	0.42±0.00 <sup>h</sup>	51.91±0.28 <sup>cd</sup>	3.50±0.00 <sup>i</sup>	31.49±0.49 <sup>bc</sup>	11.89±0.02 <sup>c</sup>	10.76±0.00 <sup>c</sup>
11	5.71±0.00 <sup>d</sup>	0.47±0.02 <sup>g</sup>	45.02±0.03 <sup>g</sup>	2.00±0.00 <sup>m</sup>	28.26±0.97 <sup>f</sup>	9.73±0.00 <sup>h</sup>	8.41±0.00 <sup>h</sup>
12	5.67±0.00 <sup>f</sup>	0.56±0.00 <sup>f</sup>	54.53±0.02 <sup>c</sup>	26.00±0.00 <sup>a</sup>	21.83±0.30 <sup>m</sup>	3.48±0.03 <sup>n</sup>	1.51±0.16 <sup>k</sup>
13	5.83±0.00 <sup>c</sup>	0.42±0.00 <sup>h</sup>	55.11±0.25 <sup>bc</sup>	24.00±0.00 <sup>c</sup>	23.04±0.07 <sup>l</sup>	3.76±0.03 <sup>m</sup>	1.98±0.16 <sup>i</sup>
14	5.36±0.00 <sup>o</sup>	1.25±0.00 <sup>a</sup>	46.96±0.06 <sup>f</sup>	0.50±0.00 <sup>o</sup>	32.46±0.38 <sup>b</sup>	9.09±0.02 <sup>i</sup>	7.93±0.16 <sup>i</sup>
15	5.68±0.01 <sup>f</sup>	0.43±0.02 <sup>h</sup>	54.48±0.20 <sup>c</sup>	22.00±0.00 <sup>d</sup>	24.49±0.04 <sup>ik</sup>	3.55±0.00 <sup>n</sup>	1.52±0.16 <sup>k</sup>
16	5.62±0.00 <sup>g</sup>	0.84±0.00 <sup>c</sup>	51.62±0.53 <sup>d</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>	29.17±0.07 <sup>ef</sup>	12.97±0.21 <sup>c</sup>	12.64±0.00 <sup>c</sup>
17	6.07±0.00 <sup>a</sup>	0.21±0.00 <sup>i</sup>	55.49±0.25 <sup>b</sup>	25.00±0.00 <sup>b</sup>	23.98±0.79 <sup>kl</sup>	4.16±0.04 <sup>l</sup>	2.22±0.17 <sup>i</sup>
18	5.84±0.00 <sup>b</sup>	0.31±0.00 <sup>i</sup>	57.85±0.62 <sup>a</sup>	24.50±0.00 <sup>c</sup>	24.82±0.16 <sup>ik</sup>	4.65±0.00 <sup>k</sup>	2.11±0.00 <sup>i</sup>
19	5.56±0.00 <sup>ğ</sup>	0.56±0.00 <sup>f</sup>	43.56±0.30 <sup>ğ</sup>	1.50±0.00 <sup>n</sup>	25.35±0.90 <sup>i</sup>	12.09±0.02 <sup>d</sup>	11.39±0.00 <sup>d</sup>
20	5.37±0.00 <sup>n</sup>	0.72±0.02 <sup>d</sup>	51.91±0.09 <sup>cd</sup>	3.25±0.35 <sup>k</sup>	35.54±0.53 <sup>a</sup>	12.48±0.01 <sup>cd</sup>	11.09±0.17 <sup>cd</sup>
<i>En düşük/Min</i>	5.36±0.00	0.21±0.00	41.92±0.11	0.50±0.00	20.90±0.24	3.48±0.03	1.51±0.16
<i>En yüksek/Max</i>	6.07±0.00	1.25±0.00	57.85±0.62	26.00±0.00	35.54±0.53	16.00±0.07	15.43±0.00
<i>Ortalama./Mean</i>	5.59±0.19	0.65±0.24	50.73±4.54	8.66±9.53	27.71±4.01	9.87±3.98	8.61±4.43

KM: Kurumadde, Min.:Minimum, Mak.:Maksimum, Ort.:Ortalama.

DM: Dry matter, Min.:Minimum, Max.:Maximum, Ort.:Mean.

Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen ortalama değerler birbirlerinden önemli derecede farklıdır ( $P < 0.01$ ).

Mean values indicated by different exponential letters on the same column are significantly different from each other ( $P < 0.01$ ).

Bayburt Civil peynir örneklerinde en düşük kül miktarı %3.48, en yüksek kül miktarı ise %16.0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). İncelen örnekler arasında yağ oranında olduğu gibi kül oranları bakımından da büyük varyasyonlar vardır. Bu durum peynir örneklerinin içerdiği tuz miktarlarındaki farklılıktan kaynaklanmıştır. Bayburt Civil peynir örneklerinde tuz oranları %1.51 ile %15.43 aralığında değişim göstermiş olup ortalama %8.61 olarak tespit edilmiştir. Peynirde dayanıklılığı artırmak, asitliği ve olgunlaşmayı yönlendirmek, tat vermek ve peynir

dokusunu düzeltmek amacıyla farklı yöntemlerle (salamura ve kuru tuzlama gibi) yapılabilen tuzlama işleminin, peynirin kurumadde ve kül miktarlarını büyük ölçüde etkilediği belirtilmiştir (Guinee ve Fox, 2017). Dikbaş vd. (2006), Çeçil peynir örneklerinde; kül oranlarının %9.0-18.5 aralığında değiştiğini ve ortalama %12.66 olduğunu; tuz miktarlarının ise %5.49 ile %15.09 aralığında değiştiğini ve ortalama %11.7 olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise Çeçil peynir örneklerinde tuz ve kül oranları



sırasıyla %6.35-14.01 ve %6.41-15.45 aralıklarında tespit edilmiştir (Bakırcı ve Andiç, 1999).

### **Civil peynir örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri**

Örneklerde TAMB sayıları 5.94 log kob/g ile 8.83 log kob/g aralığında değişim göstermiştir (Çizelge 2). TAMB sayısının en yüksek tespit edildiği 13., 15. ve 17. örnekler tuz oranı en düşük 5 örnek arasında yer almaktadır. Tespit edilen değerler literatür bulguları ile benzerdir. Cambaztepe vd. (2009) ve Yıldız vd. (2010) Erzurum Civil peynir örneklerinde TAMB sayısının sırasıyla; 5.46-8.56 log kob/g, 4.0-8.46 log kob/g aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise Çeçil peynir örneklerinde TAMB sayısı 7.59-8.88 log kob/g olarak belirlenmiştir (Yangılar ve Kızılkaya, 2015). Peynir örneklerinin maya ve küf sayıları 4.37 log kob/g ile 10.14 log kob/g aralığında bulunmuştur. Örneklerde TAMB ve maya-küf sayılarının yüksek olması; üretimin ve depolamanın kontrolsüz şartlar altında yapıldığını ve muhafaza koşullarının kontaminasyona neden olduğunu göstermektedir. Cambaztepe vd. (2009) Civil peynir örneklerinde maya ve küf sayısını 3.84-5.29 log kob/g aralığında belirlemiştir. Yangılar ve Kızılkaya (2015) ise Çeçil peynir örneklerinde maya ve küf sayısını 2.51-3.83 log kob/g arasında bulmuşlardır. Koliform grubu bakteri ise sadece 5 örnekte, 1.0-3.52 log kob/g aralığında tespit edilmiştir. Cambaztepe vd. (2009) Civil peynir örneklerinde koliform grubu bakteri sayısını 2.94-6.77 log kob/g aralığında, Yangılar ve Kızılkaya (2015) Çeçil peynir örneklerinde koliform grubu bakteri sayısını 3.23-3.86 log kob/g aralığında tespit etmiştir. Bu çalışmada, *E. coli* sadece 1 örnekte (1 log kob/g) tespit edilirken, diğer 19 örnekte tespit edilebilir sınırın altında kalmıştır. Örneklerin hiçbirinde *S. aureus* tespit edilmemiştir (<1 log kob/g). Bu durum muhtemelen peynir örneklerinde tuz içeriğinin oldukça yüksek olmasından kaynaklı olabilir. Tuz, peynir mikrobiyotasının düzenlenmesi ve kontrolünde önemli bir role sahip olup peynirde patojenlerin gelişimini engellemektedir (Guinee ve Fox, 2017). Yangılar ve Kızılkaya (2015) Çeçil peynir örneklerinde *S. aureus* sayısını 2.2-4.1 log kob/g aralığında bulmuşlardır.

### **Civil peynir örneklerinin biyokimyasal özellikleri**

Bayburt Civil peynir örneklerine ait bazı biyokimyasal analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir. Peynir örneklerinin; toplam azot, suda çözünen azot, TCA'da çözünen azot, olgunlaşma derecesi ve lipoliz özellikleri arasında önemli varyasyonlar tespit edilmiştir ( $P < 0.01$ ). Peynir örneklerinde toplam azot oranlarının %3.28-%5.57 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, Şengül vd (2006) Civil peynir örneklerinde toplam azot oranlarının %3.01-5.57 aralığında değiştiğini rapor etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise Civil peynir örneklerinde toplam azot oranları %3.10-4.47 aralığında saptanmıştır (Cambaztepe vd., 2009).

Proteolizin oluşumunda başlıca; rennet, sütün doğal proteinazları, starter kültür proteinazları ve starter olmayan mikroorganizmaların ürettiği proteinazlar oldukça önemli bir yere sahiptir (Fox, 1989; Upadhyay vd., 2004; Diezhandino vd., 2015). Civil peynir üretiminde süte ısı işlem uygulanmadığı ve starter kültür kullanılmadığı göz önünde bulundurulduğunda, proteoliz oluşumunun rennet, sütün doğal proteinazları ve mikrobiyal proteinazlar sayesinde gerçekleştiği söylenebilir.

Suda çözünen azot oranı, peynirde olgunlaşma derecesinin bir göstergesi olup, peyniraltı suyu proteinlerini, proteoz peptonları, kazeinin parçalanması sonucu oluşan küçük ve orta molekül ağırlıklı peptitlerin toplamı ifade edilmektedir (McSweeney ve Fox, 1997; Pavia vd., 2000). Peynir örneklerinde suda çözünen azot oranı %0.19-%3.33 aralığında saptanmıştır. Yüksek tuz konsantrasyonunun peynirde proteoliz üzerine negatif etkisi olduğu (Guinee ve Fox, 2017) göz önünde bulundurulduğunda, 6. örnekte muhafaza şartları ve kontaminasyon düzeyine bağlı olarak tuzlama aşamasından önce yüksek oranda proteoliz gerçekleşmiş olduğu söylenebilir. Bakırcı ve Andiç (1999), Çeçil peynir örneklerinde suda çözünen azot oranlarını %0.07-0.49 aralığında tespit etmişlerdir. Yıldız vd. (2010) ise Civil peynir örneklerinde suda çözünen azot oranlarının %0.34-0.71 aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde edilen bulgular, Bakırcı ve

Andiç (1999) ile Yıldız vd. (2010) tarafından bildirilen değerlerden yüksek; Cakmakci vd. (2012)'nin küflü Civil peyniri örneklerinde tespit

ettikleri suda çözünen azot değerlerinden (%5.17-27.20) oldukça düşüktür.

Çizelge 2 Bayburt Civil peynir örneklerine ait bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)  
Table 2 Some microbiological analysis results of Bayburt Civil cheese samples (log cfu/g)

Örnekler Samples	TAMB	Maya ve Küf Yeast and mold	Koliform Coliform	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	7.50±0.25 <sup>c</sup>	6.41±0.10 <sup>d</sup>	1.00±0.00 <sup>c</sup>	1.00±0.00	<1
2	5.94±0.17 <sup>f</sup>	5.85±0.13 <sup>e</sup>	<1	<1	<1
3	6.31±0.18 <sup>ef</sup>	7.04±0.13 <sup>ç</sup>	<1	<1	<1
4	6.39±0.24 <sup>e</sup>	4.85±0.24 <sup>g</sup>	<1	<1	<1
5	7.02±0.18 <sup>d</sup>	4.47±0.20 <sup>ğ</sup>	3.52±0.00 <sup>a</sup>	<1	<1
6	7.17±0.24 <sup>cd</sup>	4.92±0.07 <sup>g</sup>	<1	<1	<1
7	8.35±0.10 <sup>bc</sup>	4.97±0.27 <sup>g</sup>	<1	<1	<1
8	6.02±0.08 <sup>ef</sup>	5.00±0.17 <sup>g</sup>	<1	<1	<1
9	7.16±0.23 <sup>cd</sup>	5.13±0.18 <sup>fg</sup>	<1	<1	<1
10	8.05±0.07 <sup>c</sup>	7.09±0.13 <sup>ç</sup>	<1	<1	<1
11	6.29±0.07 <sup>ef</sup>	4.37±0.31 <sup>ğ</sup>	<1	<1	<1
12	6.05±0.07 <sup>ef</sup>	8.83±0.16 <sup>b</sup>	1.00±0.00 <sup>c</sup>	<1	<1
13	8.83±0.13 <sup>a</sup>	9.16±0.11 <sup>b</sup>	<1	<1	<1
14	6.94±0.08 <sup>d</sup>	10.14±0.20 <sup>a</sup>	1.00±0.00 <sup>c</sup>	<1	<1
15	8.73±0.07 <sup>a</sup>	9.09±0.14 <sup>b</sup>	<1	<1	<1
16	7.03±0.07 <sup>d</sup>	8.09±0.16 <sup>c</sup>	<1	<1	<1
17	8.66±0.27 <sup>ab</sup>	8.96±0.11 <sup>b</sup>	<1	<1	<1
18	6.35±0.20 <sup>e</sup>	6.66±0.17 <sup>d</sup>	<1	<1	<1
19	7.99±0.17 <sup>c</sup>	5.43±0.17 <sup>f</sup>	1.90±0.00 <sup>b</sup>	<1	<1
20	6.81±0.10 <sup>d</sup>	5.48±0.17 <sup>f</sup>	<1	<1	<1
<i>En düşük/Min</i>	5.94±0.17	4.37±0.31	<1	<1	<1
<i>En yüksek/Max</i>	8.83±0.13	10.14±0.20	3.52±0.00	1.00±0.00	<1

TAMB: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı.

TAMB: Total Number of Aerobic Mesophilic Bacteria, Min.:Minimum, Max.:Maximum.

Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen ortalama değerler birbirlerinden önemli derecede farklıdır ( $P < 0.01$ ). Mean values indicated by different exponential letters on the same column are significantly different from each other ( $P < 0.01$ ).

Bu araştırmada TCA-SN oranları %0.02 (4. örnek) ile %0.69 (16. örnek) aralığında değişim göstermiş olup, ortalama %0.10 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3). Benzer şekilde, Yıldız vd. (2010) Civil peynir örneklerinde TCA-SN oranlarını %0.17-0.35 aralığında tespit etmişlerdir. Araştırmada tespit ettiğimiz TCA-SN oranlarının, Cambaztepe vd. (2009) tarafından bildirilen (%1.3-3.5) ve Cakmakci vd. (2012) tarafından belirlenen (%4.90-14.93) değerlerden düşük olduğu görülmüştür. TCA-SN fraksiyonları, protein tabiatında olmayan azot olarak adlandırılmaktadır. Bu protein fraksiyonu suda çözünen azotun önemli bir kısmını oluşturmaktadır

olup, özellikle bakterilerin ve az da olsa rennetin proteolitik aktivitesi sonucu meydana gelmektedir (Christensen vd., 1991; McSweeney ve Fox, 1997). Bu bakımdan, Bayburt Civil peyniri örneklerinde, benzerlerine oranla düşük seviyede proteoliz gerçekleştiği söylenebilir.

Bayburt Civil peyniri örneklerinde, olgunlaşma derecesi %4.38-%71.20 aralığında değişmektedir. Suda çözünen azot üzerindeki etkili faktörler olgunlaşma derecesini belirlemektedir (Arslaner ve Bakırcı, 2016). İncelenen peynir örnekleri arasında olgunlaşma derecesi bakımından geniş bir varyasyon olması; peynir üretim tekniği,

üretimde kullanılan rennetin kaynağı, kalitesi ve miktarı, üretimde kullanılan sütün kimyasal kompozisyonu, peynir üretim şartları ve depolama koşulları gibi pek çok faktörden kaynaklanmış

olabilir. Bu durum, peynir örneklerinin genel kimyasal kompozisyonlarında da görülmekte olup protein, yağ ve tuz oranlarındaki farklılıklardan da anlaşılmaktadır (Çizelge 1).

Çizelge 3 Bayburt Cevil peynir örneklerine ait bazı biyokimyasal analiz sonuçları  
Table 3 Some biochemical analysis results of Bayburt Cevil cheese samples

Örnekler Samples	TN (%)	WSN (%)	TCA-SN (%)	OD (%) RD (%)	Lipoliz (ADV) Lipolysis (ADV)
1	4.75±0.05 <sup>cd</sup>	1.14±0.02 <sup>g</sup>	0.07±0.02 <sup>cdde</sup>	23.97±0.07 <sup>g</sup>	-
2	3.28±0.04 <sup>m</sup>	1.24±0.01 <sup>f</sup>	0.07±0.02 <sup>cdde</sup>	37.94±0.76 <sup>d</sup>	1.93±0.07 <sup>g</sup>
3	4.18±0.00 <sup>g</sup>	0.41±0.01 <sup>k</sup>	0.07±0.00 <sup>cdde</sup>	9.83±0.25 <sup>k</sup>	6.57±0.07 <sup>g</sup>
4	4.89±0.00 <sup>cg</sup>	0.21±0.01 <sup>o</sup>	0.02±0.00 <sup>g</sup>	4.38±0.14 <sup>o</sup>	2.52±0.00 <sup>g</sup>
5	4.08±0.12 <sup>gg</sup>	1.85±0.04 <sup>e</sup>	0.06±0.01 <sup>cddef</sup>	45.29±0.33 <sup>b</sup>	-
6	4.68±0.03 <sup>de</sup>	3.33±0.15 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>efg</sup>	71.20±0.16 <sup>a</sup>	9.73±0.51 <sup>c</sup>
7	4.91±0.05 <sup>c</sup>	0.59±0.00 <sup>i</sup>	0.08±0.00 <sup>cg</sup>	11.92±0.18 <sup>i</sup>	-
8	5.02±0.04 <sup>c</sup>	2.27±0.02 <sup>b</sup>	0.07±0.00 <sup>cdde</sup>	45.20±0.11 <sup>b</sup>	-
9	4.01±0.03 <sup>gg</sup>	1.60±0.00 <sup>d</sup>	0.08±0.00 <sup>cgd</sup>	39.90±0.35 <sup>e</sup>	3.47±0.09 <sup>f</sup>
10	4.94±0.08 <sup>c</sup>	1.83±0.01 <sup>c</sup>	0.07±0.00 <sup>cgd</sup>	37.00±0.37 <sup>e</sup>	-
11	4.43±0.15 <sup>f</sup>	0.70±0.00 <sup>r</sup>	0.09±0.00 <sup>c</sup>	15.91±0.46 <sup>i</sup>	-
12	3.42±0.05 <sup>m</sup>	0.28±0.00 <sup>m</sup>	0.04±0.00 <sup>fg</sup>	8.10±0.06 <sup>l</sup>	11.07±0.33 <sup>b</sup>
13	3.61±0.01 <sup>l</sup>	0.57±0.00 <sup>i</sup>	0.05±0.00 <sup>def</sup>	15.87±0.18 <sup>i</sup>	5.65±0.24 <sup>d</sup>
14	5.09±0.06 <sup>b</sup>	1.34±0.00 <sup>e</sup>	0.09±0.01 <sup>c</sup>	26.36±0.25 <sup>f</sup>	-
15	3.84±0.01 <sup>ik</sup>	0.24±0.00 <sup>n</sup>	0.06±0.00 <sup>cddef</sup>	6.37±0.11 <sup>m</sup>	4.86±0.01 <sup>e</sup>
16	4.57±0.01 <sup>ef</sup>	0.86±0.00 <sup>g</sup>	0.69±0.00 <sup>a</sup>	18.85±0.04 <sup>g</sup>	12.23±0.21 <sup>a</sup>
17	3.76±0.12 <sup>kl</sup>	0.38±0.00 <sup>l</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>	10.04±0.33 <sup>k</sup>	6.34±0.05 <sup>e</sup>
18	3.89±0.03 <sup>ik</sup>	0.19±0.00 <sup>o</sup>	0.08±0.00 <sup>cgd</sup>	4.90±0.06 <sup>no</sup>	2.39±0.05 <sup>g</sup>
19	3.97±0.14 <sup>g</sup>	1.76±0.01 <sup>e</sup>	0.08±0.00 <sup>cg</sup>	44.25±0.41 <sup>c</sup>	-
20	5.57±0.08 <sup>a</sup>	0.30±0.00 <sup>m</sup>	0.15±0.00 <sup>b</sup>	5.43±0.08 <sup>n</sup>	-
<i>En düşük/Min</i>	3.28±0.04	0.19±0.00	0.02±0.00	4.38±0.14	1.93±0.07
<i>En yüksek/Max</i>	5.57±0.08	3.33±0.15	0.69±0.00	71.20±0.16	12.23±0.21
<i>Ortalama/Mean</i>	4.34±0.62	1.05±0.83	0.10±0.04	24.13±18.29	6.07±3.58

TN: Toplam Azot, WSN: Suda Çözünen Azot, TCA-SN: Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot, OD: Olgunlaşma Derecesi.

TN: Total Nitrogen, WSN: Water Soluble Nitrogen, TCA-SN: Trichloroacetic Acid Soluble Nitrogen, RD: Ripening Index, Min.: Minimum, Max.: Maximum.

Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen ortalama değerler birbirlerinden önemli derecede farklıdır ( $P < 0.01$ ). Mean values indicated by different exponential letters on the same column are significantly different from each other ( $P < 0.01$ ).

Peynirde; nem oranı, tuz oranı, pH ve depolama sıcaklığı proteoliz üzerinde etkili faktörlerdir. Özellikle tuz konsantrasyonunun proteolizi güçlü şekilde etkilediği ve biyokimyasal olayları sınırlandırdığı bilinmektedir (Pavia vd., 2000; Guinee ve Fox, 2017). Araştırmada tespit ettiğimiz tuz değerleri (Çizelge 1) ile olgunlaşma dereceleri (Çizelge 3) karşılaştırıldığında, tuz oranı ve olgunlaşma derecesi arasında kesin bir negatif ilişki olduğu söylenememekle birlikte, tuz oranı

yüksek bazı örneklerde proteolizin de yüksek bulunuşu muhtemelen tuzlama öncesi üretim şartları ile mikrobiyal faaliyete bağlı gerçekleşen proteolizle alakalıdır. Şengül vd. (2006) Cevil peynir örneklerinde olgunlaşma derecesini %4.25-8.80; Cambaztepe vd. (2009) %2.34-8.43, Yıldız vd. (2010) %6.96-14.19 aralığında tespit etmişlerdir.

Lipoliz değerleri ADV olarak Çizelge 3'de verilmiştir. Buna göre, peynir örneklerinde lipoliz değeri 1.93-12.23 ADV aralığında değişim göstermiş olup, ortalama 6.07 ADV olarak bulunmuştur. Örneklerin 9 adedinde lipoliz tespit edilmemiştir. Bu durum, bu örneklerde yağ oranının ( $\leq 3.50$ ) oldukça düşük olması sonucunda analiz için yeterli miktarda yağ ekstrakte edilememesinden kaynaklanmıştır. Literatürde 1.5 veya daha yüksek ADV değerinin aşırı lipolizi gösterdiği bildirilmektedir (Park, 2001). İncelenen peynirlerde proteoliz nispeten zayıf olmasına rağmen, yukarıda verilen kritere göre, lipoliz tespit edilen 11 örnekte belirlenen ADV değerleri aşırı derecede lipolizin göstergesidir (Çizelge 3). Bu durum, peynir örneklerinin piyasada uzun süre, uygunsuz şartlarda kalmış olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca peynir örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin yetersiz ve maya ve küf sayısının oldukça yüksek olması da lipoliz oranını artırmış olabilir. Peynir örneklerinin lipoliz değerleri (Çizelge 3) ile maya-küf sayıları (Çizelge 2) karşılaştırıldığında, genellikle lipoliz oranı yüksek olan örneklerde maya ve küf sayısının yüksek olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, çiğ süttten, starter kültür kullanılmadan üretilen peynirdeki lipolizin başlıca sorumlusu olarak; lipaz, çiğ süt mikroflorası, starter olmayan laktik asit bakterileri belirtilmektedir (Collins vd., 2003). Bakırcı ve Andiç (1999), Çeçil peynir örneklerinde lipoliz değerlerinin 0.61-4.92 ADV aralığında değiştiğini ve ortalama 1.86 ADV olduğunu bildirmişlerdir.

#### **Bayburt Civil peyniri örneklerinin mineral kompozisyonu ve ağır metal içeriği**

Peynir örneklerine ait mineral ve ağır metal analiz sonuçları Çizelge 4'de verilmiştir. Peynir örneklerinin mineral kompozisyonu ve ağır metal içeriği üzerine örnek değişkeninin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). Süt ürünlerinde (tereyağı hariç) ve özellikle peynirde en önemli minerallerden biri kalsiyumdur (Walther vd., 2008; Zamberlin vd., 2012). Çizelge 4'de görüldüğü gibi Civil peynir örneklerinde Ca miktarları 772.89 mg/kg ile 2146.25 mg/kg aralığında tespit edilmiştir. Peynir örneklerinde en düşük K miktarı 8. örnekte

(755.38 mg/kg) belirlenirken, en yüksek K miktarı 14. örnekte (2056.0 mg/kg) saptanmıştır. Sütte en bol bulunan elementlerden biri de potasyum olup, peynirde konsantrasyonu oldukça yüksektir (Walther vd., 2008). Civil peynir örneklerinde P miktarları 6403.39 mg/kg ile 11397.51 mg/kg aralığında belirlenmiştir. İncelenen peynir örneklerinde makro minerallerden P ve Na miktarının diğer minerallere kıyasla oldukça yüksek olduğu anlaşılmıştır. Peynir örneklerinde Na ve Mg miktarları sırasıyla 14225.25-91688.18 mg/kg, 332.56-1919.05 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. Tespit edilen tuz miktarları (Çizelge 1) ile Na miktarları (Çizelge 4) karşılaştırıldığında, genellikle tuz oranı yüksek olan örneklerde Na miktarının yüksek olduğu görülmüştür. Mendil (2006), Çeçil peynir örneklerinde Ca, K, Na ve Mg miktarlarının sırasıyla; 3722 µg/g, 326 µg/g, 5405 µg/g ve 48 µg/g olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda, makro minerallerden Ca, K, P ve Mg için tavsiye edilen günlük alım miktarları sırasıyla; 800 mg/gün, 2000 mg/gün, 700 mg/gün ve 375 mg/gün olarak rapor edilmiştir (Anonymous, 2017).

Örneklerde mikro minerallerden Cu, Fe, Mn, Zn, Si, Rb, Sr, Se, Ba ve In tespit edilmiş olup, miktarları µg/kg kuru ağırlık cinsinden Çizelge 4'de verilmiştir. Demir (Fe) ve bakır (Cu) insan sağlığı için önemli olmakla birlikte yüksek konsantrasyonlarda alımı canlı hücrelerde zehirlenmeye neden olabilmektedir (Ayar vd., 2009). Peynir örneklerinde Cu ve Fe miktarları sırasıyla 0.00-891.60 µg/kg, 0.00-31113.0 µg/kg aralığında tespit edilmiştir. Cu için günlük güvenli ve yeterli alım oranı 1.5-3.0 mg, eşik değeri ise vücut ağırlığı başına 0.05- 0.5 mg/kg olarak bildirilmiştir Fe için önerilen günlük alım miktarı 10-15 mg'dır (Nabrzyski, 2007). Manganez (Mn), tüm canlı organizmalar için en önemli eser mineraller arasında olup, çeşitli enzim reaksiyonları, protein metabolizması ve kemik oluşumunda önemli bir role sahiptir (Zafar ve Fatima, 2018). Mn için günlük güvenli ve yeterli alım oranı 2.0-3.0 mg olarak belirlenmiştir (Nabrzyski, 2007). İncelenen peynir örneklerinde; en düşük Mn miktarı 34.15 µg/kg ile 3. örnekte, en yüksek Mn miktarı 1077.14 µg/kg ile 11. örnekte tespit edilmiştir. Birçok enzimin önemli

bileşenlerinden olan çinko (Zn) insan fizyolojisi üzerinde pek çok fonksiyona sahip esansiyel bir mikro mineraldir (Gharibzahedi ve Jafari, 2017). Peynir örneklerinin Zn açısından iyi bir kaynak olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4). Buna göre, örneklerde Zn miktarı 49949.43-94558.05 µg/kg aralığında değişim göstermiştir. Zn için tavsiye edilen günlük alım miktarı 12-15 mg/gün, eşik değeri ise vücut ağırlığı başına 0.3-1.0 mg/kg

olarak bildirilmiştir (Nabrzyski, 2007). Örneklerde Si, Rb, Sr, Se, Ba ve In miktarları ise sırasıyla; 0.00-132243.58 µg/kg, 0.00-821.73 µg/kg, 4810.50-36405.24 µg/kg, 0.00-723.57 µg/kg, 1226.05-4951.59 µg/kg ve 0.00-7040.92 µg/kg aralığında tespit edilmiştir. Mendil (2006) de Çeçil peynir örneklerinde Cu, Fe, Mn ve Zn miktarlarının sırasıyla; 0.22 µg/g, 9.3 µg/g, 0.97 µg/g ve 13.2 µg/g olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 4 Bayburt Civil peynir örneklerine ait mineral ve ağır metal analiz sonuçları  
Table 4 Mineral and heavy metal analysis results of Bayburt Civil cheese samples

Örnekler Samples	Makro mineraller (mg/kg kuru ağırlık) Macro minerals (mg/kg dry weight)				
	Ca	K	P	Na	Mg
1	1604.38±11.62 <sup>c</sup>	1978.70±51.08 <sup>ab</sup>	9477.00±14.45 <sup>e</sup>	53124.23±163.58 <sup>g</sup>	489.89±12.20 <sup>de</sup>
2	1023.25±2.59 <sup>g</sup>	1818.24±27.90 <sup>c</sup>	6791.31±12.21 <sup>a</sup>	88298.73±147.52 <sup>b</sup>	487.81±11.79 <sup>de</sup>
3	772.89±4.24 <sup>h</sup>	1891.07±31.96 <sup>bc</sup>	6403.39±13.04 <sup>i</sup>	70391.99±46.74 <sup>e</sup>	332.56±2.15 <sup>f</sup>
4	2146.25±11.21 <sup>a</sup>	1373.44±33.59 <sup>e</sup>	10625.68±54.43 <sup>b</sup>	68424.46±79.61 <sup>f</sup>	1919.05±22.53 <sup>a</sup>
5	1144.58±57.46 <sup>fg</sup>	1572.66±45.75 <sup>cd</sup>	8249.41±58.59 <sup>f</sup>	91688.18±46.01 <sup>a</sup>	502.66±2.38 <sup>d</sup>
6	1008.58±22.54 <sup>g</sup>	1094.67±12.54 <sup>f</sup>	6963.81±52.23 <sup>a</sup>	86495.97±69.62 <sup>c</sup>	438.23±17.48 <sup>fgg</sup>
7	1184.27±26.69 <sup>ef</sup>	1338.00±35.58 <sup>e</sup>	7986.98±64.66 <sup>gg</sup>	76588.52±54.45 <sup>d</sup>	1065.11±75.42 <sup>b</sup>
8	1369.85±38.57 <sup>d</sup>	755.38±9.05 <sup>g</sup>	8150.64±61.57 <sup>fg</sup>	86072.07±120.49 <sup>c</sup>	417.71±6.97 <sup>ggh</sup>
9	1693.60±50.57 <sup>e</sup>	955.36±15.15 <sup>g</sup>	9037.06±56.74 <sup>d</sup>	76807.38 ±57.06 <sup>d</sup>	591.41±4.88 <sup>e</sup>
10	1066.66±21.30 <sup>gg</sup>	1181.15±38.37 <sup>f</sup>	6885.33±59.62 <sup>a</sup>	76711.65±80.33 <sup>d</sup>	450.26±4.79 <sup>efg</sup>
11	1818.89±11.09 <sup>c</sup>	1997.11±72.87 <sup>a</sup>	10001.32±136.51 <sup>c</sup>	69626.93±86.07 <sup>e</sup>	422.03±9.43 <sup>ggh</sup>
12	1268.18±76.21 <sup>e</sup>	1598.57±50.40 <sup>cd</sup>	8157.14±65.83 <sup>fg</sup>	14225.25±127.39 <sup>i</sup>	335.00±3.42 <sup>f</sup>
13	1602.25±92.83 <sup>e</sup>	1577.25±93.64 <sup>cd</sup>	9362.41±79.28 <sup>e</sup>	15296.39±138.66 <sup>a</sup>	389.08±7.13 <sup>h</sup>
14	1079.56±95.04 <sup>gg</sup>	2056.00±52.36 <sup>a</sup>	8691.68±14.81 <sup>e</sup>	63559.19±338.07 <sup>g</sup>	458.46±2.59 <sup>defg</sup>
15	1643.28±31.11 <sup>e</sup>	1814.47±61.97 <sup>c</sup>	10597.16±139.26 <sup>b</sup>	15264.84±51.43 <sup>a</sup>	414.47±19.30 <sup>ggh</sup>
16	1261.49±66.84 <sup>e</sup>	1165.56±25.74 <sup>f</sup>	7695.04±79.51 <sup>h</sup>	68497.40±49.15 <sup>f</sup>	340.93±6.24 <sup>f</sup>
17	1612.90±13.76 <sup>e</sup>	1287.66±3.10 <sup>e</sup>	9892.14±127.42 <sup>c</sup>	14484.64±19.11 <sup>ii</sup>	394.84±9.83 <sup>gh</sup>
18	2001.65±15.02 <sup>b</sup>	1494.32±52.86 <sup>d</sup>	11397.51±196.79 <sup>a</sup>	17923.54±36.18 <sup>h</sup>	473.42±5.88 <sup>def</sup>
19	1219.11±2.69 <sup>ef</sup>	1313.17±69.82 <sup>e</sup>	7840.72±70.14 <sup>gh</sup>	78658.47±417.19 <sup>e</sup>	724.05±11.09 <sup>e</sup>
20	999.54±16.48 <sup>g</sup>	1648.66±48.01 <sup>e</sup>	7659.89±58.27 <sup>h</sup>	62727.82±188.64 <sup>g</sup>	390.21±6.39 <sup>h</sup>
En düşük/ Min	772.89±4.24	755.38±9.05	6403.39±13.04	14225.25±127.39	332.56±2.15
En yüksek/ Max	2146.25±11.21	2056.00±52.36	11397.51±196.79	91688.18±46.01	1919.05±22.53

Min.:Minimum, Max.:Maximum

Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen ortalama değerler önemli derecede birbirlerinden farklıdır ( $P < 0.01$ ).  
Mean values indicated by different exponential letters on the same column are significantly different from each other ( $P < 0.01$ ).

Çizelge 4 Bayburt Civil peynir örneklerine ait mineral ve ağır metal analiz sonuçları (devam)  
 Table 4 Mineral and heavy metal analysis results of Bayburt Civil cheese samples(continued)

Örnekler Samples	Mikro mineraller (µg/kg kuru ağırlık) Micro minerals (µg/kg dry weight)				
	Cu	Fe	Mn	Zn	Si
1	891.60±3.01 <sup>a</sup>	5656.67±62.82 <sup>g</sup>	351.49±11.31 <sup>f</sup>	92310.62±53.17 <sup>c</sup>	66436.33±46.40 <sup>c</sup>
2	222.82±8.06 <sup>h</sup>	3991.71±75.29 <sup>h</sup>	206.60±2.45 <sup>h</sup>	63722.90±128.88 <sup>k</sup>	79431.05±27.22 <sup>d</sup>
3	98.68±1.01 <sup>i</sup>	11694.42±116.21 <sup>c</sup>	34.15±0.42 <sup>n</sup>	66339.21±57.18 <sup>i</sup>	41160.64±21.35 <sup>i</sup>
4	97.19±2.58 <sup>j</sup>	11461.47±82.02 <sup>c</sup>	446.21±3.58 <sup>e</sup>	87672.58±130.9 <sup>c</sup>	64225.76±95.32 <sup>f</sup>
5	TE	5689.18±14.55 <sup>g</sup>	109.35±7.89 <sup>m</sup>	84561.61±177.53 <sup>e</sup>	95877.61±81.51 <sup>b</sup>
6	3.80±0.20 <sup>i</sup>	10925.33±39.80 <sup>d</sup>	152.43±9.49 <sup>ik</sup>	78192.91±52.56 <sup>g</sup>	63297.04±39.47 <sup>g</sup>
7	696.18±8.43 <sup>c</sup>	8890.72±43.84 <sup>g</sup>	484.29±15.72 <sup>d</sup>	94558.05±80.33 <sup>a</sup>	93730.43±63.48 <sup>c</sup>
8	351.21±10.13 <sup>f</sup>	10434.32±44.89 <sup>e</sup>	194.72±7.05 <sup>hi</sup>	67173.88±27.83 <sup>i</sup>	92898.18±27.86 <sup>c</sup>
9	354.74±11.37 <sup>f</sup>	31113.0±86.56 <sup>a</sup>	789.03±11.04 <sup>c</sup>	92784.59±92.81 <sup>b</sup>	132243.58±88.68 <sup>a</sup>
10	405.82±7.87 <sup>e</sup>	11260.31±54.35 <sup>c</sup>	249.21±15.24 <sup>g</sup>	53180.69±96.51 <sup>n</sup>	49588.74±82.46 <sup>g</sup>
11	264.61±9.89 <sup>g</sup>	TE	1077.14±38.41 <sup>a</sup>	84306.00±7.67 <sup>c</sup>	TE
12	345.41±4.24 <sup>f</sup>	TE	875.63±15.34 <sup>c</sup>	49949.43±84.82 <sup>o</sup>	4167.81±45.54 <sup>o</sup>
13	315.16±5.12 <sup>g</sup>	TE	141.84±11.64 <sup>kl</sup>	59199.08±78.43 <sup>m</sup>	19642.33±26.45 <sup>m</sup>
14	706.01±10.31 <sup>c</sup>	9306.03±9.04 <sup>f</sup>	186.26±5.36 <sup>hi</sup>	81243.59±92.56 <sup>f</sup>	24890.61±17.56 <sup>i</sup>
15	295.31±4.71 <sup>g</sup>	64.83±1.20 <sup>k</sup>	195.33±10.60 <sup>hi</sup>	64013.14±31.01 <sup>k</sup>	15641.33±80.34 <sup>o</sup>
16	555.22±7.03 <sup>c</sup>	1343.78±48.08 <sup>i</sup>	173.21±1.51 <sup>i</sup>	85960.02±71.56 <sup>d</sup>	39025.14±39.20 <sup>i</sup>
17	345.58±51.52 <sup>f</sup>	1039.08±24.47 <sup>i</sup>	271.56±8.04 <sup>lg</sup>	59200.25±38.13 <sup>m</sup>	TE
18	480.61±12.20 <sup>d</sup>	TE	124.51±7.91 <sup>lm</sup>	63140.57±8.91 <sup>i</sup>	29321.77±23.49 <sup>k</sup>
19	685.59±20.19 <sup>c</sup>	21038.84±89.34 <sup>b</sup>	915.06±24.52 <sup>b</sup>	78857.44±22.95 <sup>g</sup>	47582.94±31.26 <sup>h</sup>
20	815.48±28.54 <sup>b</sup>	3819.42±21.45 <sup>h</sup>	497.37±16.55 <sup>d</sup>	77271.23±67.51 <sup>h</sup>	17988.20±26.94 <sup>n</sup>
En düşük/Min	TE	TE	34.15±0.42	49949.43±84.82	TE
En yüksek./Max	891.60±3.01	31113.0±86.56	1077.14±38.41	94558.05±80.33	132243.58±88.68

Örnekler Samples	Mikro mineraller (µg/kg kuru ağırlık) Micro minerals (µg/kg dry weight)				
	Rb	Sr	Se	Ba	In
1	735.51±1.92 <sup>c</sup>	9004.92±10.37 <sup>h</sup>	TE	2937.0±32.13 <sup>d</sup>	TE
2	634.28±7.78 <sup>d</sup>	7787.68±26.06 <sup>ik</sup>	TE	2589.34±15.46 <sup>f</sup>	1274.71±2.42 <sup>g</sup>
3	TE	7512.83±41.58 <sup>k</sup>	TE	1315.51±23.94 <sup>k</sup>	TE
4	580.50±2.86 <sup>c</sup>	36405.24±280.34 <sup>a</sup>	TE	4951.59±37.55 <sup>a</sup>	293.31±1.15 <sup>h</sup>
5	278.41±41.68 <sup>g</sup>	8464.13±87.04 <sup>i</sup>	TE	1943.97±42.03 <sup>h</sup>	TE
6	0.00±0.00 <sup>h</sup>	12697.85±141.94 <sup>c</sup>	TE	1753.46±23.21 <sup>i</sup>	3329.82±16.02 <sup>f</sup>
7	240.00±1.92 <sup>g</sup>	20263.13±134.85 <sup>b</sup>	TE	3411.14±3.35 <sup>c</sup>	5395.70±114.47 <sup>c</sup>
8	TE	10693.13±35.26 <sup>e</sup>	TE	2288.58±14.27 <sup>g</sup>	5391.29±116.74 <sup>c</sup>
9	TE	9329.19±6.24 <sup>gh</sup>	TE	2889.47±7.45 <sup>d</sup>	4394.13±122.58 <sup>d</sup>
10	642.53±3.89 <sup>d</sup>	10288.42±133.18 <sup>ef</sup>	723.57±7.00 <sup>a</sup>	2104.73±7.91 <sup>g</sup>	7040.92±10.30 <sup>a</sup>
11	677.79±42.21 <sup>c</sup>	11129.42±81.47 <sup>d</sup>	290.41±6.64 <sup>c</sup>	4400.10±1.44 <sup>b</sup>	6534.94±19.04 <sup>b</sup>
12	770.74±2.16 <sup>b</sup>	8137.53±35.75 <sup>i</sup>	TE	2638.33±2.25 <sup>f</sup>	TE
13	731.93±2.05 <sup>c</sup>	9666.61±19.90 <sup>gg</sup>	56.16±0.17 <sup>d</sup>	2629.68±41.10 <sup>f</sup>	TE
14	796.33±2.06 <sup>b</sup>	6889.61±36.02 <sup>i</sup>	52.88±1.13 <sup>d</sup>	1226.05±2.32 <sup>i</sup>	TE
15	821.73±10.63 <sup>a</sup>	9282.49±67.75 <sup>gh</sup>	35.44±0.42 <sup>c</sup>	3160.50±56.51 <sup>c</sup>	TE
16	314.72±3.17 <sup>f</sup>	8531.38±7.20 <sup>i</sup>	192.56±0.68 <sup>c</sup>	1405.79±27.06 <sup>i</sup>	977.95±11.43 <sup>g</sup>
17	708.68±2.97 <sup>c</sup>	8533.97±44.11 <sup>i</sup>	TE	2741.24±36.56 <sup>e</sup>	TE
18	673.83±6.25 <sup>c</sup>	10068.44±26.76 <sup>fg</sup>	TE	2889.47±16.33 <sup>d</sup>	6062.86±57.35 <sup>c</sup>
19	591.59±5.91 <sup>e</sup>	13847.95±65.01 <sup>e</sup>	312.17±24.58 <sup>b</sup>	2786.0±16.48 <sup>e</sup>	TE
20	304.14±1.93 <sup>fg</sup>	4810.50±10.79 <sup>m</sup>	14.11±0.18 <sup>f</sup>	2319.95±82.67 <sup>g</sup>	3515.37±38.76 <sup>e</sup>
En düşük/Min	TE	4810.50±10.79	TE	1226.05±2.32	TE
En yüksek./Max	821.73±10.63	36405.24±280.34	723.57±7.00	4951.59±37.55	7040.92±10.30

TE: Tespit edilmedi, TE: Not found, Min.: Minimum, Max.: Maximum

Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen ortalama değerler birbirlerinden önemli derecede farklıdır (P < 0.01).  
 Mean values indicated by different exponential letters on the same column are significantly different from each other (P < 0.01)

Çizelge 4 Bayburt Civil peynir örneklerine ait mineral ve ağır metal analiz sonuçları (devam)  
 Table 4 Mineral and heavy metal analysis results of Bayburt Civil cheese samples (continued)

Örnekler Samples	Ağır metaller ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ kuru ağırlık) Heavy metals ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ dry weight)						
	As	Al	Ag	Cd	Cr	Co	Pb
1	TE	TE	TE	979.69±1.41 <sup>a</sup>	187.52±1.95 <sup>c</sup>	2.72±0.06 <sup>d</sup>	TE
2	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
3	TE	TE	TE	TE	72.98±2.12 <sup>e</sup>	TE	TE
4	TE	TE	TE	TE	543.14±5.66 <sup>b</sup>	TE	TE
5	TE	4017.02±122.41 <sup>1</sup>	TE	TE	TE	TE	TE
6	TE	19418.77±86.17 <sup>b</sup>	TE	TE	9.24±0.17 <sup>d</sup>	TE	TE
7	TE	18191.01±98.92 <sup>c</sup>	TE	TE	TE	TE	TE
8	TE	10333.41±144.07 <sup>e</sup>	TE	TE	TE	TE	TE
9	TE	13248.38±149.48 <sup>e</sup>	TE	TE	1203.44±62.83 <sup>a</sup>	TE	TE
10	TE	4970.59±40.12 <sup>b</sup>	376.63±2.80 <sup>a</sup>	TE	TE	TE	TE
11	TE	9612.26±122.49 <sup>f</sup>	180.68±1.88 <sup>b</sup>	139.63±0.56 <sup>e</sup>	TE	TE	TE
12	TE	9762.42±84.23 <sup>f</sup>	103.37±1.13 <sup>c</sup>	132.31±0.51 <sup>f</sup>	TE	10.12±0.37 <sup>b</sup>	TE
13	TE	8779.92±40.11 <sup>g</sup>	75.17±0.17 <sup>g</sup>	143.71±0.47 <sup>d</sup>	TE	3.73±0.35 <sup>c</sup>	TE
14	TE	6192.99±29.66 <sup>g</sup>	TE	203.62±1.34 <sup>c</sup>	TE	TE	TE
15	TE	2433.14±90.16 <sup>i</sup>	19.31±0.42 <sup>h</sup>	TE	TE	TE	TE
16	TE	5842.75±65.01 <sup>g</sup>	124.75±1.40 <sup>c</sup>	201.40±0.35 <sup>c</sup>	TE	TE	TE
17	TE	4166.96±75.08 <sup>1</sup>	113.88±1.61 <sup>d</sup>	109.30±0.81 <sup>g</sup>	189.94±10.55 <sup>c</sup>	TE	14.12±0.18 <sup>c</sup>
18	TE	11294.73±63.52 <sup>d</sup>	62.48±0.55 <sup>g</sup>	370.39±0.41 <sup>b</sup>	TE	TE	TE
19	TE	35487.79±45.51 <sup>a</sup>	133.18±2.42 <sup>c</sup>	TE	168.77±6.07 <sup>c</sup>	28.64±0.35 <sup>a</sup>	181.81±5.19 <sup>a</sup>
20	TE	0.41±0.04 <sup>o</sup>	97.27±0.27 <sup>f</sup>	1.96±0.03 <sup>g</sup>	0.7±0.1 <sup>d</sup>	6.39±0.11 <sup>c</sup>	66.55±0.75 <sup>b</sup>
En düşük/Min	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
En yüksek/Max	TE	35487.79±45.51	376.63±2.80	979.69±1.41	1203.44±62.83	28.64±0.35	181.81±5.19

TE: Tespit edilmedi, TE: Not found, Min.:Minimum, Max.:Maximum

Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen ortalama değerler birbirlerinden önemli derecede farklıdır ( $P < 0.01$ ).  
 Mean values indicated by different exponential letters on the same column are significantly different from each other ( $P < 0.01$ )

Süt ve süt ürünleri çeşitli minerallerin kaynağını oluşturmakla birlikte; yüksek endüstriyel, kentsel ve tarımsal emisyonların neden olduğu çevre kirliliğinin artması nedeniyle çeşitli konsantrasyonlarda kirletici maddeler (ağır metaller gibi) içerebilmektedir (Capcarova vd., 2017). Peynirin ağır metal içeriği; peynir çeşidi, coğrafi alan, üretim uygulamalarının özellikleri ve işlem sırasında ekipmandan kaynaklanan kirlenme gibi faktörler nedeniyle değişkendir (Mendil, 2006; Serencam vd., 2018). Bayburt Civil peynir örneklerinde ağır metallerden As, Al, Ag, Cd, Cr, Co ve Pb varlığı araştırılmış, analiz sonuçları  $\mu\text{g}/\text{kg}$  kuru ağırlık cinsinden Çizelge 4'de verilmiştir. Peynir örneklerinin hiçbirinde As tespit edilmemiştir. Civil peynir örneklerinde Al, Ag, Cd, Cr, Co ve Pb miktarları sırasıyla 0.00-35487.79  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 0.00-376.63  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 0.00-979.69  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 0.00-1203.44  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 0.00-28.64  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve 0.00-181.81  $\mu\text{g}/\text{kg}$  aralığında değişim göstermiştir.

Gıda Katkı Maddeleri Uzmanlar Komitesi (JECFA) tarafından yetişkinler için Al'un haftalık tolere edilebilir alım oranı 2 mg/kg vücut ağırlığı olarak bildirilmiştir (JECFA, 2009). As, Cd, Cr, Ni ve Pb gibi metaller insan için potansiyel bir kanser riski oluşturacak şekilde sınıflandırılmıştır. İnsülin hormonu üretiminde ve yağ metabolizmasında görev aldığı da bilinen Cr için güvenli ve yeterli alım oranı yetişkinler için 0.05-0.20 mg/gün, Ni için 0.05-0.3 mg/gün olarak bildirilmiştir (Nabrzyski, 2007). Cd için tolere edilebilir haftalık alım miktarını 0.007 mg/kg vücut ağırlığı, Pb için 0.025 mg/kg vücut ağırlığı olarak bildirilmiştir (JECFA, 2009). JECFA (2009) ve Türk Gıda Kodeksi (Anonymous, 2011) tarafından yayınlanan rapor ve tebliğlerde Ag, Cr ve Co ile ilgili bir sınırlandırmaya rastlanmamıştır. Mendil (2006) Çeçil peynir örneklerinde 0.14  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Pb ve 0.04  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Cr tespit etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise Civil peynir örneklerinin hiçbirinde Cr, Cd, Hg ve As tespit edilmemiş olup,

örneklerde Pb miktarları 0.02-0.05 mg/kg aralığında saptanmıştır (Serencam vd., 2018).

Araştırma sonuçlarına göre, ağır metal analizi yapılan Bayburt Civil peynir örneklerinde, tespit edilen Al, Pb ve Cd değerlerinin JECFA tarafından bildirilen limitlerin altında olduğu görülmüştür. Bu çalışma kapsamında incelenen Bayburt Civil peyniri örneklerinin ağır metal içeriği bakımından herhangi bir sağlık riski taşımadığı sonucuna varılmıştır.

### SONUÇ ve ÖNERLER

Bu çalışmada elde edilen bulguların, Bayburt Civil peynirinin Coğrafi İşaret olarak tescillenmesi durumunda gerek duyulacak veri tabanının oluşturulmasına ve ürün standardizasyonuna katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bileşim özellikleri bakımından örnekler arasında önemli varyasyonların bulunması, bu yöresel peynirin hammadde, üretim, ambalajlama ve depolamasında bir standardın bulunmadığını ortaya koymaktadır. Bayburt Civil peyniri, üretiminde kullanılan sütün yağ oranı bakımından standardize edilmemesi, çoğunlukla yağlı süt kullanılması ve benzerlerine göre daha ince teller halinde işlenmesi ile farklılık göstermektedir. Özellikle peynirlerin yağ oranlarındaki farklılık bu peynir çeşidinde bir sınıflandırmayı gerekli kılmaktadır. Toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya-küf sayılarının oldukça yüksek çıkmış olması; peynire işlenen çiğ sütün hijyenik kalitesinin düşük olduğunu, üretimin kontrollü şartlarda yapılmadığını, peynirin üretimden sonraki aşamalarında (tuzlama, paketlenme, depolama ve sevkiyat gibi) hijyenik kurallara uyulmadığından ciddi bir kontaminasyona maruz kaldığını göstermektedir. Bayburt Civil peynirinin mikrobiyolojik açıdan güvenli şekilde tüketilmesi için zorunlu depolama süresi araştırmalarla belirlenmelidir. Sonuç olarak, yöre halkının beslenmesinde önemli bir yere sahip olan Bayburt Civil peynirinin orijinal özelliklerinin korunarak ürün kalitesinin geliştirilmesi ve standardizasyonu halk sağlığı ve bölgenin sosyo-ekonomik kalkınması açısından önem arz etmektedir. Bu amaçla, kontrollü şartlar altında üretilen yöresel Bayburt Civil peynir örneklerinde araştırma sayısının artırılmasına, üreticinin

bilinçlendirilmesine ve denetimin artırılmasına ihtiyaç vardır.

### KAYNAKLAR

Anonymous (2017). Türk gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 26 Ocak 2017 tarih ve 29960 Sayılı (Mükerrer) Resmî gazete, Ankara.

Anonymous (2011). Türk Gıda Kodeksi. Bulaşanlar Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 Sayılı (3. Mükerrer) Resmi Gazete, Ankara.

Arslaner, A., Bakırcı, İ. (2016). Farklı ambalaj materyallerinde olgunlaştırılan tulum peynirlerinde proteoliz. Uluslararası Erzincan Sempozyumu, Cilt 3, 28 Eylül-1 Ekim 2016, Erzincan, Türkiye, 815-824 s.

Arslaner, A., Salık, M. A. (2017). Some physicochemical and microbiological characteristics of the Civil cheese put up for sale in Bayburt market. II. International Conference on Advanced Engineering Technologies, 21-23 September 2017, Bayburt, Türkiye.

Ataro, A., McCrindle, R. I., Botha, B. M., McCrindle, C. M. E., Ndibewu, P. P. (2008). Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chem*, 111(1): 243-248. Doi: 10.1016/j.foodchem.2008.03.056.

Ayar, A., Sert, D., Akin, N. (2009). The trace metal levels in milk and dairy products consumed in Middle Anatolia-Turkey. *Environ Monit Assess*, 152(1-4): 1-12. Doi: 10.1007/s10661-008-0291-9.

Bakırcı, İ., Andiç, S. (1999). Muş-Bulanık yöresinde üretilen Çeçil peyniri üzerinde bir araştırma. *YYÜ Vet Fak Derg*, 10(1-2): 67-71.

Cambaztepe, F., Çakmakçı, S., Dağdemir, E. (2009). Effect of some technological parameters on microbiological, chemical and sensory qualities of Civil cheese during ripening. *Int J Dairy Technol*, 62(4): 541-548. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2009.00536.x.

Cantürk, A., Çakmakçı, S. (2019). Erzurum çevresindeki peynir işletmelerinde kullanılan



- peynir mayalarının mikrobiyolojik, duysal ve teknolojik özellikleri. *Akademik Gıda*, 17(1): 30-37. Doi: 10.24323/akademik-gida.544064.
- Capcarova, M., Harangozo, L., Toth, T., Schwarczova, L., Bobkova, A., Stawarz, R., Guidi A, Massanyi, P. (2017). Detection of selected trace elements in yogurt components. *J Environ Sci Health Part B*, 52(12): 1-6. Doi: 10.1080/03601234.2017.1359029.
- Christensen, T. M. I. E., Bech, A. M., Werner, H. (1991). Methods for Crude Fractionation (extraction and precipitation) of Nitrogen Components in Cheese, IDF Bulletin 261. Brussels: International Dairy Federation.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *Int Dairy J*, 13(11): 841-866. Doi: 10.1016/S0958-6946(03)00109-2.
- Çakmakçı, S., Gundogdu E., Hayaloglu A. A., Dagdemir, E., Gurses, M., Cetin, B., Tahmas-Kahyaoglu D. (2012a). Chemical and microbiological status and volatile profiles of mouldy Civil cheese, a Turkish mould-ripened variety. *Int J Food Sci Tech*, 47: 2405-2412. Doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03116.x.
- Çakmakçı, S., Çetin, B., Gürses, M., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A.A. (2012b). Morphological, molecular and mycotoxigenic identification of dominant filamentous fungi from Moldy Civil cheese. *J Food Prot*, 75(11): 2045-2049.
- Çakmakçı, S., Hayaloğlu, A. A., Dağdemir, E., Cetin, B., Gurses, M., Tahmas-Kahyaoglu, D. (2014). Effects of *Penicillium roqueforti* and whey cheese on gross composition, microbiology and proteolysis of mould-ripened Civil cheese during ripening. *Int J Dairy Technol*, 67(4): 594-603. Doi: 10.1111/1471-0307.12156.
- Çakmakçı S., Gürses, M., Hayaloglu, A.A., Cetin, B., Şekerci, P., Dagdemir, E. (2015). Mycotoxin production capability of *Penicillium roqueforti* strains isolated from mould-ripened traditional Turkish Civil cheese. *Food Addit Contam: Part A*, 32(2): 245-249. Doi: 10.1080/19440049.2014.997808.
- Diezhandino, I., Fernández, D., González, L., McSweeney, P. L. H., Fresno, J. M. (2015). Microbiological, physicochemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese). *Food Chem*, 168: 134-141. Doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.039.
- Dikbaş, N., Şengül, M., Ertugay, M. F. (2006). Erzurum'da üretilen Çeçil peynirinin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi. 24-26 Mayıs 2006. Bolu, Türkiye, 161-164 s.
- Fox, P. F, Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., O'Mahony, J. A. (2015). Chemistry and Biochemistry of Cheese. Chapter 12. In: Dairy Chemistry and Biochemistry. Springer International Publishing. Switzerland. pp. 499-546.
- Fox, P. F. (1989). Proyeolysis during cheese manufacture and ripening. *J. Dairy Sci.*, 72(6): 1379-1400. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8.
- Gharibzahedi, S. M. T., Jafari, S. M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends Food Sci Tech*, 62: 119-132. Doi: 10.1016/j.tifs.2017.02.017.
- Guinee, T. P., Fox, P. F. (2017). Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects, Chapter 13, In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00013-2>, pp. 317-375.
- Gürkan., H., Yilmaztekin., M., Cakmakci, S., Hayaoglu, A. (2018). Volatile compounds and biogenic amines during the ripening of mold-ripened Civil cheese manufactured using three different strains of *Penicillium roqueforti*. *J Food Saf*, 38 (6): 1-14. Doi: 10.1111/jfs.12568.
- Halkman, K. (2005). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ankara: Başak Matbaacılık.
- Harrigan, W. F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.
- IDF (1991). International Dairy Federation Standard Method 50B: Milk and Milk Products.

- Routine methods for determination of free fatty acids in milk. IDF, Brussels, Belgium.
- IDF (1993). International Dairy Federation Standard Method 20B: Milk. Determination of Nitrogen content. IDF, Brussels, Belgium.
- JECFA (2009). Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>. (Erişim Tarihi: 28.01.2020).
- Kuchroo, C. N., Fox, P. F. (1982). Soluble nitrogen in cheese: Comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37: 331-335. ISSN: 0026-3788.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (2012). Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi (10. Basım). Erzurum: Atatürk Üniversitesi Yayınları No:252/D, 254 s.
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. (1997). Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 77(1): 41-76. Doi: 10.1051/lait:199713.
- Mendil, D. (2006). Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. *Food Chem*, 96 (4): 532-537. Doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.006.
- Nabrzyski, M. (2007). Functional Role of Some Minerals in Foods. In: Szefer P, Nriagu JO. Mineral Components in Foods. Boca Raton: CRC Press, pp: 123-127. ISBN-13: 978-0-8493-2234-1.
- Park, Y. W. (2001). Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. *J Dairy Sci*, 84 (E. Suppl.): E84-E92. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70202-0.
- Pavia, M., Trujillo, A. J, Guamis, B., Ferragut, V. (2000). Proteolysis in monchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *J Dairy Sci*, 83(7): 1441-1447. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75014-4.
- Pichhardt, K. (2004). Gıda Mikrobiyolojisi (Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamalar). Literatür Yayıncılık, İstanbul.
- Serencam, H., Arslaner, A., Köse, M. (2018). Civil peynirde ağır metal kontaminasyon kaynağı ve düzeyinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Engineering Sciences*, (NWSAENS), 13 (1): 21-26. Doi:10.12739/NWSA.2018.13.1.1A0397.
- Şengül, M., Gürses, M., Dervisoglu, M., Yazıcı, F. (2006). A survey on the some chemical and biochemical properties of Civil cheese, a traditional Turkish cheese. *Int J Food Prop*, 9: 791-801. Doi: 10.1080/10942910600596415.
- TÜRK PATENT (2009). Türk Patent ve Marka Kurumu Coğrafi İşaret Tescil Belgesi. Erzurum Civil Peyniri, Tescil No: 116. <https://www.ci.gov.tr/cografi-isaretler/detay/37987> (Erişim Tarihi:18.08.2019).
- Upadhyay, V. K., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Fox, P. H. (2004). Proteolysis in Cheese During Ripening, Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Third Edition-Volume 1: General Aspects ISBN: 0-1226-3652-X Set ISBN: 0-1226-3651-1, 391-433.
- Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci Technol*, 88(4-5): 389-405. Doi: 10.1051/dst:2008012.
- Yangılar, F., Kızılkaya, P. Ç. (2015). Ardahan'ın aromatik Çeçil peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2): 122-130. Doi:10.17798/beufen.04274.
- Yıldız, F., Yetişemiyen, A., Şenel, E., DurluÖzkaya, F., Öztekin, Ş., Şanlı, E. (2010). Some properties of Civil cheese: A type of traditional Turkish cheese. *Int J Dairy Technol*, 63(4): 575-580. Doi:10.1111/j.1471-0307.2010.00612.x.
- Zafar, M. H., Fatima, M. (2018). Efficiency comparison of organic and inorganic minerals in poultry nutrition: A review. *PSM Vet Res*, 3(2): 53-59. ISSN: 2518-2714.
- Zamberlin, S., Antunac, N., Havranek, J., Samaržija, D. (2012). Mineral elements in milk and dairy products. *Mljekarstvo*, 62(2): 111-125.



## INVESTIGATION OF SOME QUALITY PARAMETERS OF PICKLED PEPPER PRODUCED BY LOW VALUE DAIRY BY-PRODUCTS

Recep Gunes<sup>1</sup>, Bayram Cetin<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Kırklareli University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Kırklareli, Turkey

Received / Geliş: 10.12.2019; Accepted / Kabul: 20.04.2020 Published online / Online baskı: 04.05.2020

Gunes, R., Cetin, B. (2020). Investigation of some quality parameters of pickled pepper produced by low value dairy by-products. GIDA (2020) 45(3) 448-460 doi: 10.15237/gida.GD19160

Güneş, R., Çetin, B. (2020). Süt endüstrisi yan ürünleri ile üretilen biber turşusunun bazı kalite parametrelerinin araştırılması. GIDA (2020) 45(3) 448-460 doi: 10.15237/gida.GD19160

### ABSTRACT

In this study, traditional pickled pepper was produced in 3 different formulations by using whey cheese and cheese crumbs, which are obtained as a by-product in the cheese-making process. In the scope of the study, the microbiological, chemical and sensory properties were examined during the 5 months of storage period. The initial *E. coli* contents of the samples were determined as 3.71, 2.73, 4.72 log cfu/g respectively and it was not detected in any of the group at the end of the 21st day. The 2nd group was the most acceptable in terms of taste (5.9-6.6), smell (6.2-6.6) and visual appearance (6.3-6.7) for 4 months. It was observed that there was no change in the chemical parameters of all groups that could negatively affect consumption during the storage period. As a result of the study, it was shown that a high value-added product can be produced by using dairy by-products.

**Keywords:** Pickled pepper, whey cheese, cheese crumbs, dairy by-product

## SÜT ENDÜSTRİSİ YAN ÜRÜNLERİ İLE ÜRETİLEN BİBER TURŞUSUNUN BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZ

Bu çalışmada, süt endüstrisinde yan ürün olarak elde edilen düşük katma değerli kırık peynirler ve lor peyniri kullanılarak 3 farklı formülasyonda geleneksel peynirli (sütlü) biber üretimi gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında, ürünlerin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal özellikleri 5 aylık depolama süresi boyunca incelenmiştir. Mikrobiyolojik analizlere göre, örneklerin başlangıçtaki *E. coli* içeriği sırasıyla 3.71, 2.73, 4.72 log kob/g olarak belirlenmiş ve 21. günün sonunda hiçbir grupta tespit edilmemiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, 2. grup 4 ay boyunca tat (5.9-6.6), koku (6.2-6.6) ve görsel açıdan (6.3-6.7) en çok beğenilen grup olmuştur. Kimyasal analiz sonuçları göz önüne alındığında ise, depolama süresince tüm grupların parametrelerinde tüketimi olumsuz yönde etkileyebilecek bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Çalışma sonucunda, süt endüstrisi yan ürünleri kullanılarak katma değeri yüksek bir ürünün üretilebileceği ortaya konmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Biber turşusu, lor peyniri, peynir kırığı, süt yan ürünleri

\* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ bayram.cetin@klu.edu.tr

☎ (+90) 535 657 10 32

☎ (+90) 288 214 05 16

Recep Gunes; ORCID no: 0000-0002-8007-8697

Bayram Cetin; ORCID no: 0000-0003-1321-7746

### INTRODUCTION

In the food industry, large amounts of food wastes or by-products, are released as a result of the manufacturing process, many of which are immediately discarded or used to produce low-value products (animal feed, fertilizer, etc.) (Gomez and Martinez, 2018; Torres-León et al., 2018). However, efficient utilization of these materials is very important not only for the prevention of environmental pollution (Garcia-Garcia et al., 2016), but also for creating value-added products (Kowalska et al., 2017). On the other hand, today's consumers have begun to prefer foods with high nutritional value, containing fewer additives, high shelf-life and that can meet the requirements of their lifestyle (Siró et al., 2008; Román et al., 2017). Therefore, this change in consumer awareness and developing food technology have led to an increase in studies on the evaluation of food wastes and/or by-products (Teixeira et al., 2014; Sharma et al., 2016). Because, food wastes and by-products are rich in various bioactive components, such as polysaccharides, proteins, fats, fibers, flavor compounds, phytochemicals and health-beneficial bioactive compounds (Helkar et al., 2016). In this regard, valorizing of food wastes and by-products can lead to the recovery of these compounds which can be utilized in food, nutrition, and many non-food applications.

The dairy industry has shown huge growth in many countries and dairy products processing generates a high amount of by-products and wastes. The main wastes generated are whey, dairy sludges and waste-water (Sarkar et al., 2006; Ahmad et al., 2019). However, many attempts have been made to evaluate these wastes and by-products released in the dairy industry (Chandra et al., 2018; Wong et al., 2018). Today, especially cheese by-products are evaluated in different ways. The great importance is given to the evaluation of whey released during cheese production in different developed countries. In this context, various products are made from the whey, and these products are used directly or as an additive in yoghurt production, meat industry, bread making, ice cream production, and animal feeds (Krolczyk et al., 2016; Ganju and Gogate,

2017). On the other hand, cheese crumbs, another by-product of cheese making, which breaks off from cheese during molding and packaging or leftovers in tin cheeses are sold at a lower cost in the market.

In dairy products, type of milk (cow, buffalo, goat, sheep, etc.), processing methods, consumer preference, legal standards, countries of origins, and different ingredients play a major role in increasing product diversity (Najgebauer-Lejko et al., 2014; Mehta, 2015). Pickled pepper that fermented with milk-based ingredients, is an example of this, especially among the indispensable tastes of Thrace cuisine and is a highly preferred product. However, there is very little information available on that topic. Although the name and the production method changes in different parts of southeastern Europe (the Balkans), two main raw materials used in the product are milk or milk-based products and sweet or hot peppers. In this regard, an important factor that makes the product unique is the pepper used in the production. The peppers used for this product resemble to the bell peppers but they are more fleshy, thin-skin, generally hot taste, yellow, light green and sometimes red-orange in color with a pointed-conical tip compared to other peppers. This pepper is also called “Somborka” in different regions of the Balkans.

The studies on pickled peppers fermented with dairy ingredients are very limited compared to other fermented dairy products. Coşkun and Gök (2012) researched some properties of pickled peppers with milk prepared by using *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* cultures and compared them pickled peppers with a milk-like product that sold in Tekirdağ and homemade pickled peppers that produced in Kırklareli region. In a different study belonging to the same research group, the effects of using different yeast cultures on some properties of the same product were studied (Coşkun and Gök, 2018). Therefore, in the scope of the present study, it was aimed to increase the recognition of this product from traditional to conventional and produce it by using dairy by-products (whey cheese and cheese crumbs). In this context, pickled pepper samples

with 3 different formulations were produced and analysed (microbiological, chemical and sensorial) for 5 months to determine the optimized product formulation. According to the analyses, it was determined which formulation would be suitable for the commercial production.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

In the present study, pickled pepper production was carried out in Kırklareli University Food Engineering Department Laboratory. Original sweet Somborka peppers were used in the study and cheese samples (cheese crumbs and whey cheese) were obtained from a local company. The pH, fat, and salt content of cheese crumbs and whey cheese were 5.51, 5.13, 17 %, 4.5 % and 4.14 %, 1.33 %, respectively. Other ingredients, full-fat cow's milk, sunflower oil, and table salt were purchased from the market. The selective

mediums (Potato Dextrose Agar for total yeasts and moulds, Violet Red Bile Dextrose Agar for Enterobacteriaceae, Tryptone Bile X-glucuronide Agar for *E. coli*, de Man, Rogosa and Sharpe Agar for Lactobacilli, M17 Agar for Lactic streptococci count) used in the microbiological analyses were obtained from Merck (Darmstadt, Germany) and all other chemicals were of the analytical grade.

### Methods

#### Production of pickled pepper by using dairy by-products

Firstly, sweet Somborka peppers were washed and cleaned from their seeds. In order to release the excess water of the peppers, the inner parts were treated with salt (60 g/kg pepper) and kept for 10-12 hours. At the end of the period, the water formed in the peppers were excluded.

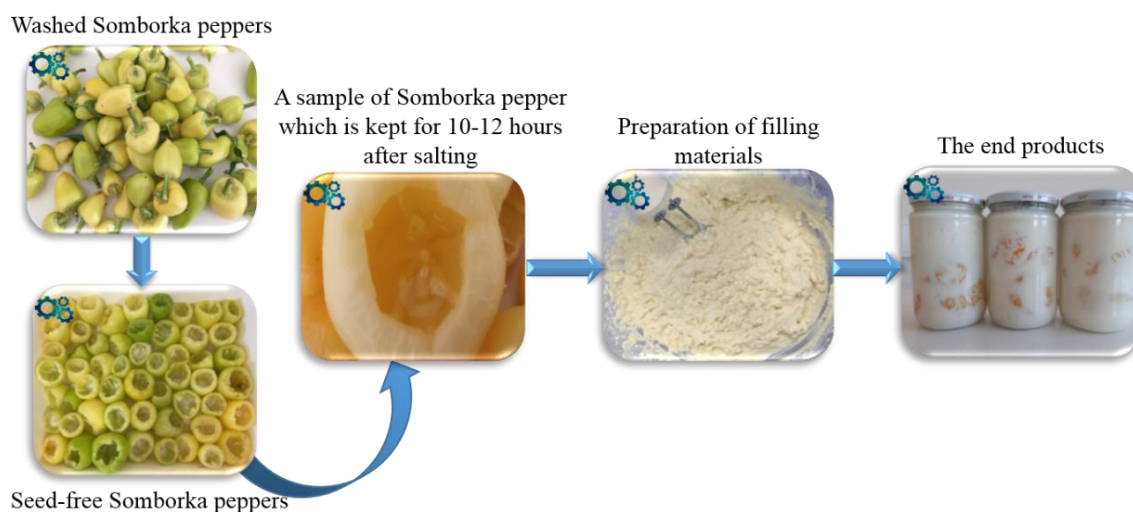


Figure 1. Production steps of pickled pepper by using dairy by-products.

In the production step (Figure 1), three different filling materials (3.6 kg) were used in the preparation of the samples. Firstly, the solid part of the filling material (2.7 kg) of 3 groups consisting of the mixture of dairy by-products, was obtained by mixing cheese crumbs and whey cheese in a ratio of 2:1, 1:1, and 1:2, respectively. In order to balance the consistency, 900 g of full-fat cow's milk was added to all filling materials and

all ingredients were mixed with a blender until a homogeneous mixture was obtained. In the end, the peppers were stuffed with these filling materials and placed into 1 L glass jars with an average of 6-8 Somborka peppers. Then, the jars were filled with the remaining material in such a way that there would be no cavities around the peppers and in the jars. Before closing the jars, 5 mL sunflower oil was added to the surface to

prevent the spoilage. Finally, the jars were closed tightly and were placed into the refrigerator at +4 °C.

### Chemical analyses

In the chemical analyses, titratable acidity (%), pH, Gerber method for fat (%), and Mohr method for salt (%) analyses were performed (AOAC, 2000). For three sample groups, the chemical analyses were performed on the 15th, 21st and 30th days of the first month and once a month in the last 4 months during the storage period. On the other hand, the initial titratable acidity, pH, fat, and salt ratios of the filling materials were also determined.

### Microbiological analyses

In the microbiological analyses, Enterobacteriaceae (ISO 2017), *E. coli* (ISO 2001), total yeasts and moulds (ISO 2008), lactic streptococci (Reuter, 1985), and lactobacilli (ISO 2015) counts were performed. Firstly, 10 g sample was taken from each group into the sterile bags under sterile conditions. Then, 90 mL of sterile physiological saline (0.85% NaCl in distilled water) was added and the bags were homogenized in a stomacher (VWR Star Blender LB 400) for 1 min at normal speed. Serial dilutions were prepared by diluting the main dilution to the desired levels. Bacterial colonies were counted at the end of the optimum incubation temperature

and time according to the bacterial species. The analyses were carried out on the 15th, 21st and 30th days of the first month and then once a month for 5 months of storage. Microbial cultivation and counting of the resulted colonies were done in duplicate and the results were given as means ± S.D. of log cfu per gram.

### Sensory analysis

The sensory evaluation of pickled pepper was performed by using a seven-point scale (Figure 2). 15 un-trained panelists of different gender and age groups were recruited to assess the taste, smell, acidity, salty, visual appearance, and general acceptability of the samples. According to the analysis procedure, the panelists received the previously numbered samples (20 g, with filling material and peppers) that served on white plastic plates when they entered the evaluation cabins. The panelists were instructed to taste the samples and between each sample plate to drink water at room temperature to minimize the influence of the residue present on taste buds. Each panelist received an evaluation form (Figure 2) in which they should circle whether they liked or disliked the samples (Beinner et al., 2010). The sensory analysis was performed for 4 months starting from the 15th day when the samples were known to be ready to eat.

Use the number scale below to mark which number that you liked or disliked about the pickled pepper.	
7- Very much liked	( ) Visual appearance
6- Liked a lot	( ) Taste
5- Liked	( ) Smell
4- Liked and did not like	( ) General Acceptability
3- Disliked	( ) Acidity
2- Much disliked	( ) Salty
1- Very much disliked	

Figure 2. The seven-point sensory evaluation form to assess the taste, smell, acidity, salty, visual appearance, and general acceptability of the samples.

### Statistical analysis

The software SPSS 16.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for the analysis of variance (ANOVA) and Tukey's honestly significant difference test with  $p = 0.05$  in order to determine the significant differences between the samples.

## RESULTS AND DISCUSSIONS

### Chemical analysis results of the samples

The results of the chemical analyses (pH, titratable acidity, salt, and fat) performed to determine the changes in the quality of the products for 5 months were summarised in Table 1. In fermented products, pH and total/titratable acidity are among the important parameters. The development of acidity is a natural indicator of bacterial growth, namely fermentation, and is mainly carried out by lactic acid bacteria. In this regard, firstly, the initial pH values of the filling materials used in the production of the samples were determined as 5.64, 5.55, and 5.47, respectively. Then, the pH values decreased during the storage period due to the increase in the population of lactic cultures and were determined as 4.65, 4.52, and 4.28 at the end of the storage period, respectively. Also, there were statistically significant differences between the pH values of the samples during the same storage time and the lowest values were observed in the 3rd group due to the higher use of whey cheese having low pH in the filling material ( $p < 0.05$ ). Another parameter, titratable or total acidity, was statistically significant between the groups and the highest values were determined in the last group due to the higher use of whey cheese. According to the results, the total acidity values of the samples generally increased during the storage time, and at the end of the period the values were found to be 1.06 %, 1.10 %, and 1.20 %, respectively.

Considering the salt content of the products, practically, the group with more cheese crumbs content should be more salty, while the salt content of the group with more whey cheese is expected to be lower. As shown in Table 1, the mean salt contents of the groups were found to be 3.79 %, 3.21 %, and 2.37 %, respectively. As

expected, the lowest salt content was detected in the 3rd group and statistically significant differences were found between the salt contents of the groups ( $p < 0.05$ ). On the other hand, in the same group, there were statistically significant differences between the salt contents at different storage times ( $p < 0.05$ ). This can be explained by the fact that the peppers are variable in size, so they may contain different amounts of salt after the salting step in the production method, and the peppers and/or filling materials may not have been taken equally during sampling for analysis, and therefore, may have affected the results. For instance, in a study done by Coşkun and Gök (2012), different lactic acid bacteria were used in the production of pickled peppers with milk and it was determined the salt contents of the products varied between 3.04-3.39 %, which were close to the values obtained in our study.

In the present study, the mean fat content of the samples was 10.85 %, 9.88 %, and 7.89 %, respectively. The fat content of the white cheese crumbs was 17 % and it was higher than the whey cheese (4.5 %) used in the filling materials. Therefore, the fat content of the 1st group which contains more cheese crumbs was found to be higher than the other groups ( $p < 0.05$ ) and this can also be understood by looking at the fat content of the filling materials. As shown, the fat content of the end products in each group was higher than the amount of fat contained in the filling materials, which was due to the addition of sunflower oil (5 mL) on each jar in order to prevent spoilage.

### Microbiological analysis results of the samples

In the present study, the microbiological quality of the experimental pickled pepper samples was examined for 5 months and the findings of Enterobacteriaceae (ENTR), *E. coli*, total yeasts and moulds, lactic streptococci, and lactobacilli counts were summarised in Table 2. The first three counts were evaluated as hygiene and quality indicators, and the last two were evaluated for positive effects on product characteristics and beneficial to consumer health.

## Production of pickled pepper using dairy by-products

Table 1. Chemical properties of the samples and their filling materials.

Sample	Time (day)	Group 1*	Group 2*	Group 3*
pH (25 °C)	0**	5.64 ± .03 <sup>Aa</sup>	5.55 ± .02 <sup>Ab</sup>	5.47 ± .02 <sup>Ac</sup>
	15	5.29 ± .01 <sup>Ba</sup>	5.08 ± .01 <sup>Bb</sup>	4.89 ± .05 <sup>Bc</sup>
	21	4.68 ± .02 <sup>Ca</sup>	4.58 ± .03 <sup>Cb</sup>	4.36 ± .04 <sup>Cc</sup>
	30	4.65 ± .01 <sup>CDa</sup>	4.55 ± .02 <sup>CDb</sup>	4.33 ± .06 <sup>CDc</sup>
	60	4.61 ± .02 <sup>Da</sup>	4.54 ± .01 <sup>CDb</sup>	4.30 ± .03 <sup>DEc</sup>
	90	4.64 ± .01 <sup>CDa</sup>	4.57 ± .01 <sup>Cb</sup>	4.35 ± .03 <sup>Cc</sup>
	120	4.62 ± .03 <sup>Da</sup>	4.55 ± .03 <sup>CDb</sup>	4.31 ± .01 <sup>DEc</sup>
	150	4.65 ± .02 <sup>CDa</sup>	4.52 ± .02 <sup>Db</sup>	4.28 ± .05 <sup>Ec</sup>
Titratable acidity (%)	0**	0.78 ± .05 <sup>Eb</sup>	0.81 ± .04 <sup>Eab</sup>	0.83 ± .02 <sup>Ea</sup>
	15	0.85 ± .07 <sup>Dc</sup>	0.90 ± .03 <sup>Db</sup>	0.98 ± .06 <sup>Da</sup>
	21	0.90 ± .10 <sup>CDb</sup>	0.95 ± .01 <sup>CDb</sup>	1.12 ± .05 <sup>Ca</sup>
	30	0.91 ± .08 <sup>CDc</sup>	0.96 ± .02 <sup>Cb</sup>	1.14 ± .01 <sup>BCa</sup>
	60	0.93 ± .03 <sup>BCb</sup>	0.94 ± .04 <sup>CDb</sup>	1.18 ± .05 <sup>ABa</sup>
	90	0.95 ± .05 <sup>BCc</sup>	0.98 ± .01 <sup>BCb</sup>	1.15 ± .02 <sup>BCa</sup>
	120	0.98 ± .02 <sup>Bb</sup>	1.01 ± .05 <sup>Bb</sup>	1.17 ± .05 <sup>ABa</sup>
	150	1.06 ± .04 <sup>Ab</sup>	1.10 ± .06 <sup>Ab</sup>	1.20 ± .08 <sup>Aa</sup>
Salt (%)	0**	3.04 ± .02 <sup>Ea</sup>	2.54 ± .03 <sup>Fb</sup>	2.04 ± .05 <sup>Ec</sup>
	15	3.49 ± .03 <sup>Da</sup>	2.96 ± .01 <sup>Eb</sup>	2.16 ± .03 <sup>DEc</sup>
	21	3.65 ± .03 <sup>Ca</sup>	3.16 ± .04 <sup>CDb</sup>	2.38 ± .01 <sup>BCc</sup>
	30	3.74 ± .01 <sup>BCa</sup>	3.30 ± .03 <sup>ABCb</sup>	2.21 ± .05 <sup>CDc</sup>
	60	3.94 ± .04 <sup>Aa</sup>	3.11 ± .02 <sup>DEb</sup>	2.58 ± .01 <sup>Ac</sup>
	90	3.85 ± .03 <sup>ABa</sup>	3.19 ± .07 <sup>BCDb</sup>	2.51 ± .03 <sup>Ac</sup>
	120	3.92 ± .01 <sup>Aa</sup>	3.36 ± .04 <sup>ABb</sup>	2.44 ± .03 <sup>ABc</sup>
	150	3.98 ± .05 <sup>Aa</sup>	3.40 ± .06 <sup>Ab</sup>	2.35 ± .02 <sup>CDc</sup>
	Mean value	3.79 ± .03	3.21 ± .04	2.37 ± .03
Fat (%)	0**	10.52 ± .11 <sup>Fa</sup>	9.39 ± .08 <sup>Gb</sup>	7.38 ± .09 <sup>Gc</sup>
	15	10.95 ± .13 <sup>Ba</sup>	9.61 ± .10 <sup>Eb</sup>	7.57 ± .06 <sup>Fc</sup>
	21	10.74 ± .21 <sup>CDa</sup>	10.10 ± .12 <sup>ABb</sup>	8.09 ± .11 <sup>Bc</sup>
	30	10.60 ± .15 <sup>EFa</sup>	9.79 ± .09 <sup>Db</sup>	7.75 ± .08 <sup>Ec</sup>
	60	11.10 ± .18 <sup>Aa</sup>	9.55 ± .08 <sup>Fb</sup>	7.96 ± .09 <sup>Cc</sup>
	90	10.65 ± .12 <sup>DEa</sup>	9.86 ± .11 <sup>Cb</sup>	7.85 ± .06 <sup>Dc</sup>
	120	11.12 ± .10 <sup>Aa</sup>	10.15 ± .14 <sup>Ab</sup>	8.12 ± .11 <sup>Ac</sup>
	150	10.83 ± .23 <sup>Ca</sup>	10.09 ± .13 <sup>Bb</sup>	7.93 ± .12 <sup>Cc</sup>
Mean value	10.85 ± .15	9.88 ± .11	7.89 ± .09	

\*1 = The filling material of the first group consists of a mixture of 2:1 cheese crumbs and whey cheese, respectively. 2 = The filling material of the second group consists of a mixture of 1:1 cheese crumbs and whey cheese. 3 = The filling material of the last group consists of a mixture of 1:2 cheese crumbs and whey cheese, respectively.

\*\*0 = It refers to the chemical characteristics of the initial filling materials.

There is no statistical difference between the results indicated by the same superscript capital letter within the column of the same chemical parameter ( $p > 0.05$ ).

There is no statistical difference between the results indicated by the same superscript small-case letter within the each same row ( $p > 0.05$ ).



Table 2. The microbiological characteristics of the filling materials and microbiological results of the samples for 5 months.

Time (day)	Group 1*	Group 2*	Group 3*	
Enterobacteriaceae	0**	5.70 ± .050 <sup>Ac</sup>	6.20 ± .070 <sup>Ab</sup>	7.30 ± .015 <sup>Aa</sup>
	15	5.46 ± .030 <sup>Bb</sup>	5.52 ± .015 <sup>Bb</sup>	7.09 ± .045 <sup>Ba</sup>
	21	5.32 ± .025 <sup>Cc</sup>	5.47 ± .020 <sup>Bb</sup>	6.80 ± .046 <sup>Ca</sup>
	30	5.04 ± .020 <sup>Dc</sup>	4.60 ± .025 <sup>Cb</sup>	6.38 ± .030 <sup>Da</sup>
	60	4.70 ± .050 <sup>Ec</sup>	4.31 ± .045 <sup>Db</sup>	6.23 ± .035 <sup>Ea</sup>
	90	4.53 ± .025 <sup>Fc</sup>	3.32 ± .030 <sup>Eb</sup>	5.06 ± .032 <sup>Fa</sup>
	120	4.13 ± .030 <sup>Gc</sup>	3.22 ± .061 <sup>Eb</sup>	4.53 ± .030 <sup>Ga</sup>
	150	2.92 ± .030 <sup>Hc</sup>	2.80 ± .045 <sup>Fb</sup>	3.27 ± .026 <sup>Ha</sup>
<i>E. coli</i>	0**	3.71 ± .057 <sup>Ab</sup>	2.73 ± .035 <sup>Ac</sup>	4.72 ± .025 <sup>Aa</sup>
	15	2.04 ± .045 <sup>Bb</sup>	1.64 ± .045 <sup>Bc</sup>	3.78 ± .031 <sup>Ba</sup>
	21	0	0	1.79 ± .045 <sup>Ca</sup>
	30	0	0	0
	60	0	0	0
	90	0	0	0
	120	0	0	0
	150	0	0	0
Total Yeasts and Moulds	0**	5.31 ± .032 <sup>Fc</sup>	5.89 ± .065 <sup>Da</sup>	5.45 ± .025 <sup>Db</sup>
	15	5.52 ± .020 <sup>Ec</sup>	6.12 ± .032 <sup>Cb</sup>	6.64 ± .045 <sup>Ba</sup>
	21	5.73 ± .035 <sup>BCc</sup>	6.75 ± .025 <sup>Bb</sup>	6.93 ± .047 <sup>Aa</sup>
	30	6.83 ± .032 <sup>Ab</sup>	7.14 ± .045 <sup>Aa</sup>	7.07 ± .060 <sup>Aa</sup>
	60	5.72 ± .021 <sup>BCb</sup>	5.36 ± .032 <sup>Ec</sup>	5.82 ± .030 <sup>Ca</sup>
	90	5.62 ± .030 <sup>Da</sup>	5.31 ± .02 <sup>Ec</sup>	5.52 ± .025 <sup>Db</sup>
	120	5.80 ± .025 <sup>Ba</sup>	5.32 ± .020 <sup>Ec</sup>	5.47 ± .063 <sup>Db</sup>
	150	5.69 ± .027 <sup>CDa</sup>	5.32 ± .023 <sup>Eb</sup>	5.40 ± .050 <sup>Db</sup>
Lactobacilli	0**	7.53 ± .032 <sup>Gc</sup>	8.14 ± .040 <sup>Gb</sup>	9.16 ± .040 <sup>Da</sup>
	15	8.94 ± .020 <sup>Fc</sup>	9.25 ± .031 <sup>Db</sup>	10.63 ± .072 <sup>Ba</sup>
	21	10.92 ± .025 <sup>Ab</sup>	10.90 ± .035 <sup>Ab</sup>	11.32 ± .062 <sup>Aa</sup>
	30	9.75 ± .025 <sup>Bc</sup>	10.77 ± .025 <sup>Ba</sup>	10.69 ± .040 <sup>Bb</sup>
	60	9.64 ± .045 <sup>Cc</sup>	9.94 ± .035 <sup>Ca</sup>	9.82 ± .035 <sup>Cb</sup>
	90	9.12 ± .020 <sup>Ea</sup>	9.13 ± .025 <sup>Ea</sup>	8.79 ± .045 <sup>Eb</sup>
	120	9.24 ± .025 <sup>Da</sup>	9.26 ± .036 <sup>Da</sup>	8.84 ± .030 <sup>Eb</sup>
	150	9.22 ± .046 <sup>Da</sup>	8.75 ± .031 <sup>Fb</sup>	8.43 ± .044 <sup>Fc</sup>
Lactic Streptococci	0**	6.91 ± .042 <sup>Ec</sup>	7.74 ± .025 <sup>Fb</sup>	9.30 ± .051 <sup>Da</sup>
	15	8.40 ± .046 <sup>Db</sup>	7.96 ± .026 <sup>Ec</sup>	10.23 ± .035 <sup>Ba</sup>
	21	9.14 ± .026 <sup>Cb</sup>	8.43 ± .021 <sup>Dc</sup>	11.17 ± .025 <sup>Aa</sup>
	30	9.25 ± .050 <sup>BCb</sup>	8.50 ± .030 <sup>Dc</sup>	10.33 ± .038 <sup>Ba</sup>
	60	9.35 ± .090 <sup>Bb</sup>	9.38 ± .062 <sup>Ab</sup>	9.74 ± .035 <sup>Ca</sup>
	90	9.88 ± .021 <sup>Aa</sup>	9.31 ± .060 <sup>ABb</sup>	9.29 ± .045 <sup>Db</sup>
	120	9.79 ± .05 <sup>Aa</sup>	9.21 ± .032 <sup>Bb</sup>	8.73 ± .035 <sup>Ec</sup>
	150	8.27 ± .064 <sup>Db</sup>	8.94 ± .032 <sup>Ca</sup>	7.83 ± .050 <sup>Fc</sup>

\*1 = The filling material of the first group consists of a mixture of 2:1 cheese crumbs and whey cheese, respectively. 2 = The filling material of the second group consists of a mixture of 1:1 cheese crumbs and whey cheese. 3 = The filling material of the last group consists of a mixture of 1:2 cheese crumbs and whey cheese, respectively.

\*\*0 = It refers to the microbiological characteristics of the initial filling materials.

Microbial cultivation and counting of the resulted colonies were done in duplicate and the results were given as means ± S.D. of log cfu per gram

There is no statistical difference between the results indicated by the same superscript capital letter within the column of the same microorganism ( $p > 0.05$ ).

There is no statistical difference between the results indicated by the same superscript small-case letter within the each same row ( $p > 0.05$ ).

The organisms belonging to the family ENTR are important in relation to food spoilage and food safety aspects of diverse foods. These organisms have also been used as indicators of microbial quality and hygiene. However, the presence of low levels of ENTR in foods is accepted and does not represent a direct safety concern. Pasteurization of milk and prevention of post processing contamination can effectively control these organisms (Anand and Griffiths, 2011). According to the results, the highest ENTR count was detected in the 3rd group as 7.30 log cfu/g on the first day, while the lowest ENTR count was in the 2nd group as 2.80 log cfu/g at the end of the storage period. It was determined that the ENTR counts decreased significantly in all samples during the storage period ( $p < 0.05$ ), excepting the 15th and 21st days of the 2nd group ( $p > 0.05$ ). When the three groups were evaluated between each other, it was seen that the 3rd group contained the most ENTR during and after the storage period ( $p < 0.05$ ). This is thought to be directly related to the amount of whey cheese of the samples since the filling material of the 3rd group contains more whey cheese than the other two groups. Whey cheese is a product that is conducive to the development of pathogens. As lactic acid bacteria are not employed in the production of this sort of cheese, pathogens that constitute a risk in milk products can conveniently reproduce (Kamber, 2007).

*E. coli* has been used to indicate fecal contamination and the effectiveness of sanitation programs in different matrices and ready-to-eat foods (Buchanan and Oni, 2012). The count of *E. coli* in cheeses produced from whey should not exceed 2 log cfu/g according to the Turkish Food Codex Regulation on Microbiological Criteria in terms of process hygiene (Anonymous, 2011). On the other hand, according to TS 591, white cheese samples should not contain any *E. coli* in terms of microbiological features (Anonymous, 2013). According to the results of the present study, *E. coli* counts were determined in all samples as 3.71, 2.73 and 4.72 log cfu/g on the first day, respectively, but then it showed a decreasing trend in all three groups. In the first two groups, *E. coli* was not detected after 2 weeks, while in the last

group 1.79 log cfu/g *E. coli* was detected in the 3rd week, and no *E. coli* was detected in any of the products during the following periods.

The yeasts and moulds are important microbial contaminants in the dairy industry. One of the reasons for the short shelf life of fresh whey cheeses is due to the growth of yeasts and moulds (Irkın, 2011). As shown in Table 2, the counts of the yeasts and moulds increased significantly until the 30th day of storage but it decreased after 60th day and the counts of the groups were determined as 5.69, 5.32 and 5.40 log cfu/g on the 150th day of the storage, respectively. It was stated that a low pH (4.2-4.6) is not suitable for the growth of the most spoilage bacteria (Robinson et al., 2006), but may promote the growth of yeasts and moulds that may adversely affect the appearance and taste of cheese (Robinson et al., 2002). In the literature, there are various dairy products containing parallel and/or different values to the amount of yeasts and moulds detected in our research (Hayaloglu et al., 2008; Kırdar et al., 2018).

Lactic acid bacteria (LAB) have complex nutritional requirements that are found in rich nutritional environments such as fermented foods and are essential to the formation of these products (Tannock, 2004). In general, LAB from several genera, including *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, and *Leuconostoc* are predominant in fermented foods (Rezác et al., 2018). LAB are responsible for the development of the flavor and texture of the products by taking part in the fermentation and preservation of foodstuffs (Tannock, 2004). The competition between lactic flora and potential pathogen microorganisms, decreasing of pH, and  $a_w$  are considered positive factors in order to ensure the safety of dairy products (Astegiano et al., 2014). In the present study, the initial total lactobacilli counts of the three groups were 7.53, 8.14, and 9.16 log cfu/g, respectively. Then, these counts reached the highest level in all 3 groups on the 21st day and were determined as 10.92, 10.90, and 11.32 log cfu/g, respectively. At the end of the storage period, a decrease was observed only in the 3rd group compared to the initial count. On

the other hand, the initial lactic streptococci counts of lactic acid bacteria were determined as 6.91, 7.74 and 9.30 log cfu/g, respectively. Again, the decreasing trend was seen only in the 3rd group towards the end of the storage period and there were statistically significant differences between the groups in both lactobacilli and lactic streptococci counts at the end of the storage ( $p < 0.05$ ). According to these data mentioned in Table 2 and considering all these reviews, it can be stated that pickled pepper produced by using low value dairy by-products is rich in LAB and is a high added value fermented product.

### **Sensory evaluation results of the samples**

In the field of the food science, sensory analysis plays a major role in defining food quality. Because, sensory analysis can help identify imperative sensory characteristics driving acceptability and it can be useful to ascertain target consumers, product competitors and assess the new ideas (Singham et al., 2015; Yang and Lee, 2019). Sensory evaluation can determine the impact of scaling up pilot samples to large-scale manufacturing. Therefore, from a marketing perspective, in this study we aimed to determine which product formulation that mostly affects consumers' sensory satisfaction. According to the analysis, panelists assessed the samples in terms of six main sensory attributes (taste, smell, acidity, salty, visual appearance, general acceptability) and the results were depicted in Figure 3 by using spider/radar chart diagrams. Considering the results, it was observed that the highest scoring group was the 2nd in terms of all parameters. On the other hand, it was determined that the 1st and 2nd groups maintained the sensory quality criteria during the storage period of 4 months and this situation is considered to be a significant advantage in terms of sales and marketing.

Sensory evaluation is the most important criterion for acceptance or rejection of a food and appearance is the first characteristic perceived by the human senses having an important role in the identification and final selection of food (Sharif et al., 2017). In this regard, when the samples were evaluated in terms of visual appearance, it was observed that the 1st and 2nd groups had the

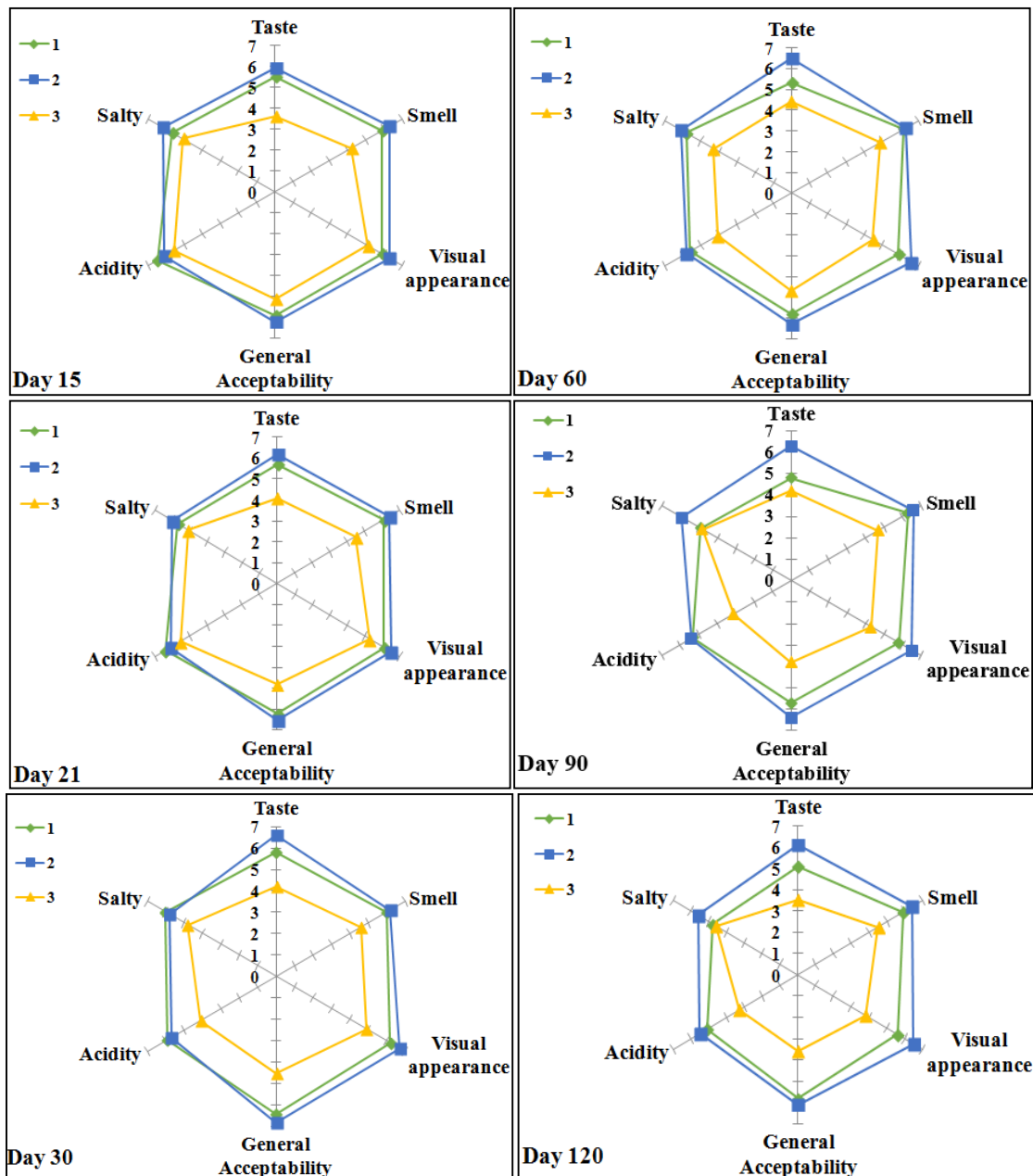
highest and closest scores in the first month, whereas there was a difference between the two groups starting from the 2nd month and the scores of the 1st group decreased but still did not lose its visual appealing (5.6-5.9).

Other parameters, taste and smell, play an important role in appetite, food preferences, and food intake (Schiffman and Graham, 2000). According to the results, the last group had the lowest taste score (3.5-4.4). In this regard, it can be said that the use of whey cheese alone or high rate in the production of pickled pepper may be negative for consumers who are not familiar with this product. Also, the taste scores decreased in all groups towards the end of the storage time and the same trend was observed in the appearance and general acceptability parameters. However, when the scores of the taste, appearance and general acceptability parameters of the 1st and 2nd groups were examined in the last month, it can be concluded that the samples did not lose their consumer appeal during the storage period. As for the smell, the 2nd group had the highest scores (6.2-6.6) for 4 months. In the 1st and 3rd group, while the scores given by the panelists at the beginning of pickle formation were low, an increase was observed in the following periods.

Salt contributes to sensory characteristics, such as the aroma profile of foods, by increasing the volatility of the aroma compounds, or mouthfeel, by affecting the lubricating properties of saliva (Koliandris et al., 2010). For salty taste, the highest scores were given to the 1st and 2nd groups by the panelists while the lowest scores were given to the last group. In the 3rd group, the increase of whey cheese in the filling material reduced the salt content of the samples, which caused the panelists to give a low score because expecting a certain salt content in a product such as pickles. However, it should be noted that the salt detection threshold differs significantly between males and females, therefore, individual salt detection and recognition thresholds alone are not a determining factor on consumer acceptability (Mitchell et al., 2013). Finally, the acidity of the 3rd group affected consumers negatively in the sensory evaluation and caused

the lowest scores to be given. This is thought to be caused by the lower pH of whey cheese (5.13) than cheese crumbs (5.51) that used in the preparation of the filling materials. In addition, it can be said that this situation is related to the increase in acidity more than other groups due to

the fact that lactic streptococci and lactobacilli growth is mostly in the 3rd group during the storage period. This is also consistent with the data in Tables 1 and 2, in which the results of the chemical and microbiological analyses are given.



- 1 = The first group consists of a mixture of 2:1 cheese crumbs and whey cheese, respectively.
- 2 = The second group consists of a mixture of 1:1 cheese crumbs and whey cheese.
- 3 = The last group consists of a mixture of 1:2 cheese crumbs and whey cheese, respectively.

Figure 3. Sensory analysis results of the samples for 4 months.

## CONCLUSIONS

In the present study, whey cheese and cheese crumbs were used in the production of pickled peppers in order to evaluate the dairy industry by-products in different ways. The chemical, microbiological, and sensory analyses were performed in 3 different formulations. According to the results of the chemical analysis, the total acidity, pH, salt and fat values of the samples varied according to the ratio of cheese crumbs and whey cheese used in the formulation and the lowest salt and fat content were determined in the 3rd group containing the highest whey cheese in its formulation. Considering the results of sensory analysis, the most favored group was the 2nd group (cheese crumbs and whey cheese, 1:1). In all samples, *E. coli* was not detected on day 21 when the products are known to be ready to eat. As a result, the utilizing area of dairy by-products was expanded with this study and the product formulation was diversified in the commercial production of pickled pepper that fermented with dairy ingredients. In addition, the product formulation, which is important for both consumer appeal and product characteristics, was optimized utilizing dairy by-products and the results obtained in the study were gained to the literature and food manufacturers.

## REFERENCES

- Ahmad, T., Aadil, R.M., Ahmed, H., Rahman, U.U., Soares, B.C.V., Souza S.L.Q., Pimentel, T.C., Scudino, H., Guimarães, J.T., Esmerino, E.A., Freitas, M.Q., Almada, R.B., Vendramel, S.M.R., Silva, M.C., Cruz, A.G. (2019). Treatment and utilization of dairy industrial waste: a review. *Trends Food Sci Technol*, 88: 361–372, doi: 10.1016/j.tifs.2019.04.003.
- Anand, S.K., Griffiths, M.W. (2011). Pathogens in milk: Enterobacteriaceae. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Smithers, G.W. (ed.), 2nd Edition, Volume 4, Elsevier Inc., Amsterdam, the Netherlands, pp. 67–71.
- Anonymous (2011). Turkish Food Codex Regulation on Microbiological Criteria. Official Gazette: 29.12.2011/28157 (Accessed: 28 November 2019).
- Anonymous (2013). White Cheese Standart. Institute of Turkish Standards, TS 591, Ankara (Accessed: 28 November 2019).
- AOAC (2000). Association of Official Analytical Chemists International Official Methods of Analysis. 17th Edition, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Astegiano, S., Bellio, A., Adriano, D., Bianchi, D.M., Gallina, S., Gorlier, A., Gramaglia, M., Lombardi, G., Macori, G., Zuccon, F., Decastelli, L. (2014). Evaluation of hygiene and safety criteria in the production of a traditional piedmont cheese. *Ital J Food Saf*, 28;3(3): 1705, doi: 10.4081/ijfs.2014.1705.
- Beinner, M.A., Soares, A.D.N., Barros, A.L.A., Monteiro, M.A.M. (2010). Sensory evaluation of rice fortified with iron. *Ciênc Tecnol Aliment*, 30(2): 516–519, doi: 10.1590/S0101-20612010000200034.
- Buchanan, R.L., Oni, R. (2012). Use of microbiological indicators for assessing hygiene controls for the manufacture of powdered infant formula. *J Food Prot*, 75(5): 989–997, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11-532.
- Chandra, R., Castillo-Zacarias, C., Delgado, P., Parra-Saldívar, R. (2018). A biorefinery approach for dairy wastewater treatment and product recovery towards establishing a biorefinery complexity index. *J Clean Prod*, 183: 1184–1196, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.02.124.
- Coşkun, F., Gök, S.B. (2012). Production of pickled peppers with milk using different lactic acid bacteria. The 3rd Traditional Food Symposium, 10–12 May, Konya, Turkey.
- Coşkun, F., Gök, S.B. (2018). Determination of changes during fermentation in pickled peppers with milk produced using different yeasts. The 3rd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 1–4 October, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.
- Ganju, S., Gogate, P.R. (2017). A review on approaches for efficient recovery of whey proteins from dairy industry effluents. *J Food Eng*, 215: 84–96, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.07.021.

- Garcia-Garcia, G., Woolley, E., Rahimifard, S., Colwill, J., White, R., Needham, L. (2016). A methodology for sustainable management of food waste. *Waste Biomass Valor*, 8(6): 2209–2227, doi: 10.1007/s12649-016-9720-0.
- Gomez, M., Martinez, M. M. (2018). Fruit and vegetable by-products as novel ingredients to improve the nutritional quality of baked goods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58(13): 2119–2135, doi: 10.1080/10408398.2017.1305946.
- Hayaloglu, A.A., Ozer, B.H., Fox, P.F. (2008). Cheeses of Turkey: 2. Varieties ripened under brine. *Dairy Sci Technol*, 88: 225–244, doi: 10.1051/dst:2007014.
- Helkar, P.B., Sahoo, A.K., Patil, N.J. (2016). Review: Food industry by-products used as a functional food ingredients. *Int J Waste Resour*, 6(3): 1–6, doi: 10.4172/2252-5211.1000248.
- Irkin, R. (2011). Shelf-life of unsalted and light “lor” whey cheese stored under various packaging conditions: microbiological and sensory attributes. *J Food Proces Pres*, 35: 163–178, doi: 10.1111/j.1745-4549.2009.00469.x.
- ISO (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 2: Colony-count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β-D-glucuronide. Reference number: ISO 16649-2:2001 (E). <https://www.sis.se/api/document/preview/617603/> (Accessed: 16 May 2019).
- ISO (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. Reference number: ISO 21527-1:2008. <https://www.iso.org/standard/38275.html> (Accessed: 16 May 2019).
- ISO (2015). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30 °C. Reference number: 15214:1998(R2015). <https://www.iso.org/standard/26853.html> (Accessed: 16 May 2019).
- ISO (2017). Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae. Part 2: Colony-count technique. Reference number: 21528-2:2017. <https://www.iso.org/standard/63504.html> (Accessed: 16 May 2019).
- Kamber, U. (2007). The traditional cheeses of Turkey: Cheeses common to all regions. *Food Rev Int*, 24(1): 1–38, doi: 10.1080/87559120701761833.
- Kırdar, S.S., Yurdakul, O.K., Kalıt, S., Kalıt, M.T. (2018). Microbiological changes throughout ripening of Keş cheese. *J Cent Eur Agric*, 19(1): 61–71, doi: 10.5513/JCEA01/19.1.2024.
- Koliandris, A.L., Morris, C., Hewson, L., Hort, J., Taylor, A.J., Wolf, B. (2010). Correlation between saltiness perception and shear flow behaviour for viscous solutions. *Food Hydrocoll*, 24: 792–799, doi: 10.1016/j.foodhyd.2010.04.006.
- Kowalska, H., Czajkowska, K., Cichowska, J., Lenart, A. (2017). What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends Food Sci Technol*, 67: 150–159, doi: 10.1016/j.tifs.2017.06.016.
- Krolczyk, B.J., Dawidziuk, T., Janiszewska-Turak, E., Solowiej, B. (2016). Use of whey and whey preparations in the food industry—a review. *Pol J Food Nutr Sci*, 66(3): 157–165, doi: 10.1515/pjfn-2015-0052.
- Mehta, B.M. (2015). Chemical composition of milk and milk products. In: *Handbook of Food Chemistry*, Cheung, P.C.K. and Mehta, B.M. (eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 511–553.
- Mitchell, M., Brunton, N.P., Wilkinson, M.G. (2013). The influence of salt taste threshold on acceptability and purchase intent of reformulated reduced sodium vegetable soups. *Food Qual Prefer*, 28: 356–360, doi: 10.1016/j.foodqual.2012.11.002.
- Najgebauer-Lejko, D., Grega, T., Tabaszewska, M. (2014). Yoghurts with addition of selected vegetables: Acidity, antioxidant properties and sensory quality. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 13(1): 35–42, doi: 10.17306/j.afs.2014.1.3.

- Reuter, G. (1985). Elective and selective media for lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 2(1–2): 55–68, doi: 10.1016/0168-1605(85)90057-1.
- Rezac, S., Kok, C.R., Heermann, M., Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Front Microbiol*, 9: 1785, doi: 10.3389/fmicb.2018.01785.
- Robinson, R.K., Tamime, A.Y., Wszolek, M. (2002). Microbiology of fermented milks. In: *Dairy Microbiology Handbook, The Microbiology of Milk and Milk Products*, Robinson, R.K. (ed.), 3rd Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 376–430.
- Robinson, R.K., Lucey, J.A., Tamime, A.Y. (2006). Manufacture of yoghurt. In: *Fermented Milks*, Tamime, A.Y. (ed.), Blackwell Publishing, London, pp. 53–75.
- Román, S., Sánchez-Siles, L.M., Siegrist, M. (2017). The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends Food Sci Technol*, 67: 44–57, doi: 10.1016/j.tifs.2017.06.010.
- Sarkar, B., Chakrabarti, P.P., Vijaykumar, A., Kale, V. (2006). Wastewater treatment in dairy industries-possibility of reuse. *Desalination*, 195: 141–152, doi: 10.1016/j.desal.2005.11.015.
- Schiffman, S.S., Graham, B.G. (2000). Taste and smell perception affect appetite and immunity in the elderly. *Eur J Clin Nutr*, 54(3): 54–63, doi: 10.1038/sj.ejcn.1601026.
- Sharif, M.K., Butt, M.S., Sharif, H.R., Nasir, M. (2017). Sensory evaluation and consumer acceptability. In: *Handbook of Food Science and Technology*, Hui, Y.H. and Sherkat, F. (eds.), 1st Edition, Chapter 14, CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 361–386.
- Sharma, S.K., Bansal, S., Mangal, M., Dixit, A.K., Gupta, R.K., Mangal, A.K. (2016). Utilization of food processing by-products as dietary, functional, and novel fiber: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(10): 1647–1661, doi: 10.1080/10408398.2013.794327.
- Singham, P., Birwal, P., Yadav, B.K. (2015). Importance of objective and subjective measurement of food quality and their inter-relationship. *J Food Process Technol*, 6(9): 1–7, doi: 10.4172/2157-7110.1000488.
- Siró, I., Kapolna, E., Kapolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-a review. *Appetite*, 51: 456–467, doi: 10.1016/j.appet.2008.05.060.
- Tannock, G.W. (2004). A special fondness for lactobacilli. *Appl Environ Microbiol*, 70(6): 3189–3194, doi: 10.1128/AEM.70.6.3189-3194.2004.
- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D.A., Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. *Int J Mol Sci*, 15: 15638–15678, doi: 10.3390/ijms150915638.
- Torres-León, C., Ramírez-Guzman, N., Londoño-Hernandez, L., Martínez-Medina, G. A., Díaz-Herrera, R., Navarro-Macias, V., Alvarez-Pérez, O.B., Picazo, B., Villarreal-Vázquez, M., Ascacio-Valdes, J., Aguilar, C.N. (2018). Food waste and byproducts: an opportunity to minimize malnutrition and hunger in developing countries. *Front Sustain Food Syst*, 2(52): 1–17, doi: 10.3389/fsufs.2018.00052.
- Wong, Y.M., Show, P.L., Wu, T.Y., Leong, H.Y., Ibrahim, S., Juan, J.C. (2018). Production of bio-hydrogen from dairy wastewater using pretreated landfill leachate sludge as an inoculum. *J Biosci Bioeng*, 127(2): 150–159, doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.07.012.
- Yang, J., Lee, J. (2019). Application of sensory descriptive analysis and consumer studies to investigate traditional and authentic foods: A review. *Foods*, 8(54): 1–17, doi: 10.3390/foods8020054.

## YOĞURT VE KEFİR KULLANILARAK ÜRETİLEN TEREYAĞLARININ BAZI ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Elif Ayşe Anlı<sup>1\*</sup>, Tuba Şanlı<sup>1</sup>, Ebru Şenel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 18.01.2020; Kabul / Accepted: 03.04.2020; Online baskı / Published online: 04.05.2020

Anlı, E.A., Şanlı, T., Şenel, E. (2020). Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının bazı özelliklerinin incelenmesi. *GIDA* (2020) 45(3) 461-472 doi: 10.15237/gida.GD20019

Anlı, E.A., Şanlı, T., Şenel, E. (2020). Investigating some properties of butters produced by using yogurt and kefir. *GIDA* (2020) 45(3) 461-472 doi: 10.15237/gida.GD20019

### ÖZ

Çalışmada hammadde olarak yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağı örneklerinin genel bileşim özellikleri, bazı kalite parametreleri ve duyu özellikleri depolamanın 1., 30. ve 60. günlerinde karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Farklı starter kültür kullanılarak üretilen hammaddelere bağlı olarak, tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tereyağı örneklerinin lipolitik ve oksidatif stabilitesinin göstergesi olan asit ve peroksit değerleri, yoğurt ve kefirden üretilen tereyağı örneklerinde sırasıyla 0.89-1.11 mg KOH/g yağ ve 0.19-0.40 mek O<sub>2</sub>/kg yağ arasında saptanmıştır. Söz konusu değerler tereyağında tat bozukluklarının olduğu bildirilen sınır değerlerin altında bulunmuştur. Örnekler arası renk farklılığını ortaya koyan ΔE değerine göre özellikle depolamanın 30. gününde kefirden üretilen tereyağının renginin belirgin olarak farklı olduğu saptanmıştır. Duyusal analiz sonuçlarına göre, yapı ve görünüş özellikleri bakımından örnekler arasında belirgin fark olmadığı, buna karşın; tat ve koku ve genel kabul edilebilirlik özellikleri yönünden örnekler arasında farklılık olduğu ve kefirden üretilen tereyağı örneğinin daha fazla beğenildiği saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Yayıt tereyağı, Kefir, Yoğurt, duyu değerlendirme.

## INVESTIGATING SOME PROPERTIES OF BUTTERS PRODUCED BY USING YOGURT AND KEFİR

### ABSTRACT

In this study, general composition, some quality parameters and sensory characteristics of butter samples produced by using yogurt and kefir were analyzed comparatively on the 1<sup>st</sup>, 30<sup>th</sup> and 60<sup>th</sup> days of storage. In butter samples significant difference was observed in titratable acidity values depending on the use of different starter cultures. Acid degree and peroxide values representing lipolytic and oxidative stability in the samples were determined as 0.89-1.11 mg KOH/g fat and 0.19-0.40 mek O<sub>2</sub>/kg fat, respectively. These characteristics were found lower than the limits given in regulations at which some flavor defects occur. A distinct color difference, represented by ΔE, was observed in butter produced by kefir on the 30<sup>th</sup> day. Although there was no distinct difference in appearance and texture of the butter samples, taste, flavor and general acceptability characteristics were found different and butter produced by using kefir was liked more than the other sample.

**Keywords:** Yayıt butter, Kefir, Yogurt, sensory evaluation.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ kocaoglu@agri.ankara.edu.tr,

☎ (+90) 312 596 1775

☎ (+90) 312 318 2219

Elif Ayşe Anlı; ORCID no: 0000-0002-0524-4851

Tuba Şanlı; ORCID no: 0000-0001-6747-2617

Ebru Şenel; ORCID no: 0000-0003-0797-621X



## GİRİŞ

Tereyağı, süt yağının konsantre edilmesi ile elde edilen bir süt ürünüdür. Son üründe ağırlıkça en az %80 süt yağı içermektedir (Anonymous, 2005). Endüstriyel ölçekte tereyağı üretiminde hammadde olarak krema kullanılmasına karşın, geleneksel üretimde yoğurt kullanılmaktadır (Hayaloğlu ve Konar, 2001, Sağdıç vd., 2002). Türk Gıda Kodeksi Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği'ne göre, Yayıt tereyağı "üretiminde hammadde olarak yoğurt kullanılmasıyla elde edilen tereyağı" olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2005). Yayıt tereyağı, üretiminde kullanılan hammadde yoğurda bağlı olarak sahip olduğu karakteristik özellikleri ile tüketiciler tarafından daha fazla talep görmektedir (Sağdıç vd. 2002; Şenel 2006; Haddar, 2017).

Kefir, orijini olan Kafkaslardan tüm dünyaya yayılmış olan fermente bir süt ürünüdür (Garrote vd., 2000; Guzel - Seydim vd., 20011; Bengoa vd., 2018). Fermente süt ürünleri içerisinde yoğurt dünyada en fazla bilinen ve yaygın tüketime sahip ürün iken, 20. yüzyıl itibarıyla kefir kanıtlanmış sağlık faydaları nedeniyle popüler duruma gelmiş ve bu yüzyılın yoğurdu olarak kabul görmeye başlamıştır (Simova vd., 2002; Randazzo vd., 2016). Kefir, laktoz intoleransı semptomlarının azaltması, bağışıklık sistemini desteklemesi, kolesterolü düşürmesi ve antimikrobiyel etki göstermesi gibi birçok fonksiyonel özelliğe sahiptir (Guzel-Seydim vd., 2011; Oliveira Leite vd., 2013; Marsh vd., 2014; Dimitrellou, vd., 2015; Gao ve Li 2016; Weschenfelder vd., 2018). Anonymous (2009)'a göre Kefir "Fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefirii*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü" olarak tanımlanmaktadır. Geleneksel kefir üretiminde süt, kefir daneleri kullanılarak fermente edilirken, endüstriyel üretimde ticari kefir starter kültürleri kullanılmaktadır. Üretimde starter kültür kullanımı standart ürün elde

edilmesini olanaklı kılmaktadır (Beshkova vd., 2002; Oliveira Leite vd., 2013).

Son dönemde tüketicinin gıda seçimi ve gıda-sağlık ilişkisi konularında farkındalığının artmasıyla, sağlığa faydalı özelliği bulunan ürünlerin üretimine yönelik ilgi artmıştır. Kefir ve kefir kültürleri kullanılarak üretilen ürünler GRAS statüsü ile fonksiyonel süt ürünleri içerisinde kullanım potansiyeline sahiptir. Kefir kültürü kullanılarak üretilen yoğurt başta olmak üzere dondurma, peynir, peynir altı suyu içeceği, tarhana, sürk vb. ürünler üzerine çalışmalar yapıldığı bildirilmiştir (Esmek ve Güzeler, 2015).

Yayıt tereyağı üzerine bugüne kadar yapılmış bazı çalışmalarda, yayık tereyağının fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri (Hayaloğlu ve Konar 2011), farklı tür sütlerden üretilen yayık tereyağlarının özellikleri (Sağdıç vd., 2004; Şenel vd., 2011), yayık tereyağı bazı üretim parametreleri (Şenel, 2006; Öztekin Öztürk, 2010), yayık tereyağı üretiminde farklı starter kültür kullanımı (Haddar, 2017) ve yayık tereyağının aroma profiline ilişkin konular (Şenel vd., 2015) araştırılmıştır. Tereyağına fonksiyonel özellik kazandırmak üzere üretimde probiyotik starter kültürlerin kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Erkaya vd., 2015; Bellinazo vd., 2019). Karaca vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen kefir kültürü ile fermente edilmiş kremadan tereyağı üretimi üzerine bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada ise, hammadde olarak sağlık üzerine olumlu özelliklere sahip fermente bir ürün olan kefirin tereyağı üretiminde kullanım olanağı araştırılmıştır. Hammadde kefir mikrobiyotasının üretilen tereyağının genel nitelikleri, duyuşal özellikleri ve raf ömrü üzerine olası etkileri yoğurttan üretilen tereyağı ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Tereyağı örneklerinin üretiminde hammadde olarak kullanılan yoğurt ve kefir, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvancılık İşletmesi'nden temin edilen inek sütü ile üretilmiştir. Yoğurt üretimi için YO-MIX R06 LYO (500 DCU, Danisco, Germany) ve kefir

üretimi için kefir danesi mikroflorası, kefir mayası, laktik asit bakterileri (*Lactococcus lactis* subsp, *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp. ve *Streptococcus thermophilus*) içeren CHOOZIT® Kefir DC (LYO 1000 l, Danisco, Germany) marka ticari starter kültürleri kullanılmıştır.

### Yöntem

Deneme örneklerinin üretimi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama işletmesinde Şekil 1'de verilen üretim şemasına göre gerçekleştirilmiştir. Yayıt tereyağı örneklerinin üretiminde Şenel (2006) tarafından önerilen üretim parametreleri kullanılmıştır. Elde edilen deneme örnekleri +4 °C de 60 gün süreyle depolanmış ve depolamanın 1., 30. ve 60. günlerinde analiz edilmiştir. Deneme 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### Kimyasal analizler

Yayıt tereyağı örneklerinde toplam kurumadde içeriği gravimetrik yöntemle ve yağ içeriği Gerber yöntemiyle belirlenmiştir (Anonymous, 1995). Su içeriği (%), gravimetrik yöntemle elde edilen toplam kurumadde değerleri kullanılarak matematiksel olarak hesaplanmıştır. Titrasyon asitliği, Anonymous (1995) tarafından bildirilen yöntemle yapılmış ve sonuçlar Soxhlet-Henkel (°SH) cinsinden hesaplanarak verilmiştir.

Deneme örneklerinin serum pH değerlerinin belirlenmesi için, yaklaşık 50 g tereyağı örneği 40 °C su banyosunda yaklaşık 2 saat bekletilmiş ve üstte kalan yağ fazı ayrıldıktan sonra altta kalan serum kısmının pH değeri dijital pH-metre ile (MP 225, Mettler-Toledo GmbH, Giessen, Germany) ölçülmüştür. Ayrılan yağ fazından ise deneme örneklerinin asit değeri ve peroksit değeri tayininde kullanılmak üzere (40 °C de etüvde kaba filtre kâğıdından süzülerek) saf süt yağı elde edilmiştir. Örneklerin peroksit sayısı (mek O<sub>2</sub>/kg yağ) ve asit değeri (mg KOH/g yağ) depolama günlerinde Downey (1975) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiş ve sırasıyla, eşitlik 1 ve 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Peroksit sayısı} \left( \frac{\text{mek } O_2}{\text{kg yağ}} \right) = \left( \frac{\mu\text{gFe}}{\text{gyağ}} \times 55.85 \right) = F / (m \times 55.85) \quad (1)$$

F: Okunan absorbans değerine karşılık gelen demir miktarı, µg Fe

m: Analiz edilen yağ miktarı, g

55.85: Demir klorürün molekül ağırlığı (g/gmol)

$$\text{Asit değeri} \left( \frac{\text{mgKOH}}{\text{gyağ}} \right) = \frac{(\text{Sarfiyat} \times \text{Normalite} \times 56.1)}{\text{Örnek miktarı (g)}} \quad (2)$$

### Renk analizi

Örneklerin renk özelliklerini ifade eden L\*, a\* ve b\* değerleri, depolamanın 1., 30. ve 60. günlerinde renk ölçüm cihazı (Konica Minolta CR 410, Sensing Inc., Osaka, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. Kefirden üretilen tereyağının renk özelliği bakımından yoğurt kullanılarak üretilen tereyağından olası farklılığını belirlemek için ΔE değeri hesaplanmıştır. Chudy vd. (2019) tarafından bildirilen eşitlik (3) kullanılarak yapılan bu hesaplamada yoğurt kullanılarak üretilen tereyağı kontrol örneği olarak kabul edilmiş ve kefirde üretilen tereyağı örneklerinde depolama günlerinde meydana gelen değişim gözlemlenmiştir.

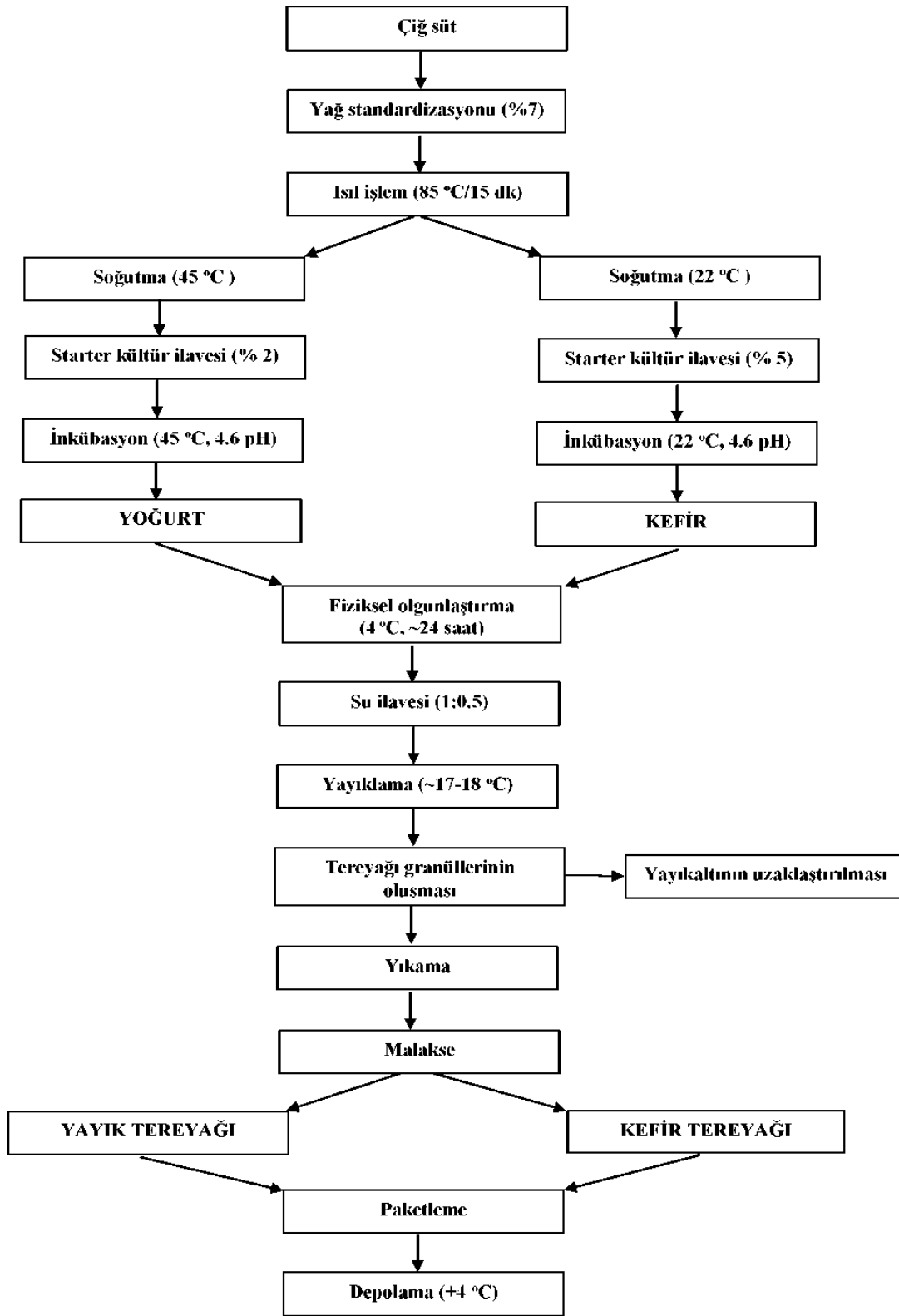
$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

### Duyusal değerlendirme

Deneme örneklerinin duyuşal özellikleri, 8 kişilik deneyimli panelist ekip tarafından depolamanın 1., 30. ve 60. günlerinde değerlendirilmiştir. Tereyağı örneklerinde tat, koku, yapı, görünüş ve genel kabul edilebilirlik özellikleri bakımından yapılan değerlendirmede 10 tam puan üzerinden hazırlanmış olan skala (10- mükemmel, 1- aşırı kötü) kullanılarak puanlama testi uygulanmıştır (Altuğ- Onoğur ve Elmacı, 2015). Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının duyuşal özellikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

### İstatistiksel analiz

İki tekerrürlü olarak gerçekleştirilen çalışmada, elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS (SPSS Version 20.0,



Şekil 1. Yoğurt ve kefirden yayık tereyağı üretimi  
Figure 1. Yayık butter production flow chart by using yogurt and kefir

IBM Corp. Armonk, NY, USA, 2011) programı kullanılmıştır. Örnekler arası farklılığın karşılaştırılmasında bağımsız gruplar arası t-testi, depolama günleri arasındaki verilerin karşılaştırılmasında ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. İstatistiksel olarak önemli olan farklılıklar ( $P < 0.05$ ) Tukey testi ile belirlenmiştir.

**ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA**  
Deneme örneklerinin üretiminde kullanılan yoğurt ve kefirin genel bileşim özelliklerine ilişkin değerler Çizelge 1’de verilmiştir. Yoğurt ve kefir için anılan özellikler Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğine uygun bulunmuştur (Anonymous 2009).

Çizelge 1. Tereyağı üretiminde kullanılan yoğurt ve kefirin bileşim özellikleri  
*Table 1. Proximate composition of yogurt and kefir used in butter production*

Örnek <i>Sample</i>	Yağ <i>Fat (%)</i>	Kurumadde <i>Dry matter (%)</i>	Titrasyon asitliği <i>Titrateable acidity (°SH)</i>
Yoğurt <i>Yogurt</i>	4.91±0.43	14.23±1.17	31.11±1.25
Kefir <i>Kefir</i>	4.98±0.54	14.07±1.47	32.04±0.51

Tablo değerleri ortalama±std sapma olarak verilmiştir. (n=2)  
*Values in the table are given as mean±std deviation. (n=2)*

Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağı örneklerinin yağ ve su içerikleri Çizelge 2’de verilmiştir. Yağ ve su içerikleri bakımından örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Tereyağı örnekleri yağ ve su içeriği yönünden Anonymous (2005)’de belirtilen yasal düzenlemelere uygunluk göstermektedir.

Çizelge 2. Tereyağı örneklerinin yağ ve su oranları  
*Table 2. Fat (%) and water ratio (%) of butter samples*

Örnek <i>Sample</i>	Yağ <i>Fat (%)</i>	Su oranı <i>Water ratio (%)</i>
YT	82.85±0.92	15.14±0.64
KT	82.80±0.99	15.47±0.33

YT: Yoğurt kullanılarak üretilen tereyağı, KT: Kefir kullanılarak üretilen tereyağı

Tablo değerleri ortalama±std sapma olarak verilmiştir. (n=2)

YT: *Butter produced by yogurt*, KT: *Butter produced by kefir*  
*Values in the table are given as mean±std deviation. (n=2)*

Yoğurt ve kefirden üretilen Yayı tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği ve serum pH’larına ait ortalama değerler standart hatalarıyla birlikte Çizelge 3’de verilmiştir. Tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin üretildikleri hammadde yoğurt ve kefir için belirlenen değerlerden (Çizelge 1) oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık kurumadde

unsurlarının yayıklama esnasında büyük oranda yayıkaltına geçmesi ile ilişkilendirilmektedir. Elde edilen tereyağında miktarca düşük olan yağsız kurumadde içerisinde, asitlik unsurlarının da az olması, daha düşük titrasyon asitliğine sebep olmaktadır (Şenel, 2006).

Yoğurt ve kefirden üretilen tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği düzeyleri sırasıyla, 1.33-3.11 ve 2.67-4.00 °SH değer aralıklarında belirlenmiştir. Tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Bu durum hammadde olarak kullanılan yoğurt ve kefirin üretiminde kullanılan starter kültür aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir

Şenel (2006), çalışmasında Yayı tereyağlarında titrasyon asitliğinin 3.01-4.65 °SH değer aralıklarında değiştiğini saptamıştır. Bununla birlikte, Hayaloğlu ve Konar (2001), yaptıkları çalışmada yayık tereyağı örneklerinde titrasyon asitliğini 2.22-9.77 °SH ve Sağdıç vd., (2002), 8.00-23.33 °SH olarak belirlemişlerdir. Literatürde elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar, Yayı tereyağlarının üretiminde hammadde olarak kullanılan yoğurtların asitlik düzeylerindeki farklılıklar ile açıklanmaktadır (Şenel, 2006).

Çizelge 3. Depolama süresince tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği, serum pH, asit değeri ve peroksit sayısı değerleri

Table 3. Changes in titratable acidity, serum pH, acid degree value and peroxide value of butter samples during storage period

Örnek Sample	Depolama (gün) Storage period (day)	Titrasyon Asitliği (°SH) Titratable acidity (°SH)	Serum pH Serum pH	Asit Değeri (mg KOH/g yağ) Acid degree value (mg KOH/g fat)	Peroksit Değeri (mek O <sub>2</sub> /kg yağ) Peroxide value (mek O <sub>2</sub> /kg fat)
YT	1	1.78±0.01*	4.37±0.06	1.01±0.01	0.40±0.30
	30	1.33±0.00*	4.48±0.01	1.07±0.05	0.22±0.15
	60	3.11±0.01	4.45±0.13	1.11±0.02	0.28±0.06
KT	1	3.55±0.03*	4.43±0.00	0.89±0.13	0.38±0.19
	30	2.67±0.00*	4.36±0.09	0.95±0.06	0.22±0.09
	60	4.00±0.100	4.55±0.00	1.07±0.04	0.19±0.06

YT: Yoğurt kullanılarak üretilen tereyağı, KT: Kefir kullanılarak üretilen tereyağı

Tablo değerleri ortalama±std sapma olarak verilmiştir. (n=2)

Aynı sütunda \* ile belirtilen örnek ortalamaları arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (P < 0.05)

YT: Butter produced by yogurt, KT: Butter produced by kefir

Values in the table are given as mean±std deviation. (n=2)

Difference between sample averages indicated by \* in the same column was significant (P < 0.05)

Serum pH değerleri açısından örnekler arasındaki farklılığın ve depolama süresinin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur (P > 0.05). Yoğurttan üretilen Yayı tereyağı örneğinde depolamanın 1. gününde 4.37 pH olarak belirlenen serum pH değerinin, 30. günde 4.48 pH değerine yükseldiği ve 60. günde 4.45 pH'a düştüğü belirlenmiştir. Kefirden üretilen tereyağı örneğinde ise, depolamanın 1. gününde 4.43 pH olarak belirlenen değer, 30. günde 4.36 pH'a düştüğü ve 60. günde tekrar 4.55 pH'a yükseldiği tespit edilmiştir. Depolama süresince serum pH değerlerinde belirlenen artışın hammadde olarak kullanılan yoğurt ve kefirin sahip olduğu farklı mikroorganizma içeriğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. İlaveten, ortamda bulunabilecek maya-küf varlığının laktik asit bakterilerinin aktivitesini engelleyerek ortam pH'sında artışa sebep olabileceği bilinmektedir (Kılıç, 2010).

Şenel (2006) çalışmasında, 60. günlük depolama sürecinde yayık tereyağı örneklerinde serum pH'sı değerlerinin 4.02-4.66 değer aralıklarında olduğunu ve depolama süresinde serum pH değerlerinde meydana gelen değişimin önemli olmadığını belirlemiştir. Haddar (2017) çalışmasında, farklı starter kültür kullanarak üretilen yoğurtlardan elde ettiği yayık tereyağı örneklerinde serum pH değerlerinin 4.13-4.83

aralığında değiştiğini tespit etmiştir. Araştırmacı kullanılan starter kültürlerine ve bu kültürlerin depolama süresince aktivitelerinde meydana gelen değişimlere bağlı olarak serum pH değerinde de farklılıkların ortaya çıktığını bildirmiştir.

Trigliseritlerin hidrolizasyonu sonucu açığa çıkan serbest yağ asitlerinin miktarı tereyağında önemli bir kalite kriteridir (Şenel, 2006). Lipolizin derecesini ifade etmek için kullanılan bir parametre olan asit değeri, belirli miktar yağdaki toplam serbest yağ asitlerini nötralize etmek için gerekli sodyum veya potasyum hidroksit mg olarak miktarına karşılık gelmektedir. Bu değer belirli bir sınıra ulaşması durumunda ürünlerde ransit tat kusuru ortaya çıkabileceği bildirilmektedir (Downey, 1975). Yoğurt ve kefirden üretilen tereyağı örneklerinin asit değerlerine ait sonuçlar Çizelge 3'de verilmiştir. Örneklerin asit değerleri incelendiğinde, 0.89-1.11 mg KOH/g yağ aralığında olduğu belirlenmiştir. Bu değerler Downey (1980)'e göre krema tereyağlarında ransit tat için sınır değer olarak kabul edilen 1.5 mg KOH/g yağ değerinin altındadır. Deneme örneklerinin asit değerlerinin ürünün raf ömrünü kısıtlayıcı, duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilecek sınır değerlere ulaşmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3). İstatistiksel olarak yoğurt ve kefirden üretilen tereyağı örneklerinin asit değerleri arasındaki farkın önemli

olmadığı, aynı zamanda depolama süresinin de istatistiksel olarak önemli fark yaratmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Bununla birlikte, tereyağı örneklerinde depolama sürecinde asit değerlerinde bir miktar artış olduğu belirlenmiştir. Tereyağı örneklerinde depolama sürecinde asit değerlerinde belirlenen artış lipolitik mikroorganizma varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Rady ve Badr, 2003). Üründe bulunan mikroorganizmaların ısıya dayanıklı lipaz enzimlerinin varlığı sonucunda ürünlerde lipoliz gerçekleşmekte ve asit değeri artmaktadır (Şenel, 2006; Atamer, 2016).

Şenel (2006) çalışmasında Yayık tereyağlarının asit değerlerini 0.8-1.41 mg KOH/g yağ ve Öztekin Öztürk (2010) 0.76-1.19 mg KOH/g yağ değer aralıklarında belirlemişlerdir. Sağdıç vd., (2004) tarafından, farklı tür sütlerinden üretilen Yayık tereyağlarında (inek, koyun ve keçi) asit değerleri 0.65-0.72 mg KOH/g yağ aralığında bulunmuştur. Sağdıç vd., (2002) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise Yayık tereyağı örneklerinin asit değerlerinin 0.67-0.70 mg KOH/g yağ arasında değiştiği tespit edilmiştir. Asit değerinin süt türü, ürün bileşimi, kullanılan starter kültürün lipolitik aktivitesi, depolama koşulları ve depolama süresi olmak üzere birçok faktöre bağlı olarak değişebileceği bildirilmektedir (Sağdıç vd., 2004; Atamer, 2016).

Oksidasyon özellikle yağ içeriği yüksek süt ürünlerinde meydana gelen başlıca kimyasal değişimdir ve başta tat-aroma olmak üzere ürünün kalite özelliklerinde bozulmalara neden olmaktadır (Gonzalez vd., 2003; Şenel vd. 2011). Lipid oksidasyonunun derecesini ifade eden peroksit değeri, oksidasyonun başlangıç ürünleri olan hidroperoksitlerin düzeyinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (Gonzalez vd., 2003; Krause vd., 2008; Atamer, 2016; Şenel vd., 2011). Doymamış yağ asitleri ve oksijen varlığı oksidasyonda etkili en önemli faktörlerdendir (Şenel vd., 2011). Tereyağı örneklerinde depolama sürecinde belirlenen peroksit değerleri Çizelge 3'te verilmiştir. Yoğurt ve kefirden üretilen tereyağı örneklerinin peroksit değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Downey (1975),

tereyağlarında peroksit sayısı 2.0 mek  $O_2$ /kg yağ değerinin üzerinde olduğunda tat bozukluklarının ortaya çıktığını belirtmiştir. Tereyağı örneklerinin peroksit değerleri incelendiğinde, değerlerin 0.19-0.40 mek  $O_2$  kg/yağ aralığında değişim gösterdiği ve tat bozukluklarının ortaya çıktığı bildirilen sınır değerin oldukça altında olduğu belirlenmiştir. Depolama süresince örneklerin peroksit değerlerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Bilindiği gibi oksidasyonda başlangıç ürünleri olan hidroperoksitler depolama süresince parçalanmakta ve peroksit değeri azalmalar meydana gelebilmektedir (Şenel, 2006). Bununla birlikte, depolama süresinde peroksit değerlerinde meydana gelen değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Tereyağı homojen ve açık sarı renk ile karakterize edilmektedir. Mevsimsel değişiklikler, hayvanın beslenmesinde yeşil veya kuru yemlerin kullanılması, mikrobiyal kontaminasyon, kullanılan hammadde, üretim esnasında uygulanan işlemler, tuzlama, renk maddesi ilavesi, aşırı veya yetersiz malakse işlemi, ambalajlama hataları, depolama süresince meydana gelen bozulma reaksiyonları (oksidasyon) tereyağlarının görünüş ve renk özellikleri üzerinde etkili faktörlerdir (Atamer, 2016). Tereyağı örneklerinin depolama süresince renk özelliklerinde belirlenen değerler Çizelge 4'de verilmiştir. CIELAB renk skalasında göre  $L^*$  değeri (0=siyah, 100=beyaz) arasında değişen ve bir materyalin beyazlık/parlaklık özelliğini simgelerken,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri skalada (-) ve (+) değerler olarak materyalin sırasıyla yeşillik/kırmızılık ve mavilik/sarıklık özelliğini simgelemektedir (Pathare vd., 2013). Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağı örneklerinin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri bakımından farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). İlâveten, depolama süresince örneklerin renk özelliklerinde meydana gelen değişimin de istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Tereyağı örneklerinin renk değerlerinde elde edilen benzer sonuçlar, özellikle parlaklık üzerine etkili olan yağ içeriği ve su oranlarındaki benzerlik (Çizelge 2) ile ilişkilendirilebilir.

Çizelge 4. Tereyağı örneklerinde depolama süresince belirlenen renk değerleri  
 Table 4. Color attributes of butter samples determined during storage period

Örnek Sample	Depolama (gün) Storage period (day)	L*	a*	b*
YT	1	81.62±1.45	-2.64±0.08	18.95±0.41
	30	83.52±0.97	-3.22±0.49	19.31±0.19
	60	82.34±1.82	-2.64±0.09	19.24±0.17
KT	1	80.45±0.01	-2.62±0.06	18.67±1.46
	30	81.76±0.79	-3.50±1.17	18.78±0.32
	60	80.95±1.61	-2.59±1.17	18.69±0.54

YT: Yoğurt kullanılarak üretilen tereyağı, KT: Kefir kullanılarak üretilen tereyağı

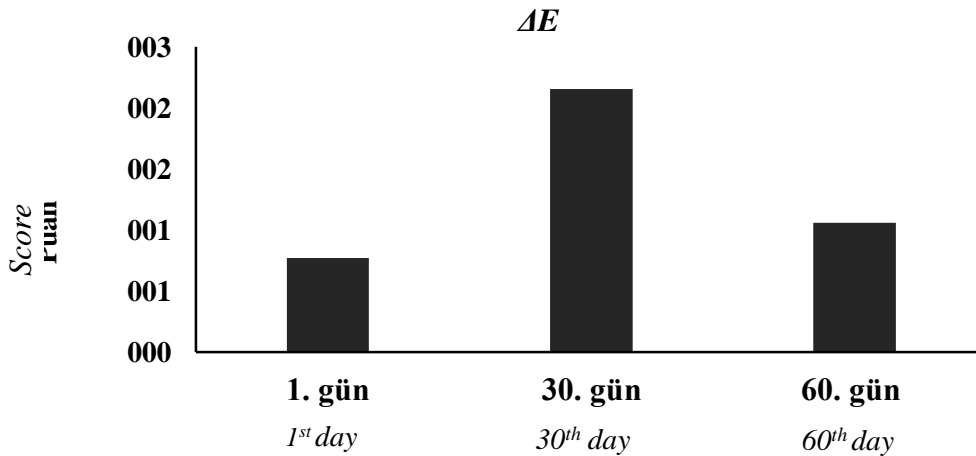
Tablo değerleri ortalama±std sapma olarak verilmiştir. (n=2)

YT: Butter produced by yogurt, KT: Butter produced by kefir

Values in the table are given as mean±std deviation. (n=2)

Örneklerin sarı renk bölgesinde yer alan (+) b değerleri, 30. günde artarak en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Tereyağlarında depolama süresince sarılık özelliklerinde artışın meydana gelebileceği Atamer (2016) tarafından belirtilmiştir. Benzer şekilde, Şimşek (2011) çalışmasında Yayıkt tereyağı örneklerinin b\* değerlerinin sarı renk bölgesinde yer aldığını belirlemiştir. Tereyağı örnekleri a\* değerleri bakımından değerlendirildiklerinde ise yeşil renk özelliği bölgesinde yer aldıkları tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Kefirden üretilen tereyağının, yoğurttan üretilen tereyağına göre renk özelliği bakımından farklılığını ortaya koymak üzere  $\Delta E$  değeri hesaplanmıştır (Eşitlik 3).  $\Delta E > 3$ ,  $1.5 < \Delta E < 3$  ve  $\Delta E < 1.5$  sırasıyla çok belirgin, belirgin ve az farklılık olarak ifade edilmektedir (Pathare vd., 2013; Chudy vd., 2019). Kefirden üretilen tereyağı örneğinde depolama günlerinde hesaplanan  $\Delta E$  değerleri yoğurttan üretilen tereyağına göre renkteki farklılığın, depolamanın 30. gününde belirgin olduğunu göstermiştir (Şekil 2).

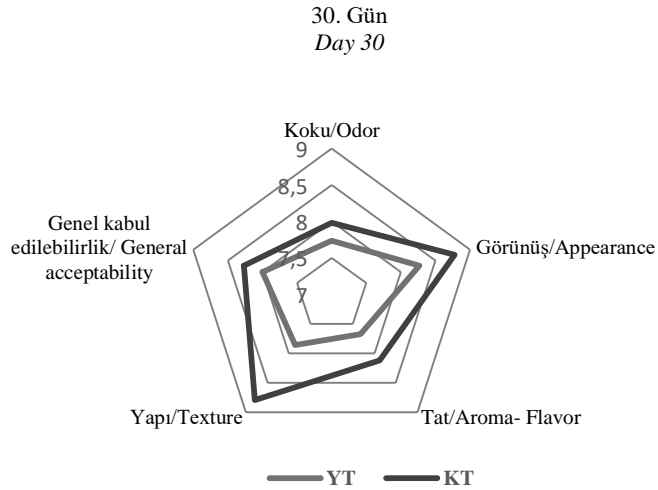
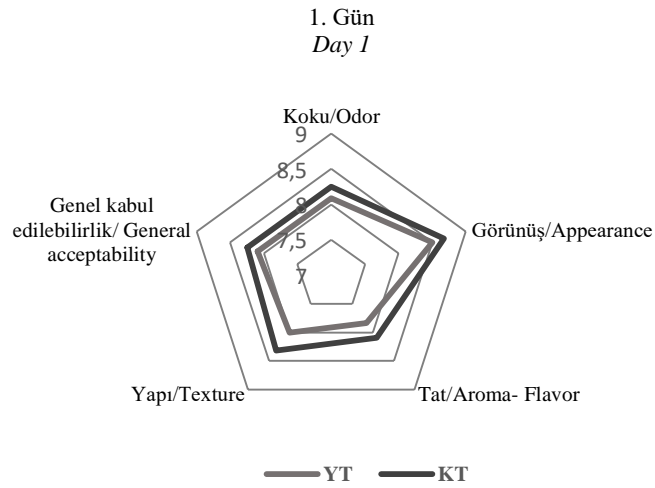


Şekil 2. Depolama süresince kefirde üretilen tereyağı örneklerinin  $\Delta E$  değerleri

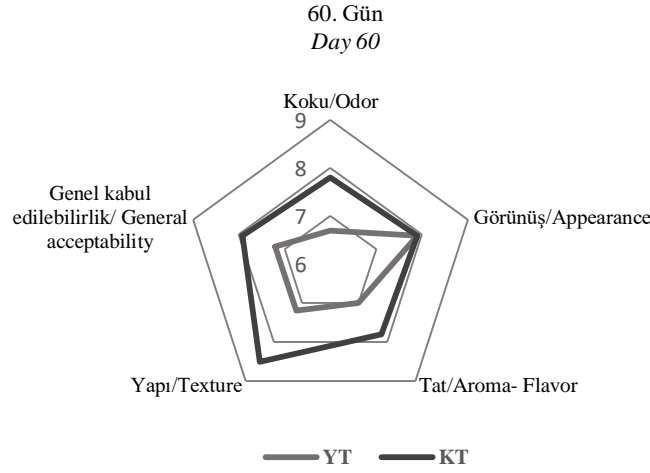
Figure 2.  $\Delta E$  values of butter produced by kefir during storage period

Yayı tereyağı örneklerinde tat, koku, yapı, görünüş ve genel kabul edilebilirlik yönünden istatistik farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Yayı tereyağı örneklerinin depolama süresince tat, koku, yapı, görünüş ve genel kabul edilebilirlik yönünden sonuçları Şekil 3'de verilmiştir. Tüm bu özellikler yönünden tüm depolama günlerinde kefir hammaddesi kullanılarak üretilen Yayı tereyağı örneklerinin

daha yüksek puanlarla değerlendirildiği görülmektedir. Panelistler tarafından depolama süresince örneklerin tat, koku, yapı, görünüş özellikleri yönünden herhangi bir kusur ifade edilmemiştir. Benzer sonuçlar Şenel vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada Yayı tereyağı örnekleri için 60 günlük depolama süresince elde edilmiştir.







YT: Yoğurt kullanılarak üretilen tereyağı, KT: Kefir kullanılarak üretilen tereyağı  
YT: *Butter produced by yogurt*, KT: *Butter produced by kefir*

Şekil 3. Depolama süresince tereyağı örneklerinin duyu özellikleri  
Figure 3. Sensory properties of butter samples during storage period

Çalışmadan elde edilen sonuçlar kefir kullanılarak üretilen tereyağının genel bileşim özellikleri, depolama stabilitesi ve duyu özellikleri bakımından yoğurttan üretilen tereyağına benzer olduğunu ve kefirin fonksiyonel özellikleri nedeniyle tereyağına daha üstün bazı özellikler kazandırabilmek için iyi bir alternatif olabileceğini göstermiştir. Gıda ve sağlık arasındaki ilişkinin önem kazandığı günümüzde tereyağı üretiminde 21. yüzyılın yoğurdu olarak kabul edilen kefirin kullanılmasıyla ürünün ticarileşmesinin tüketici ve süt endüstrisi açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

Altug-Onogur, T., Elmaci, Y. (2015) Farklılık Testleri. İçinde: Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Sidas Medya Ltd. Şti, İzmir, Türkiye, s. 39-61.

Anonymous (1995). TS 1331 Tereyağı Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous (2005). Türk gıda kodeksi. Tereyağı, Diğer süt yağı esaslı sürülebilir ürünler ve sadeyağ tebliği (Tebliğ No: 2005/19). TC. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.

Anonymous (2009). Türk gıda kodeksi. Fermente süt ürünleri tebliği (Tebliğ No: 2009/25) TC. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.

Atamer, M. (2016). Tereyağı üretimi. İçinde: *Tereyağı Teknolojisi*, Sidas Medya Ltd. Şti, İzmir, Türkiye, s. 107-113.

Bellinazo, P.L., Soares Vitola, H.R., dos Santos Cruxen, C.e., Kreutz Braun, C.L., dos Santos Hackbart, H.C., da Silva, W.P., Fiorentini, A.M. (2019). Probiotic butter: Viability of *Lactobacillus casei* strains and bixin antioxidant effect (*Bixa orellana* L.). *J Food Process Preserv*, 43(9), doi: 10.1111/jfpp.14088.

Bengoa, A.A., Iraporda, C., Garrote, G.L., Abraham, A.G. (2018). Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk. *J Appl Microbiol*, 126, 686-700, doi: 10.1111/jam.14107.

Beshkova, D.M., Simova, E.D., Simov, Z.I., Frengova, G.I. Spasov, Z.N. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food Microbiol*, 19 (5): 537-544, doi:10.1006/yfmic.499.

Chudy, S., Makowska, A., Tek, M.P., Bartkowiak, M.K.N. (2019). Application of microwave vacuum drying for snack production:

- Characteristics of pure cheese puffs. *Int J Dairy Technol*, 72: 82-88, doi: 10.1111/1471-0307.12562.
- Dimitrellou, D., Kandyliş, P., Kourkoutas, Y., Koutinas, A.A., Kanellaki, M. (2015). Cheese production using kefir culture entrapped in milk proteins. *Appl Biochem Biotechnol*, 176: 213-230, doi: 10.1007/s12010-015-1568-4.
- Downey, W. K. (1975). Oxidative and hydrolytic rancidity in salted sweet cream and slightly salted ripened cream butter. In: *Butter Quality*. Dairy Research and Review Series No. 7. Published by An Foras Taluntais 19 Sandymount Avenue Dublin 4, 142 p.
- Downey, W.K. (1980). Risk from pre- and post manufacture lipolysis: Flavour impairment of milk and milk products due to lipolysis. *Int Dairy Fed*, 118: 4-18.
- Erkaya, T., Ürkek, B., Dogru, U., Çetin, B., Şengül, M. (2015). Probiotic butter: Stability, free fatty acid composition and some quality parameters during refrigerated storage. *Int Dairy J*, 49: 102-110, doi:10.1016/j.idairyj.2015.04.011.
- Esmek, E.M., Güzeler, N. (2015). Kefir ve kefir kullanılarak yapılan bazı ürünler. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 19: 250-258.
- Gao, X., Li, B. (2016). Chemical and microbiological characteristics of kefir grains and their fermented dairy products. A review. *Co-gent Food Agric*, 2: 1272152, doi:10.1080/23311932.2016.1272152.
- Garrote, G.L., Abraham, A.A.G., De Antoni, G.L. (2000). Inhibitory power of Kefir: The role of organic acids. *J Food Protec*, 63 (3): 364-369, doi:10.4315/0362-028x-63.3.364.
- Gonzalez, S., Duncan, S.E., O'Keefe, S.F., Sumner, S.S., Herbein, J.H. (2003). Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified acid profiles. *J Dairy Sci*, 86(1): 70-77, doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73585-1.
- Güzel-Seydim, Z., Kök Taş, T., Greene, K., Seydim, A.C. (2011). Review: Functional properties of Kefir. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51, 261-268, doi: 10.1080/10408390903579029.
- Haddar, M. (2017). Yayıık tereyağı üretiminde farklı starter kültür kullanım olanaklarının araştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 69 s.
- Hayaloğlu, A.A., Konar, A.A. (2001). Comparative study on physicochemical and sensorial properties of butter made from yogurt and cream. *Milchwissenschaft*, 56(12): 675-677.
- Karaca, Y., Gün, I., Seydim, A.C., Guzel-Seydim, Z.B. (2018). Production and quality of kefir cultured butter. *Mljekarstvo*, 68 (1): 64-72, doi: 10.15567/mljekarstvo.2018.0108.
- Kılıç, S. (2010). Maya ve küfler, *Süt Mikrobiyolojisi*. Sidas Medya Ltd. Şti, İzmir, Türkiye, s. 485-554.
- Krause, A.J., Miracle, R.E., Sanders, T.H., Deani L.L., Drake, M.A. (2008). The effect of refrigerated and frozen storage on butter flavor and texture. *J Dairy Sci* 91: 455-465, doi:10.3168/jds.2007-0717.
- Marsh, A.J., Hill, C., Ross, R.P., D.Cotter, P. (2014). Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends Food Sci Technol*, 38 (2): 113-124, doi:10.1016/j.tifs.2014.05.002.
- Oliveira Leite, A.M., Lemos Migue, M.A., Silva PeixotoI, R.S., Soares Rosado, A., Silva, J.T., Flosi Paschoalin, V.M. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Braz J Microbiol*, 44 (2): 341-349, doi:10.1590/S1517-83822013000200001.
- Öztekin Öztürk, F.Ş. (2010). Yoğurdun sulandırma oranı ve granüllerin yıkama sayısının yayık tereyağının nitelikleri üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 147 s.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Julanda Al-Said, F. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technol*, 6: 36-60, doi: 10.1007/s11947-012-0867-9.
- Rady, A.H., Badr, H.M. (2003). Keeping the quality of cows' butter by  $\gamma$ -irradiation. *Grasas*

- Acetates*, 54(4): 410-418, doi:10.3989/gya.2003.v54.i4.229.
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Antonietta Germanà, M., Erten, H., Moschetti, G., Settann, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiol*, 54: 40-51, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.018>.
- Sağdıç, A., Arici, M., Simsek, O. (2002). Selection of starters cultures for a traditional Turkish yayık butter made from yoghurt. *Food Microbiol*, 19: 303-312, doi:10.1006/yfmic.489.
- Sağdıç, O., Dönmez, M., Demirci, M. (2004). Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayık butter produced from goats', ewes' or cows' milk. *Food Control*, 15: 485-490, doi:10.1016/j.foodcont.2003.07.
- Simova, E., Behkova, D., Angeleov, A., Hristozova, TS., Frengova, G., Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 28: 1-6, doi: 10.1038/sj/jim/7000186.
- Şenel, E. (2006). Bazı üretim parametrelerinin yoğurttan üretilen Yayık tereyağlarının nitelikleri üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 168 s.
- Şenel, E., Atamer, M., Öztekin, Ş. (2010). Yayıklama Parametrelerinin Yayık Ayranı ve Yayık Tereyağının Bazı Nitelikleri Üzerine Etkisi. *GIDA*, 35 (4): 267-274.
- Şenel, E., Atamer, M., Oztekin, F.S. (2011). The oxidative and lipolytic stability of Yayık butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt. *Food Chem*, 127(1): 333-339, doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.012.
- Şenel, E., Atamer, M., Şanlı, T., Kocabaş, Z.; Türkmen, N. (2015). Geleneksel yayık tereyağının aroma karakterizasyonu ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Proje No:12B4347004, Ankara.
- Şimşek, B. (2011). Studies on the storage stability of yayık butter. *J Verbr Lebensm*, 6: 175-181, doi:10.1007/s00003-010-0622-y.
- Weschenfelder, S., Paim, M.P., Gerhardt, C., Carvalho, H.H.C., Wiest, J.M. (2018). Antibacterial activity of different formulations of cheese and whey produced with kefir grains. *Rev Ciênc Agron*, 49 (3): 443-449, doi: 10.5935/1806-6690.20180050.

## ŞANLIURFA YÖRESİNE ÖZGÜ TIRNAKLI (DÜZ) EKMEKTE BAZI KATKI MADDELERİNİN KULLANIMININ EKMEK KALİTESİNE ETKİSİ

Mehmet Köten<sup>1\*</sup>, Ahmet Sabri Ünsal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Kilis, Türkiye

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye

Geliş / Received: 25.10.2019; Kabul / Accepted: 28.04.2020; Online baskı / Published online: 09.05.2020

Köten, M., Ünsal, A.S. (2020). Şanlıurfa yöresine özgü tırnaklı (düz) ekmekte bazı katkı maddelerinin kullanımının ekmek kalitesine etkisi. *GIDA* (2020) 45(3) 473-484 doi: 10.15237/gida.GD19137

Köten, M., Ünsal, A.S. (2020). The effect of using some additives on bread quality of "tırnaklı (flat) ekmek" native to Şanlıurfa. *GIDA* (2020) 45(3) 473-484 doi: 10.15237/gida.GD19137

### ÖZ

Bu çalışmada Şanlıurfa yöresine özgü "Tırnaklı (düz) Ekmek"te bazı katkı maddelerinin kullanımının ekmek kalitesine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, buğday ununa %10, 20, 30 oranlarında durum buğday unu (A), %0.3, 0.6, 0.9 oranlarında DATEM (monoglisidlerin diasetil tartarik asit esterleri) (B) ve 25, 50, 75 mg/kg C vitamini (C) katılarak tırnaklı ekmek üretilmiş ve ekmekler 48 saat süreyle depolanmıştır. Çalışmada, katkılı unlarda farinograf ve ekstensograf özellikler ile depolamanın 1. 24. ve 48. saatlerinde ekmeklerde nem ve duyu özellikler belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, katkıların farinograf su absorpsiyonu, stabilite süresi, yumuşama derecesi ve yoğurma tolerans sayısı üzerine etkisi önemli ( $p<0.05$ ) bulunurken, gelişme süresi üzerine etkisi önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur. Oran artışına bağlı olarak katkıların askorbik asit hariç ekstensograf maksimum direnci artırdığı gözlenmiştir. Tüm depolama saatlerinde katkı kullanılarak üretilen ekmekler kontrole göre daha yüksek nem değerine sahip olmuştur. Depolama süresi boyunca tüm katkılı ekmeklerin tekstür ve tat-aroma puanları azalmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Ekmek katkı maddeleri, düz ekmek, ekmek kalitesi, depolama

## THE EFFECT OF USING SOME ADDITIVES ON BREAD QUALITY OF "TIRNAKLI (FLAT) EKMEK" NATIVE TO SANLIURFA

### ABSTRACT

In this study, the effects of some additives on quality of "Tırnaklı Ekmek", a common flat type bread in Şanlıurfa province, were investigated. For this purpose, tırnaklı ekmek was produced by adding 10, 20, 30% durum wheat flour (A), 0.3, 0.6, 0.9% DATEM (diacetyl tartaric acid esters of monoglycerides) (B), and 25, 50, 75 mg/kg vitamin C (C) to wheat flour and the breads were stored for 48 hours. In the study, the farinograph and extensograph properties of mixed flours, and the moisture and sensory properties of breads were determined at 1st, 24th and 48th hours of storage. According to the results, the effects of using additives on water absorption, stability time, mixing tolerans index and softening degree were significant ( $p<0.05$ ), but not significant ( $p>0.05$ ) on the development time. Results of extensographic measurements show that increasing levels of all additives improved the maximum resistance against extensograph, except for the ascorbic acid. At every stage of the storage, mixed breads had higher moisture values than the control. During of storage period, the texture and taste-aroma scores of all the breads with additive addition decreased.

**Keywords:** Bread additives, flat bread, bread quality, storage

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ mehmetkoten@gmail.com,

☎ (+90) 533 765 5569

☎ (+90) 348 813 9392

Mehmet Köten; ORCID no: 0000-0002-8232-8610

Ahmet Sabri Ünsal; ORCID no: 0000-0002-8012-3208

## GİRİŞ

Ekmek tüketimi, pirinç tüketiminin çok olduğu Doğu Asya ülkeleri dışında, Avrupa, Orta Doğu ülkeleri, Kuzey Afrika ve Amerika başta olmak üzere dünya genelinde oldukça yaygındır (Cingöz, 2018). Tahıla dayalı beslenmenin hâkim olduğu Türkiye, kişi başına ekmek tüketiminde dünyada ilk sırada yer almaktadır (Demir vd., 2009).

Kültürel alışkanlıklara ve kullanılan teknolojilere bağlı olarak dünyanın birçok ülkesinde çok farklı tipte ekmek yapılmaktadır. Tüketilen ekmeklerin büyük bölümünü francala tip ekmekler oluşturmasına karşın yöresel ekmeklerin tüketimi de oldukça fazladır. Bunlar arasında yer alan düz ekmekler, ülkemizin yanı sıra birçok Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinde yaygın olarak tüketilmektedir. Düz ekmekler batı tipi ekmekler de denilen yüksek hacimli tava ekmeklerinden farklı özelliklere sahiptir. Bu özelliklerden birkaçı düşük spesifik hacimli, yüksek kabuk ve düşük ekmek içi oranlarına sahip olmaları ve ayrıca yenilirken ağızda bıraktıkları yapışkanimsi yapının hissedilmesi olarak sayılabilir. Bu farklılıkların asıl nedeni düz ekmeklerin batı tipi tava ekmeklerine göre daha kısa fermantasyon süresine sahip olması ve daha yüksek pişirme sıcaklığı ile oluşan farklı geleneksel üretim koşullarıdır (Köten ve Ünsal, 2007).

Şanlıurfa ve yöresinde tüketimi oldukça yüksek düzeyde olan "tırnaklı ekmek" de düz ekmekler içerisinde yer almaktadır. Taze pişmiş tırnaklı ekmek yumuşak, esnek ve elastiktir. Öğünlük tüketilmek üzere alınan tırnaklı ekmek, hemen yenmezse birkaç saat içinde bayatlayıp sertleşebilmektedir.

Ekmeğin depolanması sırasında meydana gelen bayatlama olayı, sadece nişasta retrogradasyonu ve nem kaybıyla değil ayrıca polimerlerin tekrar oluşumu ve suyun transferiyle de alakalı olan son derece kompleks bir prostestir. Bu durumu önlemek ya da en aza indirmek için yapılan uygulamalar arasında en bilinenleri fırıncılık ürünlerine bayatlamayı önleyici katkı maddeleri ilave etmektir (Sungur, 2018).

Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde ekmek üretiminde kullanılmasına izin verilen diğer bileşenler; antimikrobiyal maddeler (kalsiyum propiyanat, sorbik asit vb.), emülgatörler, stabilizatörler, süt ve süt ürünleri (peynir altı suyu tozu, süt tozu vb.), tatlandırıcılar (sakkaroz, glikoz vb.), oksidanlar (askorbik asit), yağlar ve enzimler ( $\alpha$ amilaz, hemiselülaz, glikoz oksidaz, lipaz, proteaz vb.) olarak sınıflandırılmaktadır (Anonymous, 2013).

Bu katkı maddelerinden DATEM (monogliseridlerin diasetil tartarik asit esterleri), yağı seven (lipofilik) ve suyu seven (hidrofilik) iki gruptan oluşan yüzey aktif (sümfektant, emülgatör) madde olarak tanımlanmaktadır. Emülsiyon stabilitesini artırarak hamurun yapısını kuvvetlendirici, ekmek içi yapısını iyileştirici ve yumuşatıcı olarak da kullanılmaktadır (Gaupp ve Adams, 2014).

Hamurun ve ekmeğin niteliğini düzeltmek amacıyla kullanılan C vitamini, gluten yapısını kuvvetlendirirken hamurun işlenebilmesini de artırmaktadır. Una C vitamini katılmasıyla ekmek yapısının gelişmesi, hamurun dinlenme süresinin kısılması, hamurun olgunlaşmasının hızlanması, hamur ve ekmek hacminin artışı, gözeneklerde incelik ve homojenlik gibi gelişmeler gözlenmiştir (Dizlek ve Gül, 2007).

Makarnalık buğdaylardan elde edilen unlarda (durum buğday unu) daha fazla zedelenmiş nişasta oluşmaktadır. Zedelenmiş nişasta miktarının yüksek olması yoğurma sırasında unun daha fazla su almasına yol açmaktadır. Unun yoğurma sırasında fazla su alması, birim undan elde edilecek ekmek ağırlığı, kabuk yumuşaklığı ve ekmeğin raf ömrü bakımından oldukça önemlidir (Ma vd., 2016). Bu nedenle bu tip unların ekmek yapımında bir katkı maddesi olarak kullanılması ile ekmeğin bayatlamasını geciktireceği düşünülmektedir.

Ekmeğin beslenmedeki önemi ile tırnaklı ekmeğin Şanlıurfa ve yöresinde beğeniyle yoğun bir şekilde tüketimi göz önünde bulundurularak planlanan bu çalışmada, DATEM, C vitamini ve durum buğday ununun hamurun reolojik özelliklerine, tırnaklı ekmeğin bayatlama göstergesi olan su içeriğine ve

duyusal özelliklerine etkileri araştırılmıştır. Türkiye’de tüketimi oldukça yüksek düz ekmeğe konusunda az sayıda çalışma olmasına rağmen Şanlıurfa ve yöresine özgü tırnaklı düz ekmeğe konusunda yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda bu çalışmanın özgün bir çalışma niteliği taşıdığı söylenebilir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada, Adana ilinde faaliyet gösteren ÖZKAR Un Fabrikası San. Ltd. Şti.’den temin edilen ekmeğe buğday unu kullanılmıştır. Ekmeğe üretiminde kullanılan pres yaş maya ve rafine kristal tuz piyasadan temin edilmiştir. Ekmeğe formülasyonunda toz haldeki Beldem marka DATEM (monogliseridlerin diasetil tartarik asit esterleri) ve Roche marka C vitamini (L-askorbik asit) kullanılmıştır. Ayrıca formülasyona ilave edilen durum buğday unu ise Ankara Tarla

Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü’nden temin edilmiştir.

### Yöntem

Araştırmada kullanılan deneme deseni Çizelge 1’de gösterilmiştir. Buna göre formülasyonları birbirinden farklı 10 ayrı tırnaklı ekmeğe üretilmiştir. Bu amaçla, ekmeğe buğday ununa %10, 20, 30 oranlarında durum buğday unu (A), %0.3, 0.6, 0.9 oranlarında DATEM (monogliseridlerin diasetil tartarik asit esterleri) (B) ve 25, 50, 75 mg/kg düzeylerinde C vitamini (L-askorbik asit) (C) katılarak tırnaklı ekmeğe üretilmiş ve ekmeğe 48 saat süreyle oda sıcaklığında şeffaf poşetler içerisinde depolanmıştır. Tüm formülasyonlarda her 100 g. un+katkı maddesi karışımı için farinograf cihazında belirlenen su miktarının 5 birim üstünde su (56.6 mL ile 62.8 mL arasında) kullanılırken, 3 g maya ve 1.5 g tuz kullanılmıştır.

Çizelge 1. Ekmeğe formülasyonuna ilave edilen bileşenler ve kullanım oranları

Table 1. Components added to bread formulation and usage rates

Bileşenler Components	Kontrol Control	A* (%) (%) A*			B** (%) (%) B**			C*** (mg/kg) C*** (mg/kg)		
Kullanım miktarı Amount of usage	0	10	20	30	0.3	0.6	0.9	25	50	75

\*A: Durum buğday unu, \*\*B: DATEM, \*\*\*C: L-Askorbik asit (C vitamini)

\*A: Durum wheat flour, \*\*B: DATEM, \*\*\*C: L-Ascorbic acid (vitamin C)

Ekmeğe denemeleri, tırnaklı (düz) ekmeğe üretiminin yapıldığı yerel bir fırında gerçekleştirilmiştir. Ekmeğe, una farklı oranlarda DATEM (B), C vitamini (C) ve durum buğday unu (A) ilave edildikten sonra bu fırındaki tırnaklı ekmeğe üretim yöntemi uygulanarak elde edilmiştir. Ekmeğe yapımında kullanılan un karışımları ve diğer hammaddeler hamur yoğurucuda optimum hamur kıvamı elde edilinceye kadar yoğrulmuştur (10-15 dk). Hamur yapımında kullanılan su sıcaklığı  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından hamura yaklaşık 40 dakika, %80 nispi nem ve  $32^\circ\text{C}$ ’de kitle fermantasyonu uygulanmıştır. Fermantasyon sonunda hamur 230 gr olacak şekilde yumaklar haline getirilip 2. fermantasyona bırakılmıştır (~15 dakika). Daha sonra yumak şeklindeki hamurlar

yaklaşık 70-80 cm uzunluk, 25-30 cm en ve 1-1.5 cm kalınlığında düz bir şekle getirilip el ile üst yüzeye tırnaklama işlemi yapıldıktan ve özel karışım (%20 un ve %80 sudan oluşan bulamaç) sürüldükten sonra  $300-350^\circ\text{C}$ ’deki taş fırında 2-3 dakika pişirilmiştir. Pişirme işleminin ardından ekmeğe 10 dakika süre ile bez örtü arasında oda sıcaklığına soğutulup analize alınmıştır. Ekmeğelerdeki bayatlama 1, 24, 48 saat sonra yapılan nem ölçüleriyle değerlendirilmiştir.

### Kimyasal analizler

Buğday unu ve ekmeğe örneklerinin nem (metod 44-19), kül (metod 08-01) ve protein (metod içeriklerinin belirlenmesinde AACC metotları kullanılmıştır (AACC, 2002).

### **Fizikokimyasal analizler**

Tırnaklı ekmek üretiminde kullanılan buğday ununun yaş gluten, kuru gluten ve gluten indeksi (metod 38-12) değerleri AACC metoduna göre belirlenmiştir (AACC, 2002). Yaş gluten, gluten yıkama cihazında (Yücebaş Glutenatik, Türkiye) elde edildikten sonra bu amaçla geliştirilen cihazda santrifüjlenerek (Yücebaş Gluten indeksi, Türkiye) gluten indeksi değerleri belirlenmiştir. Yaş gluten, glutork cihazında kurutulup (Yücebaş Glutork, Türkiye) desikatörde soğutulduktan sonra tartılmış ve böylece kuru gluten değerleri elde edilmiştir. Ayrıca unda yapılan Zeleny sedimentasyon analizi ise ICC standart no: 116 metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (ICC, 2002).

### **Farinograf analizleri**

Su absorpsiyonu, hamur gelişme süresi, hamur stabilite süresi, yumuşama tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerleri AACC metod no: 54-21'e göre Brabender marka farinograf cihazında belirlenmiştir (AACC, 2002).

### **Ekstensograf analizleri**

Uzamaya karşı direnç ( $R_5$ ), uzamaya karşı maksimum direnç ( $R_m$ ), uzama yeteneği (E) ve ekstensogram alanı (A) değerleri AACC metod no: 54-10'a göre Brabender marka ekstensograf cihazında belirlenmiş (AACC, 2002) ve 135. dakikada çizilen kurvelerin ortalaması alınarak değerlendirme yapılmıştır.

### **Duyusal analizler**

Duyusal analizler Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde Basman ve Köksel (1999, 2001), Qarooni vd. (1993) ve Farvili vd. (1995) tarafından tanımlanan kriterler modifiye edilerek düzenlenen formların kullanılması suretiyle 10 kişiden oluşan panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistler örnekleri görünüş, tekstür, tat ve aroma özellikleri bakımından 1 ile 5 puan aralığında değerlendirmeye almıştır.

### **İstatistiksel analizler**

Tesadüf parselleri deneme planında faktöriyel dizaynına göre deneme kurulmuştur. Sonuçların değerlendirilmesinde SPSS paket programı kullanılmıştır (SPSSinc., 1998). Ortalama

değerlerin karşılaştırılması LSD testine göre MSTAT-C paket programında yapılmış ve %5 güven sınırına göre birbirinden farklı bulunan değerler çizelgelerde aynı harflerle gösterilmiştir.

### **SONUÇ ve TARTIŞMA**

#### **Tırnaklı Ekmek Üretiminde Kullanılan Unların ve Un+Katkı Maddeleri Karışımlarının Bazı Özellikleri**

Tırnaklı ekmek üretiminde hammadde olarak kullanılan ekmeklik unun ve bir katkı maddesi olarak kullanılan durum buğday ununun bileşimine ait değerler Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2'nin incelenmesiyle de görülebileceği gibi, çalışmada kullanılan un örneğinin kül ve protein dışında diğer tüm özellik değerlerinin Türk Gıda Kodeksine (Anonymous, 2013) uygun olduğu tespit edilmiştir. Durum buğday ununda saptanan özelliklere ait değerlerin de literatürle (Sayaslan vd., 2018; Pasqualone vd., 2017; Kaur vd., 2015; Torbica vd., 2011; Hatcher vd., 2009) uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Tırnaklı ekmek üretiminde kullanılan farklı düzeylerde katkı içeren un karışımlarının farinograf özelliklerine ait değerler Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi katkılı unların su absorpsiyonları farklılık göstermiştir. Genel olarak bakıldığında DATEM (B) ve C vitamini (C) katkılarının su absorpsiyonlarını kontrole göre düşürdüğü görülmüştür. Durum buğday unu (A) katkısının %10 düzeyinde kullanıldığı örnekte su absorpsiyonu kontrole göre yüksek bulunmasına karşın diğer düzeylerinde farklılık görülmemiştir. Su absorpsiyonu üzerine katkı ve katkı düzeylerinin etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Katkı kullanımının gelişme süresi üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

Stabilite süresi özellikle durum buğday unu (A) kullanımı ile önemli derecede artarken %0.9 DATEM (B) kullanımı ile azalmıştır. Yoğurma tolerans sayısı DATEM (B) kullanımı ile artmış diğer katkıların kullanımı ile düşmüştür. Yoğurma tolerans sayısı üzerine sadece katkı çeşidinin etkili olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yumuşama derecesi değerlerinde ise özellikle C vitamininin (C) kullanıldığı un örneklerinde kontrole göre önemli derecede artış söz konusu olmuştur

( $p < 0.05$ ). Stabilite süresi hamurun işlemeye karşı dayanıklılığının bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Stabilite süresi ne kadar uzun ise unun ekme kalitesi de o ölçüde iyidir (Coşkun, 1993). Çizelge 3'ten de görülebileceği gibi oran artışına paralel olarak durum buğday unu (A) ve DATEM (B) katkılarının kullanıldığı örneklerde yumuşama derecesi değerlerinin düştüğü, C vitamininin (C) kullanıldığı örneklerde ise arttığı saptanmıştır. Ancak DATEM (B) kullanımı ile yumuşama derecesi değerlerindeki düşüş istatistiksel olarak önemsiz ( $p > 0.05$ ) bulunmuştur. Yumuşama derecesi de kalite ile ilgili bir un özelliğidir. Yüksek yumuşama

dercesine sahip unlarda fermantasyon süresi kısa tutulmalı ve hamur kısa sürede işlenmelidir. Aksi durumlarda hamur çok çabuk yumuşamakta ve kıvamını kaybetme eğilimi göstermektedir (Uluöz, 1965). Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da (Al-Hamdani vd., 2019; Baratto vd., 2015; Ding ve Yang, 2013; Baiano ve Terracone, 2011; Sungur ve Ercan, 2011; Xiujin vd., 2007; Aamodt vd., 2003; Çelik vd., 2000; Ravi vd., 2000); una DATEM veya C vitamini ilavesi ve ilave edilen katkı oranının artışına bağlı olarak farinograf değerlerinde çalışmamıza yakın ve benzer sonuçlar bulunmuştur.

Çizelge 2. Araştırmada kullanılan un örneklerinin bazı özellikleri

Table 2. Some characteristics of the flour samples used in study

Örnek Sample	Özellikler Characteristics						
	Nem Moisture (%)	Kül Ash (%) <sup>*</sup>	Protein Protein (%) <sup>*1</sup>	Yaş gluten Wet gluten (%)	Kuru gluten Dry gluten (%)	Düşme sayısı Falling number (sn)	Sedimentasyon Sedimentation (ml)
Ekmeklik un Bread flour	11.13	0.62	7.94	28.30	9.68	324.50	26.60
Durum buğday unu Durum wheat flour	11.02	0.92	13.80	32.82	10.98	205.50	38.32

\*Kuru maddede hesaplanmıştır, <sup>1</sup>F= 5.7 alınmıştır

\*Calculated in dry matter, <sup>1</sup>F: 5.7 were taken

Tırnaklı ekme üretiminde kullanılan farklı düzeylerde katkı içeren un karışımlarının ekstensograf özelliklerine ait değerler Çizelge 4'te verilmiştir. 135. dakikada çizilen ekstensogram eğrisi temel alınarak yapılan değerlendirmeye göre katkı ve katkı düzeyleri tüm ekstensograf değerleri üzerine önemli ( $p < 0.01$ ) derecede etki göstermiştir. Farklı katkıların kullanılmasıyla hazırlanan karışımlardan hamurun uzamaya karşı gösterdiği maksimum direnç ( $R_m$ ) ve hamurun sabit deformasyondaki direnci ( $R_s$ ) katılan katkı düzeylerine bağlı olarak özellikle durum buğday unu (A) ve DATEM (B) katkılarının en düşük seviyelerinde kontrolden daha düşük veya aynı çıkarken diğer seviyelerinde önemli derecede yükselmiştir. DATEM (B) katkısının %0.6 ve C vitamininin (C) 25 mg/kg kullanıldığı örnekler dışında katkılar, ekstensogram alanını (enerji değeri) kullanım oranlarına bağlı olarak kontrole göre artırarak olumlu etkide bulunmuş ve en

yüksek dozlarında en yüksek enerji değerleri elde edilmiştir.

Hamurun uzamaya karşı dirençli olması unun gluteninin kuvvetli olduğunun göstergesi olup hamurun dayanma derecesini ifade etmekte ve gluten miktar ve kalitesiyle ilgili olmaktadır (Rasper ve Preston, 1991). Hamurun uzama yeteneği işlenebilme yeteneği ile ilgili olup özellikle düz ekme yapımında kullanılacak unlarda uzama yeteneğinin yüksek olması buna karşın uzamaya karşı gösterilen direncin de nispeten düşük olması istenmektedir (Coşkun, 1993). Çalışmamızdan elde edilen sonuçlarla uyumlu olarak farklı araştırmacılar da (Al-Hamdani vd., 2019; Ding ve Yang, 2013; Baiano ve Terracone, 2011; Sungur ve Ercan, 2011; Xiujin vd., 2007; Aamodt vd., 2003; Ravi vd., 2000; Çelik vd., 2000;) çalışmalarında benzer ve yakın ekstensograf değerlerini tespit etmişlerdir.



Çizelge 3. Farklı düzeylerde katkı içeren un karışımlarının farinograf değerleri  
Table 3. Farinograph values of flour mixtures containing different levels of additive

Katkılar* Additives	Katkı düzeyi Additive level	Su absorpsiyonu Water absorption (%)	Gelişme süresi Development time (d; minute)	Stabilite süresi Stability time (d; minute)	Yoğurma tolerans sayısı Mixing tolerance index (BU) <sup>1</sup>	Yumuşama derecesi Degree of softening (BU) <sup>1</sup>
Ekmeklik un Bread flour	0.0	54.00 ± 0.00 <sup>b(**)</sup>	1.19 ± 0.00	1.80 ± 0.33 <sup>e</sup>	56.90 ± 0.00 <sup>a</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>b</sup>
	10	54.55 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.33 ± 0.25	3.12 ± 0.69 <sup>cd</sup>	52.63 ± 8.27 <sup>ab</sup>	96.50 ± 4.95 <sup>b</sup>
A (%)	20	53.85 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.29 ± 0.09	5.03 ± 0.53 <sup>b</sup>	46.78 ± 16.54 <sup>ab</sup>	81.86 ± 0.00 <sup>cd</sup>
	30	53.90 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.31 ± 0.05	6.90 ± 0.85 <sup>a</sup>	35.09 ± 8.27 <sup>b</sup>	73.10 ± 4.14 <sup>d</sup>
B (%)	0.3	53.45 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.13 ± 0.04	1.76 ± 0.52 <sup>e</sup>	54.65 ± 19.30 <sup>a</sup>	99.41 ± 8.27 <sup>b</sup>
	0.6	53.40 ± 0.00 <sup>cd</sup>	1.21 ± 0.01	2.18 ± 0.11 <sup>de</sup>	61.40 ± 4.14 <sup>a</sup>	84.79 ± 4.14 <sup>c</sup>
	0.9	53.20 ± 0.00 <sup>e</sup>	1.31 ± 0.06	1.92 ± 0.05 <sup>e</sup>	65.60 ± 4.38 <sup>a</sup>	75.00 ± 0.00 <sup>d</sup>
C (mg/kg)	25	53.25 ± 0.07 <sup>de</sup>	1.18 ± 0.03	3.12 ± 0.47 <sup>cd</sup>	49.70 ± 4.13 <sup>ab</sup>	102.78 ± 3.93 <sup>ab</sup>
	50	53.20 ± 0.00 <sup>e</sup>	1.32 ± 0.05	3.37 ± 0.21 <sup>c</sup>	46.78 ± 8.27 <sup>ab</sup>	105.56 ± 0.00 <sup>ab</sup>
	75	53.50 ± 0.14 <sup>c</sup>	1.32 ± 0.05	3.49 ± 0.37 <sup>c</sup>	52.62 ± 0.00 <sup>ab</sup>	111.61 ± 8.55 <sup>a</sup>

\*A: Durum buğday unu, B: DATEM, C: L-Askorbik asit (C vitamini)

\*A: Durum wheat flour, B: DATEM, C: L-Ascorbic acid (vitamin C)

\*\*Çizelgede, her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p > 0.05$ )

\*\*When the columns are examined from top to bottom for each property in the table, the values indicated by the same letters are statistically different from each other ( $p > 0.05$ )

<sup>1</sup>Brabender Ünitesi <sup>1</sup>Brabender Units

Çizelge 4. Farklı düzeylerde katkı içeren un karışımlarının ekstensograf değerleri  
Table 4. Extensograph values of flour mixtures containing different levels of additive

Katkılar* Additives	Katkı düzeyi Additive level	Direnç Resistance (R <sub>s</sub> ) (BU) <sup>1</sup>	Uzama yeteneği Extensibility (mm)	Maksimum direnç Maximum resistance (R <sub>m</sub> ) (BU) <sup>1</sup>	Enerji değeri Energy value (cm <sup>2</sup> )
Ekmeklik un Bread flour	0.0	471.50 ± 28.99 <sup>de(**)</sup>	108.50 ± 4.95 <sup>abcd</sup>	529.50 ± 28.99 <sup>cd</sup>	82.00 ± 0.00 <sup>cd</sup>
	10	462.50 ± 21.92 <sup>def</sup>	122.00 ± 2.83 <sup>a</sup>	534.50 ± 12.02 <sup>cd</sup>	95.00 ± 0.00 <sup>ab</sup>
A (%)	20	490.50 ± 31.82 <sup>cd</sup>	112.50 ± 16.26 <sup>abc</sup>	553.50 ± 14.85 <sup>bc</sup>	88.50 ± 13.44 <sup>abcd</sup>
	30	571.00 ± 14.14 <sup>b</sup>	107.00 ± 2.83 <sup>bcd</sup>	653.00 ± 14.14 <sup>a</sup>	96.50 ± 2.12 <sup>a</sup>
B (%)	0.3	468.00 ± 24.04 <sup>de</sup>	116.50 ± 10.61 <sup>ab</sup>	533.00 ± 14.14 <sup>cd</sup>	90.00 ± 7.07 <sup>abc</sup>
	0.6	526.00 ± 14.14 <sup>bc</sup>	97.50 ± 4.95 <sup>d</sup>	589.50 ± 36.06 <sup>b</sup>	78.00 ± 8.49 <sup>d</sup>
	0.9	625.50 ± 33.23 <sup>a</sup>	101.00 ± 0.00 <sup>cd</sup>	692.00 ± 41.01 <sup>a</sup>	94.50 ± 3.54 <sup>ab</sup>
C (mg/kg)	25	464.50 ± 33.23 <sup>def</sup>	109.00 ± 5.66 <sup>abcd</sup>	521.00 ± 31.11 <sup>cde</sup>	80.50 ± 0.71 <sup>cd</sup>
	50	413.50 ± 4.95 <sup>f</sup>	120.00 ± 0.00 <sup>ab</sup>	471.50 ± 9.19 <sup>e</sup>	84.00 ± 1.41 <sup>bcd</sup>
	75	432.00 ± 2.83 <sup>ef</sup>	118.00 ± 2.83 <sup>ab</sup>	483.00 ± 7.07 <sup>de</sup>	85.00 ± 2.83 <sup>bcd</sup>

\*A: Durum buğday unu, B: DATEM, C: L-Askorbik asit (C vitamini)

\*A: Durum wheat flour, B: DATEM, C: L-Ascorbic acid (vitamin C)

\*\*Çizelgede, her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p > 0.05$ )

\*\*When the columns are examined from top to bottom for each property in the table, the values indicated by the same letters are statistically different from each other ( $p > 0.05$ )

<sup>1</sup>Brabender Ünitesi <sup>1</sup>Brabender Units

**Tırnaklı Ekmelerde Depolama Süresince Saptanan Nem Değerleri**

Ekmelerin fırından çıktıktan sonra 1, 24 ve 48 saat sonra ölçülen % nem içeriklerine ilişkin değerler Çizelge 5'te verilmiştir. Katkıların  $p < 0.05$  düzeyinde, depolama süresinin ise  $p < 0.01$

düzeyinde ekmelerin nem değerleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Çizelge incelendiğinde kontrolle birlikte tüm örneklerin nem değerlerinde depolama boyunca düşüş görülmüştür.

Çizelge 5. Ekmelerin depolama süresince saptanan nem değerleri  
Table 5. Moisture values determined during storage of breads

Katkılar* Additives	Katkı düzeyi Additive level	Depolama süresi (saat) Storage time (hour)		
		1	24	48
Kontrol Control	0.0	25.78 ± 1.60 <sup>bA(**)</sup>	24.61 ± 2.57 <sup>bB</sup>	23.71 ± 2.07 <sup>bC</sup>
	10	26.90 ± 1.48 <sup>aA</sup>	26.71 ± 0.30 <sup>aB</sup>	26.61 ± 1.03 <sup>aC</sup>
A (%)	20	26.92 ± 0.48 <sup>aA</sup>	26.73 ± 0.41 <sup>aB</sup>	26.10 ± 0.41 <sup>aC</sup>
	30	26.97 ± 3.41 <sup>aA</sup>	26.80 ± 0.41 <sup>aB</sup>	25.92 ± 0.83 <sup>aC</sup>
B (%)	0.3	25.98 ± 0.76 <sup>abA</sup>	26.38 ± 0.81 <sup>abB</sup>	23.24 ± 1.71 <sup>abC</sup>
	0.6	26.50 ± 0.10 <sup>abA</sup>	26.04 ± 2.30 <sup>abB</sup>	24.21 ± 1.16 <sup>abC</sup>
	0.9	27.65 ± 0.98 <sup>abA</sup>	26.60 ± 1.34 <sup>abB</sup>	25.80 ± 2.28 <sup>abC</sup>
C (mg/kg)	25	26.69 ± 1.68 <sup>bA</sup>	24.43 ± 0.16 <sup>bB</sup>	24.20 ± 1.41 <sup>bC</sup>
	50	24.07 ± 1.44 <sup>bA</sup>	24.08 ± 0.85 <sup>bB</sup>	24.00 ± 3.32 <sup>bC</sup>
	75	25.39 ± 1.22 <sup>bA</sup>	25.58 ± 1.70 <sup>bB</sup>	24.71 ± 3.92 <sup>bC</sup>

\*A: Durum buğday unu, B: DATEM, C: L-Askorbik asit (C vitamini)

\*A: Durum wheat flour, B: DATEM, C: L-Ascorbic acid (vitamin C)

\*\*Çizelgede, her bir katkı çeşidi için aynı sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p > 0.05$ ). Depolama süresine göre, sütunlar soldan sağa doğru incelendiğinde aynı büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p > 0.05$ )

\*\*In the table, the values indicated by the same small letters in the same column for each additive type are statistically different from each other ( $p > 0.05$ ). When the columns are examined from left to right according to storage time, the values shown with the same uppercase letters are statistically different from each other ( $p > 0.05$ )

Ekmekler arasında en yüksek nem içeriğine (%27.65) ilk yapılan ölçümde %0.9 DATEM (B) katkısı kullanılarak yapılan ekmeklerin, en düşük nem içeriğine (%23.24) ise 48. saatte yapılan ölçümlerde %0.3 DATEM (B) katkısı kullanılarak yapılan ekmeklerin sahip olduğu saptanmıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde durum buğday unu (A) katkılı örnekler depolama süresi boyunca daha yüksek nem değerlerine sahip olmuş ve nem düzeylerinde daha az düşüş olmuştur. Özer ve Atlan (1995), bazı katkı maddeleri kullanarak yaptıkları küçük ekmelerde nem değerinin depolama boyunca düştüğünü bildirmişlerdir. Toufeili vd. (1995), arap ekmeği üzerine yaptıkları araştırmalarında DATEM'in artan oranlarda ilavesiyle ekmeklerin nem düzeyinin arttığını ifade

etmişlerdir. Yine farklı araştırmacıların DATEM ve C vitamini katkılı ekmelerde yaptıkları çalışmalarda çalışmamızda elde ettiğimiz nem değerlerine yakın değerler bulunmuştur (Akin, 2015; Dizlek vd., 2013; Karatekin, 2008; Dizlek ve Gül, 2007).

**Tırnaklı Ekmelerde Depolama Süresince Elde edilen Duyusal Özellik Değerleri**

Tırnaklı ekmelerde 5 tam puan üzerinden değerlendirilmek üzere görünüş özelliğine ait duyusal analiz, depolamanın 1. saatinde; tekstür ve tat-aroma özelliklerine ait duyusal analizler ise depolamanın 1., 24. ve 48. saatlerinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 6'da gösterilmiştir.

Çizelge 6. Ekmeklerin depolama süresince saptanan duyusal özellik değerleri  
 Table 6. Sensory property values determined during storage of breads

Katkılar* <i>Additives</i>	Katkı düzeyi <i>Additive level</i>	Depolama süresi (saat) <i>Storage time (hour)</i>		
		1	24	48
Görünüş puanları <i>Appearance scores</i>				
Kontrol <i>Control</i>	0.0	4.05 ±0.01 <sup>ab</sup> (**)	-	-
A (%)	10	3.86 ±0.42 <sup>b</sup>	-	-
	20	4.54 ±0.03 <sup>a</sup>	-	-
	30	4.52 ±0.02 <sup>a</sup>	-	-
	0.3	4.39 ±0.28 <sup>ab</sup>	-	-
B (%)	0.6	4.28 ±0.06 <sup>ab</sup>	-	-
	0.9	4.35 ±0.02 <sup>ab</sup>	-	-
	25	3.84 ±0.76 <sup>b</sup>	-	-
C (mg/kg)	50	4.30 ±0.20 <sup>ab</sup>	-	-
	75	4.25 ±0.15 <sup>ab</sup>	-	-
Tekstür puanları <i>Texture scores</i>				
Kontrol <i>Control</i>	0.0	3.87 ±1.00 <sup>aA</sup> (**)	2.85 ±0.27 <sup>aB</sup>	2.55 ±0.07 <sup>aC</sup>
A (%)	10	4.19 ±0.71 <sup>aA</sup>	3.13 ±0.31 <sup>aB</sup>	2.65 ±0.21 <sup>aC</sup>
	20	4.50 ±0.04 <sup>aA</sup>	3.07 ±0.22 <sup>aB</sup>	2.89 ±0.20 <sup>aC</sup>
	30	4.27 ±0.47 <sup>aA</sup>	3.43 ±0.11 <sup>aB</sup>	2.68 ±0.29 <sup>aC</sup>
	0.3	4.09 ±0.06 <sup>aA</sup>	3.24 ±0.78 <sup>aB</sup>	3.03 ±0.33 <sup>aC</sup>
B (%)	0.6	4.40 ±0.25 <sup>aA</sup>	3.26 ±0.26 <sup>aB</sup>	2.74 ±0.20 <sup>aC</sup>
	0.9	4.69 ±0.08 <sup>aA</sup>	2.99 ±0.47 <sup>aB</sup>	2.39 ±0.11 <sup>aC</sup>
	25	4.21 ±0.02 <sup>abA</sup>	3.13 ±0.18 <sup>abB</sup>	2.50 ±0.44 <sup>abC</sup>
C (mg/kg)	50	3.96 ±0.06 <sup>abA</sup>	2.68 ±0.33 <sup>abB</sup>	2.57 ±0.04 <sup>abC</sup>
	75	3.65 ±0.25 <sup>abA</sup>	3.16 ±0.54 <sup>abB</sup>	2.79 ±0.35 <sup>abC</sup>
Tat-aroma puanları <i>Taste-aroma scores</i>				
Kontrol <i>Control</i>	0.0	4.16 ±0.75 <sup>A</sup> (**)	3.16 ±0.23 <sup>B</sup>	2.43 ±0.33 <sup>C</sup>
A (%)	10	4.33 ±0.47 <sup>A</sup>	2.93 ±0.50 <sup>B</sup>	2.44 ±0.27 <sup>C</sup>
	20	4.29 ±0.57 <sup>A</sup>	2.99 ±0.07 <sup>B</sup>	2.63 ±0.09 <sup>C</sup>
	30	4.36 ±0.47 <sup>A</sup>	3.13 ±0.13 <sup>B</sup>	2.99 ±0.02 <sup>C</sup>
	0.3	3.99 ±0.06 <sup>A</sup>	3.10 ±0.49 <sup>B</sup>	2.86 ±0.16 <sup>C</sup>
B (%)	0.6	4.38 ±0.57 <sup>A</sup>	3.15 ±0.54 <sup>B</sup>	2.87 ±0.25 <sup>C</sup>
	0.9	4.02 ±0.47 <sup>A</sup>	3.18 ±0.52 <sup>B</sup>	2.93 ±0.06 <sup>C</sup>
	25	4.04 ±0.13 <sup>A</sup>	3.02 ±0.24 <sup>B</sup>	2.55 ±0.07 <sup>C</sup>
C (mg/kg)	50	3.92 ±0.18 <sup>A</sup>	2.91 ±0.13 <sup>B</sup>	2.30 ±0.11 <sup>C</sup>
	75	3.74 ±0.29 <sup>A</sup>	2.96 ±0.37 <sup>B</sup>	2.51 ±0.45 <sup>C</sup>

\*A: Durum buğday unu, B: DATEM, C: L-Askorbik asit (C vitamini)

\*A: *Durum wheat flour*, B: DATEM, C: *L-Ascorbic acid (vitamin C)*

\*\*Çizelgede, her bir katkı çeşidi için aynı sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p>0.05$ ), Depolama süresine göre, sütunlar soldan sağa doğru incelendiğinde aynı büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p>0.05$ )

\*\**In the table, the values indicated by the same small letters in the same column for each additive type are statistically different from each other ( $p>0.05$ ), When the columns are examined from left to right according to storage time, the values shown with the same uppercase letters are statistically different from each other ( $p>0.05$ )*

Görünüş puanları üzerine katkıların kullanım düzeylerinin etkisi önemli bulunurken ( $p < 0.05$ ), kullanılan katkıların etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Ekmeklerde görünüş puanları incelendiğinde, bu puanların düzensiz bir değişim gösterdiği gözlenmiştir. Varinli vd. (2002), çeşitli katkı unları kullanarak yaptıkları bazlama ekmeklerinde dış görünüş puanları üzerine mısır unu, çavdar unu, pirinç unu ve yulaf ununun katkı düzeylerinin önemli bir etkisinin görülmediğini saptamışlardır. Boyacıoğlu (1993), çalışmasında durum buğday unu miktarının %25' in üzerine çıkarılması ile ekmeğin puanlarını düşürdüğünü bildirmiştir. Danza vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur.

Depolama süresi boyunca tüm katkı ekmeklerin tekstür puanlarında azalma tespit edilmiştir. Depolama boyunca gözlenen bu azalma istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Genel olarak bakıldığında tüm depolama süresi boyunca durum buğday unu (A) ve DATEM (B) katkı ekmeğin örnekleri kontrol ve C vitamini (C) katkı ekmeğin örneklerine göre daha yüksek tekstür puanlarına sahip olmuşlardır. Toufeili vd. (1995), arap ekmeği üzerine yaptıkları araştırmalarında DATEM'in artan oranlarda ilavesiyle ekmeklerin tekstür puanlarının düştüğünü ifade etmişlerdir. Ayrıca Akın (2015) ve Danza vd. (2014) tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile çalışmamızda elde edilen sonuçlar uyum içerisinde bulunmuştur.

Ekmeklerin tat-aroma puanları incelendiğinde katkıların ve katkı düzeylerinin etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Yine yapılan istatistiksel analizlerde depolamanın ekmeklerin tat-aroma puanları üzerine etkisinin önemli ( $p < 0.01$ ) olduğu bulunmuştur. Tüm ekmeklerin tat-aroma puanları depolama boyunca azalma göstermiştir (Çizelge 6). Depolama sonunda 50 mg/kg C vitamini (C) katkı ekmeğin örnekleri dışında tüm katkı ekmekler kontrole göre daha yüksek puan alırken en yüksek puana 2.99 ile %30 durum buğday unu (A) kullanılarak yapılan ekmeğin örnekleri sahip olmuştur. Varinli vd. (2002), soya unu ve mısır unu kullanarak ürettikleri bazlama ekmeklerinde %20 lik katkı

düzeyinin tat-aromada bozulmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Coşkun ve Karababa (2005), tritikale unu ilavesinin yufka ve lavash ekmeklerinin tat-aroma puanlarını artırdığını saptamışlardır. Başman ve Köksel (1999), bazlama ekmeği üzerine yaptıkları çalışmalarında arpa unu ve buğday kepeği ilavesinin ekmeklerin tat-aroma puanlarını düşürdüğünü bulmuşlardır. Toufeili vd. (1995), araştırmalarında arap ekmeği üretiminde %0.25 DATEM kullanıldığında duyu özelliklerinin etkilenmediğini ve %0.50 oranında kullanıldığında ekmeğin kalitesinin düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar Akın (2015) ve Danza vd. (2014) tarafından yapılan çalışmalarda bildirilmiştir.

### SONUÇ

Elde edilen sonuçların incelenmesiyle; durum buğday unu ilavesinin hamurun bazı reolojik özelliklerine olumlu etkisinin diğer katkılara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle farinograf özelliklerinden stabilite, yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesini olumlu yönde etkilediği; ekstensograf özelliklerinden enerji değerini artırdığı, direnç ve maksimum direnç değerlerini artırdığı saptanmıştır. DATEM (B) ve durum buğday unlarının (A) düşük oranlarda kullanılmasının uzama yeteneğini artmasına karşılık, daha yüksek oranlarda düşük uzama yeteneği değerleri saptanmıştır. Ekmeklerde yapılan nem ölçümlerinde genel olarak bakıldığında durum buğday unu ilave edilmiş örnekler depolama süresi boyunca daha yüksek nem değerlerine sahip olmuş ve nem düzeylerindeki düşüş daha az oranda olmuştur. Tekstür özellikleri üzerine DATEM (en yüksek oranının kullanıldığı 48. saat ölçümleri hariç) ve durum buğday ununun yine tüm depolama süresi boyunca olumlu etkide bulunduğu saptanmıştır.

Tüm bu veriler ışığında, tırnaklı ekmeğin üretiminde durum buğday ununun belirli oranlarda kullanılabilmesi düşünülmektedir. Bölgenin makarnalık buğday yetiştirilmesine elverişli olması da konuya ekonomik bir boyut kazandırmaktadır. Ayrıca bu çalışma, kullanılan katkı maddelerinin değişik kombinasyonlarının da kullanılarak

tırnaklı ekme ve benzer tip düz ekmelerde yapılacak araştırmalara ışık tutacaktır.

### TEŞEKKÜR

Bu makale Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 408 proje numarası ile desteklenen “Şanlıurfa Yöresine Özgü Tırnaklı (Düz) Ekmelerde Bazı Katkı Maddelerinin Ekmek Kalitesine Etkileri Üzerine Bir Araştırma” başlıklı Yüksek Lisans Tezi esas alınarak hazırlanmıştır.

### KAYNAKLAR

AACC, (2002). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of Analyses 10th Edition, The Association: St. Paul, MN.

Aamodt, A., Magnus, E.M., Faergestad, E.M. (2003). Effect of flour quality, ascorbic acid, and DATEM on dough rheological parameters and hearth loaves characteristics. *Food Chem Toxicol*, 68(7): 2201-2210.

Akın, M.E. (2015). Süne ve kımlı zararı görmüş buğday ununun askorbik asit ve kuvvetli buğday unu paçalıyla “Tırnaklı Ekmek” yapımına uygunluğunun belirlenmesi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 81 s.

Al-Hamdani, H., Altimmemi, S., Ahmed, T., Attea, S. (2019). The use of vitamin C on improving the rheological properties of some weak local wheat varieties. *Plant Arch*, 19(1): 1075-1080.

Anonymous, (2013). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Resmi Gazete, 30 Haziran 2013, Sayı: 28693.

Baiano, A., Terracone, C. (2011). Dough rheology and bread quality of supplemented flours. *CYTA-J Food*, 9(3): 180-186.

Baratto, C., Becker, N.B., Gelinski, J.M.L.N., Silveria, S.M. (2015). Influence of enzymes and ascorbic acid on dough rheology and wheat bread quality. *Afr J Biotechnol*, 14(46): 3124-3130.

Başman, A., Köksel, H. (1999). Properties and composition of Turkish flat bread (Bazlama)

supplemented with barley flour and wheat bran. *Cereal Chem*, 76: 506-511.

Basman, A., Köksel, H. (2001). Effect of barley flour and wheat bran supplementation on the properties and composition of Turkish flat bread, Yufka. *Eur Food Res Technol*, 212:198-202.

Boyacıoğlu, M.H. (1993). Durum buğdayı ve ekmeklik buğday unu karışımlarının bazı katkı maddeleriyle birlikte ekme yapımında kullanımı. Makarnalık Buğday ve Mamülleri Simpozyumu, 30 Kasım-3 Aralık 1993, Ankara, Türkiye, s 352-365.

Cingöz, A. (2018). Hidrotermal işlem görmüş kepeklerin ekme kalitesi ve besleyicilik değerine etkisi. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Tokat, Türkiye, 177 s.

Coşkun, Y., Karababa, E. (2005). Studies on the quality Turkish flat breads based on blends of triticale and wheat flour. *Int J Food Sci Technol*, 40: 469-479.

Coşkun, Y. (1993). Çukurova bölgesinde yetiştirilen bazı buğday çeşitlerinin tek ve iki katlı düz ekme üretimine uygunluğu ile ekşi hamurun kalite üzerine etkisinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye 149 s.

Çelik, S., Sivri, D., Köksel, H. (2000). Bazı katkı maddelerinin ekme özellikleri üzerine etkisi. *GIDA*, 26(1): 3-8.

Danza, A., Mastromatteo, M., Cozzolino, F., Lecce, L., Lampignano, V., Laverse, J., Alessandra Del Nobile, M. (2014). Processing and characterization of durum wheat bread enriched with antioxidant from yellow papper flour. *LWT-Food Sci Technol*, 59: 479-485.

Demir, M.K., Elgün, A., Argun, M.Ş. (2009). Sütçülük yan ürünlerinden peynir altı, yayık altı ve süzme yoğurt suları katkılarının bazı ekme özelliklerine etkileri üzerine bir araştırma. *GIDA*, 34(2): 99-106.

Ding, S., Yang, J. (2013). The influence of emulsifiers on the rheological properties of wheat

- flour dough and quality of fried instant noodles. *LWT- Food Sci Technol*, 53: 61-69.
- Dizlek, H., Çimer, H., Altan, A. (2013). Vital buğday gluteninin ve L-askorbik asidin buğday kepekli ekmeklerin bazı nitelikleri üzerine etkileri. *GIDA*, 38(2): 87-94.
- Dizlek, H., Gül, H. (2007). L-askorbik asit ve ekmeçilikteki işlevleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1): 26-34. ISSN 1304-998.
- Farvili, N., Walker, C.E., Qarooni, J. (1995). The effect of protein content of flour and emulsifiers on tanoor bread quality. *J Cereal Sci*, 26: 137-143.
- Gaupp, R., Adams, W. (2014). Diacetyl tartaric esters of monoglycerides (DATEM) and associated emulsifiers in bread making. *Emuls Food Technol*, 121-146.
- Hatcher, D.W., Dexter, J.E., Anderson, M.J., Bellido, G.G., Fu, B.X. (2009). Effect of blending durum wheat flour with hard white wheat flour on the quality of yellow alkaline noodles. *Food Chem*, 113: 980-988.
- ICC, 2002. Standard Methods of The International Association for Cereal Science and Technology (ICC). Printed by ICC, Vienna, Edition 2002.
- Karatekin, E. (2008). Süne zararına uğramış buğday ununun katkı maddeleri kullanılarak ekmeçilik kalitesinin iyileştirilmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye 62 s.
- Kaur, A., Singh, N., Kaur, S., Katyal, M., Viridi, A.S., Kaur, D., Ahlawat, A.K., Singh, A.M., (2015). Relationship of various flour properties with noodle making characteristics among durum wheat varieties. *Food Chem*, 188: 517-526.
- Köten, M., Ünsal, A.S. (2007). Şanlıurfa yöresine özgü "Tırnaklı ve Açık Ekmeklerin" geleneksel üretim yöntemleri. *GIDA*, 32(2): 81-85.
- Ma, S., Li, L., Wang, X., Zheng, X., Bian, K., Bao, Q. (2016). Effect of mechanically damaged starch from wheat flour on the quality of frozen dough and steamed bread. *Food Chem*, 202: 120-124.
- Özer, M.S., Altan, A. (1995). Küçük ekmeç yapımında bazı katkı maddelerinin kullanılmasının ekmeç nitelikleri üzerindeki etkileri. *GIDA*, 20(6): 357-363.
- Pasqualone, A., Laddomada, B., Centomani, I., Paradiso, V.M., Minervini, D., Caponio, F., Summo, C. (2017). Bread making aptitude of mixtures of re-milled semolina and selected durum wheat milling by-products. *LWT- Food Sci Technol*, 78: 151-159.
- Qarooni, J., Posner, E.S., Ponte, Jr.J.G. (1993). Production of tanoor bread with hard white and other U.S. wheats. *Lebens Wissensch Technol*, 26: 100-106.
- Rasper, V.F., Preston, K.R. (1991). *The Extensograph Handbook*, Published by The AACC, Inc. St. Paul Minnesota, U.S.A, 46 p.
- Ravi, R., Manohar, R.S., Rao, P.H. (2000). Influence of additives on the rheological characteristics and baking quality of wheat flours. *Eur Food Res Technol*, 210: 202-208.
- Sayaslan, A., Koyuncu, M., Türker, S., Irkli, Y., Serin, A., Orhan, F.G. (2018). Use of durum wheat clear flour in vital gluten and bioethanol production. *J Cereal Sci*, 80: 50-56.
- SPSS INC. (1998). SPSS Professional Statistics, 10.0, SPSS inc., Chicago.
- Sungur, B. (2018). The use of hydrocolloids in bread-making. *J Tour Gastron Stud*, 6(1): 41-53.
- Sungur, B., Ercan, R. (2011). Effects of some hydrocolloids and surfactant on the rheological properties of hard wheat flour dough by using response surface methodology. *GIDA*, 36 (2): 77-82.
- Torbicaa, A., Hadnadev, M., Hadnadev, T.D. (2011). Possibility of using durum wheat flour as an improvement. *Procedia Food Sci*, 1: 1628-1632.
- Toufeili, I., Shadarevian, S., Adnan, M.A., Hani, I. (1995). Effect of shortening and surfactants on selected chemical/physicochemical parameters and sensory quality of arabic bread. *Food Chem*, 53:253-258.

Uluöz, M. (1965). *Buğday, Un ve Ekmek Analiz Metodları*. Ege Üniversitesi, Ziraat Fak. Yayınları, İzmir, 71s.

Xiujin, Z., Jinguan, S., Zaigui, L. (2007). Effects of DATEM on dough rheological characteristics and qualities of CSB and bread. *Cereal Chem*, 84(2):181-185.

Varinli, A, Kırt A.B., Coşkun, Y., Karababa, E. (2002). Çeşitli katkı unlarının bazlama ve yufka ekmeklerinin duysal özellikleri üzerine etkisi. Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 3-4 Ekim, Gaziantep, s 593-603.



## ET TEKNOLOJİSİNDE VURGULU ELEKTRİK ALAN TEKNİĞİNİN KULLANILMASI

**Emine Aşık-Canbaz<sup>1\*</sup>, Selçuk Çömlekçi<sup>2</sup>, Atıf Can Seydim<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Gıda İşleme Bölümü, Şarkikaraağaç Meslek Yüksekokulu, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Isparta-Türkiye

<sup>2</sup> Elektronik ve Haberleşme Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta-Türkiye

<sup>3</sup> Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta-Türkiye

Geliş / *Received*: 24.10.2019; Kabul / *Accepted*: 23.04.2020; Online baskı / *Published online*: 09.05.2020

Aşık-Canbaz, E., Çömlekçi, S., Seydim, A.C. (2020). Et teknolojisinde vurgulu elektrik alan tekniğinin kullanılması. *GIDA* (2020) 45(3) 485-495 doi: 10.15237/gida.GD19143

*Aşık-Canbaz, E., Çömlekçi, S., Seydim, A.C. (2020). Application of pulsed electric field in meat technology. GIDA (2020) 45(3) 485-495 doi: 10.15237/gida.GD19143*

### ÖZ

Vurgulu elektrik alan (PEF; pulsed electric field) yöntemi, günümüzde algısı ve beklentisi değişen bireylerin sadece güvenilir değil aynı zamanda duyuşal ve besleyici yönden cazibesi yüksek doğal gıdalara olan talebini karşılamak üzere geliştirilmiş ısı olmayan yeni bir muhafaza yöntemidir. İlk çağlardan beri farklı tekniklerle muhafaza edilen taze et ve et ürünlerinin çekiciliğini artırmak ve doğala yakın özelliklerini korumak için bilinen yöntemlere alternatif olarak değerlendirilen PEF uygulaması, etin sertliği, su tutma kapasitesi, renk ve mikrobiyel yük gibi kalite kriterlerini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu derlemede et teknolojisinde prosesi iyileştirme, verimi artırma ve son ürün kalitesini iyileştirme potansiyeli olan PEF uygulamaları ile ilgili çalışmalar özetlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Vurgulu elektrik alan, ısı olmayan muhafaza, et teknolojisi

### APPLICATION OF PULSED ELECTRIC FIELD IN MEAT TECHNOLOGY

#### ABSTRACT

Pulsed electric field (PEF) is a novel non-thermal technique that meets the increasing demand of consumers for both safe and nutritional foods. Meat and meat products have been preserved by traditional methods for a very long time, however in order to maintain the nature of these products, PEF is offered as an alternative method. PEF has already been suggested as effective as traditional methods on hardness, water binding capacity, color and microbial quality of meat and meat products. Thus, this review summarized the current applications of PEF in meat technology.

**Keywords:** Pulsed electric field, non-thermal preservation, meat technology

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding author*

✉ eminecanbaz@gmail.com,

☎ (+90) 246 211 3269

☎ (+90) 246 237 1610

Emine Aşık-Canbaz; ORCID no: 0000-0003-1326-9159

Selçuk Çömlekçi; ORCID no: 0000-0003-1389-6435

Atıf Can Seydim; ORCID no: 0000-0003-3808-509x



## GİRİŞ

Vurgulu elektrik alan (PEF; pulsed electric field) uygulaması, algısı ve beklentisi değişen bireylerin sadece güvenilir değil aynı zamanda duyuşal ve besleyici yönden cazibesi yüksek gıdalara olan talebini karşılamak üzere geliştirilmiş ısı olmayan yeni bir muhafaza yöntemidir (Dunn, 2001). Elektriksel yöntemler arasında gösterilen PEF (Barba vd., 2015), ohmik ısıtma (Gavahian vd., 2019) ve mikrodalga (Musto vd., 2014) gibi diğer elektriksel yöntemlerden sıcaklık artışını kontrol altında tutması ile ayrılmaktadır. Bu özelliği, gıdanın besleyici ve duyuşal özelliklerini koruyarak raf ömrünü uzatmak için kullanılmasına olanak tanımaktadır (Kumar vd., 2015).

Güvenli gıda üretimi, kalite kayıplarının azaltılması, dünya üzerinde eşit ve kolay gıda dağılımının sağlanması konusunda gelecek vadeden PEF uygulaması, yüksek voltajlı elektrik akımının iki elektrot arasında bulunan ortamdan çok küçük zaman ( $\mu$ s veya ms) dilimlerinde periyodik olarak geçirilmesiyle uygulanmaktadır (Dunn, 2001; Mead, 2004). Çoğunlukla yüksek elektriksel iletkenliğe sahip akışkan gıdalar için uygun olduğu düşünülen PEF yöntemi şimdiki kadar birçok çalışmada örneğin; meyve suyu (Hitit, 2011; Evrendilek vd., 2016; Carbonell-Capella, 2017), bira (Milani vd., 2015), şarap (Saldana vd., 2017, Wyk vd., 2018), sıvı yumurta (Baba vd. 2018) gibi gıdalarda raf ömrünü uzatmak için tek başına veya diğer yöntemlerle kombine halde değerlendirilmiştir. Ancak, heterojen iletkenliğin rastlandığı bitkisel veya hayvansal kaynaklı katı gıdalarda PEF uygulanması ile ilgili çalışmalar ise sınırlı kalmıştır (Gudmundsson ve Hafsteinsson 2001; Wiktor vd., 2015; González-Casado vd., 2018).

Hayvansal kaynaklı gıdalar ilk çağlardan beri insanoğlunun beslenmesinde yerini almış ve kolay bozulan doğalarından dolayı farklı tekniklerle muhafaza edilmeye çalışılmıştır. Zamanla, bireylerde gelişen duyuşal seçicilik ve artan pazar rekabeti, geleneksel yöntemlerin yerine et ürünlerinin çekiciliğini artıracak ve doğala yakın özelliklerini koruyacak bir yöntem olan PEF'in önerildiği çalışmaları artırmıştır (Astrain-Redin vd., 2019; Park vd., 2019; Bhat vd.,

2020). Bu derlemede de PEF yönteminin et ve et ürünlerinde kullanım olanaklarından bahsedilmiştir.

## PEF YÖNTEMİNİN GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIM ALANLARI

İlk olarak 18. yüzyılda İngiltere'de bitkilerin gelişimini desteklemek amacıyla kullanılan elektrik akımı 19. yüzyılın sonunda gıdalara uygulanmaya başlanmıştır. Vurgulu elektrik alan (PEF) uygulamasını ise ilk olarak ortaya koyan, uygulayan ve hücre zarı üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar yapan Alman mühendis Heinz Doevenspeck'tir. Doevenspeck, PEF teknolojisinin mevcut teknolojilere nazaran üstünlüklerini, elektrolizi baskılayıp sıcaklık artışını engelleyerek ham maddelerin doğal özelliklerini koruması ve düşük enerji tüketimi ile yüksek kârlılık sağlaması olarak sıralamıştır (Sitzmann vd., 2016).

PEF tekniğinin mikroorganizmalar üzerinde öldürücü etkisi olduğuna dair 1960'lı yıllarda gerçekleştirilmiş çalışmalarla "elektroporasyon" kavramı üzerinden yöntemin etkinliğini belirleyen teknolojik ve biyolojik faktörler de ortaya çıkarılmıştır (Sale ve Hamilton, 1967). Elektrik alan ile tetiklenen gerilim sonucu hücre zarında gözeneklerin oluşması şeklinde tanımlanan elektroporasyonun (Wouters vd., 2001) geri dönüşümlü özelliği Zimmerman vd. (1974) tarafından araştırılırken, mikrobiyel inaktivasyonu sağlayan ve gıdaların bozulmasını engelleyen kalıcı elektroporasyon ise farklı çalışma grupları tarafından araştırılmaya devam edilmiştir (Hülshager ve Niemann, 1980; Dunn vd., 1987; Sitzmann ve Münch, 1987; Gupta ve Murray, 1988; Zhang vd., 1995). PEF tekniğinin gıdaların besin değeri, enzim ve aroma gibi bileşenleri üzerine etkisi ise ilk olarak Grahl ve Märkl (1996) tarafından aktarılmıştır.

PEF yöntemi ile iki elektrot arasında bulunan ortama çok küçük zaman ( $\mu$ s veya ms) dilimlerinde yüksek voltajlı elektrik akımının periyodik olarak uygulanması sonucunda transmembran potansiyelin kritik değeri (1V) aşılarak hücre zarında geri dönüşümlü veya

kalıcı elektroporasyon gerçekleşmektedir (Sale ve Hamilton, 1967). Geri dönüşümlü elektroporasyon uygulamadan sonra hücrenin yaşamaya devam etmesi iken, kalıcı elektroporasyonda mikroorganizmaların inaktivasyonu ve dolayısıyla gıdaların muhafazası sağlanmaktadır (Dunn, 2001). Geri dönüşümlü elektroporasyon için 0.5-1.5 kV/cm, bitki veya hayvan hücrelerinde kalıcı elektroporasyon için 1.0-3.0 kV/cm ve mikrobiyel inaktivasyon için 15-40 kV/cm düzeyinde elektrik alan uygulandığı belirtilmiştir (Raso vd., 2016).

PEF'in hücre zarı üzerine etkisi üç aşamalı olarak gerçekleşmektedir. İlk olarak hücre zarında bir mekanik stres oluşturularak transmembran potansiyelinde artış sağlanmakta, ardından hücre membranı yarı geçirgen özelliğini yitirmektedir. Son aşamada hücre içi ve dışı arasında ozmotik denge bozulmakta, bu da mikroorganizmanın inaktivasyonuna neden olmaktadır (Hamilton ve Sale, 1967). Membrandaki yapısal değişiklikler hücre sitoplazmasında H<sup>+</sup> iyonu artışına neden olmakta, bunun sonucunda da kimyasal modifikasyonlar ve oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları gerçekleşmektedir (Vega-Mercado vd., 2007).

Elektroporasyona alternatif olarak önerilen sitolojik parçalanma mekanizmasında, PEF uygulanmış hücre zarı parçalanmadan hücre içi organeller ve enzimlerin etkilenmesiyle mikroorganizmaların inaktive edilebildiği bildirilmiştir (Harrison vd., 1997; Zhao vd., 2011). Sonraki çalışmalarda ise PEF'in "ya hep ya hiç" etkisine karşıt olarak membran bütünlüğünü kaybetmiş olmasına rağmen metabolik aktivitesini devam ettiren "hasarlı" hücrelerin varlığı öne sürülmüş, PEF'e maruz kalan hücrelerin koruyucu veya iyileştirici mekanizmalara sahip olduğu bildirilmiştir (Garcia vd., 2003; Pakhomova vd., 2012).

Bugüne kadar PEF uygulamasının gıda teknolojisinde marinasyon, kürlenme (Toepfl vd., 2006a), tuzlama (McDonnell vd., 2014), dondurma ve çözündürme işlemlerini hızlandırmak (Mok vd., 2015; Wiktor vd., 2015),

kurutma hızını (Parniakov vd., 2016; Alam vd., 2018), proses verimini (Saldaña vd. 2017; Kantar vd. 2018) ve ekstraksiyon etkinliğini (Xue ve Farid, 2015) artırmak, mikrobiyel (Huang vd., 2014; Evrendilek, 2017; Jin vd., 2017) ve enzimatik inaktivasyonu sağlamak (Leong vd., 2014), tekstürel, duysal, kimyasal veya besleyici kaliteyi iyileştirmek (Guo vd., 2014; Soliva-Fortuny vd., 2017; Fauster vd., 2018) gibi özellikleri bildirilmiştir. Çoğunlukla akışkan gıdalarda etkinliği gösterilmiş olan PEF'in katı gıdalarda uygulanabilmesi için özel ekipmanlar geliştirilmiştir. Böylece PEF hem bitkisel hem de hayvansal katı gıdalarda arzulanan kalite özelliklerini sağlamak için kullanılmaktadır.

### PEF YÖNTEMİNİN ET TEKNOLOJİSİNDE KULLANIMI

PEF yönteminin et kalitesini ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirme amacıyla uygulanması elektrik alan yoğunluğu, uygulama süresi, darbe frekansı ve spesifik enerji gibi teknolojik faktörlerin yanı sıra, kas tipi ve yağ doku miktarından etkilenen elektriksel iletkenlik, protein ve nem miktarı, protein içeriği, etin sıcaklığı gibi uygulama ortamına ait faktörlerden ve ön işlemlerden etkilenmektedir (Bhat vd., 2019a). PEF yönteminin kas hücreleri üzerine etkisini belirleyen en önemli kriter elektrik alan yoğunluğudur (Suwandy vd., 2015a; Bekhit vd., 2014). Genellikle hayvan hücrelerinde kritik potansiyelin aşılarak membran geçirgenliğinin değiştirilebilmesi için 0.5 kV/cm elektrik alan yoğunluğu yeterli olmaktadır (Toepfl vd., 2006a). Bunun yanı sıra elektrik alanın kas liflerine paralel veya dik uygulanması kas hücrelerinde de elektroporasyonun sağlanmasını etkilemektedir (Bekhit vd., 2014). Astráin-Redín vd. (2019), elektrik alan parametrelerinin ve kas lifi dağılımının sosis üretiminde kurutma etkinliği üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında 1 kV/cm elektrik alan yoğunluğu, 200 µs darbe genişliği ve 28 kJ/kg düzeyindeki toplam enerjinin et hücrelerinin elektroporasyonu ve su içeriğinde %60.4 azalmanın sağlanması için en uygun değerler olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca, elektrota dik uzanan kas liflerinin paralel uzananlara nazaran ortalama kurutma değerinin daha büyük olduğunu belirtmişlerdir. Darbe

frekansındaki ve uygulama süresindeki artış ile sağlanan yüksek enerji girdisi ise, yeterli elektrik alan yoğunluğu eşliğinde kas hücrelerinde fonksiyonel kaliteyi geliştiren kalıcı gözeneklerin ve devamında mikro-yapısal değişikliklerin yolunu açmaktadır (Alahakoon vd., 2017).

PEF'in etkinliğini belirleyen en önemli etmenlerden biri etin elektriksel iletkenliğidir. Yüksek iletkenlikler, darbenin pik alan gücünün zayıflamasına neden olmakta ve bu da daha yüksek voltajların kullanılmasını sınırlamaktadır. Faridnia vd. (2014),  $9.34 \pm 2.10$  mS/cm'den daha yüksek elektriksel iletkenliği olan sığır etleri için 0.6 kV/cm elektrik alan gücünün üzerine çıkmanın zor olduğunu belirtmiştir. Yağ içeriği, kas lifi dağılımı ve kas tipi gibi yapısal farklılıklar; farklı et türleri ve kasların iletkenliğini etkileyebilmektedir. Düşük iletkenliğe sahip yağ, yüksek iletkenliğe sahip kas dokusu ile çevrelendiğinde, elektrik akımının izlediği yol daha iletken kanalları tercih ettiğinden değişkenlik gösterebilmektedir. Bu alternatif yollar voltaj düşüşüne ve nihayetinde elektrik alan gücünde zayıflama ile sonuçlanabilmektedir. Marine veya işlenmiş et ürünlerinin formülasyonları ve son ürün formu da elektriksel iletkenlik açısından PEF

uygulanırken dikkate alınması gereken etmenler arasında yer almaktadır (Alahakoon vd., 2017).

Kaslar arasında ve aynı kasın değişik bölgelerinde görülen yapısal ve bileşimsel farklılıklar PEF uygulamasına verilen tepkide değişikliğe neden olmaktadır. Nem miktarı, protein miktarı ve kompozisyonu, çoklu doymamış yağ asitleri PEF uygulamasının etkinliğini değiştirebildiği gibi uygulama sonunda ette sertlik, sululuk, lipit oksidasyonu, yağ asidi profili ve uçucu bileşik profilini etkilemektedir. Bu nedenle çalışmalardan güvenilir sonuçlara ulaşabilmek için birbirini izleyen PEF uygulamalarında örneklerin aynı bölgelerden alınması gerekmektedir (Alahakoon vd., 2017).

PEF uygulanmış etlerde temel olarak hücre zarında meydana gelen değişikliklerden dolayı mikro yapı düzenlenmektedir. Hücre zarı hayati öneme sahip bileşiklerin sentezinden ve metabolik aktivitelerin gerçekleşmesinden sorumlu olduğu için PEF ile elektroporasyonun gerçekleştirilmesi hücre içindeki biyokimyasal aktiviteleri ve böylece etin sertliği, su tutma kapasitesi ve renk gibi kalite kriterlerini etkilemektedir (O'Dowd vd., 2013; Bekhit vd., 2014; Faridnia vd., 2014). Et ve et ürünlerinin kalite özellikleri üzerine PEF yönteminin etkisi Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Et ve et ürünlerinin kalite özellikleri üzerine PEF yönteminin etkisi

Uygulama bölgesi	PEF parametresi	Bulgular	Referans
Domuz eti	Elektrik alan yoğunluğu: 1-3 kV/cm	Dokuda salamuranın homojen dağılması, Artan su bağlama kapasitesi ve azalan pişirme kaybı, Son üründe daha yumuşak yapı	Toepfl vd. (2006b)
Sığır eti <i>Semitendinosus</i>	Elektrik alan yoğunluğu: 1.1-2.8 kV/cm Enerji yoğunluğu: 12.7-226 kJ/kg Frekans: 5-200 Hz Darbe sayısı: 152-300	Ağırlık kaybında artış, PEF'ten etkilenen miyofibriller, PEF'ten etkilenmeyen enstrümental tekstür parametreleri	O'Dowd vd. (2013)
<i>Longissimus lumborum</i> <i>Semimembranosus</i>	Elektrik alan yoğunluğu: 0.27 – 0.56 kV/cm Frekans: 20, 50, 90 Hz	Frekansa paralel olarak artan yumuşaklık, PEF ile azalan pişirme kaybı	Bekhit vd. (2014)
Sığır eti <i>Longissimus thoracis</i>	Elektrik alan yoğunluğu: 0.2–0.6 kV/cm Frekans: 1–50 Hz Darbe genişliği: 20 µs	Daha gözenekli yapı ve artan su kaybı	Faridnia vd. (2014)

Domuz eti <i>Longissimus thoracis et lumborum</i> (LTL)	Elektrik alan yoğunluğu: 1.2, 2.3 kV/cm Enerji yoğunluğu: 22.6-181.1 kJ/kg Frekans: 100, 200 Hz Darbe sayısı: 150, 300	Düşük PEF'te daha fazla ağırlık ve pişirme kaybı	McDonnell vd. (2014)
Sığır eti <i>Semitendinosus</i>	Elektrik alan yoğunluğu: 1.4 kV/cm Darbe genişliği: 20 µs Frekans: 50 Hz Toplam spesifik enerji: 250 kJ/kg	Dondurma ön işleminin ardından uygulanan PEF ile artan yumuşaklık	Faridnia vd. (2015)
Sığır eti <i>Longissimus lumborum</i> (LL) <i>Semimembranosus</i> (SM)	Elektrik gerilimi: 5, 10 kV Frekans: 20, 50, 90 Hz	LL ve SM kaslarında kesme kuvvetinde %19'a kadar azalma Proteolizde, troponin-T ve desmin degradasyonunda artış	Suwandy vd. (2015a)
Sığır eti <i>Longissimus lumborum</i> (LL) (Farklı pH'ya sahip; 5.5-5.8, 5.8-6.1, >6.1)	Elektrik alan yoğunluğu: 0.58 – 0.73 kV/cm Frekans: 90 Hz Darbe genişliği: 20 µs	Düşük pH'da artan proteoliz	Suwandy vd. (2015b)
Sığır eti <i>Longissimus lumborum</i> (LL) <i>Semimembranosus</i> (SM)	Elektrik alan yoğunluğu: 0.50 – 0.58 kV/cm Frekans: 90 Hz Darbe genişliği: 20 µs	LL'de artan troponin-T ve desmin degradasyonu	Suwandy vd. (2015c)
Sığır eti <i>Longissimus thoracis et lumborum</i> (LTL)	Elektrik alan yoğunluğu: 1.4 kV/cm Darbe genişliği: 20 µs Frekans: 10 Hz Darbe sayısı: 300, 600	PEF uygulanmış örneklerin sertliğinde azalma ve panelistlerin %60'ı tarafından yumuşak olarak nitelendirilmesi	Arroyo vd. (2015b)
Sığır eti <i>Longissimus lumborum</i> (LL) <i>Semimembranosus</i> (SM)	Elektrik alan yoğunluğu: 0.44 – 0.48 kV/cm Frekans: 90 Hz Darbe genişliği: 20 µs	3 kez tekrarlanan PEF uygulaması ile LL kasında artan sertlik ve MS kasında düşük kesme kuvveti, Artan uygulama sayısı ile azalan troponin-T proteolizi	Bekhit vd. (2016)
Pişmiş sığır eti <i>Semimembranosus</i>	Elektrik alan yoğunluğu: 0.60 kV/cm Enerji yoğunluğu: 73.28 kJ/kg	Proteinlerin sindirilebilirliğinde artış	Bhat vd. (2019b)
Sığır eti <i>Biceps femoris</i> (BF) <i>Semitendinosus</i> (ST)	Elektrik alan yoğunluğu: 0.8-1.1 kV/cm Frekans: 50 Hz Darbe genişliği: 20 µs Enerji yoğunluğu: 130 kJ/kg	PEF uygulanan örneklerde daha yumuşak yapı ve gelişmiş renk PEF uygulanmış dondurulmuş örneklerde artan yağ oksidasyonu	Kantono vd. (2019)
Sığır eti <i>Semimembranosus</i> (SM)	Elektrik alan yoğunluğu: 0.52 kV/cm Frekans: 20 Hz Darbe genişliği: 20 µs	PEF uygulamasından etkilenen tuz dağılımı ve tuz difüzyonu sonucunda düşük tuz konsantrasyonu kullanım potansiyeli PEF uygulanan örneklerde daha yumuşak yapı	Bhat vd. (2020)

Etin temel duyuşal kalite kriterleri içerisinde tüketic i beğenisini ve dolayısıyla etin fiyatını en çok etkileyen etin sertliğidir. Birçok fizyolojik ve biyolojik faktörlere bağlı olarak etin sertliği karkas içerisinde farklılık göstermektedir. Daha yumuşak et elde edebilmek için kesim sonrasında farklı uygulamalar düşünölmektedir. Değerli olan yumuşak et parçalarını elde edebilmek için et endüstrisi fiziksel, kimyasal ve enzimatik metotlar uygulamakta ve etin tekstürel kalitesini iyileştirebilmek için PEF gibi yeni teknolojik işlemler üzerinde durmaktadır (Alahakoon vd., 2017).

PEF tekniği, kesimden hemen sonra karkastan elektrik akımı geçirilerek uygulanan elektriksel stimölasyon tekniğinden farklı olarak et parçaları üzerinde elektrik alan oluşturarak uygulanmaktadır. PEF ile etin yumuşatılması bir dizi farklı mekanizmaya bağlı olarak meydana gelmektedir. Postmortem dönemde ette meydana gelen katabolik reaksiyonların aktivitesi elektrik alan uygulaması ile hızlandırılmaktadır. PEF ile miyofibrillerin Z hattı boyunca kırılması ve parçalanması sonucu artan proteolitik enzim aktivitesi ile etin yumuşaması sağlanmaktadır (Alahakoon vd. 2017). Ayrıca, kas fibrillerinin elektroporasyonu ile kalpain ve katepsin gibi hücre içi enzimlerin ve bu enzimlerin aktivasyonunu sağlayan kalsiyum gibi iyonların daha hızlı salınması kas hücrelerindeki proteoliz ve glikoliz gibi biyokimyasal proseslerin daha erken oluşmasına öncölük etmektedir (Lee vd., 2010).

PEF ile et ve et ürünlerinin tekstürel özelliklerinin iyileştirilmesi, yöntemeye ait farklı faktörlerin etkisi altında incelenmiştir. PEF uygulanmasında önemli bir kriter olan frekansın artmasıyla sığır filetolanın kesme kuvvetinde %19.5'e varan bir azalma sağlandığı, dolayısıyla yumuşaklığın arttığı tespit edilmiştir (Bekhit vd., 2014). Frekansın yanı sıra elektrik alan yoğunluğu PEF ile etteki değişimleri yüksek derecede etkilemektedir. İlimli elektrik alan yoğunlukları (100-1000 kV/m) elektroporasyon oluşturmasına rağmen et kalitesini iyileştirme konusunda yetersiz kalabilmektedir (Gudmundsson ve Haffsteinsson, 2001; Alahakoon vd., 2017). Nitekim, O'Dowd

vd. (2013) uyguladıkları elektrik alan yoğunluğunun (110-280 kV/m) sığır eti örneklerinde gevrekleşmeyi sağlayacak parçalanma için yetersiz olduğunu vurgulamıştır.

Taze et ve et ürünlerinde tekstürel özelliklerin geliştirilmesi için PEF, bazı ön işlemlerin yardımcı olarak uygulanmaktadır. Dondurma-özöndürme gibi ön işlemler ile hasar gören hücrede enzimler açığa çıkmakta ve bu işlemlerin PEF ile kombine halde kullanılması proteolizi hızlandırarak etin daha kolay gevrekleşmesini sağlamaktadır (Alahakoon vd., 2017). Ancak, diğer taraftan mekanik hasara uğramış olan et, olgunlaştırma esnasında lipid oksidasyonuna daha hassas hale gelmektedir (Faridnia, 2015). Dondurma işlemi ile artan protein degradasyonu ise etin uçucu bileşen profilini değiştirmekte, bu da etin duyuşal kalitesini olumsuz etkilemektedir. Ma vd. (2016), 1-1.4 kV/m elektrik alan yoğunluklarında, 90 Hz frekansta ve 20 µs genişlikte uyguladıkları darbelerden önce dondurma işlemine tabi tutulmuş kuzu etlerinde lipid ve protein oksidasyonuna paralel olarak yoğun miktarda aldehit oluştuğunu bildirmişlerdir.

PEF uygulaması, etin pişirme verimi, rengi ve tekstürel özellikleri üzerine belirleyici olan su tutma kapasitesini de etkilemektedir. Elektrik alan altında tutulan taze et ve et ürünlerinde protein degradasyonuna bağlı olarak su tutma kapasitesinde ve mikro yapıda farklılıklar meydana gelmektedir. PEF'in hücre boyutlarında küçölmeye neden olduğu, Gudmunsson ve Hafsteinsson (2001) tarafından 136 kV/m PEF uygulanmış tavuk ve somon örneklerinde gösterilmiştir. Daha düşük bağ dokuya sahip olan somonlarda hücreler arasında boşluğa neden olduğu belirlenen PEF yönteminin benzer şekilde sığır eti örneklerinin *Semitendinosus* (ST) (O'Dowd vd., 2013) ve *longissimus thoracis* (LT) (Faridnia vd. 2014) kaslarında da mikro yapıda meydana gelen elektroporasyona bağlı boşluklar oluşturduğu tespit edilmiştir. Elektrik alan yoğunluğu arttığça su tutma kapasitesi azalan etin gözenekli yapısı Faridnia vd. (2014) tarafından taramalı elektron mikroskopu (SEM) mikrogramı ile tespit edilmiştir.

PEF, et ve et ürünlerinin renginin geliştirilmesi amacıyla değerlendirilmektedir. PEF'in düşük sıcaklıkta tutulan etlerin rengi üzerine etkili olmadığı Faridnia vd. (2014) tarafından bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise taze veya donmuş hindi etlerine PEF (1.4 kV/cm, 10 Hz, 20 µs, 300 and 600 darbe) uygulanmış, çiğ veya pişirilmiş etlerin rengi üzerine etkili olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Arroyo vd., 2015a).

PEF etlerde aynı zamanda ekstraksiyona yardımcı bir işlem olarak da uygulanmaktadır. Bu amaçla "ELCRACK®" adı verilen bir teknik geliştirilmiş, (Sitzmann ve Münch, 1987), Gudmundsson ve Haffsteinsson (2005) da bu teknikle bazı enzimler ve balık yağı gibi değerli yan ürünlerin elde edilebileceğini vurgulamıştır. He vd. (2014) yüksek yoğunluklu vurgulu elektrik alan kullanarak balık kemiklerinden kondroitin sülfat ekstrakte etmişler, PEF uygulamasının ekstraksiyon hızını ve verimini artırdığını tespit etmişlerdir.

PEF ile hücre geçirgenliğinin artması marinasyon, tuzlama veya kürlenme için kullanılan baharat, tuz, antimikrobiyel ajanlar gibi maddelerin taze etlere nüfuz etmesini sağlamaktadır (Toepfl vd., 2006b). McDonnell vd. (2014), 120 ve 230 kV/cm yoğunluğa sahip elektriksel darbelerle maruz bıraktıkları domuz eti örneklerinin, PEF uygulanmayan örneklerle nazaran daha yüksek miktarda tuz içerdiklerini belirtmişlerdir.

PEF uygulaması, hücre içi sıvının kullanılabilirliğini ve starter kültür difüzyonunu artırarak et ve et ürünlerinin fermantasyon etkinliğine katkı sağlamaktadır. Toepfl vd. (2006a) yaptıkları bir çalışmada sosis fermantasyonunda PEF (200 kV/m ve 10 kJ/kg enerji girdisi) uygulanmasının ardından, laktik asit oluşumu ile pH değerinin düşmesi için gerekli sürenin azaldığını tespit etmişlerdir.

Mikroorganizmaların hücre zarı üzerinde geri dönüşümsüz yıkıcı etkileri olduğu bilinen PEF uygulaması ile mikrobiyel inaktivasyon sağlanabilmekte, ısı artışının olmaması nedeniyle gıdaların besin ve kalite değerleri korunabilmektedir (Sitzmann vd., 2016). Çeşitli

gıdalarda ve çözeltilerde mikrobiyel yükte azalma sağladığı bilinen PEF yönteminin et ve et ürünlerinde heterojen yapıdan, değişken elektriksel iletkenlikten ve koruyucu unsurlardan dolayı inaktivasyon yeteneği zayıflamaktadır (Gudmundsson ve Hafsteinsson, 2005). Haughton vd. (2012), 50 °C'ta 10, 15, 20, 25 ve 30 saniye sürelerle MRD (Maximum Recovery Diluent) çözeltilisine (65 kV/cm, 500 Hz, 5 ms) ve tavuk örneklerine (15 kV/cm veya 3.75 kV/cm, 5 Hz, 10 ms) PEF uyguladıkları çalışmalarında taze tavuk göğüs etlerine inoküle edilmiş *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* ve *Salmonella enteritidis* bakterilerinin sayıları üzerine etkili olmadığı sonucuna varmışlardır. Stachelska vd. (2012), PEF uygulamasının sığır etine inoküle edilmiş *Yersinia enterocolitica* ATCC 35669 bakterisi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında aynı elektrik alanı (300 V/m) farklı frekans değerleri (28, 280 ve 2800 MHz) ile uygulamışlar ve 4°C'ta 3 gün ve -20°C'ta 30 gün depolamanın sonunda -20°C'ta frekans arttıkça sayının azaldığını, 4°C'ta ise sadece 2800 MHz'de bakteri sayılarının 6.7 log kob/g'dan 6.4 log kob/g düzeyine düştüğünü bildirmişlerdir. Aşık Canbaz (2018) tavuk göğüs etlerine soğuk depolama boyunca PEF uyguladığı çalışmada, toplam mezofilik aerobik bakteri için önerilmiş olan sınır değerinin (7 log kob/g) PEF uygulanmamış kontrol örneğine göre 250 kV/m PEF uygulanmış örnekte 2 gün, 467 ve 700 kV/m PEF uygulanmış örneklerde ise 4 gün sonra aşıldığını tespit etmiştir.

### SONUÇ

Gelecek nesillere sağlıklı bireyler aktarabilmenin ve kaliteli yaşlanmanın endişesini duyan tüketiciler güvenliği sağlanmış doğala yakın gıdalar talep etmektedirler. Bu talepleri karşılayabilmek için geliştirilen ısı olmayan yöntemlerden vurgulu elektrik alan çeşitli gıdalarda uygulama alanı bulmuş, zamanla et ve et ürünlerinde ekstraksiyon, kurutma, çözündürme, tekstürel özelliklerin iyileştirilmesi, rengin geliştirilmesi, marinasyon, tuzlama, kürlenme, fermantasyon gibi işlemlere yardımcı bir proses olarak düşünülmüş ve son yıllarda mikrobiyel inaktivasyon için uygunluğu tartışılmıştır. Ancak bir dizi teknolojik ve biyolojik faktörlerden etkilenen PEF işleminin farklı et

ürünlerinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyel etkilerinin araştırıldığı ve duyu analizler ile desteklendiği çalışmalara hali hazırda ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle elektroporasyon ile artan hücre geçirgenliğinin, prosesinde kurutma ve fermantasyon gerçekleştirilen et ürünlerinin işleme hızı ve son ürün kalitesine etkisinin araştırılması önerilmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Alahakoon, A.U., Faridnia, F., Bremer, P.J., Silcock, P., Oey, I. (2017). Pulsed electric fields effects on meat tissue quality and functionality. In *Handbook of Electroporation*, Miklavcic, D. (ed.) Springer, USA, pp. 2998.
- Alam, M.D.R., Lyng, J.G., Frontuto, D., Marra, F., Cinquanta, L. (2018). Effect of pulsed electric field pretreatment on drying kinetics, color, and texture of parsnip and carrot. *J. Food sci.* 83(8): 2159-2166.
- Arroyo, C., Eslami, S., Brunton, N.P., Arimi, J.M., Noci, F., Lyng, J.G. (2015a). An assessment of the impact of pulsed electric fields processing factors on oxidation, color, texture, and sensory attributes of turkey breast meat. *Poult. Sci.* 94(5): 1088-1095.
- Arroyo, C., Lascorz, D., O'Dowd, L., Noci, F., Arimi, J., Lyng, J.G. (2015b). Effect of pulsed electric field treatments at various stages during conditioning on quality attributes of beef longissimus thoracis et lumborum muscle. *Meat Sci.* 99: 52-59.
- Astrain-Redin, L., Raso, J., Cebrian, G., Alvarez, I. (2019). Potential of Pulsed Electric Fields for the preparation of Spanish drycured sausages. *Sci. Rep.* 9: 16042.
- Aşık Canbaz, E. (2018). Ambalajlı tavuk etinin soğukta muhafazasında yüksek voltajlı vurgulu elektrik alanın etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Isparta, Türkiye, 89 s.
- Baba, K., Kajiwara, T., Watanabe, S., Katsuki, S., Sasahara, R., Inoue, K. (2018). Low-temperature pasteurization of liquid whole egg using intense pulsed electric fields. *Electron. and Commun. in Jpn.* 101(2): 668-673.
- Barba, F. J., Parniakov, O., Pereira, S. A., Wiktor, A., Grimi, N., Boussetta, N., Vorobiev, E. (2015). Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Res. Int.* 77: 773-798.
- Bekhit, A.E.A., Ven, R., Suwandy, V., Fahri, F., Hopkins, D.L. (2014). Effect of pulsed electric field treatment on cold-boned muscles of different potential tenderness. *Food Bioprocess Technol.* 7: 3136-3146.
- Bekhit, A.E.A., Suwandy, V., Carne, A., Ven, R., Hopkins, D.L. (2016). Effect of repeated pulsed electric field treatment on the quality of hot-boned beef loins and topsides. *Meat Sci.* 111: 139-146.
- Bhat, A.F., Bekhit, A.E.D., Birch, J., Kanokruangrong, S., Carne, A., Farouk, M.F. (2019a). Current and future prospects for the use of pulsed electric field in the meat industry. *Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.* 59(10): 1660-1674.
- Bhat, Z.F., Mortona, J.D., Mason, S.L., Jayawardena, S.R., Bekhit, A.E.D. (2019b). Pulsed electric field: A new way to improve digestibility of cooked beef. *Meat Sci.* 155: 79-84.
- Bhat, Z.F., Morton, J.D., Mason, S.L., Bekhit, A.E.D. (2020). The application of pulsed electric field as a sodium reducing strategy for meat products. *Food Chem.* 306: 125622.
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Cortes, C., Zulueta, A., Frigola, A., Esteve, M.J. (2017). Influence of pulsed electric field processing on the quality of fruit juice beverages sweetened with Stevia rebaudiana. *Food Bioprod. Process.* 101: 214-222.
- Dunn, J.E., Lacosta, R., Pearlman, J.S. (1987). Methods and apparatus for extending the shelf life of fluid products. United States Patent, 4, 695, 472.
- Dunn, J. (2001). Pulsed Electric Field Processing: An Overview. In *Pulsed Electric Field In Food Processing Fundamental Aspects and Applications*.

- Barbosa-Canovas, G.V., Zhang, Q.H. Technomic Publishing, U.S.A., pp. 268.
- Evrendilek, G.A., Celik, P., Agcam, E., Akyildiz, A. (2016). Assessing impacts of pulsed electric fields on quality attributes and furfural and hydroxymethylfurfural formations in apple juice. *J. Food Process Eng.* Doi: 10.1111/jfpe.12524
- Evrendilek, G.A. (2017). Impacts of pulsed electric field and heat treatment on quality and sensory properties and microbial inactivation of pomegranate juice. *Food Sci. Technol. Int.* 23(8): 668-680.
- Faridnia, F., Bekhit, A.E.A., Niven, B., Oey, I. (2014). Impact of pulsed electric fields and post-mortem vacuum ageing on beef longissimus thoracis muscles. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49: 2339-2347.
- Faridnia, F., Ma, Q.L., Bremer, P.J., Burritt, D.J., Hamid, N., Oey, I. (2015). Effect of freezing as pre-treatment prior to pulsed electric field processing on quality traits of beef muscles. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 29: 31-40.
- Fauster, T., Schlossnikl, D., Rath, F., Ostermeier, R., Teufel, F., Topefl, S., Jaeger, H. (2018). Impact of pulsed electric field (PEF) pretreatment on process performance of industrial french fries production. *J. Food Eng.* 235: 16-22.
- Garcia, D., Gomez, N., Condon, S., Pagan, R. (2003). Pulsed electric fields cause sublethal injury in *Escherichia coli*. *Lett. in Appl. Microbiol.* 36: 140-144.
- Gavahian, M., Tiwari, B.K., Chu, Y.H., Ting, Y., Farahnaky, A. (2019). Food texture as affected by ohmic heating: Mechanism involved, recent findings, benefits, and limitations. *Trends Food Sci. Technol.* 86: 328-339.
- González-Casado, S., Martín-Belloso, O., Elez-Martínez, P., Soliva-Fortuny, P. (2018). Enhancing the carotenoid content of tomato fruit with pulsed electric field treatments: effects on respiratory activity and quality attributes. *Postharvest Biol. Tec.* 137: 113-118.
- Grahl, T., Markl, H. (1996). Killing of microorganisms by pulsed electric fields. *Applied Microbiology and Biotechnology* 45: 148-157.
- Gudmundsson, M., Hafsteinsson, H. (2001). Effect of electric field pulses on microstructure of muscle foods and roes. *Trends Food Sci. Technol.* 12: 122-128.
- Gudmundsson, M., Hafsteinsson, H. (2005). Effect of high intensity electric field pulses on solid foods. In *Emerging Technologies For Food Processing*, Sun, D.W. Elsevier, USA, pp. 757.
- Guo, M., Jin, T.Z., Geveke, D.J., Fan, X., Sites, J.E., Wang, L. (2014). Evaluation of microbial stability, bioactive compounds, physicochemical properties, and consumer acceptance of pomegranate juice processed in a commercial scale pulsed electric field system. *Food Bioproc. Technol.* 7: 2112-2120.
- Gupta, R.P., Murray, W. (1988). Pulsed High Electric Field Sterilization. IEEE Pulsed Power Conference Record 58-64.
- Hamilton, W.A., Sale, A.J.H. (1967). Effects of high electric fields on microorganisms: II. mechanism of action of the lethal effect. *BB4 General Subjects* 148(3): 789-800.
- Harrison, S.L., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G. (1997). *Saccharomyces cerevisiae* structural changes induced by pulsed electric field treatment. *LWT-Food Sci. Technol.* 30: 236-240.
- He, G., Yin, Y., Yan, X. Ve Yu, Q. (2014). Optimisation extraction of chondroitin sulfate from fish bone by high intensity pulsed electric fields. *Food Chem.* 164: 205-210.
- Haughton, P. N., Lyng, J. G., Morgan, D. J., Cronin, D. A., Noci, F., Fanning, S., Whyte, P. (2012). An evaluation of the potential of high-intensity ultrasound for improving the microbial safety of poultry. *Food Bioproc. Technol.* 5: 992-998.
- Hitit, B. (2011). Atımlı elektrik alanı prosesinin meyve sularının kalite kriterleri üzerine etkisi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bolu, Türkiye, 99s.
- Huang, K., Yu, L., Wang, W. Gai, L. Ve Wang, J. (2014). Comparing the pulsed electric field resistance of the microorganisms in grape juice: application of the weibull model. *Food Control* 35: 241-251.



- Hülsheger, H., Niemann, E.G. (1980). Lethal effects of high-voltage pulses on *E. coli* k12. *Radiat. Environ. Bioph.* 18: 281-288.
- Jin, T.Z., Yu, Y., Gurtler, J.B. (2017). Effects of pulsed electric field processing on microbial survival, quality change and nutritional characteristics of blueberries. *LWT-Food Sci. Technol.* 77: 517-524.
- Kantar, S.E., Boussetta, N., Lebovka, N., Foucart, F., Rajha, H.N., Maroun, R.G., Louka, N., Vorobiev, E. (2018). Pulsed electric field treatment of citrus fruits: improvement of juice and polyphenols extraction. *Innov. Food Sci. Emerg.* 46: 153-161.
- Kantono, K., Hamid, N., Oey, I., Wang, S., Xu, Y., Ma, Q., Faridnia, M. (2019). Physicochemical and sensory properties of beef muscles after Pulsed Electric Field processing. *Food Res. Int.* 121: 1-11.
- Kumar, Y., Kumar Patel, K., Kumar, V. (2015). Pulsed electric field processing in food technology. *Int. J. Eng. Stud. Techn. Appr.* 1(2): 6-16.
- Lee, S.H., Joo, S.T., Ryu, Y.C. (2010). Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat Sci.* 86: 166-170.
- Leong, S.Y., Richter, L.K., Knorr, D., Oey, I. (2014). Feasibility of using pulsed electric field processing to inactivate enzymes and reduce the cutting force of carrot (*Daucus carota* var. nantes). *Innov. Food Sci. Emerg.* 26: 159-167.
- Ma, Q., Hamid, N., Oey, I., Kantono, K., Faridnia, F., Yoo, M., Farouk, M. (2016). Effect of chilled and freezing pre-treatments prior to pulsed electric field processing on volatile profile and sensory attributes of cooked lamb meats. *Innov. Food Sci. Emerg.* 37: 359-374.
- McDonnell, C.K., Allen, P., Chardonnerau, F.S., Arimi, J.M., Lyng, J.G. (2014). The use of pulsed electric fields for accelerating the salting of pork. *LWT - Food Sci. Technol.* 59: 1054-1060.
- Mead, G.C. (2004). Meat quality and consumer requirements. In Poultry meat processing and quality, Mead, G.C. CRC Press, USA, pp. 377.
- Milani, E.A., Alkhafaji, S., Silva, F.V.M. (2015). Pulsed electric field continuous pasteurization of different types of beers. *Food Control* 50: 223-229.
- Mok, J.H., Choi, W., Park, S.H., Lee, Sh., Jun, S. (2015). Emerging pulsed electric field (PEF) and static magnetic field (SMF) combination technology for food freezing. *Int. J. Refrig.* 50: 137-145.
- Musto, M., Faraone, D., Cellini, F., Musto, E. (2014). Changes of DNA quality and meat physicochemical properties in bovine supraspinatus muscle during microwave heating. *J. Sci. Food Agr.* 94: 85-791.
- O'Dowd, L.P., Arimi, J.M., Noci, F., Cronin, D.A., Lyng, J.G. (2013). An assessment of the effect of pulsed electrical fields on tenderness and selected quality attributes of post rigour beef muscle. *Meat Sci.* 93: 303-309.
- Pakhomova, O.N., Khorokhorina, V.A., Bowman, A.M., Rodaite, R.R., Saulis, G., Xiao, S., Pakhomov, A.G. (2012). Oxidative effects of nanosecond pulsed electric field exposure in cells and cell-free media. *Arch. Biochem. Biophys.* 527: 55-64.
- Park, S.Y., Kim, H.Y., Choe, J. (2019). Application of an electric field refrigeration system on pork loin during dry aging. *Food Sci. Animal Resour.* 39(4): 668-676.
- Parniakov, O., Bals, O., Lebovka, N., Vorobiev, E. (2016). Pulsed electric field assisted vacuum freeze-drying of apple tissue. *Innov. Food Sci. Emerg.* 35: 52-57.
- Raso, J., Frey, W., Ferrari, G., Pataro, G., Teissie, J., Miklavčič, D. (2016). Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innov. Food Sci. Emerg.* 37: 312-321.
- Saldaña, G., Cebrián, G., Abenoza, M., Sánchez-Gimeno, C., Álvarez, I., Raso, J. (2017). Assessing the efficacy of PEF treatments for improving polyphenol extraction during red wine vinifications. *Innov. Food Sci. Emerg.* 39: 179-187.
- Sale, A.J.H., Hamilton, W.A. (1967). Effects of high electric fields on microorganisms: I. killing of

- bacteria and yeasts. *BBA General Subjects* 148(3): 781-788.
- Sitzmann, W., Münch, E.W. (1987). Verarbeitung tierischer rohstoffe. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 89(9): 368-374.
- Sitzmann, W., Vorobiev, E., Lebovka, N. (2016). Applications of electricity and specifically pulsed electric fields in food processing: Historical backgrounds. *Innov. Food Sci. Emerg.* 37: 302-311.
- Soliva-Fortuny, R., Vendrell-Pacheco, M., Martín-Belloso, O., Elez-Martínez, P. (2017). Effect of pulsed electric fields on the antioxidant potential of apples stored at different temperatures. *LWT-Food Sci. Technol.* 77: 517-524.
- Stachelska, M.A., Stankiewicz-Szymczak, W., Jakubczak, A., Swislocka, R., Lewandowski, W. (2012). Influence of pulsed electric field on the survival of yersinia enterocolitica in minced beef meat: assessment of microbiological activity of selected cell lines of bacteria under influence of physical-chemical factors. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna* 2: 13-17.
- Suwandy, V., Carne, A., Ven, R., Bekhit, A.E.D.A., Hopkins, D.L. (2015a). Effect of pulsed electric field on the proteolysis of cold boned beef *M. longissimus lumborum* and *M. semimembranosus*. *Meat Sci.* 100: 222-226.
- Suwandy, V., Carne, A., Ven, R., Bekhit, A.E., Hopkins, D.L. (2015b). Effect of pulsed electric field treatment on the eating and keeping qualities of cold-boned beef loins: impact of initial pH and fibre orientation. *Food Bioprocess Technol* 8: 1355-1365.
- Suwandy, V., Carne, A., Ven, R., Bekhit, A.E.D.A., Hopkins, D.L. (2015c). Effect of repeated pulsed electric field treatment on the quality of cold-boned beef loins and topsides. *Food Bioprocess Technol* 8: 1218-1228.
- Toepfl, S., Heinz, V., Knorr, D. (2006a). Applications of Pulsed Electric Fields Technology for The Food Industry. In *Pulsed Electric Fields Technology For The Food Industry Fundamentals and Applications*, Raso, J., Heinz, V. Springer, USA, pp. 245.
- Toepfl, S., Heinz, V., Knorr, D. (2006b). Pulsed electric fields (PEF) processing of meat. IUFOST. Doi: 10.1051/IUFOST:20060591.
- Vega-Mercado, H., Gongora-Nieto, M.M., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G. (2007). Pulsed electric fields in food preservation. In *Handbook of Food Preservation*, Rahman, M.S. CRC Press, USA, pp. 1068.
- Wiktor, A., Schulz, M., Voigt, E., Witrowa-Rajchert, D., Knorr, D. (2015). The effect of pulsed electric field treatment on immersion freezing, thawing and selected properties of apple tissue. *J. Food Eng.* 146: 8-16.
- Wouters, P.C., Alvarez, I., Raso, J. (2001). Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing. *Trends Food Sci. Technol.* 12: 112-121.
- Wyk, S., Farid, M.M., Silva, F.V.M. (2018). SO<sub>2</sub>, high pressure processing and pulsed electric field treatments of red wine: Effect on sensory, *Brettanomyces* inactivation and other quality parameters during one year storage. *Innov. Food Sci. Emerg.* 48: 204-211.
- Xue, D., Farid, M.M. (2015). Pulsed electric field extraction of valuable compounds from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Innov. Food Sci. Emerg.* 29: 178-186.
- Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G. (1995). Engineering Aspects of Pulsed Electric Field Pasteurization. *J. Food Eng.* 25: 261-281.
- Zhao, W., Yang, R., Zhang, H.Q., Zhang, W., Hua, X., Tang, Y. (2011). Quantitative and real time detection of pulsed electric field induced damage on *Escherichia coli* cells and sublethally injured microbial cells using flow cytometry in combination with fluorescent techniques. *Food Control* 22: 566-573.
- Zimmerman, U., Pilwat, G., Riemann, F. (1974). Dielectric breakdown of cell membranes. *Biophys. J.* 14: 881-899.



**LACTOBACILLUS CİNSİ BAKTERİLERİN LİYOFİLİZE  
EKZOPOLİSAKKARİTLERİNİN BİFİDOBAKTERİLERİN GELİŞİMİNİ  
DÜZENLEYİCİ ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**Dilek Uzundağ<sup>1\*</sup>, Zehranur Yüksekdağ<sup>1</sup>, Mustafa Uludağ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Bilyem Gıda Sanayi ve Tic. Ltd. Şti., Yenikent, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 15.11.2019; Kabul / Accepted: 29.04.2020; Online baskı / Published online: 11.05.2020

Uzundağ, D., Yüksekdağ, Z. Uludağ, M. (2020). *Lactobacillus* cinsi bakterilerin liyofilize ekzopolisakkaritlerinin bifidobakterilerin gelişimini düzenleyici etkisinin belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(3) 496-505 doi: 10.15237/gida.GD20015

Uzundağ, D., Yüksekdağ, Z. Uludağ, M. (2020). *Determination of the lyophilized exopolysaccharides of Lactobacillus bacteria bifidogenic growth stimulator effect. GIDA* (2020) 45(3) 496-505 doi: 10.15237/gida.GD20015

## ÖZ

Bu çalışmada, Ankara ilinin farklı bölgelerinden temin edilen serbest dolaşan köy tavuklarının gastrointestinal sisteminden *Lactobacillus* cinsine ait 119 bakteri izole edilmiştir. Yüksek ekzopolisakkarit (EPS) üretim kapasitesine sahip 11 izolat seçilmiştir. Seçilen izolatların biyokimyasal ve moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiş ve tanımlama sonuçlarına göre 6 izolatın *Lactobacillus salivarius*, 2 izolatın *Lactobacillus agilis*, 2 izolatın *Lactobacillus reuteri* ve 1 izolatın da *Lactobacillus saerimneri* olduğu tespit edilmiştir. Yüksek EPS üreten 3 suşun (*L. salivarius* ZDM2132, BİS312 ve BİS722) EPS'leri kültür ortamından izole edilerek liyofilize edilmiştir. *Bifidobacterium gallinarum* ATCC 33777 suşunun, *L. salivarius* ZDM2132, BİS312 ve BİS722 bakterilerden elde edilen liyofilize EPS'yi (l-EPS) fermente edebilme kapasitesi ve bifidobakterilerin gelişimini düzenleyici (BGD) etkileri ticari bir prebiyotik olan inülin ile karşılaştırılmıştır. l-EPS'lerin *B. gallinarum* tarafından fermente edildiği ve inülininden daha iyi bir BGD etkisi gösterdiği gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Gıda endüstrisi, Ekzopolisakkarit, Prebiyotik, Bifidobakterilerin Gelişimini Düzenleyici (BGD) etki, Endüstriyel biyoloji.

## DETERMINATION OF THE LYOPHILIZED EXOPOLYSACCHARIDES (L-EPS) OF LACTOBACILLUS BACTERIA BIFIDOGENIC GROWTH STIMULATOR EFFECT

### ABSTRACT

In this study, 119 bacteria belonging to the genus *Lactobacillus* were isolated from the gastrointestinal system of free-range village chickens obtained from different regions of Ankara. 11 isolates with high exopolysaccharide (EPS) production capacity were selected. Biochemical and molecular identification of the selected isolates was performed and according to the identification results, it was determined that 6 isolates were *Lactobacillus salivarius*, 2 isolates were *Lactobacillus agilis*, 2 isolates were *Lactobacillus reuteri* and 1 isolate was *Lactobacillus saerimneri*. EPS of 3 strains producing high EPS (*L. salivarius*

\* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ dilekuzundag@gmail.com

☎ (+90) 507 881 4885

Dilek Uzundağ; ORCID no: 0000-0002-6256-574X

Zehranur Yüksekdağ; ORCID no: 0000-0002-0381-5876

Mustafa Uludağ; ORCID no: 0000-0003-1976-162X

ZDM2132, BIS312, and BIS722) were isolated from the culture medium and lyophilized. In the study, the ability of *Bifidobacterium gallinarum* ATCC 33777 strain to ferment lyophilized EPS (l-EPS) obtained from *L. salivarius* ZDM2132, BIS312 and BIS722 bacteria were determined. In addition, the effects of l-EPS the bifidogenic growth stimulator (BGD) were compared to inulin that a commercial prebiotic. l-EPSs are fermented by *B. gallinarum* and have been shown to show a better BGD effect than inulin.

**Keywords:** Food industry, Exopolysaccharides, Prebiotic, Bifidogenic Growth Stimulator effect, Industrial biology.

## GİRİŞ

Dünyadaki temel sorunlardan biri ve belki de en önemlisi, insan beslenmesidir. Bu nedenle, bitki ve hayvan kaynaklarının iyi şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu amaca ulaşmak için hayvanlardan maksimum ve en ekonomik verimi sağlamak, başka bir ifadeyle, yemden yararlanmayı artırmak için çeşitli yöntemler geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam edilmektedir. Sürekli büyüme gösteren kanatlı sektöründe bazı stres faktörleri, hastalıklar ve diğer olumsuz çevresel koşullar nedeniyle ciddi ekonomik kayıplar meydana gelebilmektedir. Hem kayıpların azaltılması hem de verimin artırılmasına yönelik olarak daha çok antibiyotiklerden yararlanılmaktadır (İbrahim vd., 2019). Ancak yemlerde antibiyotiklerin kullanılması, insan ve hayvanlarda dirençli bakteri gelişimine sebep olması ve kanatlı etinde kalıntı bırakması nedeniyle AB ülkelerinde antibiyotiklerin hayvansal üretimde kullanılması yasaklanmıştır. Antibiyotik kullanımının hayvanlar üzerinde yasaklanması ile kanatlı endüstrisi işletmecileri ve sağlıklı ürün arayışında olan tüketiciler bilim insanlarını bir araya sürükleyerek alternatif maddelerin üretimine dair yeni çalışmalara yönlendirmiştir (Toghyani ve Faghan 2017; Tayeri vd., 2018). Kanatlı hayvan endüstrisinde tüm dünyada antibiyotikli büyüme destekçilerinin kullanımına yönelik yasaklardan dolayı antibiyotikli yemlere alternatiflere artan bir ihtiyaç doğmuştur. Prebiyotik, probiyotik ve bunların sinbiyotik olarak kombinasyonu alternatif olarak kabul edilmektedir (Gadde vd., 2017). Mikrobiyal prebiyotiklerin antibiyotikli yemlere ve bitkisel kaynaklı prebiyotik katkı maddelerine alternatif olarak tercih edilme nedenlerinin bağırsakta yer alan yararlı mikroorganizmaların sayısını arttırmalarından dolayıdır. Probiyotiklerin tercih nedeninin ise bağırsak mikrobiyotasındaki hastalıkları

engellemesi veya azaltması, antibiyotiklerle bozulan bağırsak biyotasının dengesini yeniden kurmasıdır (Shao vd., 2015; El-Shall vd., 2020).

Beslenme ve sağlık açısından sindirim sistemi mikroorganizmalarının ve bu mikroorganizmaların aktivitesini ve/veya gelişimini seçici olarak uyaran ve bağırsakta enteropatojen olmayan bakterilerin kolonizasyonunu kolaylaştıran, konakçı sağlığını olumlu yönde etkileyen, fermente olabilen prebiyotiklerin kanatlı hayvanlar için yararlı ve sağlıklı bir mikrobiyota oluşturdukları bildirilmektedir (Chen vd., 2017). Kanatlıların bağırsak mikrobiyotasında sağlığı iyileştirme özellikleri, tavuklarda verim ve performans özelliklerini arttırmalarından dolayı prebiyotikler, son yıllarda yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Caly vd., 2015; El-Shall vd., 2020). İnülin, GOS, FOS ve ksilo-oligosakkaritler gibi prebiyotikler bağırsak mikrobiyotasını uyaran ve sindirilemeyen oligosakkaritlerdir. Bağırsak mikrobiyotasında doğal olarak bulunan ve asıl yerleşim yerleri kalın bağırsak olan bifidobakteriler, sindirilemeyen bu kompleks oligosakkaritleri en küçük yapı taşları olan monosakkaritlere parçalarlar ve prebiyotikleri enerji kaynağı olarak kullanırlar (Hidalgo vd., 2017).

Bu çalışmada, tavuklarda doğal gastrointestinal mikrobiyota elemanı olan laktobasil cinsi bakterilerin izole edilmesi, kültür ortamında yüksek EPS üretim yeteneğine sahip izolatların seçilerek tanımlamalarının yapılması hedeflenmiştir. Ayrıca yüksek EPS üreten 3 suşun (*L. salivarius* ZDM2132, BIS312 ve BIS722) lyofilize EPS'lerin, EPS'lerin prebiyotik olarak değerlendirilmesinde kullanılan kriterlerden biri olan, *B. gallinarum* gelişimi üzerine etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Bakteri İzolasyonu ve Fenotipik

#### Karakterizasyon

Çalışmada, izolasyon materyali olarak Ankara ilinin 4 farklı bölgesinden (Yenikent, Soğulcak, Yatsören, Beypazarı) temin edilen 29 farklı serbest dolaşan köy tavuğu bağırsağı kullanılmıştır. Tavuklarda izofluran anestezisi kullanılarak ötenazi uygulanmış, ardından servikal dislokasyon yapılarak bağırsakları aseptik olarak çıkarılmış, steril plastik torbalara konulmuş ve hemen mikrobiyal analiz için laboratuvara getirilmiştir. Aseptik koşullarda laboratuvara getirilen bağırsakların her birinden 10 g alınmış ve MRS (de Man, Ragosa Sharpe) sıvı besiyerinde (40 mL) zenginleştirilmiştir. Aerobik şartlar altında homojen çalkalama ile 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 900 µL'lik hazırlanan fizyolojik su içerisine örnekten 100 µL ilave edilerek farklı dilüsyonları hazırlanmıştır. Örnekten hazırlanan 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> ve 10<sup>-6</sup> dilüsyonlarından MRS katı besiyerine ekimler yapıp 24 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerlerinde gelişen beyaz ve kremi koloniler seçilmiştir. Saf kültürler, Gram boyama, hücre morfolojisi, katalaz ve koagülaz reaksiyonu ile LAB olarak karakterize edilmiştir. Gram pozitif, katalaz ve koagülaz negatif izolatlar seçilmiş ve -20°C'de %28 gliserol (Merck) içeren MRS sıvı besiyerlerinde saklanmıştır. Stok kültürler her kullanımdan önce MRS besiyerinde iki kez alt kültürleme ile aktifleştirilmiştir (Reuben vd., 2019).

#### İzolatların Biyokimyasal ve Moleküler Karakterizasyonu

Tavukların GIS den 119 *Lactobacillus* cinsine ait 119 bakteri izole edilmiştir; kültür ortamında EPS üretim kapasitesi tespit edilen (sonuçlar verilmemiştir) ve yüksek EPS üreticisi 11 izolat tanımlanmak amacı ile seçilmiştir. Elde edilen 11 izolatın farklı sıcaklıklarda (15, 30, 45 ve 50°C), farklı tuz oranlarında (%2, %4 ve %6.5), farklı pH'larda (3.5; 4.5; 8.5 ve 9.5) gelişebilme yetenekleri ve glikozdan gaz oluşumu incelenerek ön tanımlamaları ile cins bazında ayrımları sağlanmıştır. Ayrıca izolatların şeker kullanımlarını belirlemek için API 50 CHL test kitinden (BioMérieux, Marcy l'Étoile France)

yararlanılmıştır. İzolatların API sonuçlarının değerlendirilmesi, API WEB (NTSYSpc 2.0) programında standart ATCC suşlarının API sonuçları ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

İzolatların genomik DNA izolasyonu, MRS besiyerinde 37°C'de 18-20 saat üretilen kültürlerden ticari DNA izolasyon kiti (Fermentas, K0512) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzole edilen genomik DNA moleküllerinin saflık kontrolü 260/280 ve 230 µL'deki absorbanları dikkate alınarak 260/280 ve 260/230 oranları ile belirlenmiştir. İzole edilen DNA'lar kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir. Yaklaşık 1500 bp'lik 16S rRNA gen dizilerinin çoğaltıldığı polimeraz zincir reaksiyonu, bakterilerin 16S rRNA gen bölgesine spesifik olan 27F ileri (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve 1492R geri (5'-TACGGTTACCTTGTACGACTT-3') primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonu için 1 örneğe toplamda 50 µL olacak şekilde 5 µL genomik DNA, 5 µL 10xKCl reaksiyon buffer, 5 µL MgCl<sub>2</sub> (25mM), 27 µL steril dH<sub>2</sub>O, 1.5 µL ileri primer (10 mM), 1.5 µL geri primer (10 mM), 1 µL dNTP karışımı (her biri 2 mM), 4 µL Taq DNA polimeraz (Fermentas, Thermo Fisher Scientific, ABD) hazırlanmıştır. Bu karışım Veriti™ Thermal Cycler cihazı (Applied Biosystems) kullanılarak; 4 dakika boyunca 94°C'de, 45 saniye 35 döngüde 94°C'de denatürasyon, 45 saniye 59°C'de bağlanma, 1 dakika 72°C'de uzama ve 5 dakika 72°C'de son uzaması gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri, 100 bp'lik marker kullanılarak % 1.5'luk agaroz jel elektroforezinde 70 V'da 2.5-3 saat yürütülmüştür. PCR ürünlerinin moleküler ağırlıkları, Bio-Rad görüntüleme sistemi yardımıyla hesaplanmıştır. 16S rRNA gen bölgesinin baz dizisini belirlemek amacıyla çift yönlü dizi analizi Ref-Gen Biyoteknoloji merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları blast fonksiyonu ile NCBI (National Center for Biotechnology Information) DNA Gen Bankası verilerinde karşılaştırılarak moleküler tanımlamaları yapılmıştır.

### **Lactobacillus** Suşlarından EPS İzolasyonu

Bakterilerinden EPS izolasyonu, Tsuda ve arkadaşlarının (2008) kullandığı metotta bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Aktif bakteriler Den-1 cihazında (Densitometer, bioSan, Australia) McFarland 7 bulanıklık değerine ayarlanarak standart bir bulanıklık değeri oluşturulduktan sonra, 800 mL MRS besiyerine %2 oranında aşılınmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 95°C'de sıcak su banyosunda 10 dk. benmeri usulü ısıtılmıştır. Oda sıcaklığına gelen örnekler, %4 oranında trikloroasetik asit (%80 TCA-Sigma) ile homojenize edilip, santrifüj edilmiştir. Filtratların üzerine hacmin üç katı kadar soğuk %96'lık etanol ilave edilip 1 gün boyunca +4°C'de bekletilmiştir. Ardından tekrar santrifüj edilerek EPS'nin presipite olması sağlanmıştır. Elde edilen EPS'ler steril distile suda çözüldükten sonra, liyofilizasyon tüplerine (vial) alınıp bir gece -80°C'de bekletilmiş ve EPS'ler liyofilizatör cihazında (Christ alpha 2-4 LD plus, Germany), dondurulup kurutulularak toz hâline (l-EPS) getirilmiştir.

### **l-EPS'lerin Bifidobakteriler Tarafından Fermente Edilmesi**

*Bifidobacterium gallinarum* ATCC 33777 suşunun l-EPS'yi fermente edip edemediğini araştırmak için, Bifidus Selective Medium (BSM) besiyerinde bulunan glikoz çıkarılmış ve yerine aynı oranda yüksek EPS üretim yeteneğine sahip olan *L. salivarius* ZDM 2132, BİS 722 ve BİS 312 suşlarından elde edilen (l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BİS722</sub> ve l-EPS<sub>BİS312</sub>) l-EPS'ler eklenmiştir. *B. gallinarum* ATCC 33777 McFarland 7 bulanıklık değerine ayarlanmış ve modifiye besi yerine %2 oranında aşılınarak, 37°C'de ve %10 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde (Panasonic, Japon) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Tsuda vd., 2008). İnkübasyon sonucunda kültürlerin canlılık değerleri seri dilüsyonlar yapılarak log kob/mL cinsinden hesaplanmıştır.

### **l-EPS'lerin Bifidobakter Gelişimini Düzenleyici (BGD) Etkisinin Belirlenmesi**

Farklı konsantrasyonlarda (%2.5, %5 ve %10) l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BİS722</sub> ve l-EPS<sub>BİS312</sub>'lerin bifidobakteri gelişimini düzenleyici (BGD) etkisi

belirlenmiştir. Glikozu tamamen çıkarılmış ve içerisinde ayrı ayrı %2.5, %5 ve %10 oranlarında l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BİS722</sub> ve l-EPS<sub>BİS312</sub> bulunan 5 mL steril BSM besiyerlerine, McFarland 7 bulanıklık değerindeki *B. gallinarum* ATCC 33777 %2 oranında aşılandıktan sonra 37°C'de ve %10 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde (Panasonic, Japon) en iyi gelişim süresi olan 24 saatte inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak steril glikozsuz BSM besiyeri, pozitif kontrol olarak aynı oranlarda ticari bir prebiyotik olan inülin kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürlerin canlılık değerleri seri dilüsyonlar yapılarak koloni sayım formülüne göre log kob/mL cinsinden hesaplanmıştır.

### **SONUÇ VE TARTIŞMA**

Gastrointestinal sistem (GİS) bir sindirim sistemi organı olmasının yanında baştan sona lenfoid doku niteliğinde olan mukozası ile en büyük bağışıklık sistemi organıdır (Bai vd., 2016). Organizmalarda bağırsak mikrobiyotasının yapısı beslenme, hastalık, çevresel faktörler, antibiyotik tedavisi gibi nedenlere bağlı olarak değişmektedir. Sağlıklı bir mikrobiyota bağırsak epitel hücrelerinde oluşturduğu bariyer sayesinde organizmayı, tüketilen besinler aracılığı ile alınan patojen bakterilerden ve antijenlerinden korumaktadır. GİS mikrobiyotasının dengesi patojenler, antijenler, oksidatif stres, radyasyon vb. faktörlerle bozulduğu zaman, normal mikrobiyotanın oluşturduğu bariyer ortadan kalkmakta ve mikrobiyota dengesi patojen mikroorganizmalar lehine kaymaktadır. Bunun sonucu olarak, bağırsak faaliyetlerinde bozulma, toksin oluşumu, kanser, karaciğer rahatsızlıkları ve bağırsak enfeksiyonları ortaya çıkabilmektedir (Alloui vd., 2013). Tavuk sindirim sisteminde insanda da olduğu gibi birbirinden farklı birkaç yüz bakteri vardır ve bu mikroorganizmalar bağırsak mikrobiyotasını oluşturmaktadırlar (Apajalahti vd., 2004; Han vd., 2016). Konağın sağlıklı bir şekilde yaşamına devam edebilmesi için bu mikrobiyotadaki yararlı ve zararlı bakterilerin denge içinde olması gerekmektedir (Baldwin vd., 2018).

Endüstriyel uygulamalarda araştırmaların en temel amacı kullanılacak bakterilerin seçimidir. Bu

nedene kullanılacak izolatların tanımlanmasında doğru, belirgin ve spesifik olarak ayırım sağlayan güvenilir yöntemlerin seçilmesi gerekmektedir (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Bu çalışmada 29 adet tavuğun gastrointestinal sisteminden 119 bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzolatların 8'i Yenikent (%7), 15'i Soğulcak (%14), 28'i Yatsören (%26), 9'u Beypazarı (%8) ve 49'u Çalta'dan (%45) elde edilmiştir. Daha sonra izolatların kültür ortamındaki EPS üretim kapasiteleri tespit edilmiş (sonuçlar verilmemiştir) ve izolatlar arasından yüksek EPS üretme

kapasitelerine göre 11 bakteri seçilmiştir. İzolatların saf kültürleri elde edildikten sonra ilk olarak Gram boyama, mikroskopik morfolojisi ve katalaz testi yapılmıştır. Daha sonra izolatların cins düzeyinde tanımlanması amacıyla biyokimyasal ve fizyolojik testler uygulanmıştır. Çubuk şeklindeki izolatların tanımlanmasında; glukozdan gaz oluşturma, farklı sıcaklık (15, 30, 45 ve 50°C), tuz (%2, %4 ve %6.5) ve pH (3.5/ 4.5/ 8.5 ve 9.5)'da gelişebilme ve katalaz testlerinden yararlanılmıştır. Sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. İzolatların biyokimyasal tanımlamaları  
Table 1. Biochemical definitions of isolates

İzolatlar	HO/ HE	Gram reaksiyonu	Katalaz	pH 3.5	pH 4.5	pH 8.5	pH 9.5	%2'lik NaCl	%4'lik NaCl	%6,5'lik NaCl	15°C'de gelişme	30°C'de gelişme	45°C'de gelişme	50°C'de gelişme
isolates	HO/ HE	Gram reaction	Catalase	pH 3.5	pH 4.5	pH 8.5	pH 9.5	%2 NaCl	%4 NaCl	%6.5 NaCl	Development at 15 °C	Development at 30 °C	Development at 45 °C	Development at 50 °C
ZDM 2132	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-
312	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-
722	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	+	-	+	+	-
721	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	+	-	+	+	-
731	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-
911	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	+	-	+	+	-
713	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	+	-	+	+	-
612	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-
412	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-
717	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-
820	HO	+	-	±	+	±	±	+	+	-	-	+	+	-

HO: Homofermantatif

HE: Heterofermantatif

+: Gelişme iyi

-: Gelişme yok

±: Gelişme az

HO: Homofermantative

HE: Heterofermantative

+: Good improvement

-: No improvement

±: Little improvement

Bakterilerin karbohidrat fermentasyon karakterizasyonu hakkında bilgi sağlayarak tanımlamayı kolaylaştıran API (Analytical Profile Index) sistemi, laktik asit bakterilerinin tür düzeyinde belirlenebilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Kültürlerin tür düzeyinde belirlenebilmesi amacıyla API 50 CHL test kitinden (BioMérieux, Marcy l'Étoile Fransa) yararlanılmıştır. API 50 CHL test kitinden alınan sonuçlar, 'API Tanımlama Yazılımı' (API Lab Plus ProGram, BioMérieux, Fransa) programında değerlendirilerek, izolatlar tür düzeyinde belirlenmiştir. İzolatların %9'u *L. affmolactis*, %18'i *L. acidophilus*, %27'si *L. fermentum* ve %46'sı *L. salivarius* olarak tanımlanmıştır.

LAB tanımlamasında cins ve tür bazında ayrımı için halen kullanılan ve yorumlaması zor, zaman alıcı ve daha az ayırım gücüne sahip olan fenotipik yöntemlerin yerine moleküler yöntemler tercih edilmektedir (Bennani vd., 2017). Çalışmamızda, tür ve alt tür düzeyinde tanımlama yapan API testinin sonuçları ile biyokimyasal tanımlama testlerinin sonuçları arasında bazı uyumsuzluklar olduğu görülmüş ve bu durumun API testinde yapılan tanımlamaların düşük oranda (%90'nın altı) olmasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. Fenotipik ve biyokimyasal

tanımlamalar halen önemli bir rol oynasa da yorumlaması oldukça zor ve zaman alıcıdır. Bu yöntemler moleküler yöntemlere göre daha az ayırım gücüne sahip olduklarından çalışmamızda, 11 izolatın moleküler tanımlamaları yapılmıştır. Bakteriler 16S rRNA dizi analizinden elde edilen baz sıralarının NCBI BLAST veri tabanındaki sonuçlarına göre; 11 izolatın 6'sı *L. salivarius*, 2'si *L. reuteri*, 2'si *L. agilis* ve 1'i *L. saerimneri* olarak tanımlanmıştır. API ve moleküler tanımlama sonuçlarında, yalnız 4 izolatta benzer sonuçlar elde edilirken 7 izolat için farklı türler tanımlanmıştır (Çizelge 2). Kobierecka vd (2017), 64 tavuğun gastrointestinal sisteminden toplam 107 *Lactobacillus* sp. izole etmişler ve moleküler tanımlama sonucuna göre *L. salivarius* (%68) ve *L. agilis* (%12) türlerinin diğer *Lactobacillus* türlerinde göre daha yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada, tavuktan izole edilen 46 izolat *L. salivarius* (n=15), *L. johnsonii* (n=11), *L. crispatus* (n=5), *L. ingluvei* (n=5), *L. reuteri* (n=5), *L. oris* (n=2) ve *L. saerimneri* (n=3) olarak tanımlamışlardır (Madej vd., 2015). Yapılan çalışmalar bizim çalışmamızı destekler nitelikte olup, tavukların mikrobiyotasında *L. salivarius* türünün baskın olduğu görülmektedir.

Çizelge 2. İzolatların API ve moleküler tanımlamaları

Table 2. API and molecular definitions of isolates

İzolat Kodu (Isolate Code)	API ile tanımlama (Identification with API)	% Tanımlama (% Identification)	16 S rRNA'ya göre tanımlama (To 16 S rRNA identification by)	% Tanımlama (% Identification)	EMBL / Genbank No	OD <sub>260/280</sub> nm
ZDM 2132	<i>L. salivarius</i>	99.9	<i>L. salivarius</i>	99	CP017107.1	1.98
BİS 312	<i>L. salivarius</i>	99.9	<i>L. salivarius</i>	99	CPO17107.1	1.92
BİS 412	<i>L. affmolactis</i>	98.2	<i>L. salivarius</i>	99	CPO17107.1	1.90
BİS 713	<i>L. fermentum</i>	93.9	<i>L. salivarius</i>	97	FJ751783.1	1.75
BİS 722	<i>L. salivarius</i>	87.0	<i>L. salivarius</i>	99	KP090132.1	1.89
BİS 820	<i>L. salivarius</i>	99.0	<i>L. salivarius</i>	99	CP017107.1	1.98
BİS 612	<i>L. acidophilus</i>	99.8	<i>L. reuteri</i>	99	JF927773.1	1.83
BİS 731	<i>L. fermentum</i>	89.7	<i>L. reuteri</i>	99	LC163917.1	1.83
BİS 717	<i>L. fermentum</i>	96.0	<i>L. saerimneri</i>	99	KU991812.1	2.00
BİS 721	<i>L. salivarius</i>	88.1	<i>L. agilis</i>	99	KP979478.1	1.92
BİS 911	<i>L. acidophilus</i>	90.7	<i>L. agilis</i>	98	AB911458.1	1.95



Probiyotik ve prebiyotikler gerek sağlıklı bir gelişme gerekse hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yerine, doğal biyolojik ürünleri destekleyici alternatif ürünler olarak kullanılabilir (Clavijo vd., 2017). Fermente olabilen prebiyotikler, kümes hayvanlarının GIS'de mikrobiyal popülasyon üyelerinin sayılarını ve ürettikleri metabolitlerini arttırmakta ve konakçı sağlığını desteklemektedirler. Kümes hayvanlarının GIS sağlığını geliştirmek için son yıllarda tavuklarda yem katkısı olarak prebiyotiklerin kullanılması hız kazanmıştır (Tayeri vd., 2018; Baldwin vd., 2018). Prebiyotiklerin öneminin artmasından dolayı, bu çalışmada laktobasillerden elde edilen l-EPS'lerin prebiyotik katkı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması için l-EPS'lerin (l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub>) bifidobakteriler tarafından fermente edilme yetenekleri ve bifidobakterilerin gelişimini düzenleyici (BGD) etkisi, ticari bir prebiyotik olan inülin ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

Bir besin bileşeninin prebiyotik özellik taşıyabilmesi için sindirime dirençli olması, kolon mikrobiyota bakterileri tarafından hidrolize edilmesi, bir veya kısıtlı sayıda olmak üzere daha çok bakterinin çoğalmasını uyarması, konakçının sağlığı üzerinde olumlu etkileri olması gibi özellikleri taşıması beklenmektedir (Shang vd.,

2018). EPS'lerin prebiyotik etki göstermesinde, bağırsak mikrobiyotası için *Bifidobacterium* sp. gibi yararlı bakteriler tarafından fermente edilmesi gerektiği bildirilmektedir (Koraklı vd., 2002; Badel vd., 2011). Bu amaçla bu çalışmada l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub> *B. gallinarum* ATCC 33777 suşu tarafından fermente edilebilme özelliği araştırılmıştır. *B. gallinarum* ATCC 33777 suşu karbon kaynağı (glikoz) çıkarılmış BSM besiyerinde her üç l-EPS'yi (l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub>) sırasıyla 8.55 log kob/mL, 8.45 log kob/mL, 8.76 log kob/mL kullanarak BSM besiyerine göre (kontrol) gelişimlerini arttırmışlardır (8.0 log kob/mL). *B. gallinarum* ATCC 33777 suşu, ticari olarak kullanılan inülini de karbon kaynağı olarak kullanmıştır (8.02 log kob/mL) (Çizelge 3). Ancak çalışmamızda kullandığımız bakteri kültürlerinden elde edilen l-EPS'lerin *B. gallinarum*'un gelişimini daha çok arttırdığı belirlenmiştir. Salazar ve arkadaşları (2016) ise bazı bifidobakteri suşlarının, karbonhidrat modifiye enzimleri aracılığı ile mannoz içeren polisakaritleri fermente edebildiklerini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, *B. gallinarum*'un üç l-EPS'yi de ticari ve bitki kaynaklı prebiyotik olan inüline göre daha iyi bir şekilde fermente edebilmesinden dolayı tavuklarda yem katkısı olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Çizelge 3. *B. gallinarum* ATCC 33777 suşunun l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub> ve inülini fermente edebilme kapasitesi

Table 3. *B. gallinarum* ATCC 33777 strain to l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub> and inulin fermenting capacity

	Besiyeri İçeriği (Media Content)	Canlılık sayısı (Viability number) (log kob/mL)
<i>Bifidobacterium gallinarum</i> ATCC 33777	BSM <sup>a</sup>	8.00 ± 0.2
	C-BSM <sup>b</sup>	6.20 ± 0.2
	l-EPS <sub>ZDM2132</sub> <sup>c</sup>	8.55 ± 0.2
	l-EPS <sub>BIS312</sub> <sup>c</sup>	8.45 ± 0.2
	l-EPS <sub>BIS722</sub> <sup>c</sup>	8.76 ± 0.2
	Inülin <sup>d</sup>	8.02 ± 1.3

a; BSM besiyeri.

b; Glikozu çıkarılmış BSM besiyeri.

c; Glikozu çıkarılmış BSM besiyerine %2 oranında l-EPS ilavesi ile hazırlanmıştır.

d; Glikozu çıkarılmış BSM besiyerine %2 oranında inülin ilavesi ile hazırlanmıştır

a; BSM media.

b; Glucose-removed BSM media.

c; Prepared by adding 2% l-EPS to the glucose-removed BSM medium.

d; Prepared by adding 2% inulin to glucose-removed BSM medium.

Bağırsak mikrobiyotasında bulunan bifidobakterilerin intestinal alanda birçok yararlı etkisi olduğundan gastrointestinal sistemdeki sayısının ve yararlı özelliklerinin artışının sağlanması için bugüne kadar laktuloz, frukto-oligosakkaritler, galakto-oligosakkaritler, soya oligosakkaritleri, izomalto-oligosakkaritler, glukto-oligosakkaritler ve inülin ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Bu karbonhidratlar bifidobakteriler tarafından seçici olarak fermente edilmekte ve bifidogenik aktivite göstermektedirler (Wang vd., 2015; Tarabees vd., 2018; Wang vd., 2020). Sarıkaya vd (2017) bu oligosakkaritlere alternatif olarak, laktik asit bakterilerinden elde edilen EPS'lerin bağırsak mikrobiyotası için yararlı olan bifidobakterilerin gelişimini düzenlediğini bildirmişlerdir.

Probiyotik bakterilerden elde edilen l-EPS'lerin, prebiyotik olarak kullanılabilmesi için öncelikle bağırsak mikrobiyotasında yaygın olarak bulunan ve faydalı bir bakteri cinsi olan bifidobakterilerin gelişimini düzenlemesi gerektiğinden, bu çalışmada l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub>'lerin BGD etkisinin ne düzeyde etkilediği ortaya konulmaya çalışılmıştır. Besiyerinde bulunan glikoz yerine, %2.5, %5 ve %10 oranında l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub>'ler ilave edilmiştir. Bifidobakterin gelişimi artan l-EPS konsantrasyonlarında kontrol besiyerine (BSM) göre önemli ölçüde arttırmıştır (Çizelge 4). En yüksek BGD aktivitesi %10 l-EPS<sub>BIS722</sub>'li kültür ortamında tespit edilmiştir (11.2 log kob/mL). Kültür ortamına %10 oranında l-EPS<sub>BIS722</sub>'li ilave edildiğinde *B. gallinarum* ATCC 33777 suşunun canlılığı %40 artmıştır. 3 *L. salivarius* suşundan da elde edilen l-EPS'ler en düşük konsantrasyonda (%2.5) dahi bitkisel kaynaklı ticari bir prebiyotik olan inülininden daha yüksek BGD etkisi göstermiştir. Yonezawa ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları çalışmada, 19 *L. lactis* spp. suşunun *Bifidobacterium longum* BB536 suşuna olan etkisini incelemişler ve hücre duvarı bağlantılı proteinaz enzimine sahip olan suşların bifidobakteri gelişimini arttırdığını bildirmişlerdir.

*L. salivarius* suşlarından elde edilen l-EPS'lerin bifidobakterilerin gelişimini önemli ölçüde arttırmış olması ve tavuklarda ticari olarak

kullanılan bitkisel kaynaklı inüline kıyasla çok daha yüksek olması nedeniyle, tavuklarda prebiyotik yem katkı maddesi olarak değerlendirilme potansiyeli bulunmaktadır.

Çizelge 4. l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub>'lerin *B. gallinarum* ATCC 33777 suşunun gelişimini düzenleyici etkisi

Table 4. The regulatory effect of l-EPS<sub>ZDM2132</sub>, l-EPS<sub>BIS722</sub> ve l-EPS<sub>BIS312</sub>'s development of strain *B. gallinarum* ATCC 33777

<i>B. gallinarum</i> ATCC 33777 (log kob/mL)	
Kontrol <sup>a</sup> (Control <sup>b</sup> )	8.0 ± 0.0
C-BSM <sup>b</sup>	5.8 ± 0.2
l-EPS <sub>ZDM2132</sub> (%) <sup>c</sup>	
2.5	9.6 ± 0.1
5	9.7 ± 0.1
10	9.8 ± 0.0
l-EPS <sub>BIS312</sub> (%) <sup>c</sup>	
2.5	9.4 ± 0.0
5	9.4 ± 0.0
10	9.6 ± 0.2
l-EPS <sub>BIS722</sub> (%) <sup>c</sup>	
2.5	9.9 ± 0.1
5	10.6 ± 0.1
10	11.2 ± 0.1
İnülin (%) <sup>d</sup>	
2.5	6.5 ± 0.2
5	6.9 ± 0.2
10	7.1 ± 0.2

a; BSM besiyeri.

b; %2 glikozu çıkarılmış BSM besiyeri.

c; %2 glikozu çıkarılmış BSM besiyerine farklı oranlarda l-EPS ilave edilmiş besiyeri.

d; %2 glikozu çıkarılmış BSM besiyerine farklı oranlarda inülin ilave edilmiş besiyeri.

a; BSM media.

b; %2 Glucose-removed BSM media.

c; Fattening medium with different ratios of l-EPS added to BSM fattening medium with 2% glucose removed.

d; Fattening medium with different proportions of inulin added to the BSM fattening medium with 2% glucose removed.

## TEŞEKKÜR

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na TAGEM/15/AR-GE/40 nolu proje için vermiş oldukları araştırma-geliştirme desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

Alloui, M. N., Szczurek, W., Świątkiewicz, S. (2013). The usefulness of prebiotics and probiotics in modern poultry nutrition: A review. *Ann Anim Sci*, 13(1), 17-32.

Apajalahti, J., Kettunen, A., Graham, H. (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poult Sci J*, 60(2), 223-232.

Badel, S., Bernardi, T., Michaud, P. (2011). New perspectives for *Lactobacilli* exopolysaccharides. *Biotechnol Adv*, 29(1), 54-66.

Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., He, J., Zhang, L., Wang, T. (2016). Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. *Poult Sci*, 96(1), 74-82.

Baldwin, S.; Hughes, R.J.; Van, T.T.H.; Moore, R.J.; Stanley, D. (2018). At-hatch administration of probiotic to chickens can introduce beneficial changes in gut microbiota. *PLoS ONE*, 13, e0194825.

Bennani, S, Mchiouer, K., Rokni, Y., Meziane, M. (2017). Characterisation and identification of lactic acid bacteria isolated from Moroccan raw cow's milk. *J Mater Environ Sci*, 8(S), 4934-4944.

Caly, D.L.; D'Inca, R.; Auclair, E.; Drider, D. (2015). Alternatives to antibiotics to prevent necrotic enteritis in broiler chickens: A microbiologist's perspective. *Front Microbiol*, 6, 1336.

Chen, C. Y., Chen, S. W., Wang, H. T., (2017). Effect of supplementation of yeast with bacteriocin and *Lactobacillus* culture on growth performance, cecal fermentation, microbiota composition, and blood characteristics in broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci*, 30(2); 211.

Clavijo, V., Flórez, M. J. V. (2017). The gastrointestinal microbiome and its association

with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poult Sci*, 97(3), 1006-1021.

El-Shall, N.A., Awad, A.M., El-Hack, M.E.A., Naiel, M.A., Othman, S.I., Allam, A.A., Sedeik, M.E. (2020). The simultaneous administration of a probiotic or prebiotic with live salmonella vaccine improves growth performance and reduces fecal shedding of the bacterium in salmonella-challenged broilers. *Anim*, 10, 70.

Gadde, U., Kim, W.H., Oh, S.T., Lillehoj, H.S. (2017). Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: A review. *Anim Health Res Rev*, 18, 26-45.

Han, G.G., Kim, E.B., Lee, J., Lee, J.Y., Jin, G., Park, J., Huh, C.S., Kwon, I.K., Kil, D.Y., Choi, Y.J., Kong, C. (2016). Relationship between the microbiota in different sections of the gastrointestinal tract, and the body weight of broiler chickens. *Springerpl*, 5(1), 911.

Hidalgo-Cantabrana, C., Delgado, S., Ruiz, L., Ruas-Madiedo, P., Sanchez, B., Margolles, A. (2017). *Bifidobacteria* and their health-promoting effects. *Microbiol Spect*, 5(3).

Ibrahim, R.A., Cryer, T.L., Lafi, S.Q., Basha, E., Good, L., Tarazi, Y.H. (2019). Identification of *Escherichia coli* from broiler chickens in Jordan, their antimicrobial resistance, gene characterization and the associated risk factors. *BMC Vet Res*, 15(159), 2- 16.

Kıran, F., Osmanağaoğlu, Ö. (2011). Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 27(1), 62-74.

Kobierecka, P. A., Wszyńska, A. K., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Kuczkowski, M., Tuzimek, A., Piotrowska, W., Jagusztyn-Krynicka, E. K. (2017). *In vitro* characteristics of *Lactobacillus* spp. strains isolated from the chicken digestive tract and their role in the inhibition of *Campylobacter* colonization. *Microbiol*, 6(5), e00512.

Korakli, M., Gänzle, M. G., Vogel, R. F. (2002). Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye,

- and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J Appl Microbiol*, 92(5), 958-965.
- Madej, J.P., Stefaniak, T., Bednarczyk, M. (2015). Effect of in ovo-delivered prebiotics and synbiotics on lymphoid-organs' morphology in chickens. *Poult Sci*, 94, 1209-1219.
- Reuben R.C, Roy P.C., Sarkar S.L., Alam R., Jahid K.I. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiol*, 19:253.
- Salazar, N., Gueimonde, M., de los Reyes-Gavilan, C. G., Ruas-Madiedo, P. (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and bifidobacteria as fermentable substrates by the intestinal microbiota. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(9), 1440-1453.
- Sarikaya, H., Aslim, B., Yuksekdog, Z. N. (2017). Assessment of anti-biofilm activity and bifidogenic growth stimulator (BGS) effect of lyophilized exopolysaccharides (L-EPSs) from *Lactobacilli* strains. *Int J Food Prop*, 20(2), 362-371.
- Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., Kim, W.K. (2018). Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Fron Vet Sci*. 5.
- Shao, Y., Zhang, W., Guo, H., Pan, L., Zhang, H., Sun, T. (2015). Comparative studies on antibiotic resistance in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Control*, 50, 250-258.
- Tarabees, R., Gafar, K. M., EL-Sayed, M. S., Shehata, A. A., Ahmed, M. (2018). Effects of dietary supplementation of probiotic mix and prebiotic on growth performance, cecal microbiota composition, and protection against *Escherichia coli* O78 in broiler chickens. *Probio Antimicrob Proteins*, 10, 1-9.
- Tayeri, V., Seidavi, A., Asadpour, L., Phillips, C.J.C. (2018). A comparison of the effects of antibiotics, probiotics, synbiotics and prebiotics on the performance and carcass characteristics of broilers. *Vet Res Commun*, 42, 195-207.
- Toghyani, M. and Faghan, N. (2017). Effect of Sumac (*Rhus Coriaria* L.) Fruit powder as an antibiotic growth promoter substitution on growth performance, immune responses and serum lipid profile of broiler chicks. *Indian J Pharm Educ Res*, 51(3), S295-S298.
- Tsuda, H., Hara, K., Miyamoto, T. (2008). Binding of mutagens to exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* mutant strain 301102S. *J Dairy Sci*, 91(8), 2960-2966.
- Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., Yang, Z. (2015). Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *Int J Biol Macromol*, 74, 119-126.
- Yonezawa, S., Xiao, J. Z., Odamaki, T., Ishida, T., Miyaji, K., Yamada, A., Yaeshima, T., Iwatsuki, K. (2010). Improved growth of bifidobacteria by cocultivation with *Lactococcus lactis* subspecies *lactis*. *J Dairy Sci*, 93(5), 1815-1823.

## MİDYE ÖRNEKLERİNDE *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*'A KARŞI KORUK, LİMON VE NAR SUYUNUN ANTİBAKTERİYEL ETKİSİ

Fatma Öztürk\*

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 07.02.2020; Kabul / Accepted: 07.05.2020; Online baskı / Published online: 11.05.2020

Öztürk, F. (2020) Midye örneklerinde *Vibrio parahaemolyticus*'a karşı koruk, limon ve nar suyunun antibakteriyel etkisi. GIDA (2020) 45(3) 506-516 doi: 10.15237/gida.GD20024

Öztürk, F. (2020). Antibacterial effect of unripe grape lemon and pomegranate juice against *Vibrio parahaemolyticus* in mussels samples. GIDA (2020) 45(3) 506-516 doi: 10.15237/gida.GD20024

### ÖZ

Bu çalışmada, koruk, limon ve nar suyunun *Vibrio parahaemolyticus*'a karşı antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, midye örneklerine yaklaşık  $10^7$  KOB/g *V. parahaemolyticus* inokule edilmiştir. İnokülasyon yapılan midye örnekleri 0, 30, 60 ve 90 dk koruk, limon ve nar suyunda bekletilmiş ve 4 °C'da 6 gün boyunca depolanmıştır. Depolama periyodunda, *V. parahaemolyticus* sayısı, pH ve titre edilebilir asitlik belirlenmiş ve duyuşal parametreler açısından değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, en yüksek antibakteriyel etki koruk suyu uygulanan deneme gruplarında görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Denemenin 0. gününde koruk, limon ve nar suyu uygulanan gruplardaki *V. parahaemolyticus* sayısı, konsantrasyona bağlı olarak sırasıyla 2.22-2.64; 1.58-1.85 ve 1.44-1.71 log KOB/g düzeyinde azalma göstermiştir. Bu azalma eğilimi depolamanın diğer günlerinde de devam etmiştir. Duyuşal değerlendirme sonucunda, nar suyunun, midye örneklerinin renk ve görünüşünü olumsuz etkilediği belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Araştırma sonunda, ev uygulamalarında kullanılan sofrta tipi asitleştiricilerin, özellikle koruk suyunun yüksek düzeyde antibakteriyel etkisinin olduğu, su ürünlerinde gıda güvenliğinin sağlanması için kullanılabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Midye, *Vibrio parahaemolyticus*, koruk, limon, nar, antibakteriyel etki

## ANTIBACTERIAL EFFECT OF UNRIPE GRAPE, LEMON AND POMEGRANATE JUICE AGAINST *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* IN MUSSELS SAMPLES

### ABSTRACT

In this study, antibacterial effect of koruk (unripened grape), lemon and pomegranate juice against *Vibrio parahaemolyticus* was investigated. For this purpose, approximately  $10^7$  CFU/g *V. parahaemolyticus* were inoculated into mussel samples. Inoculated mussel samples were treated with koruk, lemon and pomegranate juice for 0, 30, 60 and 90 minutes and stored at 4 °C for 6 days. During the storage period, *V. parahaemolyticus* number, pH and titratable acidity value were determined and evaluated in terms of sensory parameters. As a result of the research, the highest antibacterial effect was detected in the koruk juice groups ( $P < 0.05$ ). On the 0th day of the experiment, the number of *V. parahaemolyticus* in the groups that were applied koruk, lemon and pomegranate juice were decreased by 2.22-2.64; 1.58-1.85, and 1.44-1.71 log CFU/g, respectively. This downward trend continued on other storage days. Sensory evaluation revealed that pomegranate juice negatively affected the color and appearance of mussel samples ( $P < 0.05$ ). As a result, it has been determined that acidic acidifiers used in home applications, especially the koruk juice has a high antibacterial effect, and can be used for food safety in seafood.

**Keywords:** Mussel, *Vibrio parahaemolyticus*, koruk, lemon, pomegranate, antibacterial effect

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: fatma.ozturk@ikc.edu.tr

☎ (+90) 232 329 3535/4215

☎ (+90) 232 325 0535

Fatma Öztürk; ORCID no: 0000-0003-4763-3801

## GİRİŞ

Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) *Mytilae* ailesine aittir ve Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen çok popüler bir yumuşakça türüdür (Bingol vd., 2008). Sucul çevrenin doğal bir parçası olan midyeler, zengin organik madde içeriği ile ekonomik değere sahip olan önemli ve besleyici deniz canlılarından biridir (Kayhan vd., 2016). Kaliteli ve ucuz protein kaynağıdır. Çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin, düşük yağlı ve düşük kolesterolü bir gıdadır (Erkan, 2005). İz elementler (selenyum, kalsiyum, demir, magnezyum ve fosfor), vitaminler (A, B1, B2, B6, B12, C, D ve E) ve glikojen bakımından da çok zengindir (Bingol vd., 2008; Tosun vd., 2018).

Yaşadıkları sucul ortamdaki suyu filtre ederek beslenen midyeler, patojenler de dahil olmak üzere birçok mikroorganizmayı bünyelerinde biriktirmektedir (Tosun vd., 2018). Ayrıca, yüksek glikojen ve serbest aminoasit içeriği, yüksek su aktivitesi ( $a_w > 0.95$ ) ve nötr pH (6.7-7.1) değeri, midyeleri mikroorganizmaların gelişebileceği ideal bir substrat yapmaktadır (Bingol vd., 2008; Tosun vd., 2018).

Çiğ veya az pişmiş kabuklu su ürünlerinin tüketiminden kaynaklanan gıda kaynaklı enfeksiyonlar yaygın olarak görülmektedir (Kayhan vd., 2016; Tosun vd., 2018). Kabuklu su ürünlerinden izole edilen ve gıda enfeksiyonuna neden olan ölümcül insan patojenleri arasında *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae* ve *V. vulnificus* önde gelmektedir (Camkerten vd., 2017; Nawi vd., 2017). ABD'de, yıllık olarak yaklaşık 35.000 *V. parahaemolyticus* kaynaklı gıda enfeksiyonu görülmekte ve bunların çoğu çiğ veya az pişmiş kabuklu su ürünlerinin tüketiminden kaynaklanmaktadır (Newton vd., 2014). Bu ürünlerin tüketimi sonucu oluşan hastalıkların önlenbilmesinde en önemli nokta, tüketim öncesinde ete uygulanacak olan işlemlerle ürünün güvenlik seviyesinin artırılmasıdır (Ibrahim vd., 2018).

İşlenmiş gıdalarda mikrobiyel gelişimi engellemek amacıyla sentetik katkı maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu maddelerin güvenilirlikleri üzerinde oluşan endişelerden

dolayı doğal katkı maddelerine olan ilgi artmıştır (Ibrahim vd., 2018). Doğal koruyuculara yönelik artan eğilim, gıdaların kalitesini ve güvenliğini artırmak için sitrik, asetik ve laktik asit gibi zayıf organik asitlerin kullanımını gündeme getirmiştir (Bingol vd., 2011; Abd-El-Malek ve El-khateib, 2018; Ozturk ve Sengun, 2019). Organik asitler ve doğal asidik meyve suları, gıdaların işlenmesi sırasında bozulmaya neden olan ve patojenik mikroorganizmaların büyümesini ve hayatta kalmasını kontrol etmek için kullanılmaya başlanmıştır (Karabiyikli ve Öncül, 2016). Organik asitlerin patojenik bakteriler üzerindeki etkisi kapsamlı bir şekilde araştırılsa da, bu asitlerin su ürünlerinde kullanımına yönelik çok az veri bulunmaktadır (Mathur ve Schaffner, 2013).

Meyve ve sebzelerin yapısında malik, sitrik, süksinik ve tartarik asit gibi pek çok organik asit bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda koruk, limon, nar, pırasa, soğan, üzüm gibi çeşitli meyve-sebze ve sularının antimikrobiyel etkisinin, çoğunlukla yapılarında bulunan organik asitlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Karapınar ve Sengun, 2007; Saeedi vd., 2017; Ibrahim vd., 2018, Lytoun vd., 2018).

Limon suyu; doğal, ucuz ve güvenli olduğu için gerek aroma vermek gerekse antibakteriyel olarak gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Abd-El-Malek ve El-khateib, 2018). Limon, antimikrobiyel aktiviteyi arttıran limonoidler, polimetoksi flavonlar, flavon glikozitler dahil bir grup flavonoid içermektedir. Sitrik asit, limon suyunun önemli bir bileşenidir, yaklaşık 0.056 g/g oranında bulunur ve antibakteriyel aktiviteden sorumludur (Mathur ve Schaffner, 2013; Alfonzo vd., 2017; Ibrahim vd., 2018).

Nar (*Punica granatum* L.) polifenolik bileşikler (galocatechins, delphinidin, cyanidin ve pelargonidin) bakımından zengin bir meyvedir (Naz vd., 2007; Betanzos-Cabrera vd., 2015). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, nar ekstraktlarının antimikrobiyel ve antiviral aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Naz vd., 2007; Ibrahim vd., 2018; Lytoun vd., 2018). Ancak, yüksek antioksidan kapasiteye sahip nar suyunun antimikrobiyel aktivitesi üzerinde çok az sayıda çalışma

bulunmaktadır (Türkyılmaz vd., 2013; Betanzos-Cabrera vd., 2015).

Üzüm meyvesinin olgunlaşmamış hali “koruk” (*Vitis vinifera* L.) olarak bilinmektedir. Koruk suyu, olgunlaşmamış üzümlerin sıkılmasıyla elde edilen bir içecektir (Çevik vd., 2016). Akdeniz ülkelerinde sirke ve limon suyu gibi yemekler, salatalar ve mezeler için asitleştirici ve aroma verici olarak kullanılır (Çevik vd., 2016; Ozturk ve Sengun, 2019, Sengun vd., 2019). Koruk, düşük şeker içeriğine sahip bir meyvedir ve yüksek miktarda tartarik ve malik asit içerir (Ozturk ve Sengun, 2019). Koruk suyunun, kafeik asit, kateşin, epikateşin, gallik asit, kumarik asit, protokatekik asit, quercetin, quercetin glikozit ve tirozol gibi fitokimyasal bileşikler içerdiği bildirilmiştir (Karabiyikli ve Öncül, 2016; Ozturk ve Sengun, 2019; Sengun vd., 2019). Koruk suyunun, asidik özelliği ve yapısında bulunan fenolik bileşenler, antioksidan etkisinin yanı sıra antimikrobiyel aktivite göstermesine de olanak sağlamaktadır. Ancak, koruk suyunun antimikrobiyel etkisi üzerine yürütülen çalışma sayısı birkaç adet ile sınırlıdır (Karapinar ve Sengun, 2007; Karabiyikli ve Öncül, 2016; Ozturk ve Sengun, 2019).

Gıdalara tat vermek için kullanılan asidik sıvılar antimikrobiyel etkilere sahiptir. Limon suyu, su ürünleri etlerin marine edilmesi için en yaygın kullanılan ürünlerden birisidir. Ancak, nar suyu ve koruk suyunun su ürünlerinde kullanımına yönelik yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, farklı sürelerde koruk, limon ve nar suyunda bekletilen midye etlerinde *V. parahaemolyticus*'un canlı kalma düzeyinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, kullanılan asidik sıvıların midye etlerinin duyuusal özellikleri üzerindeki etkisinin belirlenmesi de hedeflenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Ekim 2019'da Bodrum bölgesinden temin edilen midyeler (*Mytilus galloprovincialis*) buz içeren strafor kutular içerisinde laboratuvara getirilmiş ve materyal olarak kullanılmıştır. Denemelerde kullanılan *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802

suşu İzmir Katip Çelebi Üniversitesi kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

### Bakteri inokülümünün hazırlanması

*V. parahaemolyticus*'un sıvı formdaki stok kültürleri, gliserol içeren (%20; v/v) TSB besiyerinde  $-20\pm 2$  °C'da muhafaza edilmiştir. Denemeler için 15 mL TSB besiyerine stok kültürlerden 150 µL aktarılıp, 37 °C'da 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Aktif bakteri kültürleri santrifüj tüplerine aktarılmış ve 15 dk boyunca 6000 rpm hızda (Hermle Z206A) santrifüjlenmiştir. Fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılarak süspansiyon edilen hücre peletleri iki kez daha santrifüjleme işlemiyle yıkanmıştır. Santrifüj sonrasında elde edilen pelet kısmı üzerine FTS eklenerek denemelerde kullanılacak bakteri inokülümleri hazırlanmıştır.

### Uygulama solüsyonlarının hazırlanması

#### Koruk suyu üretimi

Koruk suyu üretimi için Manisa'da yetiştirilen Yediveren cinsi olgunlaşmamış üzümler (*Vitis vinifera* L.) kullanılmıştır. Demetlerinden ayrılan koruk meyveleri musluk suyuyla yıkandıktan sonra sirkeli suda (%5 v/v) 15 dk bekletilip durulanmıştır. Plastik bir küvet içinde ezildikten sonra elle sıkılmıştır. Elde edilen karışım tülbenitten süzülerek pet şişelere aktarılmış ve analize kadar  $-18$  °C'da depolanmıştır. Hazırlanan koruk suyunun pH ve titre edilebilir asit değeri (TA) 2.69 ve % 4.5 (tartarik asit) olarak belirlenmiştir.

#### Limon ve nar suyunun hazırlanması

Limon ve nar meyvesi İzmir'deki yerel bir marketten temin edilmiştir. Meyveler musluk suyuyla yıkanmış ve steril bir bıçakla kesilmiştir. Taze meyve sularını hazırlamak için ev tipi bir meyve sıkacağı kullanılmıştır. Elde edilen limon suyunun pH ve TA değeri 2.52 ve % 8.32 (sitrik asit), nar suyunun pH'sı 3.33 ve TA değeri % 1.92 (susuz sitrik asit) olarak belirlenmiştir.

#### Midye örneklerinin *V. parahaemolyticus* ile inokule edilmesi ve meyve sularıyla muamelesi

Midye örnekleri musluk suyuyla yıkandıktan sonra, kabukları %76'lık alkolle silinmiştir. Steril bıçak kullanılarak eti çıkartılmıştır. Midye

etlerinde *V. parahaemolyticus* analizi yapılarak, bu patojen bakımında negatif olduğu belirlenmiştir. Midye örneklerinden 100'er g alınarak steril Petri kutularına aktarılmıştır. Bu örnekler üzerine, *V. parahaemolyticus* inokülasyonlarından 1 mL ( $10^9$  KOB/mL) pipetlenmiş ve steril Drigalski spatülü ile bakterinin homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Bakteri hücrelerinin ete iyi nüfuz etmesi için 20 °C'da 30 dk bekletilmiştir. Bu şekilde hazırlanan ve yalnızca bakteri içeren grup kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Diğer deneme gruplarının hazırlanması için, bakteri inoküle edilen midyeler 30, 60 ve 90 dk koruk, limon ve nar suyuna [midye eti/meyve suyu, 1/2 (w/v)] daldırılmış ve süre sonunda solüsyonlar süzgeç kullanılarak süzölmüştür. Daha sonra, cam kavanozlara yerleştirilip sıkıca kapatılmış ve 4 °C'da 6 gün boyunca depolanmıştır. Depolamanın 0, 1, 3 ve 6. günlerinde *V. parahaemolyticus* sayısı, pH ve toplam asitlik değeri tespit edilmiştir.

#### ***V. parahaemolyticus* sayısının tespiti**

Depolamanın 0, 1, 3 ve 6. günlerinde her bir deneme grubundan 1 kavanoz (100 g) midye örneği alınıp homojen hale getirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan örneklerden, rastgele 10 g alınıp, 90 mL'lik FTS içerisine ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örneklerden seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan, TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) Agar (Merck) besiyerine ekim yapılmıştır. 37 °C'da 18-24 saat süren inkübasyon sonucunda, küçük mavi-yeşil merkezli kolonilerin sayımları gerçekleştirilmiştir (Guin vd., 2019).

#### **pH ve toplam titrasyon asitliği (TA)**

Depolamanın 0, 1, 3 ve 6. günlerinde midye örneklerinin pH değerleri AOAC (2000)'e göre ölçölmüştür. Toplam asitlik tayini Varlık vd., (2007)'ye göre yapılmıştır.

#### **Duyusal analiz**

Duyusal analizler, bakteri inoküle edilmeyen örneklerde, depolama periyodunun başlangıcında yapılmıştır. Deneme gruplarındaki midye örnekleri vakumla paketlenmiş ve *Sous-vide* cihazı kullanılarak (75 °C'da 10 dk) pişirilmiştir. Pişirilmiş numuneler, 10 panelist tarafından renk, doku, görünüş, çiğneme özelliği, lezzet ve genel

kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmiştir. Değerlendirmede, 10 puanlı (9-10: çok iyi; 7-8: iyi; 5-6: orta 3-4: kötü; 1-2: çok kötü) hedonik skala kullanılmıştır (Kılınç ve Yavuz, 2011).

#### **İstatistik analiz**

Deneyle iki tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Deneysel veriler, SPSS 22 Paket Programı kullanılarak  $P \leq 0.05$  anlamlılık düzeyinde tek yönlü ANOVA (varyans analizi) ve Duncan çoklu karşılaştırma yöntemleri ile değerlendirilmiştir.

#### **SONUÇ VE TARTIŞMA**

##### ***Vibrio parahaemolyticus* sayısı**

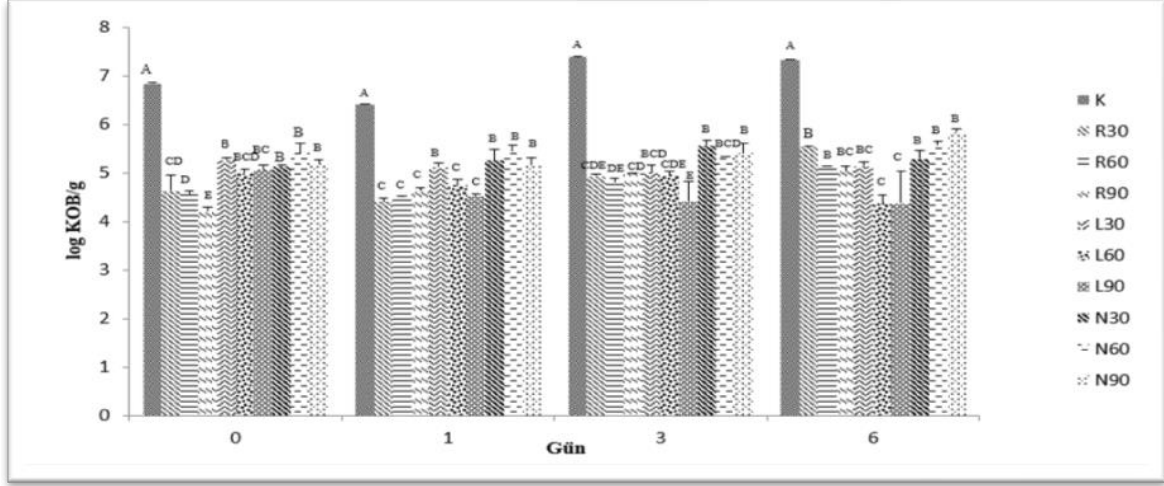
4 °C'da 6 gün boyunca depolanan midye örneklerinde tespit edilen *V. parahaemolyticus* sayısı Şekil 1'de verilmiştir. Koruk suyunda 30, 60 ve 90 dk bekletilen deneme gruplarında 0. günde tespit edilen *V. parahaemolyticus* sayısı sırasıyla 4.62; 4.55 ve 4.20 log KOB/g olarak saptanmıştır. En yüksek antibakteriyel etki koruk suyu uygulanan deneme gruplarında görölmüştür ( $P < 0.05$ ). 30, 60 ve 90 dk limon suyunda bekletilen gruplarda ise *V. parahaemolyticus* sayısının 5.26; 4.99 ve 5.06 log KOB/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Limon suyu ve nar suyunun antibakteriyel etkisi arasında önemli bir fark görölmemiştir ( $P > 0.05$ ). Nar suyuna maruz bırakılan deneme gruplarındaki *V. parahaemolyticus* sayısı 5.13-5.40 log KOB/g arasında değişim göstermiştir. Depolamanın 0. gününde kontrol grubunda tespit edilen *V. parahaemolyticus* sayısı 6.84 log KOB/g olarak belirlenirken, en düşük bakteri sayısı (4.20 log KOB/g) 90 dk koruk suyunda bekletilen deneme grubunda tespit edilmiştir. Koruk, limon ve nar suyunda 30, 60 ve 90 dk bekletilen deneme gruplarındaki *V. parahaemolyticus* sayısı kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Asetik, sitrik ve laktik asit gibi organik asitler patojen mikroorganizmaların gelişimini kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Bingol vd., 2011; Mathur ve Schaffner, 2013; Abd-El-Malek ve El-khateib, 2018). Bunun yanı sıra, farklı bitki ekstraktlarının gıda sistemlerinde antibakteriyel aktivitesini araştıran birçok çalışma



vardır (Baydar vd., 2004; Karapınar ve Sengun, 2007). Öte yandan, limon, nar ve koruk suyu gibi ev uygulamalarında kullanılan sofraya tipi

asitleştiricilerin antibakteriyel etkileri hakkında sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır.



Şekil 1. Midye örneklerinde *V. parahaemolyticus* sayısındaki değişim (K: kontrol; R: koruk suyu; L: limon suyu; N: nar suyu)

Figure 1. Change in the number of *V. parahaemolyticus* in mussel samples (K: control; R: koruk juice; L: lemon juice; N: pomegranate juice)

Üzüm çekirdeği ekstraktı, sirke ve şarap gibi üzüm ürünlerinin antibakteriyel aktivitesi birçok çalışmada tespit edilmiştir (Xu vd., 2017; Andrade vd., 2019; Fiallos vd., 2019; Kumar vd., 2019; Memar vd., 2019). Ancak, koruk suyunun antibakteriyel etkisinin araştırıldığı yalnızca birkaç adet çalışma bulunmaktadır. Farklı meyve sularının antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, koruk suyu kullanılan deneme gruplarındaki *V. parahaemolyticus* sayısı 2.22-2.64 log KOB/g düzeyinde azalma göstermiştir. Koruk suyunun antibakteriyel etkisi, farklı gıda patojenleri üzerinde yürütülen çalışmalarda da ortaya konulmuştur. Bu çalışmalardan birisi Karapınar ve Sengun (2007) tarafından yürütülmüş, maydanoz ve salatalık örnekleri  $10^6$  KOB/mL düzeyinde *Salmonella* Typhimurium ile inoküle edilerek, 0, 15, 30, 60 dk boyunca koruk suyu ile muamele edilmiştir. Başlangıçta *S. Typhimurium* sayısı 1-1.5 log KOB/g azalırken, 15, 30 ve 60 dk boyunca koruk suyuna maruz bırakılan örneklerde 2-3.5 log KOB/g düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada, koruk suyu ve koruk ekşisinin farklı gıda patojenleri üzerine minimum inhibisyon

konsantrasyonu belirlenmiştir. En dirençli mikroorganizma *S. Typhimurium*, en hassas mikroorganizma ise *Bacillus cereus* olarak belirlenmiştir (Karabıyıklı ve Öncül, 2016). Ozturk ve Sengun (2019) tarafından, koruk suyu ve kurutulmuş koruk posası içeren karışımlar dana etinde marinasyon sıvısı olarak kullanılmış ve ürün güvenliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, gıda patojenleri (*S. Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes*) iki farklı dozda ete inoküle edilerek, 4 °C'da 2, 24 ve 48 saat marine edilmiştir. *S. Typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 karşı en etkili solüsyonun MS1 (%50 koruk suyu+%50 su) ile 48 saatlik marinasyon olduğu, *L. monocytogenes* için MS2 (%50 koruk suyu+%50 su+%1 tuz+%0.1 kekik) ile 24 saatlik marinasyonun etkili olduğu belirlenmiştir. Bir başka çalışmada, koruk suyu ile hazırlanan marine sıvılarının kümes hayvanı etlerinin güvenliği ve kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. *S. Typhimurium* ile aşıl原因an et örnekleri, 1, 2 ve 18 saat boyunca 4 °C'da farklı konsantrasyonlardaki koruk suyu ile marine edilmiştir. İşlem sonucunda et örnekleri üzerindeki *S. Typhimurium* sayıları 0.113-3.476

log KOB/g aralığında azalmıştır. *S. Typhimurium* sayısını azaltmada en etkili sonuç, 18 saat boyunca %100 koruk suyu ile marine edilerek elde edilmiştir. Araştırma sonuçları, koruk suyunun gıdaların güvenliğini ve kalitesini arttırmak için alternatif marinasyon sıvısı olarak kullanılabilirliğini göstermiştir. Olgunlaşmamış üzüm ürünlerinin, yiyecek ve içeceklerde yalnızca asitleştirici ve lezzet verici maddeler olarak değil, aynı zamanda gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel olarak önemli bir potansiyele sahip oldukları görülmektedir.

Limon suyu ve limon meyvesi, çeşitli gıdalarda aroma bileşeni olarak yaygın bir kullanıma sahiptir. Özellikle, Akdeniz havzasında, çiğ veya pişirilerek tüketilen su ürünlerine ilave edilen temel bileşenlerdendir (Alfonzo vd., 2017). Limon suyu, ilave edildiği ürünlerin karakteristik tazeliğini olumsuz etkilemeden, patojenik bakterileri etkisiz hale getiren bir bileşen olarak dikkati çekmektedir (Nawi vd., 2017; Ibrahim vd., 2018). Bu çalışmada, 30, 60 ve 90 dk limon suyunda bekletilen gruplardaki *V. parahaemolyticus* sayısı sırasıyla 1.58; 1.85 ve 1.78 log KOB/g azalmıştır. Çalışmamızda olduğu gibi diğer araştırmacılar tarafından da, limon suyunun *V. parahaemolyticus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Tilapya fileto parçaları *V. parahaemolyticus* ile inoküle edilmiş, 25 °C ve 4 °C'da 30 ve 120 dk süreyle limon suyuna maruz bırakılmıştır. İncelenen tüm koşullar altında *V. parahaemolyticus* sayısının 5 log KOB/g düzeyinde azaldığı bildirilmiştir (Mathur ve Schaffner, 2013). Başka bir çalışmada, çiğ istiridyeye inoküle edilen *V. parahaemolyticus*'un limon suyu ile 30 saniyelik muameleden sonra 4 log KOB/g azaldığı gözlenmiştir. 60 saniye muamele sonrasında ise *V. parahaemolyticus* tespit edilemediği rapor edilmiştir. Limon suyuyla muamele edilmeyen kontrol grubunda ise *V. parahaemolyticus* sayısının 3 log KOB/g azaldığı bildirilmiştir. Bu araştırmacılar tarafından, yalnızca limon suyunun değil, istiridyelerin yapısında bulunan ve antimikrobiyel özellik taşıyan yapıların, Gram negatif bakterilere karşı savunmada rol alan histon H2B proteininin ve bazı savunma hücrelerinin *V. parahaemolyticus*'un inhibisyonun da etkili olduğu bildirilmiştir (Nawi vd., 2017). Ibrahim vd., (2018) tarafından, limon suyu (%50), kekik tozu (4 g/kg)

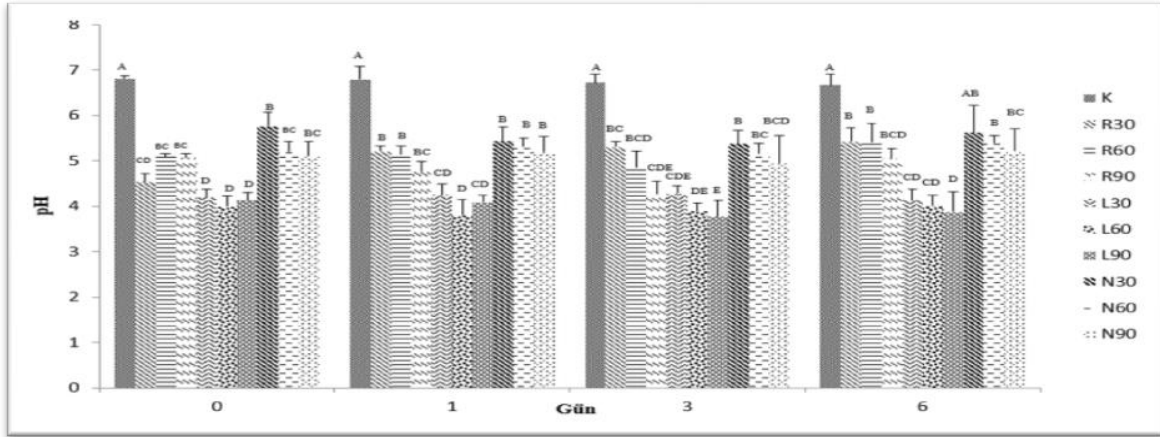
ve nar kabuğu ekstraktı (%1 v/w) ile marine edilen balık filetolarındaki *V. parahaemolyticus*'un canlı kalma düzeyi araştırılmıştır. Araştırma sonunda, 4 °C'da depolama aşamasında, limon suyu kullanılan grupta 4. günde *V. parahaemolyticus* sayısının %100 azaldığı bildirilmiştir. Limon suyunun *V. parahaemolyticus*'a karşı en etkili ajan olduğu görülmüştür. Tomotake vd., (2006) tarafından, *Vibrio* suşlarının, özellikle *V. parahaemolyticus*'un asidik koşullara çok hassas olduğu ve 4.5'den düşük pH seviyelerinde kolayca inhibe olduğu bildirilmiştir. Bu bulgu, limon suyunun *V. parahaemolyticus* üzerindeki önleyici etkisini açıklamaktadır. Farklı su ürünleri üzerinde yürütülen çalışmalarda *V. parahaemolyticus* sayısındaki azalma birbirinden farklılık göstermektedir, bu farklılığın deneme koşulları ve kullanılan bakteri suşlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, Nawi vd. (2017) tarafından da belirtildiği gibi denemelerde kullanılan gıda matrisinin de önemli olduğu kanısına varılmıştır.

Nar ekstraktları ve konsantrelerinin antibakteriyel aktivitesiyle ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Naz vd., 2007; Hayrapetyan vd., 2012; Wu vd., 2016; Ibrahim vd., 2018). Ancak, nar suyunun kullanıldığı çalışma sayısı sınırlı düzeydedir. Nar suyunun antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, nar suyunda 30, 60 ve 90 dk bekletilen gruplardaki *V. parahaemolyticus* sayısı kontrol grubuna kıyasla 1.71, 1.44 ve 1.65 log KOB/g düzeyinde azalmıştır. Betanzos-Cabrera vd., (2015) tarafından yürütülen çalışmada, nar suyunun, *Staphylococcus epidermidis*'in klinik suşları üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği, %20'lik nar suyunun test edilen 60 suşun tamamını inhibe ettiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, nar suyu ile marine edilen tavuk göğsü filetoları mikrobiyolojik ve duyuşsal olarak değerlendirildiğinde, raf ömrünün arttığı bildirilmiştir (Lytoou vd., 2018), Araştırmacılar tarafından, antibakteriyel etkinin nar suyunun yapısında bulunan organik asit ve polifenol bileşiklerinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Organik asitlerin neden olduğu pH düşüşü, mikroorganizmanın hayatta kalmasını ve çoğalmasını etkileyen birincil faktör olarak gösterilmiştir.

**pH ve titre edilebilir asitlik (TA) değeri**

4 °C'da depolanan midye örneklerinin pH değerinde meydana gelen değişim Şekil 2'de verilmiştir. Depolamanın 0. gününde koruk, limon ve nar suyu bekletilen deneme gruplarında pH değeri sırasıyla 4.53-5.09, 3.99-4.19 ve 5.10-5.76 arasında değişim göstermiştir. En düşük pH değerleri limon suyu maruz

bırakılan gruplarda tespit edilmiştir. Farklı uygulamalara maruz bırakılan deneme gruplarının hepsinin pH değerleri kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Depolama süresine bağlı olarak deneme gruplarının pH değerleri arasında önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ).



Şekil 2. Midye örneklerinin pH değerindeki değişim

(K: kontrol; R: koruk suyu; L: limon suyu; N: nar suyu)

Figure 2. Change in pH of mussel samples

(K: control; R: koruk juice; L: lemon juice; N: pomegranate juice)

Bu çalışmada, 0. günde midye etinin pH değeri 6.81 olarak belirlenmiş, limon suyu bekletilen gruplarda pH'nın 3.99-4.19 düzeyine düştüğü saptanmıştır. Kışla (2007) tarafından yürütülen çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Araştırmacı tarafından midye dolmanın pH değeri 6.57 olarak belirlenirken, limon suyu ve limon sosu ile muamele edilen numunelerde pH'nın 3.63 ve 3.78'e düzeyine düştüğü bildirilmiştir.

4 °C'da depolanan midyenin TA değerinde meydana gelen değişim Şekil 3'te verilmiştir. Koruk, limon ve nar suyu bekletilen midye etlerinin asitlik düzeyinin %0.90-1.35, 4.20-6.00 ve 0.90-1.28 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Limon suyu maruz bırakılan örneklerin en yüksek asitlik değerine sahip olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ).

**Duyusal değerlendirme**

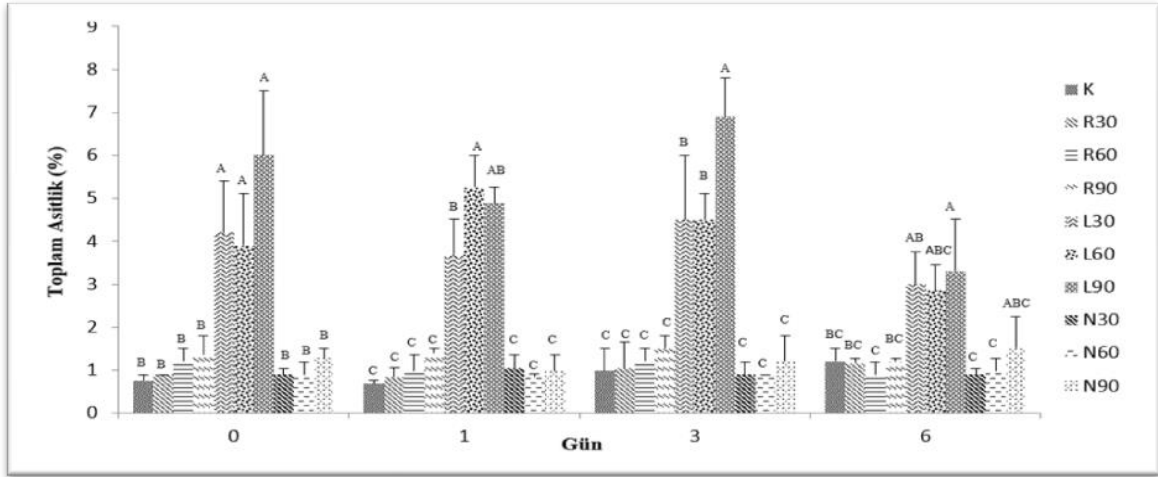
Farklı sürelerde koruk, limon ve nar suyu bekletilen midye örneklerinde duyuşal

değerlendirme yapılmış, elde edilen sonuçlar renk, doku, görünüş, çiğneme özelliği, lezzet ve genel kabul edilebilirlik açısından Çizelge 1'de ifade edilmiştir. Limon ve koruk suyu bekletilen deneme grupları ile kontrol grubunun renk ve görünüş puanları arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir ( $P > 0.05$ ). Nar suyu bekletme işlemi midye etinin renk ve görünüşünü olumsuz etkilemiştir ( $P < 0.05$ ). Nar suyundan kaynaklanan renklemenin panelistler tarafından beğenilmediği saptanmıştır. Kontrol grubu ve diğer deneme gruplarının koku ve çiğneme özellikleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). Lezzet bakımından en düşük puanı, nar suyuyla muamele edilen deneme grupları almıştır ( $P < 0.05$ ). Genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirildiğinde en yüksek puan, 30 dk limon suyu bekletilen deneme grubunda saptanmıştır ( $P < 0.05$ ).

Kabuklu su ürünlerinden olan midye, farklı şekillerde işlenerek değerlendirilmektedir (Ayvaz,

2018). Ülkemizde daha çok midye tava ve midye dolma şeklinde tüketime sunulmaktadır (Güngörür ve Mol, 2019). Limon suyu, midye etine lezzet katmak amacıyla yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bu çalışmada, 30 dk süreyle limon suyuna maruz bırakılan midyelerin, alışlagelmiş bir lezzete sahip olmasından dolayı daha çok beğenildiği düşünülmüştür.



Şekil 3. Midye örneklerinin titre edilebilir asitlik değerindeki değişim (K: kontrol; R: koruk suyu; L: limon suyu; N:nar suyu)

Figure 3. Change in titratable acidity value of mussel samples (K: control; R: coriander juice; L: lemon juice; N: pomegranate juice)

Çizelge 1. Midye örneklerinin duyuşsal değerlendirme sonuçları  
Table 1. Sensory evaluation results of mussel samples

	Renk Color	Koku Odor	Görünüş Appearance	Çiğneme Özelliği Cheviness	Lezzet Flavor	Genel Kabul Edilebilirlik Overall Acceptability
L30	8.33±1.49 <sup>A</sup>	8.22±1.23 <sup>A</sup>	8.56±1.17 <sup>A</sup>	7.56±1.71 <sup>A</sup>	8.22±1.81 <sup>A</sup>	8.11±1.52 <sup>A</sup>
L60	8.56±1.17 <sup>A</sup>	7.89±1.45 <sup>A</sup>	8.44±1.71 <sup>A</sup>	7.67±1.56 <sup>A</sup>	7.33±1.70 <sup>AB</sup>	7.22±1.55 <sup>ABC</sup>
L90	8.67±1.05 <sup>A</sup>	8.11±1.45 <sup>A</sup>	8.44±1.07 <sup>A</sup>	7.00±2.26 <sup>A</sup>	7.0±2.05 <sup>AB</sup>	7.67±1.63 <sup>ABC</sup>
N30	5.22±2.94 <sup>B</sup>	7.11±2.42 <sup>A</sup>	5.56±2.67 <sup>B</sup>	6.33±2.36 <sup>A</sup>	6.00±2.05 <sup>B</sup>	6.22±2.15 <sup>ABC</sup>
N60	5.11±2.92 <sup>B</sup>	6.67±2.45 <sup>A</sup>	5.11±2.02 <sup>B</sup>	6.11±2.18 <sup>A</sup>	6.11±2.38 <sup>B</sup>	4.89±2.06 <sup>C</sup>
N90	5.22±2.82 <sup>B</sup>	7.00±2.21 <sup>A</sup>	4.89±2.47 <sup>B</sup>	6.11±1.85 <sup>A</sup>	5.78±2.15 <sup>B</sup>	5.67±2.00 <sup>BC</sup>
R30	8.00±1.25 <sup>A</sup>	8.22±1.23 <sup>A</sup>	8.00±1.56 <sup>A</sup>	7.89±1.52 <sup>A</sup>	7.56±1.71 <sup>AB</sup>	7.56±1.57 <sup>AB</sup>
R60	8.33±1.15 <sup>A</sup>	8.22±1.23 <sup>A</sup>	8.56±1.07 <sup>A</sup>	7.44±1.26 <sup>A</sup>	7.56±1.42 <sup>AB</sup>	7.33±1.41 <sup>ABC</sup>
R90	6.89±1.10 <sup>AB</sup>	7.11±1.59 <sup>A</sup>	7.44±1.07 <sup>A</sup>	6.89±0.74 <sup>A</sup>	6.56±1.57 <sup>AB</sup>	6.56±1.17 <sup>ABC</sup>
K	7.56±1.34 <sup>A</sup>	7.78±1.23 <sup>A</sup>	7.44±1.50 <sup>A</sup>	6.56±0.83 <sup>A</sup>	6.33±1.05 <sup>AB</sup>	6.67±0.82 <sup>ABC</sup>

K: kontrol; L: limon suyu; N: nar suyu; R: koruk suyu

K: control; L: lemon juice; N: pomegranate juice; R: coriander juice

A, B, C (↓): Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir ( $P > 0.05$ )

A, B, C (↓): The difference between averages having the same letters is not statistically significant ( $P > 0.05$ )

Koruk suyunun, midye etlerinin duyuşal parametreleri üzerinde önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada, koruk suyu ve kurutulmuş koruk posasıyla hazırlanan marinasyon sıvısının sığır etinin renk ve doku parametreleri üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı belirtilmiştir. Ayrıca, lezzet ve genel kabul edilebilirlik açısından, koruk suyunun etin duyuşal kalite özelliklerine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Ozturk ve Sengun, 2019).

Araştırma sonucunda, ev tipi asitleştiricilerin, özellikle koruk suyunun yüksek düzeyde antibakteriyel etkisinin olduğu, su ürünlerinde gıda güvenliğin sağlanması için kullanılabileceği belirlenmiştir.

#### KAYNAKLAR

Abd-El-Malek, A., El-khateib, T. (2018). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat fish and its control by fresh lemon juice. *Prevalence*, 3(2): 49-57.

Alfonzo, A., Martorana, A., Guarrasi, V., Barbera, M., Gaglio, R., Santulli, A., Francesca, N. (2017). Effect of the lemon essential oils on the safety and sensory quality of salted sardines (*Sardina pilchardus* Walbaum 1792). *Food Control*, 73: 1265-1274, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.10.046.

Andrade, M. A., Lima, V., Sanches Silva, A., Vilarinho, F., Castilho, M.C., Khwaldia, K., Ramos, F. (2019). Pomegranate and grape by-products and their active compounds: are they a valuable source for food applications?. *Trends in Food Sci Technol*, 86: 68-84, doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.010.

AOAC. (2000). *Official methods of analysis. Association of official analytical chemist* (17th ed). Arlington, Washington DC.

Ayvaz, Z. (2018). Geleneksel bir ürün olarak "Midye Dolma" ve gelecek önerileri. *Ziraat Mühendisliği*, 366: 21-27.

Baydar, N.G., Özkan, G., Sağdıç, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15(5): 335-339. doi:10.1016/S0956-7135(03)00083-5.

Betanzos-Cabrera, G., Montes-Rubio, P.Y., Fabela-Illescas, H.E., Belefant-Miller, H., Cancino-Diaz, J. C. (2015). Antibacterial activity of fresh pomegranate juice against clinical strains of *Staphylococcus epidermidis*. *Food Nutr Res*, 59(1): 27620, doi: 10.3402/fnr.v59.27620.

Bingol, E.B., Cetin, O., Muratoglu, K. (2011). Effect of lemon juice on the survival of *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* in cig kofte (raw meatball). *Br Food J*, 111(9): 1183-1194, doi: 10.1108/00070701111174604.

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

Camkerten, I., Avsever, M.L., Aksoy, A. (2017). First isolation of *Vibrio furnissii* (emerging Vibrio) from mussels (Mediterranean mussel and bearded mussel) in Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64(3): 205-209.

Çevik, M., Tezcan, D., Sabancı, S., İçier, F. (2016). Changes in Rheological Properties of Koruk (Unripe Grape) Juice Concentrates During Vacuum Evaporation. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*,

Erkan, N. (2005). Changes in quality characteristics during cold storage of shucked mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and selected chemical decomposition indicators. *J Sci Food Agric*, 85(15): 2625-2630, doi: 10.1002/jsfa.2331.

Fiallos, N.D.M., Cecchin, D., de Lima, C.O., Hirata Jr, R., Silva, E.J.N.L., Sassone, L.M. (2019). Antimicrobial effectiveness of grape seed extract against *Enterococcus faecalis* biofilm: A confocal laser scanning microscopy analysis. *Aust Endod J*, doi: 10.1111/aej.12390

Guin, S., Saravanan, M., Chowdhury, G., Pazhani, G. P., Ramamurthy, T., Das, S.C. (2019). Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* diarrhoeal patients, fish and aquatic environments and their potential for inter-source transmission. *Heliyon*, 5(5): e01743, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01743.

- Güngörür, M.N., Mol, S. (2019). Bir gıda olarak midye. *Aydın Gastronomi*, 3(2): 119-127.
- Hayrapetyan, H., Hazeleger, W.C., Beumer, R.R. (2012). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 23(1): 66-72, doi: 10.1016/j.foodcont.2011.06.012.
- Ibrahim, H.M., Amin, R.A., Ghanaym, H.R. (2018). Effect of marination on *Vibrio parahaemolyticus* in tilapia filets. *Benha Vet Med J*, 34(2): 234-245.
- Karabiyikli, Ş., Öncül, N. (2016). Inhibitory effect of unripe grape products on foodborne pathogens. *J Food Process Preser*, 40(6): 1459-1465, doi:10.1111/jfpp.12731.
- Karapinar, M., Sengun, I. Y. (2007). Antimicrobial effect of koruk (unripe grape-*Vitis vinifera*) juice against *Salmonella Typhimurium* on salad vegetables. *Food Control*, 18(6): 702-706, doi:10.1016/j.foodcont.2006.03.004.
- Kayhan, F.E., Sesal, N.C., Güldür, S. (2016). Kara midye'lerin (*Mytilus galloprovincialis*) Gram-negatif bakteri florasının tespiti. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 28(2): 66-69, doi: 10.7240/mufbed.79713.
- Kılınc, B., Yavuz, A.B. (2011). Üzüm ve elma sirkelerinin buzdolabında depolanmış alabalık filetolarının mikrobiyolojik ve duyu kalitesi üzerine etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(1): 21-29.
- Kışla, D. (2007). Effectiveness of lemon juice in the elimination of *Salmonella Typhimurium* in stuffed mussels. *J Food Prot*, 70(12): 2847-2850.
- Kumar, S. A., Ajitha, P., Sandhya, R. (2019). Comparative evaluation of antimicrobial activity of 3% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and 5% grape seed extract against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*-An in vitro study. *Drug Invention Today*, 12(1).
- Lytou, A.E., Nychas, G.J.E., Panagou, E.Z. (2018). Effect of pomegranate based marinades on the microbiological, chemical and sensory quality of chicken meat: A metabolomics approach. *Int J Food Microbiol*, 267: 42-53, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.023.
- Mathur, P., Schaffner, D.W. (2013). Effect of lime juice on *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella enterica* inactivation during the preparation of the raw fish dish ceviche. *J Food Prot*, 76(6): 1027-1030, doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-526.
- Memar, M.Y., Adibkia, K., Farajnia, S., Kafil, H.S., Yekani, M., Alizadeh, N., Ghotaslou, R. (2019). The grape seed extract: a natural antimicrobial agent against different pathogens. *Rev Med Microbiol*, 30(3): 173-182, doi: 10.1097/MRM.000000000000174.
- Nawi, S.F.A.M., Zain, Z.M., Zahari, M.Z., Hamid, A.A.A., Afandi, N.F.A., Fadzilah, N.Z.H., Azmi, S.N.F. (2017). The inhibitory effect of lemon juice (citrus limon) on *Vibrio parahaemolyticus* in raw oyster (*Crassostrea virginica*). *J Clin Health Sci*, 2(2): 31-33.
- Naz, S., Siddiqi, R., Ahmad, S., Rasool, S.A., Sayeed, S.A. (2007). Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *J Food Sci*, 72(9): M341-M345, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00533.x.
- Newton, A.E., Garrett, N., Stroika, S.G., Halpin, J.L., Turnsek, M., Mody, R.K. (2014). Increase in *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with consumption of Atlantic Coast shellfish--2013. *MMWR. Morb Mortal Wkly Rep*, 63(15): 335-336.
- Ozturk, B., Sengun, I.Y. (2019). Inactivation effect of marination liquids prepared with koruk juice and dried koruk pomace on *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* inoculated on meat. *Int J Food Microbiol*, 304: 32-38, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.013.
- Saeedi, M., Yeganegi, M., Alizadeh, B.B., Vasiee, A., Tabatabaei, Y.F. (2017). Antimicrobial effects of leek (*Allium Ampeloprasum* L. subsp. Iranicum) extract on some food-borne pathogens in vitro. *Iran J Food Sci Technol*, 14(68): 73.
- Sengun, I. Y., Goztepe, E., & Ozturk, B. (2019). Efficiency of marination liquids prepared with koruk (*Vitis vinifera* L.) on safety and some quality attributes of poultry meat. *LWT, Food Sci Technol*, 113: 108317, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108317.

Tomotake, H., Koga, T., Yamato, M., Kassu, A., Ota, F. (2006). Antibacterial activity of citrus fruit juices against *Vibrio* species. *J Nutr Sci Vitaminol*, 52(2): 157-160.

Tosun, Ş.Y., Alakvuk, D.Ü., Ulusoy, Ş. (2018). Quality changes of thermal pasteurized mussels (*Mytilus galloprovincialis*) during refrigerated storage at 4±1 °C. *Aquatic Sci Eng*, 33(4): 117-123.

Türkyılmaz, M., Tağı, Ş., Dereli, U., Özkan, M. (2013). Effects of various pressing programs and yields on the antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic content and colour of pomegranate juices. *Food Chem*, 138(2-3): 1810-1818, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.100.

Varlık, C., Özden, Ö., Erkan, N. and Alakavuk, D.Ü. (2007). *Su Ürünlerinde Temel Kalite Kontrol*. İstanbul Üniversitesi Yayın no: 4662, İstanbul.

Wu, J., Jahncke, M. L., Eifert, J.D., O'Keefe, S.F., Welbaum, G.E. (2016). Pomegranate peel (*Punica granatum* L) extract and Chinese gall (*Galla chinensis*) extract inhibit *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* on cooked shrimp and raw tuna. *Food Control*, 59: 695-699, doi: 10.1016/j.foodcont.2015.06.050.

Xu, C., Yagiz, Y., Zhao, L., Simonne, A., Lu, J., Marshall, M. R. (2017). Fruit quality, nutraceutical and antimicrobial properties of 58 muscadine grape varieties (*Vitis rotundifolia* Michx.) grown in United States. *Food Chem*, 215: 149-156, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.163.



## GIDA ENDÜSTRİSİNDE NANOSİSTEMLERİN KULLANIMI

**Gülay Baysal\***

Istanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, 34295, Türkiye

Geliş / Received: 07.01.2019; Kabul / Accepted: 28.04.2020; Online baskı / Published online: 15.05.2020

Baysal, G. (2020). Gıda endüstrisinde nanosistemlerin kullanımı. *GIDA* (2020) 45(3) 517-529 doi: 10.15237/gida.GD20012

*Baysal, G. (2020). The use of nanosystems in the food industry. GIDA (2020) 45(3) 517-529 doi: 10.15237/gida.GD20012*

### ÖZ

Nanosistemler, sağlık, gıda, enerji, tekstil, otomotiv, iletişim teknolojileri, tarım, silah ve uzay endüstrisi gibi birçok alanda kullanılmakta ve hayatımıza önemli gelişmeler kazandırmaktadır. Son yıllarda, nanosistemleri kullanarak, gıda ürünlerini atomik ve moleküler seviyelerde kontrol etmenin yollarını araştırmak için birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalar, yeşil paketleme sistemleri, oxo-biyobozunur paketleme sistemleri, gübre kullanımının sona ermesi, gıda takibi, izleme, marka koruması, biyosensörler, akıllı etiketler, lezzet hataları oluşturma, tat değişimi ve hızlı bakteri tespiti gibi başlıkları içermektedir. Bu çalışmaların yanı sıra, sağlık alanında ilaç sektörü ve hastalıkların teşhis ve tedavisinde, hastanın konforunu önemli ölçüde artırmakta ve ömrünü uzatmaktadır. Bu derleme çalışması, nanosistemlerin ve nanopartiküllerin kullanım alanlarını, gıda uygulamalarını, nanopartikül bileşenlerini (karbon nanotüpler, manyetik nanopartiküller, altın nanopartiküller, gümüş nanopartiküller ve kuantum noktalar), nanosensörleri, gıda ambalaj sistemlerinde akıllı paketleme metodlarını ve biyosensörleri başlıklarını içermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Nanosistemler, nanosensörler, biyosensörler, akıllı etiketler

## THE USE OF NANOSYSTEMS IN THE FOOD INDUSTRY

### ABSTRACT

The nanosystems are used in many fields such as health, food, energy, textile, automotive, communication technologies, agriculture, weapons and space industry and bring important improvements to our lives. In recent years, many studies have been carried out to investigate the ways to control the food products at atomic and molecular levels using nanosystems. These studies include topics such as green packaging systems, oxo-biodegradable packaging systems, end of fertilizer use, food tracking, tracking, brand protection, biosensors, smart labels, flavor defects, taste change and rapid bacterial detection. Besides, nanosystems significantly increase the patient's comfort and prolongs life in the diagnosis and treatment of the pharmaceutical industry and diseases in the field of health. This review study covers the usage areas of nanosystems and nanoparticles, food applications, nanoparticle components (carbon nanotubes, magnetic nanoparticles, gold nanoparticles, silver nanoparticles and quantum dots), nanosensors, smart packaging methods and biosensors in the food packaging systems.

**Keywords:** Nanosystems, nanosensors, biosensors, smart label

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ gulaybaysal@aydin.edu.tr,

☎ (+90) 444 14 28-22409

☎ (+90) 212 425 5759

Gülay Baysal; ORCID no: 0000-0001-7081-1472



## GİRİŞ

Nanoteknolojide nanokompozitler önemli bir yere sahiptir. Gıda endüstrisinde ambalajlama teknolojisinde yaygınca gaz ve oksijen bariyeri, ince ambalaj filmleri, elektronik duyuşal paketleme sistemlerinde ve renk taşıyıcı olarak kullanılmalarının yanı sıra damgalama, biyosensör, nanosensörler, akıllı etiketler, hologramlar ve paketleme tasarımlarında da kullanılmaktadır. Nanokompozitlerin sıklıkla tercih edilmelerinin sebepleri ise termal kararlılıkları, mekanik dayanıklılıkları, boyutsal kararlılığı artırması, yüksek alev dirençleri, iyi bir yüzey görünümü, optik özellikleri ve güçlü gaz bariyer özellikleridir. Atom ve moleküllerin dizilimlerinin farklı tasarlanabilme kabiliyetleri beraberinde nanoçağı getirmektedir. 2020 yıllarında günlük yaşamımıza hızlı bir şekilde giriş yapan nanoteknoloji, beraberinde eşsiz ve büyüleyici yenilikleri getirmeye başlamıştır.

Nanoteknoloji, özellikle gıda endüstrisinde, gıdaların tekstür ve aroma gibi istenilen özellikte geliştirilebilmesine olanak sağlamıştır. Nanoparçacıklar kullanılarak, antimikrobiyal ambalajlar, biyobozunur materyaller, yenilebilir filmler üretilmekte ve raf ömrü güvence ve kontrol altına alınabilmektedir. Akıllı etiketler, biyosensörler ve nanosensörler kullanılarak gıdaların bozulma belirtileri erken tespit edilebilmektedir (Joseph ve Morrison, 2006). Nanoteknolojinin gıda endüstrisinde uygulama alanları olarak, gıdalarda patojenlerin tespiti, gıda güvenliğinin artırılması, antibakteriyel ambalaj sistemlerinin geliştirilmesi, biyoaktif maddelerin taşınması ile kontrollü salınım ve fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi başlıklarını sıralamak mümkündür (Robinson ve Morrison, 2009).

Gıdaların işlenmesi ve fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesinde yaygınca nanoemülsiyonlar kullanılmaktadır. Nanoemülsiyonlar, nanodamlacıkları kullanarak, kremleşme ve sedimentasyonu önlemekte ve biyoaktif ürünlerin taşınmasını sağlamaktadır. Nanoemülsiyonlar hem gıdaların fiziksel görüntülerini iyileştirme, hem de nanokapsülleme yöntemiyle yağda çözünen besinlerin sindirimini kolaylaştırmaktadır (McClement, 2011). Buna ilaveten, biyoyararlılığı

da büyük ölçüde artırmaktadır (Zulli vd., 2006). Patojenlerin tespitinde ise, özellikle nanosensörler ve biyosensörler aktif olarak kullanılmaktadır (Cui vd., 2001). Patojenlerin gelişmesi ve çoğalmasında, zaman faktörü çok önemli bir parametre olduğu için saatler hatta dakikalar içinde patojenleri tespit edebilen nanosensörlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Bouwmeester vd., 2009; Garcia vd., 2006). Biyoaktif maddelerin taşınması ve kontrollü salınım sistemlerinin geliştirilmesinde ise kullanılan yaygınca nanosistemler, nanokapsüllerdir. Nanokapsüller, mineral, protein, antioksidanlar ve vitaminler gibi gıda bileşenlerinin biyoyararlılığını artırmakta ve hedeflenen dokulara iletimini sağlayan sistemler olarak tanımlanmaktadır. Başlıca, gıdalarda uygulanan enkapsülasyon yöntemleri, hoş olmayan tat ve kokuları maskeleyerek, biyoyararlılığı artırmak ve kontrollü salınımı gerçekleştirmek için uygulanmaktadır (Dion vd., 2008; Chaudhry vd., 2008; Serferty vd., 2010; Torres-Giner vd., 2007). Gıda ambalajlarında ise, kullanılan ambalaj malzemelerinin gözenek sayısı, nem ve gaz geçirgenliği, gıdaların korunması ve raf ömrünün uzaması üzerinde nanoteknolojinin etkileri büyük önem taşımaktadır. Özellikle, gıda ambalajlarında kullanımı, enerji sarfiyatlarını azaltmakta, gaz bariyer özelliklerini iyileştirmekte, CO<sub>2</sub> emisyonunu düşürerek insan ve çevre sağlığını tehdit eden unsurları minimize etmektedir (Bente vd., 2000; Buzby 2010; Chau vd., 2007; Kirwan ve Strawbridge 2003). Yapılan araştırmalara göre, biyobozunur nanokompozit malzemelerin ambalaj tekniklerinde uygulanması, çevre dostu biyolojik ürünlerin geliştirilmesi anlamında büyük kazanım sağlamıştır (Cha ve Chinnan 2004; Dawson vd., 2002; Rhim vd., 2006).

## Nanopartiküller

### *Karbon Nanotüpler*

1991 yılında, karbon nanotüplerin sentezlenmesi, nanoteknoloji biliminin başlamasına ve bu alanda ki deneylerin hız kazanmasına neden olmuştur. Bilindiği gibi, karbon atomu 6 elektrona sahiptir, ancak ilk iki elektronun bağ oluşumuna katılmaması ve bağ yapımına katılan diğer 4 elektron ile aralarındaki enerji farkının oldukça

büyük olması karbonun farklı yapılar oluşturabilmesine neden olmaktadır. Doğada bu özelliği taşıyan tek element karbon elementidir ve bu da onu eşsiz kılmaktadır. Karbon atomları kendi aralarında  $sp$ ,  $sp^2$  ve  $sp^3$  olmak üzere üç farklı bağlanma özelliği taşımaktadır. Karbon esaslı malzemeler, elmas, grafit, karbon şiberler, camı karbon, siyah karbon, amorf karbon, sıvı karbon, karbon ve karbolitlerden oluşmaktadır. Karbon nanoyapılar ise karbon nanotoplar, tek duvarlı karbon nanotüpler ve çok duvarlı (nanoçubuklar) karbon nanotüpler ve karbon nanohalkalardan meydana gelmektedir (Pandey vd., 2016). Karbon nanotüplerde katman sayısı ve katlanma şekline göre sınıflandırma yapılmaktadır. Elektriksel iletim özellikleri, en dış katmanın iletkenliğine bağlı olarak değişmektedir. Bu durum, yüzey fonksiyonlaştırma işleminin, elektronik özellikleri büyük ölçüde değiştirme nedenini, açıklayıcı niteliktedir.

Karbon nanoyapılar, metallerin espotansiyel yüzeyleri oluşturmasında etkili olduğu bilinmekle beraber optik sınırlayıcı, fotoyansıtıcı polimer, fotoiletken, fotodiyot, transistör, katalizör, süper iletken özellikleri ve güneş pillerinde yaygınca kullanılan materyallerdir (Küçük yıldırım vd., 2012; Cumbul vd., 2014; Flahaut vd., 2012). Karbon nanotüplerin üretimi için ark deşarj, lazer kazıma ve kimyasal buhar biriktirme yöntemleri kullanılmaktadır.

### **Manyetik Nanopartiküller**

Nanopartiküller, bloklama ( $T_c$ ) sıcaklığının üzerindeki sıcaklık değerlerinde süperparamagnetik özellik gösterirler. Demir (Fe), kobalt (Co), magnetit ve maghemit gibi demir oksitler, ferrimagnetler,  $CoPt_3$  ve  $FePt$  gibi bazı alaşımlar manyetik nanopartiküllerin bileşenlerini oluşturmaktadır (Erdoğan, 2018; Gubin vd., 2005). Manyetik nanopartiküller, termal parçalanma, hidrotermal sentez, ortak çöktürme ve mikroemülsiyon gibi metotlar ile sentezlenebilmektedir. Parçacık boyutu azaldıkça, spinler termal dalgalanmalardan etkilenir ve parçacıklar süperparamanyetik hale gelir (Vatta vd., 2006). Yaygın olarak, ilaç sektöründe ilaç taşıyıcı olarak, manyetik cihaz tasarımlarında ve biyoteknolojide hücre, protein, nükleik asitler,

enzim, bakteriler, virüsler gibi biyomolekülleri ayırmak ve klinik tanı ve tedaviler için kullanılmaktadırlar. Bunun yanı sıra, özellikle kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi yöntemlerinde hyperthermia adlı destek tedavi yöntemi olarak kullanılabilirler (Erdoğan, 2018; Abu-Dief vd., 2018). Manyetik nanoparçacıklar, değişen manyetik alana maruz bırakıldıklarında manyetik histerisis kayıplarıyla ısınır. Tümör hücreleri ısıya karşı oldukça duyarlıdır ve  $41\text{ }^\circ\text{C}$ 'de bozulmaya uğrarlar. Şekil 1'de manyetik nanopartiküllerin çalışma mekanizmaları şematize edilmiştir.



Şekil 1. Manyetik nanopartiküllerin çalışma mekanizmaları

*Figure 1. The working principles of magnetic nanoparticles*

### **Altın Nanopartiküller**

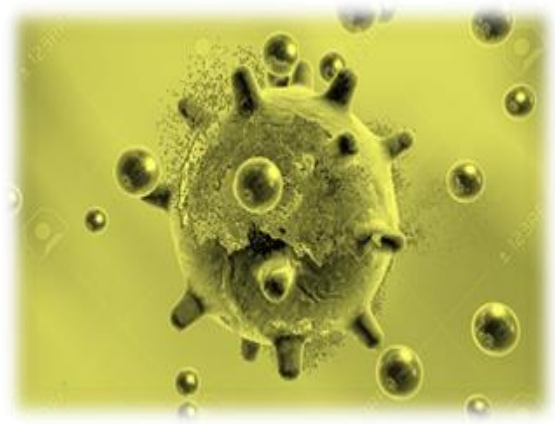
Altın, makroskobik olarak kararlı, yüksek redoks potansiyeline sahip, korozyona karşı dirençli, yüksek yoğunluklu bir elementtir. Altın nanopartiküller, optik dalgalar ile etkileşerek spesifik renklerini ve yarı iletkenlik özelliklerini oluştururlar. Altın nanopartiküllerin boyut, şekil, erime hızı, yükü ve büyük yüzey alanı gibi özellikleri biyolojik etkileşimlerde ki aktivitelerini önemli ölçüde geliştirmektedir. Altın nanopartiküller, elektromanyetik spektrumunda geniş bir emilim bandına sahiptir. Işık adsorplama kapasiteleri, organik boyalardan bir milyon kat daha fazladır. Radyoaktif özellik göstermedikleri için ısı açığa çıkarabilmektedirler, bu nedenle kanser tedavilerinde sıkça tercih edilmektedirler.

Bununla birlikte biyoyumlu olma özellikleri kullanım yelpazelerinin genişlemesine neden olmuştur (Shah vd., 2014; Slepcke vd., 2020).

Altın nanopartiküllerin (AuNP) kendilerine özgü fiziksel, kimyasal, elektronik ve optik özellikleri, nanoteknolojide aranan nanopartiküller olmalarını sağlamıştır. Bir soy metal olan altın toksik özelliğe sahip olmadığı için kanser tedavilerinde yaygınca tercih edilmektedir. Pankreas ve akciğer kanserinde, ilaç salınım sistemlerinde, sitotoksikolojik çalışmalarda altın nanopartiküllerin aktif rol oynadıkları bilinmektedir (Das vd., 2011; Yadav, 2018). Son zamanlarda, tümör antimikrobiyal, antimalaryal ve anti-HIV aktivitelere sahip çeşitli “organoaltın” kompleksleri ortaya çıkmıştır.

### Gümüş Nanopartiküller

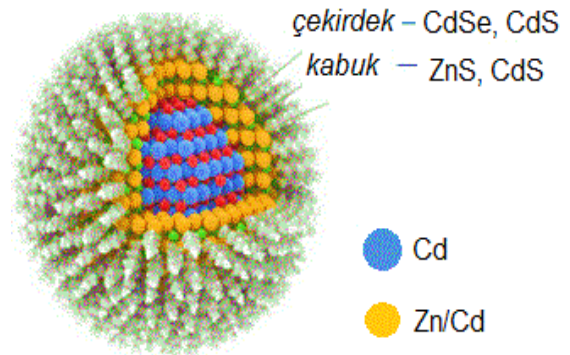
Gümüş, bakteri direncini neredeyse yok eden, geniş spektrumlu, antimikrobiyal, antifungal ve antiviral bir elementtir. Bakır, titanyum ve altın gibi elementler ile kıyaslandığında, en çok antimikrobiyal etkiyi gümüş elementi göstermektedir. Bakterinin hücre duvarına bağlanarak, proteinlerle etkileşmesi sonucu bakterinin hücre zar geçirgenliğini azaltır. Bakteri hücresinin yapısında ki tiol, karboksil, amin, fosfat, indol, imidazol ve hidroksil grupları ile etkileşime girerek hidrojen katyonu ile yer değiştirir ve DNA molekülünün zarar görmesini sağlar. Mikroorganizmada solunum zincirlerindeki enzimleri etkisiz hale getirerek oksidatif fosforilasyonundaki elektron taşıma sistemini çökertir. Bu etki, özellikle serbest radikallerde meydana gelir. Yapılan araştırmalara göre gümüş iyonları, gümüş nanopartiküllere göre daha toksiktir. Gümüş nanopartiküller, biyosensör uygulamalarında yaygınca kullanılmaktadır. Bunun nedeni ise, yüksek iletkenlikleri sayesinde biyosensörlerin içindeki elektron iletimini kolaylaştırması ve ölçümlerin hassasiyetini artırmasıdır (El-Nour vd., 2010; Rauwel vd., 2015; Jafari vd., 2015). Şekil 2’de gümüş nanopartiküllerin virüslerin DNA dizilimlerinde oluşturduğu bozulma etkisi gösterilmektedir.



Şekil 2. Gümüş nanopartiküllerin, virüslerin DNA dizilimlerinde oluşturduğu bozulma etkisi  
*Figure 2. The destruction effect of silver nanoparticles on DNA sequences of viruses*

### Kuantum Noktalar

Kuantum noktaları yarı iletken ve atomik düzeyde (2-10 nm) tanecik boyutuna sahip nanokristallerden oluşmaktadır. Tanecik boyutlarının kontrol edilebilir olması, kuantum noktalarına çok geniş kullanım alanları sağlamaktadır. Bu yarı iletken nanotanecekler farklı enerji seviyeleri ve optik özelliklerinden dolayı lazer sistemleri, biyoteknoloji, elektronik sistemler, ışık yayan diyotlar ve güneş pili çalışmaları gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle tıp ve biyoteknolojide hastalıkların görüntüleme yöntemleriyle hızlı ve doğru teşhis edilmesinde ve gen tedavilerinde aktif olarak rol almaktadırlar. Şekil 3’de örnek kuantum noktalarının yapısı gösterilmektedir.



Şekil 3. Kuantum noktalarının yapısı  
*Figure 3. The structure of quantum dots*

Kuantum noktaları periyodik tabloda II-VI ve III-V grubu elementlerinden elde edilmektedir. Bu nanotaniciklere başlıca CdSe ve CdTe ya da InP ve InAs gibi bileşikler örnek verilebilir. Kuantum noktalarının yüzey kimyaları amin, karboksil ya da merkaptto gibi reaktif grupların biyomoleküllere bağlanması sonucu meydana gelmektedir. Ancak, bu nanokristal bileşiklerinde mevcut olan kadmiyum gibi ağır elementler hücrelerde toksisiteye neden olmaktadır. Bu nedenle kuantum noktalarının sentezlenmesinde CuInS<sub>2</sub>/ZnS, PbS, InP, InAs/InP/ZnSe gibi bileşenler tercih edilse bile, bu bileşiklerin absorbanları düşük olduğu için özellikle görüntüleme sistemlerinde kadmiyum bileşikleri ile aynı performansı gösterememektedir. Bu sorunu önlemek için, kuantum noktalarının dış yüzeyleri biyoyumlu malzemelerle kaplanarak veya ligand grupları bağlanarak toksisite önemli ölçüde azaltılmaktadır (Özkan Vardar vd., 2018).

Kuantum noktalarının uygulama alanları, biyomoleküllerin ve hücrelerin etiketlenmesi, hücre içi / hücre dışı takip edilmesi, tek bir biyomolekül / hücrenin dinamiği, biyomoleküllerin in vitro / in vivo lokalizasyonu, biyomoleküllerin veya hücrelerin in vitro / in vivo görüntülenmesi, hasarlı dokuda hücre büyümesinin değerlendirilmesi, pH problemleri enzim reaksiyon kinetiği, çeşitli kanserlerde biyomarker tespiti, bulaşıcı hastalıkların

görüntülenmesi ve algılanması ve protein mikro-ve nano-dizileri olarak kanser biyobelirteçlerinin saptanması başlıkları altında verilebilir (Valideh vd., 2012).

### Nanosensörler

Tıp alanında genetik taramalarda, klinik tanımlamalarında, ilaç keşiflerinde, kinetik ölçümlerde, ilaç bağlama mekanizmalarında olmak üzere daha birçok alanda kullanılan nanosensörler, biyomoleküler etkileşimleri doğru zamanlı ve hassas olarak ölçme kabiliyetine sahiptirler (Wang vd., 2019). Yapılan araştırmalar, lazer girişimi litografisi ve iyon aşındırma işlemleriyle silikon oksit kullanılan zeminler ve polietilen teraftalat (PET) gibi polimer kaplama levhalarının kullanıldığı teknolojiler uygulandığını göstermektedir. UV ışınlama sonrası soyulan polimer kaplamalar ile metal ve oksitleri üzerinde biriktirmiş nanokaplar elde edilmektedir. Yine benzer çalışmalarda özellikle altın (Au) (Jimenez-Lopez vd., 2019) ve titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) kullanıldığı nanosensörlere oldukça fazla rastlanılmaktadır (Dang vd., 2019). Titanyum bilindiği gibi biyoyumlu, kararlı, korozyona dayanıklı, manyetik olmayan ve düşük yoğunluklu bir metal olduğu için sıklıkla kullanımı tercih edilmektedir. Çizelge 1'de yapılan literatür araştırmalarına göre bazı nanosensörler ve kullanım alanları örneklendirilmiştir.

Çizelge 1. Literatüre göre bazı nanosensörlerin kullanımı  
Table 1. Use of some nanosensors according to the literatures

Kullanım amacı	Nanosensörler	Kaynaklar
Okratoksin tespiti	Siyah fosfor nanosensörleri	(Xiang vd., 2018)
Antikanser ilaçlar	SPR nanosensörleri	(Özkan vd., 2019)
Civa iyonlarının tespiti	Multi model nanosensörler	(Satapathi vd., 2018)
Serum albümin tespiti	Kopolimer nanosensörler	(Rezende vd., 2017)
Sistin tespiti	Kolorimetrik nanosensörler	(Li vd., 2019)
Uçucu organik bileşiklerin tespiti	Kolorimetrik nanosensörler	(Ziyaina vd., 2019)
Hekzasiyanoferratin antioksidant tespiti	Elektrokimyasal nanoelektrotlar	(Arman vd., 2019)
Kadmiyum iyonlarının tespiti	Kuantum nokta bazlı floresans nanosensörler	(Qian vd., 2017)
Acil durum stratejileri	AuNP-bazlı ICTS nanosensörleri	(Zhou vd., 2019)
Organik moleküllerin tespiti	AuNP-bazlı plazma nanosensörleri	(Veglia vd., 2019)
Kurkumin tespiti	Karbon-bazlı nanosensörler	(Gong vd., 2019)

Doğal gaz kullanımının dünyada yaygınlaşmasıyla beraber risk faktörleri de ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla, patlayıcı ve tehlikeli gazların hızlı bir şekilde tespit edilmesinde nanokompozitler ve nanosensörler kullanılmaktadır.

Gıda endüstrisinde kullanılan nanosensörler, gıda proses, gıda kalite kontrol, gıda güvenliği, gıda ambalaj ve etiketlerinde, gıda depolama, raf ömrü, mikrobiyal kontaminasyon (Kumar vd., 2019), toksinlerin ve kontaminasyonların tespiti gibi alanlarda yaygınca kullanılmaktadır. Kullanılan nanosensörlere manyetik nanopartiküller (*MNPs*), gümüş nanopartiküller (*AgNPs*), altın nanopartiküller (*AuNPs*), dönüştürücü nanopartiküller, kuantum noktalar (*QDs*), tek duvarlı karbonnanotüpler (*SWNTs*), çok duvarlı karbon nanotüpler (*MWNTs*), nanobarkod teknolojisi ve elektronik burun teknolojileri örnek verilebilir (Srivastava vd., 2018).

Au elementi ve ZnO bileşikler sıklıkla nanotellerin tasarımında kullanılmaktadır (Lupan vd., 2019; Lupan vd., 2019). Membran hedefli yarı iletken gerilim nanoşeritler tıp alanında oldukça fazla kullanılmaktadır. Benzer çalışmalarda ZnSe/CdS nanoşeritlere, altın (Au), dekstrin gibi polisakkarit kaplamalarına rastlamak mümkündür (Park vd., 2019). Gıda üretim ve dağıtım sistemlerinde nanosensörlere ihtiyaç oldukça fazladır. Farklı metotlarla floresans renkler yayan nanopartiküller kullanılarak zararlı patojenler hızlı bir şekilde sayı ve tür olarak tespit edilmektedir. Nanosensörlerin tasarımında dikkat edilmesi gereken özellikler ise seçicilik, kalibrasyon gereksinimi, tekrarlanabilirlik, stabilite, yüksek duyarlılık ve geniş ölçüm aralığıdır. Yapılan literatür çalışmalarında farklı amaçlarla birçok nanosensör sentezlenmiştir. Bu çalışmalara, ochratoxinin elektrokimyasal tespitinde siyah fosforen katmanlı, iki boyutlu nanosensörler tasarlamışlar ve cam karbon elektrotları, karbon nanotüpler ile modifiye edilmesi örnek olarak verilebilir (Xiang vd., 2018). Özkan vd., 2019, etoposide kemoterapi ilaçlarında kullanılmak üzere boron nitrit nanotabakalar ile yüzey plazmon rezonans (SPR) nanosensörler geliştirmişlerdir. Satapathi vd., 2018, civa iyonlarını hassas olarak algılayabilen multimodal

nanosensörlerin sentezlenmesinde süperparamanyetik  $Fe_2O_3$  nanopartiküllerini kullanmışlardır. Bilindiği üzere sığır albüminleri hayvan sağlığı ve süt kalitesi için belirleyici bir role sahiptir.

Rezende vd., 2017, doğal sığır serum albüminlerini tespit etmek için polidiasetilen/triblok kopolimer nanosensörlerini tasarlamışlardır. Li vd., 2019, sistin belirlenmesinde aspartik asit ve seryum nitrat  $Ce(NO_3)_3$  kullanarak kolorimetrik nanosensörler tasarlamıştır. Qian vd., 2017, kadmiyum iyonlarının belirlenmesinde silika tabakalarını kullanarak ratiometrik floresans nanosensörler sentezlerken CdTe kuantum noktalar kullanmışlardır. Zhou vd., 2019, altın nanopartikül esaslı şerit nanosensörler sentezlemiş, Gong vd., 2019, kurkuminin kantitatif olarak tespit edilmesi için karbon esaslı kimyasal nanosensörler sentezlemişlerdir. Bu çalışmalar önderliğinde nanosensörlerin yapılmasında kullanılan nanopartikülleri metalik nanopartiküller, manyetik nanopartiküller, dönüştürücü nanopartiküller, kuantum noktalar, grafenoksit ve karbon nanotüpler olarak sınıflandırabiliriz (Srivastava vd., 2018).

Gıda ambalajlarında ve kalite kontrol aşamalarında özellikle gaz sensörleri ve biosensörler kullanılmaktadır. Gaz sensörleri potansiyometrik karbondioksit sensorleri, polimer esaslı sensorler, piezoelektrik kristal sensorleri ve amperometrik oksijen sensorlerinden oluşmaktadır. Optokimyasal sensörler ise daha çok mikrobiyal bozunmaları ve kontaminasyondan dolayı gıda bozunmalarını belirlemek amacıyla kullanılmaktadırlar. Gıdaların tazelikliğini kontrol edebilmek için ise biosensörlerin kullanımına başvurulmaktadır (Gök vd., 2007).

### Gıdalarda akıllı paketleme sistemleri

Akıllı paketleme sistemleri, gıda ürünlerinin uygun çevre koşullarında ve kalite standartlarında muhafaza edilerek tüketicinin sofrasına taşınmasını sağlayan takip, izleme ve kontrol etme mekanizmalarıdır. Gıdanın üretimi ve tüketimi arasında uzun bir zincir vardır. Bu zincirin her bir halkasında gıdaları takip eden sistemlerin

oluşturulması taze ve sağlıklı gıda tüketimi için zorunlu hale gelmektedir. Veri iletme ve veri depolamada taşıyıcı olarak barkodların kullanılması en popüler ve ucuz olan yöntemlerden biridir. Ancak “evrensel ürün kodu (UPC)” barkodlarına yeterli veri girişi sağlanamadığı için gıda güvenliğini sağlamada yetersiz bir metottur. Radyo frekanslı tanımlama (RFID) ise ürün tanıma ve izlemede yardımcı olan bir sistemdir. Etiket, anten, okuyucu, sorgulayıcı ve denetleyici olmak üzere beş temel bileşenden oluşan bir sistemdir. Gıda ürünlerinin depolanması ve yerleştirilmesinin kontrollü yapılması, ürünlerin çıkış/giriş kontrol sürelerinin azalması, ürün satışlarının anında belirlenmesi, son kullanım tarihlerinin izlenebilmesi, fiirelerin ve maliyetlerin azalması RFID sistemlerin avantajları olarak belirtilmektedir (Kocaman vd., 2010; Fuertes vd., 2016).

Akıllı paketlemede sistemlerinde depolama ve bekleme aşamasında ürün ambalajını, çevreyi kontrol eden ve veri desteği sağlayan indikatörler

ve biosensörler olmak üzere iki farklı metot bulunmaktadır.

### Biyosensörler

Biyosensörler, reseptör ve dönüştürücü bileşenlerinin bir araya getirilmesi sonucu ortaya çıkarlar. Reseptörler, biyomoleküler bir yapıya sahiptir. Analitlerin, biyolojik algılayıcıların (Enzimler, antikorlar, immuno ajanlar, nükleik asitler, mikroorganizmalar, hücreler, dokular ve seçici olarak etkileşimde bulunan fizikokimyasal dönüştürücülerin (elektrotlar, transistörler, termistörler, optik fiberler, piezoelektrik kristaller) bir araya getirilmesi sonucu fiziksel sinyaller ölçülür. Özellikle gıdalarda antioksidan analizleri için en sıkça kullanılan yöntemlerden biri kolorimetrik biyosensörlerdir (Mukdasai vd., 2019). Ölçülen bu fiziksel sinyallerden elektriksel sinyalleri elde edilir (Tüylek vd., 2017). Biyosensörlerin çalışma prensipleri bu temele dayanmaktadır. Çizelge 2’de bu konuda yapılan literatür araştırmalarının özetleri yer almaktadır.

Çizelge 2. Literatürlere göre bazı biyosensörlerin kullanım alanları

Table 2. Usage areas of some biosensors according to the literatures

Kullanım amacı	Biyosensörler	Kaynaklar
Lizozimin tespiti	Aptamer-bazlı elektrokimyasal biyosensör	(Khan vd., 2018)
Arsenik ve civa tespiti	Metalotiyonin bazlı biyosensör	(Irvine vd., 2017)
Malehit yeşili tespiti	Mikro kantilever bazlı optik biyosensör	(Zhao vd., 2019)
3-metilkinoksalin-2-karboksilik asit tespiti	SPR biyosensör	(Qian vd., 2019)
Escherichia coli tespiti	Amperometrik biyosensör	(Dhull vd., 2019)
Kanser tespiti	İzomeraz bazlı biyosensör	(Ahmad vd., 2019)
Mikroakışkan teknolojisi	SERS bazlı nanosensör	(Teixeira vd., 2019)
Shigella spp tespiti	Floresans nano biosensörler	(Elahi vd., 2019)
Rodamin B nin tespiti	Ratiometrik biosensörler	(Li vd., 2019)
Mikotoksinlerin tespiti	SPR biosensör	(Mahmoudpour vd., 2019)
Aflatoksin B1 tespiti	Elektrokimyasal biosensörler	(Selvolini vd., 2019)
Aflatoksinin çıplak gözle tespiti	Kolorimetrik biyosensör	(Wu vd., 2019)

Nanoteknolojinin, biyosensörlerin yapımında kullanılmasının bazı önemli avantajları bulunmaktadır. Nano elektronik parçacıklar biyosensörlerin bellek ve işlem yeteneklerini artırdığı gibi, analizlerin kolaylaşmasını da sağlamaktadır. Buna ilaveten mikroorganizmaların teşhisini kolaylaştırma, yüksek seçicilik ve uzun ömürlü olmalarını da

sağlamaktadır (Aydın vd., 2019). Aynı zamanda canlı hücrelere zarar vermeden çalışma imkânı sunmaktadır (Tüylek vd., 2017).

### İndikatörler

Gıdaların biyolojik bozulması, karbon içeren kimyasal bileşiklerin ayrılma süreçleri olarak tanımlanabilir. Canlı organizmaların salgıladığı

enzimler ise bozulma için uygun koşulların oluşmasını sağlar. Bozulma süreçleri sıcaklık, nem ve mikroorganizma türemesi ile gerçekleşmektedir. Gıda ürünlerinin sıcaklık geçmişi, tazeliği ve mikrobiyotası hakkında takip sisteminin en başında zaman-sıcaklık indikatörleri ve tazelik indikatörleri gelmektedir.

### Zaman-Sıcaklık indikatörleri (TTI)

Zaman-sıcaklık indikatörleri, taşıma, dağıtım ve depolama süreçlerinde gıda ürünlerinin değişen ortam sıcaklıklarının ölçümüne dayanır. Kritik sıcaklıklardan sapmaları göstererek ürünün güvenliğini kontrol altında tutmaya çalışan sistemlerdir. Zaman-sıcaklık indikatörleri difüzyon bazlı, enzim bazlı ve polimer bazlı olmak üzere üç çeşit olarak incelenirler. Zaman-sıcaklık indikatörleri, indikatördeki renk değişimleri ile birlikte genellikle mekanik, kimyasal, elektrokimyasal, enzim ve mikrobiyal değişiklikleri ölçer. Bu akıllı etiketler işlem boyunca referans sıcaklık sapmalarını ve sıcaklık değişikliklerini gösterir (Gök vd., 2006).

### Difüzyon-bazlı indikatörler

Bu etiketlerde indikatör olarak genellikle ester boya kullanılır. Farklı erime sıcaklığına sahip kimyasalların kurutma kağıdından yapılmış bir fitile difüzyonu ilkesine dayanır. Sıcaklık değiştiğinde indikatör renk değişir.

### Enzim-bazlı indikatörler

Lipitler, sıcaklık artışıyla içsel basınç oluştuğunda enzimatik hidrolize uğrar ve ortamda kaproik asit benzeri asit bileşenleri oluşarak ortam pH değerini düşürür ve asitliği artırır. Böylece pH indikatörünün rengi değişir. Ürüne özgü sıcaklık değerlerine uygun olarak enzim-lipit bileşenlerinin konsantrasyonları ayarlanabilmektedir (Gök vd., 2006).

### Polimer-bazlı indikatörler

Diasitilen kristallerinin polimerizasyon sırasındaki renk değişikliğine bağlı olarak sıcaklık değişimlerini göstermektedir.

### Tazelik İndikatörleri

Tazelik indikatörleri, mikrobiyal bozunma esnasında meydana gelen metabolitleri ve gaz konsantrasyonlarını tespit etmeye yönelik bir sisteme dayanır. Bu etiketler genellikle modifiye atmosfer paketlenme (MAP) sistemlerinde kullanılmaktadırlar. Mikrobiyal metabolitlere, pH değişimlerine, hidrojen sülfür ve uçucu nitrojen bileşiklerine duyarlı indikatörler olmak üzere 4 başlıktan oluşmaktadır (Gök vd., 2007). Genel olarak gıda endüstrisinde kullanılan bazı indikatörler ve kimyasal içerikleri Çizelge 3'de gösterilmektedir.

Çizelge 3. Gıda uygulamalarında indikatör türleri ve kimyasal yapıları  
Table 3. The chemical structure and indicators type in food applications

İndikatör tipi	Kimyasal ayıraç	Gıda uygulamaları
Zaman-sıcaklık indikatörleri (TTI)	Difüzyon bazlı	ester boya
	Enzim bazlı	Lipaz substratı ve enzimler, pH indikatör boya
	Polimer bazlı	diasitilenik monomerler
O <sub>2</sub> indikatörü	Redoks ve pH boya (Fe/asit, enzimler)	Vakumlanmış ambalajlar (ekmek, kek, pizza, peynir, et ve balık, kahve, kuru gıdalar vs.).
CO <sub>2</sub> indikatörü	CaO/aktif karbon, askorbat/NaHCO <sub>3</sub>	Modifiye atmosfer paketlenme (et, balık, yağlı tohumlar, kahve vb.).
Etilen tutucular	Aktif karbon, KMnO <sub>4</sub>	Tahıl ürünleri, meyve ve sebze.
Etanol salıcılar	Kapsüllenmiş etanol	Pizza, ekmek ve balık.
Renk indikatörleri	redoks ve pH boya	Mikrodalgada hazırlanan gıdalar
Nem tutucular	silika jel	Sebze, meyve, balık ve kuru gıdalar.
Koku tutucular	Sitrik asit, aktif karbon	Günlük gıdalar, et ve balık.
Mikrobiyal metabolitlere duyarlı indikatörler	Alkol oksidaz, peroksidaz ve kromojenik bir substrat	Sebze ve meyveler.
pH değişimine duyarlı indikatörler	pH boya	Et ve balık.

**SONUÇ**

Son yıllarda, sağlıklı gıda üretim ve tüketim proseslerinde, gelişen teknolojiler sayesinde oldukça önemli gelişmeler yaşandığı görülmektedir. Bilinçli tüketici olgusunun dünyada yaygınlaşması, beraberinde mevcut sorunlara hızlı, ucuz, doğru ve kalıcı çözümler üretme anlamında nanopartiküller, nanosensörler, biyosensörler ve akıllı paketleme sistemleri gibi bilimsel araştırmalara yoğun ilgi kazandırmaktadır. Gıdalar üzerinde moleküler boyutta gerçekleştirilen değişimler, istenilen formlarda ve fiziksel özelliklerde gıdaların üretilmesine olanak sağlamaktadır. İstenilen sıcaklığa dayanıklı çikolatalar, çok az miktarda yağ ile kızarabilen patatesler, kalorisi düşük mayonez ve hamburgerler, kilo yapmayan dondurmalar, kolesterolü yükseltmeyen kuruyemiş ürünleri, tansiyon ve şeker hastalıklarını tetiklemeden tuzlu ve tatlı gıdalar, kalorisi düşük unlu mamuller nanoteknoloji ve nanosistemler ile artık hayal ürünü olmaktan çıkmaktadır. Gıda endüstrisinde, bu yeni ve heyecan verici uygulamaları, taşıma sistemleri (miseller, nanoemülsiyonlar, liposomlar ve biyopolimerik nanoparçacıklar), gıda güvenliği, biyogüvenlik (nanosensörler, biyosensörler, akıllı ambalaj sistemleri) ve nanotoksinite gibi gıda uygulamaları takip etmektedir. Gelişen teknolojilerin hızlı bir şekilde endüstrileştirilmesi hayatı her alanda kolaylaştırmakta, konfor seviyesini artırmakta ve yeni geliştirilecek teknolojilere ilham kaynağı olmaktadır.

**KAYNAKLAR**

Abu-Dief, A.M., Abdel-Mawgoud, A.A.H. (2018). Functionalization of magnetic nanoparticles for Drug Delivery. *SF J Nanochem Nanotechnol*, 1(1):1005.

Ahmad, L., Salmon, L., Korri-Youssoufi, H. (2019) Electrochemical detection of the human cancer biomarker 'autocrine motility factor-phosphoglucose isomerase' based on a biosensor formed with a monosaccharidic inhibitör. *Sens Actuators B Chem*, 299:126933.

Arman, A., Üzer, A., Sağlam, Ş., Erçağ, E., Apak, R. (2019). Indirect electrochemical determination of antioxidant capacity with hexacyanoferrate (III) reduction using a gold nanoparticle-coated

ophenylenediamine- aniline copolymer electrode. *Anal Lett*, 52(8):1282-1297

Aydın, E. B., Aydın, M., Sezgintürk, M.K. (2019). Biosensors and the evaluation of food contaminant biosensors in terms of their performance criteria. *Int J Environ Anal Chem*, DOI:10.1080/03067319.2019.1672675

Bente, F., Hellstorm, T., Henrysdotter, G., Hjulmand-Lassen, M., Rüdinger, J., Sipilainen, Malm, T., Solli, E., Svensson, K., Tharkelsson, E.A., Tuomaala, V. (2000). Active and intelligent food packaging, a nordic report on legislative aspects. *Nordic Council of Ministers*, 13-21, Copenhagen-Denmark.

Bouwmeester, H., Dekkers, S., Noordam, M.Y., Hagens, W.I., Bulder, A.S., Heer, C., Wijnhoven, S.W., Marvin, H.J., Sips, A.J. (2009). Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. *Regul Toxicol Pharm*, 53(1):52-62.

Buzby, J.C. (2010). Nanotechnology for food applications. More questions than answers. *J Consum Aff*, 44(3):528- 545.

Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken, R., Watkins, R. (2008). Applications and 57 implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Addit Contam*, 25(3):241-258.

Cha, D.S., Chinnan, M.S. (2004). Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 44(4):223-37.

Chau, C.F., Wu, S.H., Yen, G.C. (2007). The development of regulations for food nanotechnology. *Trends Food Sci Technol*, 18:169-280.

Cui, Y., Wei, Q., Park, H., Lieber, C.M. (2001). Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Sci*, 293:1289-1292.

Cumbul Altay, M., Eroğlu, Ş. (2014). Karbon nanotüp sentezi için metan gazının kullanımı. *AKU J Sci Eng*, 14(OZ5739): 249-253.

Dang, T., Hu, W., Zhang, W., Song, Z., Wang, Y., Chen, M., Xu, H., Liu, G.L. (2019). Protein binding kinetics quantification via coupled



- plasmonic-photonic resonance nanosensors in generic microplate reader. *Biosens Bioelectron*, 142: 111494.
- Das, M., Shim, K.H., Seong, S.A., Yi, D.K. (2011). Review on Gold Nanoparticles and Their Applications Toxicol. *Environ Health Sci*, 3(4):193-205.
- Dawson, L.P., Acton, J.C., Ogale, A.A. (2002). Biopolymer films and potential applications to meat and poultry products. *Fresh Meat / Packaging II. Proceedings of the 55th Annual Reciprocal Meat Conference*, 75-82. Michigan- USA.
- Dion, M., Luykx, A.M., Peters, R.J.B., Van Ruth, S.M., Bouwmeester, H. (2008). A review of analytical methods for the identification and characterization of nano delivery systems in food. *J Agric Food Chem* 56: 8231-8247.
- Dhull, N., Kaur, G., Jain, P., Mishra, P., Singh, D., Ganju, L., Gupta, V., Tomar, M. (2019). Label-free amperometric biosensor for Escherichia coli O157:H7 detection. *Appl Surf Sci*, 495:143548.
- Elahi, N., Kamali, M., Hadi Baghersad, M., Amini, B. (2019). A fluorescence Nano-biosensors immobilization on Iron (MNPs) and gold (AuNPs) nanoparticles for detection of Shigella spp. *Mater Sci Eng C*, 105:110113.
- Erdogan, A. (2018). Magnetic nanoparticles in the diagnosis and treatment of cancer. *SDU J Nat Appl Sci*, 1(1):23-30.
- Flahaut, M.M.E., Serp, P., Razafinimanana, M. (2012). Introduction to carbon nanotubes. DOI: 10.1007/978-3-540-29857-13
- Garcia, M., Aleixandre, M., Gutierrez, J., Horrillo, M.C. (2006). Electronic nose for wine discrimination. *Sens Actuators B Chem*, 113:911-916.
- Gong, X., Wang, H., Liu, Y., Hu, Q., Gao, Y., Yang, Z., Shuang, S., Dong, C. (2019). A di-functional and label-free carbon-based chem-nanosensor for real-time monitoring of pH fluctuation and quantitative determining of Curcumin. *Anal Chim Acta*, 30;1057:132-144, doi: 10.1016/j.aca.2019.01.012
- Gök, V., Batu, A., Telli, R. (2006). Akıllı paketlenme teknolojisi, Türkiye 9. *Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, Bolu/Türkiye
- Gök, V., (2007). Gıda paketlenme sanayinde akıllı paketlenme teknolojisi, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (1): 45-58.
- Gubin, S.P., Koksharov, Y.A., Khomutov, G.B., Yurkov, G.Y. (2005). Magnetic nanoparticles: preparation, structure and properties. *Russ Chem Rev*, 74 (6):489- 520.
- Guillermo Fuertes, Ismael Soto, Raul Carrasco, Manuel Vargas, Jorge Sabattin, and Carolina Lagos. (2016). Intelligent Packaging Systems: Sensors and Nanosensors to Monitor Food Quality and Safety. *J Sens*, 8, DOI:10.1155/2016/4046061
- Irvine, G.W., Tan, S.N., Stillman, M.J. (2017). A Simple Metallothionein-Based Biosensor for Enhanced Detection of Arsenic and Mercury. *Biosensors*, 7:14
- Jiménez-López, J., Rodrigues, S.S.M., Ribeiro, D.S.M., Ortega-Barrales P., Ruiz-Medina, A., Santos, J.L.M. (2019). Exploiting the fluorescence resonance energy transfer (FRET) between CdTe quantum dots and Au nanoparticles for the determination of bioactive thiols. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectros*, 212: 246–254.
- Jafari, A., Pourakbar, L., Farhadı, K., Mohamadgolizad1, L., Goosta, Y. (2015). Biological synthesis of silver nanoparticles and evaluation of antibacterial and antifungal properties of silver and copper nanoparticles, *Turk J Biol*, 39: 556-561
- Joseph, T., Morrison, M. (2006). Nanotechnology in agriculture and food. Erişim Adresi: <http://www.nanowerk.com/nanotechnology/reports/reportpdf/report61.pdf>, Erişim tarihi: 27.02.2015.
- Khan, N.I., Maddaus, A.G., Song, E. (2018). A Low-Cost Inkjet-Printed Aptamer-Based Electrochemical Biosensor for the Selective Detection of Lysozyme. *Biosensors*, 8: 7.
- Kholoud, M.M., El-Nour, A., Eftaiha, A., Al-Warthan, A., Ammar, R.A.A. (2010). Synthesis

- and applications of silver nanoparticles, *Arab. J. Chem*, 3: 135–140.
- Kirwan, M.J., Strawbridge, J.W. (2003). Plastics in food packaging. R Coles, D McDowell and MJ Kirwan eds. *Food Packag Technol*, 174-240.
- Kocaman, N., Sarımehtetoğlu, B. (2010). Gıdalarda akıllı ambalaj kullanımı. *Vet Hekim Der Dergisi*, 81(2): 67-72.
- Kumar, V., Guleria, P., Kumar Mehta, S. (2017). Nanosensors for food quality and safety assessment. *Environ Chem Lett*, 15: 165–177, DOI:10.1007/s10311-017-0616-4.
- Küçükyıldırım, B.O., Akdoğan Eker, A. (2012). Karbon Nanotüpler, Sentezleme Yöntemleri ve Kullanım Alanları. *TMMOB MMO Mühendis ve Makina Dergisi*, 53(630): 34-44.
- Li, Y., Zhang, Z., Tao, Z., Gao, X., Wang, S., Liu, Y. (2019). A Asp/Ce nanotube-based colorimetric nanosensor for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-free and enzyme-free detection of cysteine, *Talanta*, 196:556–562
- Li, Y., Hou, L., Shan, F., Zhang, Z., Li, Y., Liu Qiuchen Peng, Y., He, J., Li, K. (2019). A Novel Aggregation-Induced Emission Luminogen Based Molecularly Imprinted Fluorescence Sensor for Ratiometric Determination of Rhodamine B in Food Samples. *Chemistry Select*, 4: 11256– 11261, DOI: 10.1002/slct.201903141
- Lupan, O., Postica, V., Pauporté, T., Viana, B., Terasa, M.I., Adelung, R. (2019). Room temperature gas nanosensors based on individual and multiple networked Au-modified ZnO nanowires. *Sens Actuators: B Chem*, 299:126977.
- Lupan, O., Postica, V., Wolff, N., Su, J., Labat, F., Ciofini, I., Cavers, H., Adelung, R., Polonskyi, O., Faupel, F., Kienle, L., Viana, B., Pauporté, T. (2019). Low-Temperature Solution Synthesis of Au-Modified ZnO Nanowires for Highly Efficient Hydrogen Nanosensors. *ACS Appl Mater Interfaces*, 11(35): 32115-32126
- Mahmoudpoura, M., Ezzati Nazhad Dolatabadid, J., Torbatib, M., Pirpour Tazehkande, A., Homayouni-Radb, A., De la Guardia, M. (2019). Nanomaterials and new biorecognition molecules based surface plasmon resonance biosensors for mycotoxin detection. *Biosens Bioelectron*, 143:111603
- Mcclements, D.J. (2011). Food-grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51: 285–330.
- Mukdasai, S., Uppachaib P., Srijaranai, S. (2019). A novel colorimetric paper sensor-based on the layer-by-layer assembled multilayers of surfactants for the sensitive and selective determination of total antioxidant capacity. *RSC Adv*, 9: 28598
- Özkan, A., Atar, N., Yola, M.L. (2019). Enhanced surface plasmon resonance (SPR) signals based on immobilization of core-shell nanoparticles incorporated boron nitride nanosheets: Development of molecularly imprinted SPR nanosensor for anticancer drug, Etoposide. *Biosens Bioelectron*, 130:293–298.
- Özkan Vardar, D., Aydın, S., Başaran, N. (2018). Kuantum Nokta Nanopartiküllerin Toksik Etkilerine Genel Bakış. *J Lit Pharm Sci*, 7(1):82-8.
- Pandey, P., Dahiya, M. (2016). Carbon nanotubes: Types, methods of preparation and applications. *Int J Pharm Sci*, 1(4):15-21.
- Park, J., Kuo, Y., Li, J., Huang, Y.L., Miller, E. W., Weiss, S. (2019). Improved Surface Functionalization and characterization of membrane targeted semiconductor voltage nanosensors. *J Phys Chem Lett*, 10 (14): 3906-3913.
- Peng, D., Kavanagh, O., Gao, H., Zhang, X., Deng, S., Chen, D., Liu, Z., Xie, C., Situ, C., Yuan, Z. (2019). Surface plasmon resonance biosensor for the determination of 3-methylquinoxaline- 2-carboxylic acid, the marker residue of olaquinox, in swine Tissues. *Food Chem*, 302:124623
- Rauwel, P., Rauwel, E., Ferdov, S., Singh, M.P. (2015). Silver Nanoparticles: Synthesis, properties, and applications. *Adv Mater Sci Eng*, DOI:10.1155/2015/624394
- Rezende, J.P., Dias Ferreira, G.M., Mendes da Silva, L.H., Hepanhol da Silva, M.C., Pinto, M.S., Santos Pires, A.C.D.S. (2017). Polydiacetylene/triblock copolymer nanosensor

- for the detection of native and free bovine serum albumin. *Mater Sci Eng C*, 70:535–543.
- Rhim, J.W., Hong, S.I., Park, H.M., Ng, K.W. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*, 54(16):5814–5822.
- Rios-Meraa, J. D., Saldaña, E., Ramírez, Y., Auquiñivín, E. A., Alvim, I. D., Contreras-Castillo, C. J. (2019). Encapsulation optimization and pH- and temperature-stability of the complex coacervation between soy protein isolate and inulin entrapping fish oil. *LWT - Food Sci Technol*, 116:108555
- Robinson, D.K.R., Morrison, M.J. (2009). Nanotechnology developments for the agrifood sector - report of the observatory NANO. Erişim Adresi: [http://nanopinion.eu/sites/default/files/full\\_report\\_nanotechnology\\_in\\_agrifood\\_may\\_2009pdf](http://nanopinion.eu/sites/default/files/full_report_nanotechnology_in_agrifood_may_2009pdf), Erişim Tarihi 05.03.2015.
- Satapathi, S., Kumar, V., Kumar Chini, M.K., Bera, R., Halder, K.K., Patra, A. (2018). Highly sensitive detection and removal of mercury ion using a multimodal nanosensor. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 16: 120–126.
- Selvolinia, G., Lettieria, M., Tassonib, L., Gastaldello, S., Grillo, M., Maranb, C., Marrazza, G. (2019). Electrochemical enzyme-linked oligonucleotide array for aflatoxin B1 Detection. *Talanta*, 203: 49–57
- Serfert, Y., Drusch, S., Schwarz, K. (2010). Sensory odour profiling and lipid oxidation status of fish oil and microencapsulated fish oil. *Food Chem*, 4: 968–975.
- Shah, M., Badwaik, V., Kherde, Y., Kumar Waghwan, H., Modi, T., Aguilar, Z.P., Rodgers, H., Hamilton, W., Marutharaj, T., Webb, C., Lawrenz, M.B., Dakshinamurthy, R. (2014). Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications, *Front Biosci*, 19:1320–1344.
- Slepicka, P., Slepicková Kasálková, N., Siegel, J., Kolská, Z., Svorčík, V. (2020). Methods of Gold and Silver Nanoparticles Preparation. *Materials*, DOI:10.3390/ma13010001
- Srivastava, A. K., Dev, A., Karmakar, S., (2018). Nanosensors and nanobiosensors in food and agriculture. *Environ Chem Lett*, 16: 161–182.
- Qian, J., Wang, K., Wang, C., Ren, C., Liu, Q., Hao, N., Wang, K. (2017). Ratiometric fluorescence nanosensor for selective and visual detection of cadmium ions using quencher displacement-induced fluorescence recovery of CdTe quantum dots-based hybrid probe. *Sens Actuators B*, 241:1153–1160
- Qian, L., Wang, K., Zhu, W., Han, C., Yan, C. (2019). Enhanced sensing ability in a single-layer guided-mode resonant optical biosensor with deep grating, *Opt Commun*, 452: 273–280.
- Teixeira, A., Hernández-Rodríguez, J. F., Wu L., Oliveira, K., Kant, K., Pairo, P., Diéguez, L., Abalde-Cela, S. (2019). Microfluidics-Driven Fabrication of a Low Cost and Ultrasensitive SERS-Based Paper Biosensor. *Appl Sci*, 9: 1387, DOI:10.3390/app9071387
- Torres-Giner, S., Gimenez, E., Lagaron, J.M. (2007). Characterization of the morphology and thermal properties of Zein Prolamine nanostructures obtained by electrospinning. *Food Hydrocoll*, 22: 601–614.
- Tüylek, Z. (2017). Biyosensörler ve nanoteknolojik etkileşim, *BEU J Sci*, 6(2), 71–80.
- Veglia, A.V., Guillermo Bracamonte, A. (2019).  $\beta$ -Cyclodextrin grafted gold nanoparticles with short molecular spacers applied for nanosensors based on plasmonic effects. *Microchem J*, 148:277–284
- Wang, H., Rao, H., Luo, M., Xue, X., Xue, Z., Lu, X. (2019). Noble metal nanoparticles growth-based colorimetric strategies: From monochrometric to multichrometric sensors. *Coord Chem Rev*, 398:113003
- Wu, J., Zeng, L., Li, N., Liu, C., Chen, J. (2019). A wash-free and label-free colorimetric biosensor for naked-eye detection of aflatoxin B1 using G-quadruplex as the signal reporter. *Food Chem*, 298:125034.
- Xiang, Y., Camarada, M.B., Wen, Y., Wu, H., Chen, J., Li, M., Liao, X. (2018). Simple voltammetric analyses of ochratoxin A in food

- samples using highly-stable and anti-fouling black phosphorene nanosensor. *Electrochim Acta*, 282: 490-498.
- Valizadeh, A., Mikaeili, H., Samiei, M., Mussa Farkhani, S., Zarghami, N., Kouhi, M., Akbarzadeh, A., Davaran, S. (2012). Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. *Nanoscale Res Lett*, 7: 480.
- Vatta, L. L., Sanderson, R. D., Koch, K. R. (2006). Magnetic nanoparticles: Properties and potential applications. *Pure Appl Chem*, 78(9):1793-1801. DOI: 10.1351/pac200678091801.
- Yadav, J. (2018). Synthesis and characterization of gold nanoparticles. *International Journal on Future Revolution in Computer Science & Communication Engineering*, 4(4): 220-230
- Zhou, Y., Ding, L., Wu, Y., Huang, X., Lai, W., Xiong, Y. (2019). Emerging strategies to develop sensitive AuNP-based ICTS Nanosensors. *Trend Anal Chem*, 112:147-160.
- Ziyaina, M., Rasco, B., Coffey, T., Ünlü, G., Sablani, S. S. (2019). Colorimetric detection of volatile organic compounds for shelf-life monitoring of milk. *Food Control*, 100: 220-226.
- Zhao, Y., Gosai, A., Shrotriya, P. (2019). Effect of receptor attachment on sensitivity of label free microcantilever based biosensor using malachite green aptamer, *Sens Actuators: B Chem*, 300:126963.
- Zulli, F., Belser, E., Schmid, D., Liechti, C., Suter, F. (2006). Preparation and properties of Coenzyme Q10 nanoemulsions. *Cosmet Sci Technol*, 40-46.

## EVALUATION OF FOAM-MAT DRYING BEHAVIOUR OF CRAB APPLE (*MALUS FLORIBUNDA*) FRUIT JUICE AND POWDER QUALITY

Hulya Cakmak\*

Hitit University, Department of Food Engineering, Corum, Turkey

Received / Geliş: 07.11.2019; Accepted / Kabul: 28.04.2020; Published online / Online baskı: 16.05.2020

Cakmak, H. (2020). Evaluation of foam-mat drying behaviour of crab apple (*Malus floribunda*) fruit juice and powder quality. GIDA (2020) 45(3) 530-543 doi: 10.15237/gida.GD20010

Cakmak, H. (2020). Süs elması (*Malus floribunda*) suyunun köpük kuruma davranışı ve toz ürünün kalite özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2020) 45(3) 530-543 doi: 10.15237/gida.GD20010

### ABSTRACT

*Malus floribunda* (MF) is an ornamental plant and the fruits with its red flesh have potential to be used as natural food colorant. In this study, the effects of faba bean protein concentrate (FB) and maltodextrin (MD) levels on MF juice foam stability was evaluated. In addition, the effects of drying conditions (temperature/power) on drying kinetics and powder quality (powder flow properties, colour, and anthocyanin content) were determined. The foam stability was significantly dependent on the FB level ( $P < 0.05$ ), but MD addition didn't have any significant effect ( $P > 0.05$ ). Drying period was reduced with foam-mat drying compared to control, and the average Carr index values were found between 17.3-26.0%, while the Hausner ratios were between 1.21-1.35. The redness and lightness values of foam-mat dried powders were comparably higher than the control and MD-added sample at every drying condition ( $P < 0.05$ ), although the anthocyanin content decreased with increasing drying temperatures.

**Keywords:** *Malus floribunda*, foam, faba bean protein, powder properties

## SÜS ELMASI (*MALUS FLORIBUNDA*) SUYUNUN KÖPÜK KURUMA DAVRANIŞI VE TOZ ÜRÜNÜN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

### ÖZ

*Malus floribunda* (MF) bir peyzaj bitkisidir, ancak kırmızı meyve eti rengi ile doğal renk maddesi olarak kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bu çalışmada, bakla proteini konsantresi (FB) ve maltodekstrin (MD) miktarının köpük kararlılığı üzerine etkileri incelenmiştir. Ayrıca kurutma koşullarının (sıcaklık/güç), kuruma kinetiği ve toz ürün özellikleri (toz akış özelliği, renk ve antosiyanin miktarı) üzerine etkileri belirlenmiştir. Köpük kararlılığının FB miktarından önemli düzeyde etkilendiği ( $P < 0.05$ ), ancak MD ilavesinin köpük kararlılığını artırma üzerine önemli düzeyde bir etkisi olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Kuruma süresinin köpük haline getirilen örneklerde kısaldığı, bunun yanı sıra ortalama Carr endeksi değerlerinin %17.3-26.0 ve Hausner oranının 1.21-1.35 arasında olduğu tespit edilmiştir. Köpük kurutma yöntemiyle kurutulan toz ürünün, tüm kurutma koşullarında kırmızılık ve parlaklık değerleri, kontrol ve MD ilaveli örneklerden daha yüksektir ( $P < 0.05$ ), ancak antosiyanin içeriğinin kuruma sıcaklığı artışına bağlı olarak azaldığı görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** *Malus floribunda*, köpük, bakla proteini, toz ürün özellikleri

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ hulyacakmak@hitit.edu.tr,

☎ (+90) 364 227 4533

☎ (+90) 364 227 4535

Hulya Cakmak; ORCID no: 0000-0002-4936-939X

## INTRODUCTION

*Malus floribunda* is an ornamental plant classified in Rosacea family, and the plant is originated from Japan, therefore it is also called as Japanese crab apple tree (Cepeda and Villaran, 1999; Kırbağ and Aydoğan, 2017). Although the plant is cultivated in landscapes for its beautiful pink-reddish flowers, the apples with sour and astringent taste are used for production of vinegar and marmalade in Turkey as a remedy against diabetes (Kırbağ and Aydoğan, 2017; Coklar et al., 2018). Red flesh of this apple reflects richness of anthocyanin pigments; however the literature is limited only about the phytochemical and antimicrobial properties of apple and the rheological properties of concentrated apple juice rather than utilizing the fruit as a food ingredient (Cepeda et al., 1999; Kırbağ and Aydoğan, 2017; Coklar et al., 2018).

The foam-mat drying has two stages; first the material is foamed and second the stable foam is dried. Drying of stable foam structure improves the moisture transfer by increasing the interfacial area due to air incorporation with foaming (Kudra and Ratti, 2006; Hardy and Jideani, 2017), while the nutrients are preserved by low temperature and short drying time of foam-mat drying (Zheng et al., 2011; Chaux-Gutiérrez et al., 2017; Ng and Sulaiman, 2018). Also the powder properties such as flowability, cohesiveness, rehydration and hygroscopicity are improved by foam-mat drying method (Seerangurayar et al., 2017; Ng and Sulaiman, 2018). Several foaming materials are employed including egg albumin, ovalbumin, whey protein isolate, gelatin, soy protein isolate, commercial foam stabilizers (glycerine monostearate, gum Arabic, methyl cellulose, N-carboxymethyl cellulose, sorbitan monostearate, etc.), and other drying agents (maltodextrin) (Zheng et al., 2011; Franco et al., 2016; Chaux-Gutiérrez et al., 2017; Seerangurayar et al., 2017; Dehghannya et al., 2018; Ng and Sulaiman, 2018; Darniadi et al., 2019). Pulse proteins extracted from pea, lentil and faba bean have functional properties such as water holding, gelation, thickening, foam formation and stabilizing (Boye et al., 2010; Jarpa-Parra et al., 2015). Especially, replacement of dairy and animal protein sources with plant-based alternatives is currently gaining

momentum due to vegan diets and environmental burden of high carbon footprint of animal products.

In current literature, there is no study about the utilization of faba bean concentrates as a foaming agent, and the powder production from *Malus floribunda* juice is also not yet been studied. Therefore, the main objectives of this study were; (1) evaluating the foam stability with incorporation of faba bean concentrate (FB) and maltodextrin (MD) as foaming agents, (2) thin layer foam-mat drying and mathematical modelling of the drying data, and (3) evaluating the effect of drying temperature and foam formulation on the powder properties of foam-mat dried *Malus floribunda* juice.

## Materials and Methods

### Materials

Fresh *Malus floribunda* fruits (average weight:  $36.95 \pm 7.37$  g) without any scar or blemish were collected from the cultivated plants that were grown in the yard of Hitit University in September, 2018. Maltodextrin with dextrose equivalent of 5-7 (Paselli™ MD6, Avebe Nisasta Ltd. Sti., Turkey) obtained from the local supplier. Faba bean protein concentrate with 60% (min.) protein and 9% (max.) moisture content - depending on the analysis of supplier- (VITESSENCE™ Pulse 3600, Ingredion, Germany) was kindly donated by Ingredion Germany GMBH. The chemical reagents namely; acetic acid ( $\geq 99.8\%$ , Sigma Aldrich, Germany), hydrochloric acid (37-38%, Merck KGaA, Germany),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $\geq 99.5\%$ , Merck KGaA, Germany),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ( $\geq 98\%$ , Merck KGaA, Germany), potassium chloride ( $\geq 99.5\%$ , Merck KGaA, Germany), and sodium acetate ( $\geq 99\%$ , Merck KGaA, Germany) were purchased from local suppliers.

### Production of *Malus floribunda* juice

Fresh fruits were washed with tap water and sliced for removing the seeds and stem. The juice of sliced fruit flesh was immediately extracted with a fruit juice extractor (AR 1060, Arzum Multivit, Turkey). The extracted juice was filtered through 500 micron filter and immediately filled into 200

ml glass bottles and the bottles were sealed with metal crown. The bottles were then heated up to 90°C in a water bath (Wise Bath, WB22, Daihan Scientific, South Korea) and hold at this temperature for 5 min for enzyme inactivation (Acar and Gokmen, 2000). Following the heat treatment, the bottles were immediately cooled to 4°C and stored at -18°C prior to the analysis.

#### Proximate analysis of materials

Moisture (method no: 934.01) by using a universal oven (Memmert, UN55, Germany), soluble solid (method no: 932.12) by using Abbe refractometer, pH (method no: 981.12) by using a pH meter (Adwa, AD1000, Hungary) and titratable acidity contents (method no: 942.15) of fruit juice, MD and FB were determined according to the standard methods of AOAC (2000).

#### Measurement of zeta potential ( $\zeta$ )

1% (w/w, on water basis) FB was dissolved in Milli-Q water and stirred with a magnetic stirrer (Wisd, MSH20A, Korea) for 5h, and the mixture was kept at 4°C overnight for complete hydration

(Ye et al., 2006). The zeta potential was measured between pH 2-9 according to the method of Gumus et al. (2017), in order to determine the isoelectric point and pH stability of faba bean protein concentrate. The protein sample was dissolved in the buffer solutions and then the zeta potentials were recorded with a Zeta sizer (Malvern Nano ZSP, UK).

#### Foam stability evaluation with experimental design

The experimental design shown in Table 1 was evaluated with Minitab Vers. 15 (Minitab Inc.) software by using response surface method and central composite design with two independent variables (FB and MD) at three different levels by keeping the whipping period as constant.

150 g of *Malus floribunda* juice with FB and/or MD were first mixed with a magnetic stirrer (Wisd, MSH20A, Korea) for 30 min, and then the mixture was whipped with a hand-blender at high speed (Arzum Pasto AR-183, Turkey) for 6 min to generate the foam depending on the preliminary foaming tests.

Table 1. Experimental design and the results of selected responses

Run order	FB% (w/w)	MD% (w/w)	Density (g/mL)	Overrun (%)
1	7.5	2.5	0.4138	108.05
2	10	0	0.3155	150.65
3	10	2.5	0.4083	114.06
4	7.5	2.5	0.4113	102.75
5	7.5	5	0.5381	63.89
6	7.5	2.5	0.4306	102.12
7	10	5	0.4285	113.44
8	5	5	0.6427	52.94
9	7.5	2.5	0.4221	104.95
10	7.5	0	0.3992	124.07
11	5	2.5	0.5601	78.14
12	7.5	2.5	0.4479	103.19
13	5	0	0.5711	88.30

The stability of the foams was determined by comparing the density and the overrun responses, and the experiments were performed as duplicate

with at least three parallels (Baniel et al., 1997; Yang and Foegeding, 2010).

$$\text{Density (g/ml)} = \frac{\text{foam weight (g)}}{\text{foam volume (ml)}} \quad (1)$$

$$\text{Overrun(\%)} = \frac{(\text{weight of 100 ml mixture} - \text{weight of 100 ml foam})}{\text{weight of 100 ml foam}} \quad (2)$$

The experimental design and statistical analysis of the obtained results were evaluated with Minitab Vers. 15 (Minitab Inc.).

**Drying of *Malus floribunda* foams and thin layer modelling**

The selected foam formulation (10%, w/w FB) together with the control (only fruit juice) and MD (10%, w/w) added sample was dried in a microwave oven that was set to 140 W power level (AWX-H20, Avox, Turkey) by continuous power application mode and air dried in a conventional built-in oven at 50, 60 and 70°C with 0.9 m/s airflow velocity (Samsung, model no: NV60K7140BB, Turkey). The oven temperature was set 15 min before drying, and the

samples were placed on the middle rack in front of the fan of conventional oven.

The foam was spread evenly in glass petri dishes with 5 mm thickness, and the weight of petri dishes were recorded with an analytical balance (Precisa Gravimetrics XB220A, Switzerland) every 60 sec for microwave drying and every 10 min for air drying in order to determine the drying behaviour.

Moisture diffusion from the samples was evaluated according to the Fick's second law. The diffusion equation for an infinite slab for the falling rate period is shown in below equation (Cakmak et al., 2014);

$$MR = \frac{M - M_e}{M_0 - M_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n + 1)^2} \exp\left[-(2n + 1)^2 \frac{\pi^2 D_{eff} t}{L^2}\right] \quad (3)$$

here MR is dimensionless moisture rate, M<sub>0</sub> initial moisture content, M<sub>e</sub> is equilibrium moisture content, M is the moisture at any time. L is the thickness of slab in m for evaporation occurs only from one side and D<sub>eff</sub> represents the effective diffusion coefficient (m<sup>2</sup>/s).

The models given in Table 2 were tested with MATLAB R2016a software (Mathworks, USA)

using curve fitting toolbox. The goodness of fit was evaluated according to the model having the highest Adj-R<sup>2</sup> (adjusted correlation coefficient) together with the lowest SSE (sum of squared error) and RMSE (root mean square error).

$$adj - R^2 = 1 - (1 - R^2) \frac{N - 1}{N - m - 1}, R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{pre,i}) \times \sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{exp,i})}{\sqrt{[\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{pre,i})^2] \times [\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{exp,i})^2]}} \quad (4)$$

$$SSE = \sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2 \quad (5)$$

$$RMSE = \left[ \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2 \right]^{0.5} \quad (6)$$



where  $MR_{pr,i}$  expresses the predicted and  $MR_{exp,i}$  expresses the experimental moisture ratio,  $N$  is the number of observations,  $m$  is number of regression parameters, and  $n$  is the number of constants.

$$CI = \frac{(\rho_{tapped} - \rho_{bulk})}{\rho_{tapped}} \times 100 \quad (7)$$

$$HR = \frac{\rho_{tapped}}{\rho_{bulk}} \quad (8)$$

### Powder properties

The flowability and cohesiveness of obtained fruit powders were determined by Carr index (CI) and Hausner ratio (HR), respectively according to the following equations (Jinapong et al., 2008);

Table 2. Tested thin layer models

Model no	Model name	Model equation	Reference
1	Lewis	$MR = e^{(-kt)}$	
2	Page	$MR = e^{(-kt^n)}$	
3	Henderson & Pabis	$MR = ae^{(-kt)}$	
4	Logarithmic	$MR = ae^{(-kt)} + c$	Cakmak et al. (2014);
5	Two-term	$MR = ae^{(-k_0t)} + be^{(-k_1t)}$	Kucuk et al. (2014)
6	Midilli <i>et al.</i>	$MR = ae^{(-kt^n)} + bt$	
7	Modified Midilli <i>et al.</i>	$MR = e^{(-kt^n)} + bt$	

### Colour and anthocyanin content analysis

The colour of raw materials and the dried samples were measured with a spectrophotometer (Konica Minolta, CM3600D, Japan) using CIE  $L^*a^*b^*$  colour scale. In this scale, the lightness ( $L^*$ ) is given as  $L^*=0$  being black,  $L^*=100$  being white, redness-greenness ( $a^*$ ) is given as  $a^*<0$  being green, and  $a^*>0$  being red, and yellowness-blueness ( $b^*$ ) is given as  $b^*<0$  being blue, and  $b^*>0$  being yellow, respectively. The hue angle

( $h^*$ ) is calculated according to the following equation;

$$h^* = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (9)$$

The total monomeric anthocyanin content was determined according to the pH differential shift method. The anthocyanin content was expressed as mg cyanidin-3-galactoside/ kg dm (Coklar et al., 2018).

$$\frac{mg \text{ cya} - 3 - galactoside}{kg \text{ dm}} = \frac{[(A_{\lambda_{max}} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda_{max}} - A_{700})_{pH4.5}] \times MW \times df \times 1000}{\epsilon \times d \times E} \quad (10)$$

here  $A$  represents absorbance,  $MW$  is the molecular weight of cya-3-galactoside (448.84 g/mol),  $df$  is the dilution factor,  $\epsilon$  is the molar absorbance of cya-3-galactoside (34300 lt/mol.cm),  $d$  is the cell path length of cuvette (1 cm) and  $E$  is the sample weight (kg/lt solvent).

nonlinear regression of thin layer modelling was performed with MATLAB R2016a (Mathworks, USA). The statistical analysis of the results colour and anthocyanin content was performed by using SPSS 16.0 software (SPSS Inc., USA) according to one-way ANOVA and applying Duncan test with a significance level of 95%.

### Statistical Analyses

The experimental design was evaluated with Minitab Vers. 15 (Minitab Inc., USA) and

**RESULTS AND DISCUSSION**

**Proximate analysis of materials and zeta potential**

The proximate composition of *Malus floribunda* juice was determined as; 80.02±0.26% moisture, the soluble solid content was 18.90±0.10 °Bx, the titratable acidity 2.38±0.03% malic acid equivalent and the pH was 2.91±0.02. The moisture of FB was found as 7.16±0.3%, and the moisture of MD was 7.59±0.03%, respectively.

The zeta potentials of FB had positive potential (6.59-25.5 mV) below the isoelectric point (pH= 4.45), whereas above the isoelectric point, negative potentials (-20.6/-6.38 mV) were obtained. Similar trend in electrostatic charge was observed in the literature for the faba bean proteins (Gumus et al., 2017) and lentil proteins (Jarpa-Parra et al., 2015). The repulsive forces improve the protein stability below and above the isoelectric points, so that the solubility of plant proteins is high at these aforementioned pH values (Gumus et al., 2017). Therefore, at the natural pH of MF juice, the proteins did not precipitate and there was no need for pH adjustment before the foaming process.

**Evaluation of the experimental design**

The stability of MF juice foams was evaluated at the 95% level, and the results of the responses are shown in Table 1, and regression analyses are in Table 3 and 4. The significant parameters that improved the density response were given in Equation (10). In addition to the regression analysis, the linear and square interaction terms

had significant effect ( $P < 0.05$ ) on density according to ANOVA results (not shown in here).

$$density = 1.109 - 0.143 \times FB\% + 0.007 \times FB\%^2 \tag{11}$$

The lower foam density is associated with higher air incorporation into the structure and so the higher overrun are obtained (Boye et al., 2010; Jarpa-Parra et al., 2015; Ayetigbo et al., 2019). The stable foams are created by the transfer of the protein into the air-water interface that is acting as a stabilizer therefore preventing the foam collapse (Jarpa-Parra et al., 2015; Ayetigbo et al., 2019). The lowest average density (0.3155 g/mL) and the highest overrun (150.65%) values had been reached at the 10% FB level (Table 1, run order 2). The maximum foam stability was also shown in the surface plot (with arrow) with respect to FB and MD content versus density or overrun responses in Figure 1 and Figure 2. Therefore, the FB protein was quite successful in MF juice foam stabilization, especially at the highest level of incorporation (10%) according to the regression analysis. The egg albumen or particularly ovalbumin is generally employed in foam-mat drying of several food substances (Franco et al., 2016; Dehghannya et al., 2018; Ng and Sulaiman, 2018), however non-animal protein sources such as; lentil (Jarpa-Parra et al., 2015) and faba bean (present study) had a great potential to improve the foam stability as well. Consequently, the vegan or vegetarian friendly foam-mat dried food materials can be developed by the faba bean proteins.

Table 3. Regression coefficients of density response

Term	Coeff	SE Coef	T	P
Constant	1.10888	0.143180	7.745	0.000
FB%	-0.14306	0.038854	-3.682	0.008
MD%	-0.01088	0.020827	-0.522	0.618
FB% × FB%	0.00650	0.002550	2.549	0.038
MD% × MD%	0.00401	0.002550	1.572	0.160
FB% × MD%	0.00165	0.002119	0.780	0.461

$Adj-R^2 = 91.33\%$ ,  $S = 0.0264845$ ,  $PRESS = 0.0389263$

Table 4. Regression coefficients of overrun response

Term	Coeff	SE Coef	T	P
Constant	0.348442	0.498485	0.699	0.507
FB%	0.123218	0.135269	0.911	0.393
MD%	-0.060805	0.072509	-0.839	0.429
FB% × FB%	-0.001035	0.008877	-0.117	0.910
MD% × MD%	-0.004429	0.008877	-0.499	0.633
FB% × MD%	-0.000740	0.007553	-0.100	0.923

$Adj-R^2 = 86.86\%$ ,  $S = 0.0922061$ ,  $PRESS = 0.530487$

In contrast to FB, the MD incorporation into foam formulation had no significant effect on both density and overrun responses ( $P > 0.05$ ). The regression analysis together with the ANOVA results was significant in terms of high  $Adj-R^2$  and  $P < 0.05$  of overrun response, respectively, but the FB and MD had no significant effect individually, square or interaction state. Despite being used as a wall material or carrier agent in the foam-mat drying, the effects of maltodextrin in foam stability was not discussed in the recent literature (Seerangurayar et al., 2017; Ng and Sulaiman, 2018). But since the MF juice is rich in bioactive compounds, 10% MD was also used as a wall material in further foam-mat drying step in order to encapsulate the bioactive components and to compare the drying behaviour with control (no FB or MD) sample and 10% FB-foamed juices.

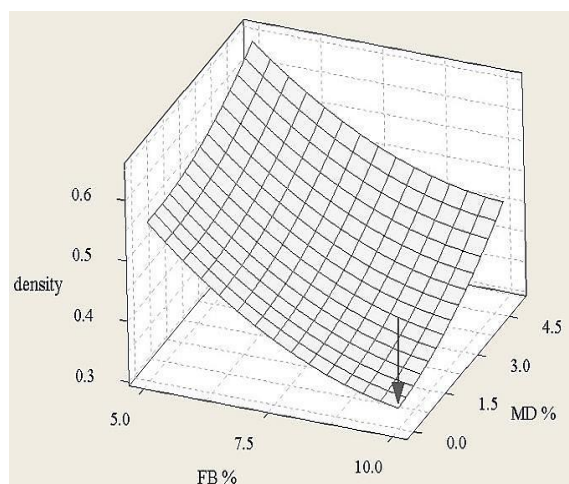


Figure 1. 3D surface plot of density versus FB and MD percent

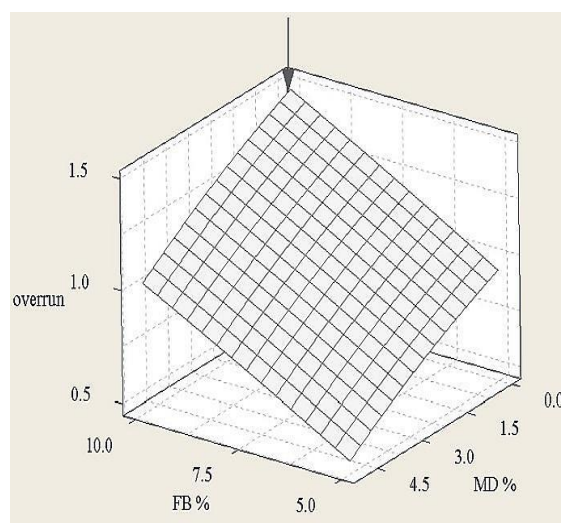


Figure 2. 3D surface plot of overrun versus FB and MD percent

### Drying behaviour and mathematical modelling

The initial average moisture of control sample was reduced from 4.2491 kg water/kg dm to 0.0701 kg water/kg dm with drying; while 10% FB-foamed sample was reduced from 2.6734 kg water/kg dm to 0.0645 kg water/kg dm; and 10% MD added sample was reduced from 2.6663 kg water/kg dm to 0.0937 kg water/kg dm. Since the addition of FB and MD had lowered the moisture content of the neat fruit juice, the initial dry matter content of 10% FB and MD samples were obtained higher than the control sample. The final moisture contents of dried samples were similar or even lower than the guar gum-xanthan gum foamed date pulp and egg albumen foamed yacon juice powders (Franco et al., 2016; Seerangurayar et al., 2017).

The control (no FB or MD-added) sample had same drying behaviour for air drying and microwave drying, and both the constant-rate period and falling-rate period appeared on the drying rate curves. However, 10% MD-added sample and 10% FB foamed samples had two falling-rate periods with different slopes in air drying process at 50, 60 and 70°C. In contrast, these samples had a constant and a falling-rate period in the microwave drying like control sample.

The moisture transfer rate from the foam samples were significantly improved by foam-mat drying method (Figure 1). Depending on the drying temperature or power, the drying period had been reduced between 20-43% for 10% FB samples compared to the control. Same behaviour was observed in the egg albumen-sorbitan monostearate foamed mango pulp drying (Chaux-Gutiérrez et al., 2017) and egg albumen-methylcellulose foamed apple juice drying (Kudra

and Ratti, 2006). Therefore, the incorporation of air bubbles formed during foaming process provided faster moisture transfer vis-à-vis the other samples (Kudra and Ratti, 2006; Hardy and Jideani, 2017). Interestingly, the drying period was also reduced for 10% MD-added sample between 7-11%. This reduction could be due to the increased dry matter content by the addition of maltodextrin.

The experimental dimensionless moisture ratio that was fitted to the mathematical models given in Table 2, and the results of the nonlinear regression analysis were given in Table 5a and 5b. The tested models had high correlations with the experimental data, and the Adj-R<sup>2</sup> values were found between 0.9256-0.9999. Among them, Midilli *et al.* model was the most successful model representing the drying behaviour of MF juice independent of the drying temperature/power or the formulation.

Table 5. a. Regression parameters of tested mathematical models

Sample	Model	50°C	60°C	70°C	140 W
Control	Lewis	SSE=0.08041, Adj-R <sup>2</sup> =0.9743, RMSE=0.05788	SSE=0.06732, Adj-R <sup>2</sup> =0.9721, RMSE=0.06293	SSE=0.03182, Adj-R <sup>2</sup> =0.9828, RMSE=0.04948	SSE=0.32850, Adj-R <sup>2</sup> =0.9319, RMSE=0.09422
	Page	SSE=0.03548, Adj-R <sup>2</sup> =0.9882, RMSE=0.03928	SSE=0.01500, Adj-R <sup>2</sup> =0.9934, RMSE=0.03062	SSE=0.00786, Adj-R <sup>2</sup> =0.9954, RMSE=0.02559	SSE=0.01560, Adj-R <sup>2</sup> =0.9967, RMSE=0.02080
	Henderson and Pabis	SSE=0.07337, Adj-R <sup>2</sup> =0.9755, RMSE=0.05648	SSE=0.05801, Adj-R <sup>2</sup> =0.9745, RMSE=0.06021	SSE=0.02477, Adj-R <sup>2</sup> =0.9855, RMSE=0.04543	SSE=0.22570, Adj-R <sup>2</sup> =0.9519, RMSE=0.07919
	Logarithmic	SSE=0.08328, Adj-R <sup>2</sup> =0.9722, RMSE=0.06018	SSE=0.05884, Adj-R <sup>2</sup> =0.9741, RMSE=0.06064	SSE=0.03048, Adj-R <sup>2</sup> =0.9821, RMSE=0.05039	SSE=0.22570, Adj-R <sup>2</sup> =0.9519, RMSE=0.07920
	Two-term	SSE=0.07337, Adj-R <sup>2</sup> =0.9732, RMSE=0.05911	SSE=0.05008, Adj-R <sup>2</sup> =0.9748, RMSE=0.05981	SSE=0.02477, Adj-R <sup>2</sup> =0.9826, RMSE=0.04977	SSE=0.22600, Adj-R <sup>2</sup> =0.9490, RMSE=0.08153
	Midilli et al.	SSE=0.02346, Adj-R <sup>2</sup> =0.9918, RMSE=0.03265	SSE=0.01211, Adj-R <sup>2</sup> =0.9943, RMSE=0.02841	SSE=0.00706, Adj-R <sup>2</sup> =0.9955, RMSE=0.02533	SSE=0.01100, Adj-R <sup>2</sup> =0.9976, RMSE=0.01775
	Modified Midilli et al.	SSE=0.03692, Adj-R <sup>2</sup> =0.9877, RMSE=0.04006	SSE=0.01737, Adj-R <sup>2</sup> =0.9924, RMSE=0.03295	SSE=0.00973, Adj-R <sup>2</sup> =0.9943, RMSE=0.02847	SSE=0.01560, Adj-R <sup>2</sup> =0.9967, RMSE=0.02080

Table 5. a. (continued)

Sample	Model	50°C	60°C	70°C	140 W
10% FB	Lewis	SSE=0.02928, Adj-R <sup>2</sup> =0.9878, RMSE=0.03827	SSE=0.02232, Adj-R <sup>2</sup> =0.9913, RMSE=0.03428	SSE=0.00354, Adj-R <sup>2</sup> =0.9976, RMSE=0.01717	SSE=0.26570, Adj-R <sup>2</sup> =0.9256, RMSE=0.09572
	Page	SSE=0.02247, Adj-R <sup>2</sup> =0.9902, RMSE=0.03439	SSE=0.00290, Adj-R <sup>2</sup> =0.9988, RMSE=0.01270	SSE=0.00125, Adj-R <sup>2</sup> =0.9991, RMSE=0.01065	SSE=0.01110, Adj-R <sup>2</sup> =0.9968, RMSE=0.01992
	Henderson and Pabis	SSE=0.02882, Adj-R <sup>2</sup> =0.9874, RMSE=0.03895	SSE=0.01519, Adj-R <sup>2</sup> =0.9937, RMSE=0.02905	SSE=0.00303, Adj-R <sup>2</sup> =0.9978, RMSE=0.01660	SSE=0.18380, Adj-R <sup>2</sup> =0.9467, RMSE=0.08102
	Logarithmic	SSE=0.03415, Adj-R <sup>2</sup> =0.9850, RMSE=0.04240	SSE=0.01946, Adj-R <sup>2</sup> =0.9920, RMSE=0.03288	SSE=0.00300, Adj-R <sup>2</sup> =0.9978, RMSE=0.01651	SSE=0.18380, Adj-R <sup>2</sup> =0.9467, RMSE=0.08103
	Two-term	SSE=0.02883, Adj-R <sup>2</sup> =0.9859, RMSE=0.04118	SSE=0.01948, Adj-R <sup>2</sup> =0.9909, RMSE=0.03490	SSE=0.00226, Adj-R <sup>2</sup> =0.9979, RMSE=0.01585	SSE=0.18400, Adj-R <sup>2</sup> =0.9425, RMSE=0.08413
	Midilli et al.	SSE=0.01811, Adj-R <sup>2</sup> =0.9916, RMSE=0.03172	SSE=0.00257, Adj-R <sup>2</sup> =0.9989, RMSE=0.01229	SSE=0.00110, Adj-R <sup>2</sup> =0.9991, RMSE=0.01049	SSE=0.00860, Adj-R <sup>2</sup> =0.9974, RMSE=0.01787
	Modified Midilli et al.	SSE=0.02388, Adj-R <sup>2</sup> =0.9895, RMSE=0.03545	SSE=0.00290, Adj-R <sup>2</sup> =0.9988, RMSE=0.01270	SSE=0.00128, Adj-R <sup>2</sup> =0.9991, RMSE=0.01077	SSE=0.01110, Adj-R <sup>2</sup> =0.9968, RMSE=0.01992
	Sample	Model	50°C	60°C	70°C
10% MD	Lewis	SSE=0.10040, Adj-R <sup>2</sup> =0.9732, RMSE=0.05785	SSE=0.05434, Adj-R <sup>2</sup> =0.9794, RMSE=0.05348	SSE=0.01240, Adj-R <sup>2</sup> =0.9928, RMSE=0.03088	SSE=0.29990, Adj-R <sup>2</sup> =0.9304, RMSE=0.09391
	Page	SSE=0.06057, Adj-R <sup>2</sup> =0.9832, RMSE=0.04570	SSE=0.00941, Adj-R <sup>2</sup> =0.9962, RMSE=0.02287	SSE=0.00019, Adj-R <sup>2</sup> =0.9999, RMSE=0.00399	SSE=0.00890, Adj-R <sup>2</sup> =0.9979, RMSE=0.01641
	Henderson and Pabis	SSE=0.09954, Adj-R <sup>2</sup> =0.9725, RMSE=0.05859	SSE=0.03828, Adj-R <sup>2</sup> =0.9847, RMSE=0.04611	SSE=0.00395, Adj-R <sup>2</sup> =0.9975, RMSE=0.01814	SSE=0.20430, Adj-R <sup>2</sup> =0.9512, RMSE=0.07868
	Logarithmic	SSE=0.09839, Adj-R <sup>2</sup> =0.9728, RMSE=0.05825	SSE=0.03176, Adj-R <sup>2</sup> =0.9873, RMSE=0.04200	SSE=0.00645, Adj-R <sup>2</sup> =0.9959, RMSE=0.02320	SSE=0.20430, Adj-R <sup>2</sup> =0.9512, RMSE=0.07869
	Two-term	SSE=0.08435, Adj-R <sup>2</sup> =0.9767, RMSE=0.05393	SSE=0.03176, Adj-R <sup>2</sup> =0.9865, RMSE=0.04322	SSE=0.00646, Adj-R <sup>2</sup> =0.9951, RMSE=0.02541	SSE=0.20430, Adj-R <sup>2</sup> =0.9480, RMSE=0.08118
	Midilli et al.	SSE=0.02477, Adj-R <sup>2</sup> =0.9929, RMSE=0.02974	SSE=0.00653, Adj-R <sup>2</sup> =0.9972, RMSE=0.01960	SSE=0.00015, Adj-R <sup>2</sup> =0.9999, RMSE=0.00393	SSE=0.00560, Adj-R <sup>2</sup> =0.9986, RMSE=0.01323
	Modified Midilli et al.	SSE=0.05046, Adj-R <sup>2</sup> =0.9860, RMSE=0.04171	SSE=0.00817, Adj-R <sup>2</sup> =0.9967, RMSE=0.02131	SSE=0.00019, Adj-R <sup>2</sup> =0.9999, RMSE=0.00411	SSE=0.00890, Adj-R <sup>2</sup> =0.9979, RMSE=0.01641

Table 5b. The coefficients of best fitting mathematical model

Sample	Temperature/ power	Midilli <i>et al.</i> model constants
Control	50°C	a=0.9405, b=9.129×10 <sup>-13</sup> , k=0.00018, n=1.506
	60°C	a=0.9651, b=4.244×10 <sup>-13</sup> , k=0.00041, n=1.494
	70°C	a=0.9768, b=3.611×10 <sup>-14</sup> , k=0.00262, n=1.315
	140 W	a=0.9695, b=3.723×10 <sup>-12</sup> , k=2.084×10 <sup>-6</sup> , n=1.828
10% FB	50°C	a=0.9513, b=1.528×10 <sup>-12</sup> , k=0.00175, n=1.223
	60°C	a=0.9856, b=2.225×10 <sup>-14</sup> , k=0.00297, n=1.232
	70°C	a=0.9971, b=2.221×10 <sup>-14</sup> , k=0.01122, n=1.077
	140 W	a=0.9755, b=5.748×10 <sup>-13</sup> , k=3.009×10 <sup>-6</sup> , n=1.851
10% MD	50°C	a=0.9709, b=2.224×10 <sup>-14</sup> , k=0.00016, n=1.556
	60°C	a=0.9712, b=3.939×10 <sup>-13</sup> , k=0.00109, n=1.360
	70°C	a=1.0010, b=1.369×10 <sup>-7</sup> , k=0.00666, n=1.192
	140 W	a=0.9737, b=3.439×10 <sup>-11</sup> , k=2.383×10 <sup>-6</sup> , n=1.834

### Powder properties

The flowability of dried MF juice samples were evaluated according to Carr index and Hausner ratio, however these values for control and MD-added MF juices could not be calculated due to their sticky and agglomerated structure. The sugar content of MF juice and comparably higher drying periods of these samples may be resulted in the poorly flowable and highly adhesive structure of final powders (Jinapong et al., 2008; Seerangurayar et al., 2017; Varhan and Koç, 2017). Besides, high sugar content may decrease the glass transition temperature and initiate caking of powders following the sugar crystallization (Jinapong et al., 2008). Also the hygroscopicity of powders may be increased due to the reduction of the glass transition temperature, and thus the flowability of the powders might be affected negatively (Seerangurayar et al., 2017). On the other hand, FB foamed samples had an average Carr indexes between 17.3-26.0%, while the Hausner ratio was found between 1.21-1.35. Therefore, the powders had “fair” to “good” flowability, while the cohesiveness was classified between “intermediate-low” to “intermediate” (Jinapong et al., 2008; Seerangurayar et al., 2017; Dehghannya et al., 2018). The increment of the drying temperature resulted in lower Carr index and Hausner ratio analogous to the results of foam mat dried lime juice and muskmelon powders (Asokapandian et al., 2016; Dehghannya et al., 2019).

### Colour and anthocyanin content of samples

The colour values of the dried samples were compared according to the drying temperature/power and the results were shown in Table 6. The lowest L\*, a\*, b\* and h\* values were obtained for the microwave dried samples independent of the sample formulation ( $P < 0.05$ ). Although the drying period at 50°C was higher than the other drying temperature or power levels, the lightness of control and the 10% MD added samples had significantly the highest values compared to other temperature/power levels ( $P < 0.05$ ). This could be due to browning of the dried sample at the elevated temperatures (Asokapandian et al., 2016; Dehghannya et al., 2018; Dehghannya et al., 2019). Besides, the highest lightness values were observed for the 10% FB foamed sample at all temperature and 140 W power level ( $P < 0.05$ ). Because of the air incorporation due to the foam formation, the lightness values of FB foamed powders might be higher compared to the control and MD-added samples (Asokapandian et al., 2016).

The redness values of dried powder are associated with the potential of the MF juice as a natural colorant. The colour values of fresh MF juice (after heat treatment at 90°C) was found as; L\*: 28.45±0.09, a\*:17.69±0.28, and b\*: 6.26±0.13. The colour values were similar to those given in the study of Coklar et al. (2018). The redness intensity of 10% FB powders increased with the increasing of the drying temperature contrary to

the control and 10% MD powders ( $P < 0.05$ ). Also, the highest redness in 10% FB powders was obtained from 70°C air drying and 140 W microwave drying. The redness reduction in control and 10% MD samples were probably associated with the temperature sensitivity of anthocyanins (Ng and Sulaiman, 2018). Nevertheless, 10% FB powders did not have a similar trend for  $a^*$  reduction with respect to temperature. This behaviour might be related to the shorter drying times for 70°C (240 min) and

140 W (36 min) powders in comparison with the control and 10% MD samples. Hue angles of the control and 10% MD samples dried in microwave oven were lower than the flesh of fresh *Malus floribunda coccinella* ( $12.47 \pm 0.81$ ) fruit, but also  $h^*$  of fresh MF juice ( $19.50 \pm 0.10$ ) and the rest of the dried samples were higher than this given study (Coklar et al., 2018). This variation in  $h^*$  value might be associated with the variety of the fruit, the effect of heat treatment or drying and mixing with soluble ingredients like FB or MD.

Table 6. Colour values of dried powders

Sample	Temperature/ power	L*	a*	b*	h*
Control	50°C	31.16 <sup>c, A</sup>	22.15 <sup>c, B</sup>	5.70 <sup>b, A</sup>	14.38 <sup>b, A</sup>
	60°C	29.20 <sup>b, A</sup>	19.73 <sup>b, A</sup>	5.68 <sup>b, A</sup>	16.08 <sup>c, A</sup>
	70°C	29.39 <sup>b, A</sup>	19.02 <sup>b, A</sup>	5.45 <sup>b, A</sup>	16.01 <sup>c, A</sup>
	140 W	25.08 <sup>a, A</sup>	5.12 <sup>a, B</sup>	0.79 <sup>a, A</sup>	8.73 <sup>a, A</sup>
10% FB	50°C	43.17 <sup>a, C</sup>	14.08 <sup>a, A</sup>	5.16 <sup>a, A</sup>	20.07 <sup>a, C</sup>
	60°C	64.83 <sup>d, C</sup>	17.65 <sup>b, A</sup>	7.99 <sup>c, B</sup>	24.35 <sup>b, B</sup>
	70°C	60.84 <sup>b, C</sup>	18.68 <sup>c, A</sup>	8.74 <sup>d, C</sup>	25.08 <sup>b, B</sup>
	140 W	62.93 <sup>c, C</sup>	18.85 <sup>c, C</sup>	6.73 <sup>b, B</sup>	19.63 <sup>a, B</sup>
10% MD	50°C	32.40 <sup>b, B</sup>	26.22 <sup>c, C</sup>	7.80 <sup>c, B</sup>	16.54 <sup>b, B</sup>
	60°C	32.70 <sup>b, B</sup>	26.31 <sup>c, B</sup>	8.01 <sup>c, B</sup>	16.92 <sup>b, A</sup>
	70°C	31.00 <sup>b, B</sup>	22.84 <sup>b, B</sup>	6.45 <sup>b, B</sup>	15.71 <sup>b, A</sup>
	140 W	28.52 <sup>a, B</sup>	3.99 <sup>a, A</sup>	0.55 <sup>a, A</sup>	7.97 <sup>a, A</sup>

<sup>a-d</sup>Different letters in the same column are statistically different ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-C</sup>Different letters in the same row are statistically different ( $P < 0.05$ ).

The anthocyanins are the source of purple to red colours in berries and skin of apples. Unlike commercial apple cultivars, *Malus floribunda* apple is distinguished with both red skin and the flesh colour that reflects the presence of anthocyanin pigments in the flesh as well (Coklar et al., 2018). The total anthocyanin content of the samples determined according to pH differential shift method was given in Figure 3. Depending on the lack of flowability of control and 10% MD-added samples, only the anthocyanin content of 10% FB powders were determined. The fresh juice had significantly the highest anthocyanin ( $P < 0.05$ ), while the drying temperature increment reduced the total anthocyanin content. This is due to the

fact that the drying temperature and drying period significantly affect the level of anthocyanin degradation (Patras et al., 2010; Zheng et al., 2011; Darniadi et al., 2019), and the redness values associated with the anthocyanin pigments decreases due to the effect of drying (Ng and Sulaiman, 2018). However, the redness of 10% FB powders did not follow the same trend. The redness values increased with respect to increasing the drying temperature, while the anthocyanins gradually decreased with respect to temperature. But the anthocyanin content of microwave dried foams was in the same group with the sample dried at 60°C ( $P > 0.05$ ). The stability of anthocyanins is also effected by some

intrinsic parameters such as the presence of proteins, metal ions, pH, soluble solid content and sugar moieties attached to the phenolic ring etc. (Patras et al., 2010). Thus, the combination

pH and high temperature may result in sudden drop of total monomeric anthocyanin content for the powders that were dried over 50°C.

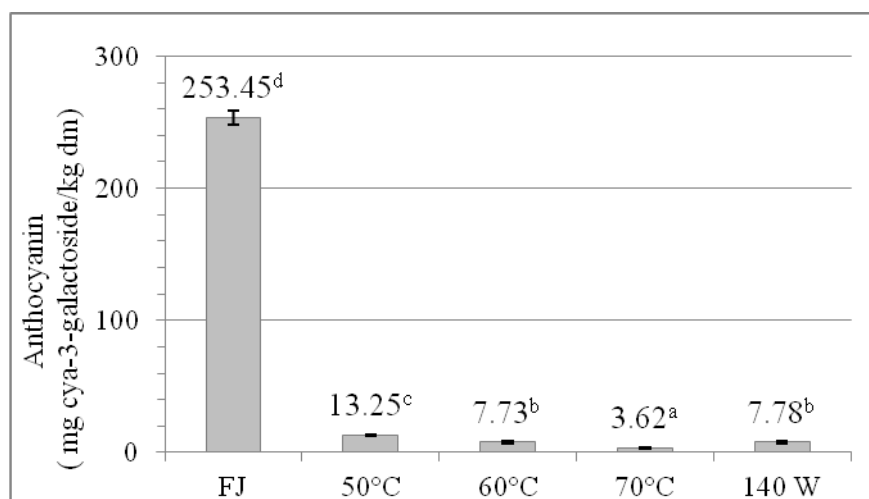


Figure 3. Total anthocyanin content of fresh juice (FJ) and 10% FB dried foams

## CONCLUSIONS

In this study, foam-mat drying behaviour of *Malus floribunda* fruit juice by air drying at different temperatures (50, 60 and 70°C) and microwave drying at 140 W was evaluated. The foam stability was improved by the increasing level of FB, and 10% (w/w) FB had the highest foam stability. The drying period was significantly reduced by foam-mat drying application, and also the lowest drying period was observed in microwave drying. The Midilli *et al.* model had the highest Adj-R<sup>2</sup> with the lowest SSE and RMSE regarding the regression analysis independent of the foam formulations or the drying conditions.

The powders of 10% FB from each drying condition had a highly flowable structure with the highest lightness values compared to the control and 10% MD-added samples. Besides, the redness of 10% FB powders was not adversely affected from the drying temperature increment. The anthocyanin contents of 10% FB powders were significantly lower than the fresh juice ( $P < 0.05$ ), but the anthocyanin amount of powders dried at the 50°C was the highest among other powders.

Foam-mat drying is an energy saving drying method, but microwave assisted foam-mat drying had even better results in reduction of drying period, as well as the preserving the bioactive compounds and improving the powder flowability. Also, FB was successful for production of stable foams from the highly acidic MF juice. Therefore, a novel natural red food colorants or instant juice powders that can be utilized in vegan and vegetarian food formulations were developed from the MF juices by FB proteins with foam-mat microwave drying method.

## ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank Dr. Cansu Ekin Gumus for her help in zeta potential measurements.

## REFERENCES

- Acar, J., Gokmen, V. (2000). *Meyve ve sebze teknolojisi: Meyve ve sebze suyu üretim teknolojisi*. Hacettepe Üniversitesi Muhendislik Fakültesi Yayınları, Ankara, 218p.
- AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International. (17th ed.). Gaithersburg, MD, USA.



- Asokapandian, S., Venkatachalam, S., Swamy, G.J., Kuppasamy, K. (2016). Optimization of foaming properties and foam mat drying of muskmelon using soy protein. *J Food Process Eng*, 39(6): 692-701.
- Ayetigbo, O., Latif, S., Abass, A., Müller, J. (2019). Preparation, optimization and characterization of foam from white-flesh and yellow-flesh cassava (*Manihot esculenta*) for powder production. *Food Hydrocoll*, 97: 105205.
- Baniel, A., Fains, A., Popineau, Y. (1997). Foaming properties of egg albumen with a bubbling apparatus compared with whipping. *J Food Sci*, 62(2): 377-381.
- Boye, J., Zare, F., Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Res Int*, 43(2): 414-431.
- Çakmak, H., Kumcuoğlu, S., Tavman, S. (2014). Mathematical modeling and thin layer drying of chicken meat enriched baguette bread slices. *Gıda*, 39(3): 131-138.
- Cepeda, E., Villaran, M.C. (1999). Density and viscosity of *Malus floribunda* juice as a function of concentration and temperature. *J Food Eng*, 41(2): 103-107.
- Cepeda, E., Villarán, M.C., Ibarz, A. (1999). Rheological properties of cloudy and clarified juice of *Malus floribunda* as a function of concentration and temperature. *J Texture Stud*, 30(5): 481-491.
- Chaux-Gutiérrez, A.M., Santos, A.B., Granda-Restrepo, D.M., Mauro, M.A. (2017). Foam mat drying of mango: Effect of processing parameters on the drying kinetic and product quality. *Dry Technol*, 35(5): 631-641.
- Coklar, H., Akbulut, M., Alhassan, I., Kirpitci, Ş., Korkmaz, E. (2018). Organic acids, sugars, phenolic compounds and antioxidant activity of *Malus floribunda coccinella* fruit, peel and flesh. *Acta Sci Pol-Hortoru*, 17(5): 47-59.
- Darniadi, S., Ifie, I., Ho, P., Murray, B.S. (2019). Evaluation of total monomeric anthocyanin, total phenolic content and individual anthocyanins of foam-mat freeze-dried and spray-dried blueberry powder. *J Food Meas and Charact*, 13(2): 1599-1606.
- Dehghannya, J., Pourahmad, M., Ghanbarzadeh, B., Ghaffari, H. (2018). Influence of foam thickness on production of lime juice powder during foam-mat drying: Experimental and numerical investigation. *Powder Technol*, 328: 470-484.
- Dehghannya, J., Pourahmad, M., Ghanbarzadeh, B., Ghaffari, H. (2019). Heat and mass transfer enhancement during foam-mat drying process of lime juice: Impact of convective hot air temperature. *Int J Therm Sci*, 135: 30-43.
- Franco, T.S., Perussello, C.A., Ellendersen, L.N., Masson, M.L. (2016). Effects of foam mat drying on physicochemical and microstructural properties of yacon juice powder. *Lebensm-Wiss Technol*, 66: 503-513.
- Gumus, C.E., Decker, E.A., McClements, D.J. (2017). Formation and stability of  $\omega$ -3 oil emulsion-based delivery systems using plant proteins as emulsifiers: Lentil, pea, and faba bean proteins. *Food Biophys*, 12(2): 186-197.
- Hardy, Z., Jideani, V.A. (2017). Foam-mat drying technology: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57(12): 2560-2572.
- Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Tian, Z., Zeng, H., Temelli, F., Chen, L. (2015). Impact of pH on molecular structure and surface properties of lentil legumin-like protein and its application as foam stabilizer. *Colloids Surf B*, 132: 45-53.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J Food Eng*, 84(2): 194-205.
- Kırbağ, S., Aydoğan, D. (2017). The investigation of phytochemical contains, antioxidant and antimicrobial activities of *Malus floribunda Siebold ex Van Houtte* from Eastern Turkey. *Indian J Pharm Educ*, 51(3): 349-354.
- Kucuk, H., Midilli, A., Kilic, A., Dincer, I. (2014). A review on thin-layer drying-curve equations. *Dry Technol*, 32(7): 757-773.

- Ng, M.L., Sulaiman, R. (2018). Development of beetroot (*Beta vulgaris*) powder using foam mat drying. *Lebensm-Wiss Technol*, 88: 80-86.
- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C., Tiwari, B.K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci Technol*, 21(1): 3-11.
- Seerangurayar, T., Manickavasagan, A., Al-Ismaili, A.M., Al-Mulla, Y.A. (2017). Effect of carrier agents on flowability and microstructural properties of foam-mat freeze dried date powder. *J Food Eng*, 215: 33-43.
- Varhan, E., Koç, M. (2017). Drying of foods with foam mat drying method. *Turk J Agr Food Sci Tech*, 5(6): 637-645.
- Yang, X., Foegeding, E.A. (2010). Effects of sucrose on egg white protein and whey protein isolate foams: factors determining properties of wet and dry foams (cakes). *Food Hydrocoll*, 24(2-3): 227-238.
- Ye, A., Flanagan, J., Singh, H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers*, 82(2): 121-133.
- Zheng, X.Z., Liu, C.H., Zhou, H. (2011). Optimization of parameters for microwave-assisted foam mat drying of blackcurrant pulp. *Dry Technol*, 29(2): 230-238.



## EMULSIONS OF ORANGE AND COCONUT OILS AND THEIR USE IN PEANUT BUTTERS

**Emin Burcin Özvural\***, Ebru Celen

Cankiri Karatekin University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Cankiri, Turkey

Received / Geliş: 10.12.2019; Accepted / Kabul: 21.05.2020 Published online / Online baskı: 30.05.2020

Özvural, E.B., Celen, E. (2020). Emulsions of orange and coconut oils and their use in peanut butters. GIDA (2020) 45(3) 544-554 doi: 10.15237/gida.GD19161

Özvural, E.B., Çelen, E. (2020). Portakal ve hindistan cevizi yağı emülsiyonları ve fıstık ezmelerinde kullanımları. GIDA (2020) 45(3) 544-554 doi: 10.15237/gida.GD19161

### ABSTRACT

In this study, orange essential oil and coconut oil emulsions and their mixtures were prepared and added to peanut butter to prevent lipid oxidation. Sodium caseinate was used as an emulsifier and ultrasonication was used for homogenization. Emulsions containing orange essential oil had a higher total phenolic content and antioxidant capacity than the coconut oil emulsions ( $P<0.05$ ). TBARS values of the peanut butters containing ultrasonicated emulsions were considerably higher than the other treatments ( $P<0.05$ ) at the end of storage (20<sup>th</sup> day). Samples containing ultrasonicated emulsions had lower L\* (lightness) values than the other samples ( $P<0.05$ ). Results showed that addition of these emulsions into peanut butters was effective in suppressing the lipid oxidation, but still further research is needed to produce the emulsions in nanoscale so as to increase the antioxidant properties of the oils.

**Keywords:** Peanut butter; orange oil; coconut oil, ultrasonication, emulsion

## PORTAKAL VE HİNDİSTAN CEVİZİ YAĞI EMÜLSİYONLARI VE FISTIK EZMELERİNDE KULLANIMLARI

### ÖZ

Bu çalışmada, portakal esansiyel yağı ve hindistan cevizi yağı emülsiyonları ve bunların karışımları hazırlanmış ve lipid oksidasyonunu önlemek amacıyla fıstık ezmelerine eklenmiştir. Emülgatör olarak sodyum kazeinat ve homojenizasyon tekniği olarak ultrasonikasyon kullanılmıştır. Portakal esansiyel yağı içeren emülsiyonların hindistan cevizi yağı içeren diğer emülsiyonlardan daha yüksek toplam fenolik içeriğine ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Depolamanın sonunda (20. gün) ultrasonikasyon uygulanmış emülsiyonları içeren örneklerin TBARS değerlerinin diğer denemelere göre oldukça yüksek olduğu gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ). Ultrasonikasyon uygulanmış emülsiyonları içeren örneklerin L\* (parlaklık) değeri diğer örneklerden daha düşük olarak belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Sonuçlar, bu emülsiyonların fıstık ezmesine ilave edilmesinin lipid oksidasyonunu baskılamada etkili olduğunu, ancak yağların antioksidan özelliklerini artırmak amacıyla emülsiyonların nano boyutta üretilmesine yönelik daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Fıstık ezmesi; portakal yağı; hindistan cevizi yağı, ultrasonikasyon, emülsiyon

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ bozvural@karatekin.edu.tr

☎ (+90) 376 218 95 00 /8355

☎ (+90) 376 218 95 36

Emin Burçin Özvural; ORCID no: 0000-0001-7919-2567

Ebru Çelen; ORCID no: 0000-0003-1286-5362

## INTRODUCTION

Emulsions are systems in which at least two immiscible liquids are dispersed in droplets. These systems have two phases, hydrophilic and lipophilic. The outer phase, called the continuous phase, carries the inner phase as droplets (İlyasoğlu and El, 2010). Nanoemulsions are emulsion classes with droplet sizes ranging from 20 to 100 nm; however, in some resources emulsions with particle sizes of 200 or 500 nm are also be considered as nanoemulsions (Donsi et. al., 2012; Abbaszadeh et. al., 2014). Nanoemulsions appear transparent and are more stable than regular emulsions to emulsion deterioration such as creaming, coalescence, flocculation and Ostwald droplet growth. Nanoemulsions are of interest in practical applications due to their physicochemical properties, small droplet sizes and long term stability (Lu et. al., 2018). Nanoemulsion systems are used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries for the encapsulation of flavouring agents, bioactive components, and colorants (McClements, 2011). Application of nanotechnology techniques to foods can change the texture, taste, sensory properties, colour, processing ability and stability of foods during storage (McClements et. al., 2009; Huang et. al., 2010; Özogul et. al., 2016).

High energy and low energy homogenization methods are used in the preparation of nanoemulsions. Homogenizers, microfluidizers and ultrasonic devices are used in high energy methods, but spontaneous emulsification, phase inversion temperature, phase inversion composition and emulsion inversion point are known as low energy methods (Anton and Vandamme, 2009; Piorkowski and McClements, 2013; Özogul et. al., 2016). Ultrasonication is one of the high energy techniques used to prepare nanoemulsions and nanodispersions by forming nano-sized droplets and particles (Tan et. al., 2016; Ghasemi et. al., 2017). The passage of ultrasound through the liquid medium creates cavitation conditions that release large amounts of energy locally (Gogate et. al., 2006). Ultrasonic emulsification is a technique used to produce stable emulsion with low energy input (Canselier

et. al., 2002; Sivakumar et. al., 2014). Especially in terms of droplet size and distribution, it has been observed that the emergence of cavitation conditions plays an important role in determining the effectiveness of ultrasound-induced emulsification (Cuheval and Chow., 2008; Ramisetty et. al., 2015).

The accumulation of waste material (husk, kernel and pulp) is largely generated from the consumption of oranges commercially or at home and from the orange juice industry. The peel represents 50-65% of the fruit and causes a great environmental pollution. It is possible to extract oil from the peels as a material used in the aroma and flavouring industry (Martins et. al., 2013). Orange peel oil contains limonene (94%), myrcene (2%), linalool (0.5%), octanal (0.4%), decanal (0.4%), neral (0.1%), geraniol (0.1%) etc. (Hashtjin and Abbasi, 2015). Limonene is one of the most abundant terpenes in nature and is the major constituent of many essential oils from citrus. Limonene has a pleasant lemon-like odor and is therefore used as a flavouring and fragrance agent in fruit juices, candies, gums, soft drinks and ice creams. Phenolic compounds such as limonene show antioxidant effects by scavenging free radicals (Vieira et. al., 2018).

Coconut oil is a valuable oil with vitamin E, polyphenols and a wide variety of medium chain triglycerides such as lauric acid, myristic acid and caprylic acid (Jayadas and Nair, 2006). It shows many biological activities such as antioxidant, antitumor, antithrombotic and hypolipidemic effects. Considering all these benefits of coconut, it may be possible for people to make more use of this oil in nanoemulsions (Pengon et. al., 2018).

Peanut butter is defined as a paste-like dispersion (Co and Marangoni, 2012) or a highly concentrated suspension in which solid round peanut pieces are dispersed continuously in the oil phase (Carraeu et. al., 2002). The total lipid content of peanut butter is 47-50%, and peanut oil contains about 52% oleic acid, 32% linoleic acid, and the remainder contains saturated fatty acids (Tanti et. al., 2016). Salt, sweeteners, emulsifiers or stabilizers can be incorporated in

the production of peanut butter. Similar products added to the structure other than the standard product should be labeled (Sander et. al., 2014).

In this study, emulsions were formed by ultrasonication using orange essential oil, coconut oil and sodium caseinate. The total phenolic content and antioxidant properties of the emulsions were determined and then the emulsions were added into the peanut butters in different ratios. Both oils were separately added at the same proportions into the peanut butters without emulsification in order to make a comparison among the treatments. Oils and emulsion solutions added peanut butters were stored at room temperature for 20 days and quality characteristics of the products were monitored.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Materials**

The orange essential oil used in the study was obtained from the Ecem Naturel Cosmetics Personal Care and Health Products Company, Istanbul (Turkey) and pure coconut oil (Life In, Origo Gıda, Gaziantep, Turkey) was obtained from a local market. Peanuts (unsalted, shelled and slightly roasted) were purchased from a local nut shop in Cankiri, Turkey.

### **Preparation of Emulsions**

The oil phase of the emulsions was formed by mixing orange oil (essential oil) and coconut oil in different proportions (100: 0, 50:50, 0: 100, orange oil: coconut oil, v/v). The emulsions were prepared by mixing the oil phase and sodium caseinate (Sigma-Aldrich- C8654) solution (3%, w/w) at a ratio of 1: 3 (w/w), respectively. The coarse emulsions were prepared by Ultra-Turrax homogenizer at 11000 rpm for 5 minutes. After that, ultrasonication was applied to reduce the particle size of the emulsions. To this end, an ultrasonicator (Sonics VCX500, Newtown, CT, USA) with a probe (diameter: 13 mm) and a maximum power output of 20 kHz 500 W for a period of 10 minutes at 40% amplitude were used. The container containing the sample was kept in an ice bath during the process in order to prevent heating.

### **Particle size of emulsions**

The particle sizes of the prepared emulsions were measured by dynamic light scattering (DLS) method using Zeta sizer (Malvern Instruments, Malvern, UK). Three repetitions were conducted.

### **Total phenolic content**

The total phenolic content of the samples was colourimetrically measured using the Folin – Ciocalteu reagent by the modification of the method in Anton et. al., (2009). Accordingly, 0.5 g of the sample was mixed with 12.5 ml of acetone-water mixture (4: 1) (v / v) on a magnetic stirrer for 2 hours. The samples were then centrifuged at 3000xg for 12 minutes. The resulting supernatant was used for analysis. In the presence of phenolic compounds, colour change occurs by the reduction of Folin-Ciocalteu reagent with the aid of sodium carbonate. The supernatant obtained was diluted 1/10 and 0.2 ml of this sample was mixed with 1.5 ml of 10 times diluted Folin-Ciocalteu reagent. After 5 minutes, 1.5 ml of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (60 g/l) was added to the mixture and the mixture was kept at room temperature in the dark for 90 minutes. Absorbance values were read at 725 nm using a UV-Visible spectrophotometer and the results were given in mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry matter using the prepared gallic acid (3,4,5-Trihydroxybenzoic acid) standard curve. Three repetitions were performed for each sample.

### **DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging analysis**

DPPH radical solution was prepared by dissolving 5 mg of DPPH in 200 mL of 80% methanol. 500 µL of sample (obtained by extraction as described in total phenolic analysis) was added into 3.5 mL of the prepared methanol-DPPH solution and vortexed. After holding the mixture for an hour at room temperature and in the dark, absorbance of the mixture was measured at 517 nm on the spectrophotometer and the results were calculated using the following equation. The antiradical activities of the samples was given as % inhibition shown below (Brand-Williams et. al., 1995; Rodriguez et. al., 2002).

Mean value of three measurements was given for each treatment.

$$\% \text{ Inhibition} = (C - S/C) \times 100$$

C: Absorbance of the control at 517 nm

S: Absorbance of the sample at 517 nm

### ABTS analysis

The ABTS $\cdot$ + radical was formed by reacting 5ml of 7mM ABTS solution with 88 $\mu$ l of 140 mM potassium persulfate aqueous solution. The mixture was allowed to stand at room temperature in the dark for 16 hours before use. 1 ml of ABTS $\cdot$ + solution was diluted with ethyl alcohol to give an absorbance value of  $0.70 \pm 0.02$  at 734 nm. 700 $\mu$ l (10 mg / ml) of sample found in isopropyl alcohol was then added onto 3 ml of ABTS + radical and homogenized for 6 minutes. The absorbance reading was carried out at 734 nm

using ethyl alcohol as the blank sample. Antioxidant capacity is given as % inhibition, similar to DPPH analysis (Santos et. al., 2017).

### Preparation of peanut butter

Roasted and shelled peanuts (400 g) were ground in a food processor (Krupps Rotary 500, Germany) until the desired spreadability was obtained. After the pre-test, the time required for the formation of the desired creamy structure was determined as 5 minutes and the same time was applied to all samples. After the desired structure was formed, orange oil, coconut oil and emulsions of these oils were added to the prepared samples. No sweetening agent, salt or extra oil was added to the formulation. The formulations of peanut butters are given in Table 1.

Table 1. Peanut butter formulations

Sample code	Explanation
Con	Peanut butter without any additive (Control)
O	Peanut butter with 4% (v / w) orange oil
OC <sub>o</sub>	Peanut butter with 4% (v / w) coconut oil
Co	Peanut butter with 2% (v / w) orange oil + 2% (v / w) coconut oil
UO	Peanut butter including 4% ultrasonicated oil phase (100: 0 orange oil: coconut)
UOC <sub>o</sub>	Peanut butter including 4% ultrasonicated oil phase (50: 50 orange oil: coconut)
UC <sub>o</sub>	Peanut butter including 4% ultrasonicated oil phase (0:100 orange oil: coconut)

### Proximate composition analyses

Moisture determination in peanut butter was carried out by oven drying according to AOAC standard method (AOAC, 1990). Analyses were performed quadruplicate for each sample. The fat content of the samples was determined by the Soxhlet extractor using hexane as a solvent (Vural and Öztan, 1996). Protein (%) amounts of the products were determined using Kjeldahl apparatus (Behr Labor-Technik S3, Dusseldorf, Germany) (AOAC, 1990).

### TBARS analysis

The TBARS (2-thiobarbituric acid reactive substances) assay was performed on days 0, 6, 13 and 20 to determine malondialdehyde formation.

In the method, 5 g of the sample was homogenized with 15 ml of deionized water. 1 ml of homogenate was transferred to the test tube and 50  $\mu$ l of butylated hydroxytoluene (7.2 g/100 g) and 2 ml of thiobarbituric acid (TBA) - trichloroacetic acid (TCA) (15 mM TBA-15 g/100 g TCA) were added. The mixture was stirred with a vortex mixer and then incubated for 15 minutes in a boiling water bath for colour formation. The samples were then cooled in cold water for 10 minutes, vortexed again, and centrifuged at 2500xg for 15 minutes. The absorbance of the supernatant solution was determined at 531 nm. TBARS values are given in milligrams of malondialdehyde per kilogram

sample (Mohamed and Mansour 2012). Four repetitions were conducted for each sample.

#### pH determination

In pH measurements, 1g sample was homogenized with 9 ml of distilled water and readings were performed by immersion of the pH-meter electrode which was previously calibrated with buffer solutions. Measurements were repeated four times for each sample and the average of the results were given (Vural and Öztan, 1996).

#### Colour analysis

The CIE colour values (L\*: lightness, a\*: redness or greenness, b\*: yellowness or blueness) of the peanut butter were determined using a chroma meter (Konica Minolta, CR-400, Japan) on days 0, 6, 13 and 20 during the storage period. The instrument was calibrated with a white base supplied by the manufacturer and readings were made from four randomly selected surfaces of the sample.

#### Statistical analysis

One-way ANOVA method (Minitab 16 package program, Minitab LLC, State College, Pennsylvania, USA) was used for statistical evaluation of differences between samples and changes occurred in samples during storage period. Tukey multiple comparison test was applied to the significant variables. In addition, Pearson correlation analysis was conducted between total phenolic content and antioxidant activity results.

## RESULTS AND DISCUSSION

The mean particle sizes of the ultrasonicated emulsions of orange essential oil, coconut oil and their 1:1 mixture in sodium caseinate are given in Table 2. The emulsion containing merely orange oil had the smallest particles ( $P < 0.05$ ). Nanoemulsions did not form, because the particle size of the emulsions could not be reduced to nano level, probably due to the presence of casein in the medium.

Total phenolic and antioxidant capacity values of emulsions containing different kinds of oils prepared by ultrasonication are given in Table 3. The total phenolic content of emulsion with orange oil was the highest, and the one with coconut oil was the lowest ( $P < 0.05$ ).

Table 2. Particle sizes of orange oil, coconut oil and mixture of orange oil and coconut oil (1: 1) which were emulsified by ultrasonication

Sample code	Particle size (nm)
UO	613.0 <sup>c</sup> ± 32.3
UOCo	2252.5 <sup>a</sup> ± 159.2
UCo	1667.2 <sup>b</sup> ± 51.5

<sup>a-c</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

UO: Orange oil emulsified by ultrasonication

UOCo: Mixture of orange oil and coconut oil (1: 1) emulsified by ultrasonication

UCo: Coconut oil emulsified by ultrasonication

Table 3. Total phenolic content and antioxidant capacity values of orange oil, coconut oil and mixture of orange oil and coconut oil (1: 1) which were emulsified by ultrasonication

Sample	Total phenolic content (mg gallic acid/ml sample)	Antioxidant capacity (DPPH) (%)	Antioxidant capacity (ABTS) (%)
UO	1.02 <sup>a</sup> ± 0.16	81.51 <sup>a</sup> ± 1.31	81.92 <sup>a</sup> ± 0.13
UOCo	0.67 <sup>b</sup> ± 0.10	77.61 <sup>a</sup> ± 4.35	38.71 <sup>b</sup> ± 2.87
UCo	0.31 <sup>c</sup> ± 0.02	49.38 <sup>b</sup> ± 3.89	21.25 <sup>c</sup> ± 1.62

<sup>a-c</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

UO: Orange oil emulsified by ultrasonication

UOCo: Mixture of orange oil and coconut oil (1: 1) emulsified by ultrasonication

UCo: Coconut oil emulsified by ultrasonication

Antioxidant capacity analyses of emulsions in the study were carried out by the DPPH and ABTS radical scavenging activity assays. According to the results of DPPH assay, the antioxidant capacities of the emulsion containing orange oil and emulsion containing both orange and coconut oils were similar ( $P > 0.05$ ), but these emulsions had a higher antioxidant capacity than the emulsion with coconut oil ( $P < 0.05$ ). The strong antioxidant properties of orange oil, especially thanks to the limonene, might be responsible for this result. In the ABTS assay, it was found that the casein emulsion containing orange oil had the highest antioxidant capacity while the emulsion prepared with coconut oil had the lowest ( $P < 0.05$ ). As a result of three assays, total phenolic content and antioxidant capacity experiments showed similar changes among the samples, which orange oil provided high antioxidant feature to the samples.

When Pearson correlation analysis was conducted between the different antioxidant activity values,

high positive and significant correlations were found ( $r > 0.82$ ,  $P < 0.05$ ). In addition, total phenolic content was positively correlated ( $r > 0.88$ ,  $P < 0.05$ ) with both antioxidant activity test results.

Proximate analysis results of the peanut butters are given in Table 4. While the moisture content of the samples containing ultrasonicated emulsions (UO, UOCo and UCo) was found to be in the range of 10.89-12.74%, values of the other samples including different oils were between 2.32 and 4.48%. The mean moisture content of the control sample was 2.41%. The moisture contents of the emulsion added samples were higher than the other samples ( $P < 0.05$ ) due to the presence of water in the emulsions. It was observed that the emulsion added peanut butter samples had a harder structure. It was obviously seen that the sodium caseinate in the emulsion content provided a thickening property to the structure.

Table 4. Moisture (%), fat (%) and protein (%) contents of peanut butters

Sample code	Moisture (%)	Fat (%)	Protein (%)
Con	2.41 <sup>f</sup> ± 0.02	53.64 <sup>a</sup> ± 0.77	25.41 <sup>b</sup> ± 0.08
O	4.48 <sup>d</sup> ± 0.03	54.32 <sup>a</sup> ± 1.93	24.36 <sup>bc</sup> ± 0.20
OCo	3.25 <sup>e</sup> ± 0.03	55.93 <sup>a</sup> ± 0.58	22.71 <sup>d</sup> ± 0.22
Co	2.32 <sup>f</sup> ± 0.03	54.75 <sup>a</sup> ± 2.07	23.93 <sup>cd</sup> ± 0.53
UO	12.74 <sup>a</sup> ± 0.19	43.75 <sup>b</sup> ± 1.14	31.19 <sup>a</sup> ± 0.51
UOCo	11.99 <sup>b</sup> ± 0.17	46.96 <sup>b</sup> ± 0.66	29.98 <sup>a</sup> ± 0.26
UCo	10.89 <sup>c</sup> ± 0.08	46.13 <sup>b</sup> ± 0.37	30.80 <sup>a</sup> ± 0.43

<sup>a-f</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

Insignificant differences were found among the oil content of the control and the samples with orange oil, coconut oil and the mixture of these oils ( $P > 0.05$ ). The oil content of the emulsions prepared by ultrasonication (UO, UOCo and UCo) was lower than the other samples ( $P < 0.05$ ). The water and sodium caseinate in the emulsion seemed to increase the total amount of the

product, so the amount of oil in the emulsion added samples were found to be lower.

UO, UOCo and UCo samples had a higher protein content (%) than the other samples ( $P < 0.05$ ). Sodium caseinate has a protein based structure and the addition of emulsions containing sodium caseinate is more likely to



increase the protein content of the samples. The protein (%) contents of OCo and Co samples were significantly lower than the control sample ( $P < 0.05$ ). Oils added to these samples might replace peanut tissues, resulting in a slight reduction in the amount of protein.

Peanut butter samples were stored in dark at room temperature for 20 days and pH values were determined at certain time intervals (Table 5). At the beginning of storage, the pH values of the control, peanut butter including orange oil and

the sample containing both orange and coconut oils were statistically lower than the other samples ( $P < 0.05$ ). On the last day of storage, significant differences were found among the pH values of the samples and peanut butter containing coconut oil had the highest pH value among the samples ( $P < 0.05$ ). The pH values of Con, O, OCo, UO, UOCo and UCo samples at the end of storage (day 20) were lower than those measured at the beginning of storage (day 0) ( $P < 0.05$ ).

Table 5. pH values of peanut butters during storage at room temperature

Sample code	Storage time (day)			
	0	6	13	20
Con	6.79 <sup>cA</sup> ± 0.02	6.73 <sup>bAB</sup> ± 0.06	6.75 <sup>cAB</sup> ± 0.01	6.69 <sup>dB</sup> ± 0.02
O	6.80 <sup>cA</sup> ± 0.01	6.79 <sup>abA</sup> ± 0.03	6.78 <sup>bcA</sup> ± 0.01	6.73 <sup>bcB</sup> ± 0.01
OCo	6.79 <sup>cAB</sup> ± 0.00	6.81 <sup>abA</sup> ± 0.04	6.76 <sup>bcB</sup> ± 0.00	6.72 <sup>bcdC</sup> ± 0.00
Co	6.84 <sup>bAB</sup> ± 0.00	6.87 <sup>aA</sup> ± 0.04	6.84 <sup>aAB</sup> ± 0.03	6.80 <sup>aB</sup> ± 0.03
UO	6.83 <sup>bA</sup> ± 0.02	6.78 <sup>abB</sup> ± 0.02	6.77 <sup>bcB</sup> ± 0.01	6.71 <sup>bcdC</sup> ± 0.01
UOCo	6.85 <sup>abA</sup> ± 0.00	6.83 <sup>aA</sup> ± 0.05	6.81 <sup>abA</sup> ± 0.02	6.70 <sup>cdB</sup> ± 0.01
UCo	6.87 <sup>aA</sup> ± 0.01	6.83 <sup>aA</sup> ± 0.01	6.66 <sup>dC</sup> ± 0.04	6.74 <sup>bB</sup> ± 0.01

<sup>a-d</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A-C</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

The lipid oxidation levels of peanut butter samples stored in the dark at room temperature during 20 days of storage were determined by TBARS analysis, and the results are presented in Table 6. Significant differences were found among TBARS values of samples at the beginning of storage ( $P < 0.05$ ). On the last day of storage (day 20), however, TBARS values of the emulsified samples (UO, UOCo and UCo) prepared by ultrasonication were considerably higher than those of the other samples ( $P < 0.05$ ). At the end of storage, mold growth was observed in these three emulsion added samples and therefore storage was terminated. The high moisture values of the emulsion added samples and the formation of microbial growth in these samples might trigger lipid oxidation rate. Excluding the samples that the emulsions were

added, TBARS values of the samples decreased at the end of storage compared to the initial values ( $P < 0.05$ ). This might be due to the antioxidant substances found in oils added to peanut butter. El-Rawas et. al., (2012) examined the effects of electron beam irradiation on quality of peanut butter. TBARS values of the non-irradiated sample were 0.98 and 1.61 mg malondialdehyde per kilogram sample on the 2<sup>nd</sup> and 14<sup>th</sup> days of storage respectively.

CIE colour values measured during storage ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) are given in Table 7.  $L^*$  values were lower in the samples (UO, UOCo and UCo) with emulsions prepared by ultrasonication at all storage times (days 0, 6, 13 and 20) ( $P < 0.05$ ). It was observed that, with naked eye, the colour of the emulsified samples was darker than the other

samples. The L\* values obtained by the instrument were compatible with the sensory perceived colour of the samples. Significant differences were found among the samples in terms of redness (a\*) and yellowness (b\*) at all times of storage ( $P < 0.05$ ). El-Rawas et al., (2012) found the L\*, a\* and b\* values of the untreated peanut butter 57.56, 11.22 and 29.50 respectively on the 2<sup>nd</sup> day of the storage. Norazatul Hanim et.

al., (2016) found that increasing grinding time reduced the L\*value of peanut butter. They stated that the void space between the particles decreased by obtaining finer particle size and this increased the absorption of the light. Çiftçi et al., (2008) reported that longer grinding time caused heating which accelerates browning reactions.

Table 6. TBARS values of (mg malondialdehyde/kg sample) peanut butters during storage at room temperature

Sample code	Storage time (day)			
	0	6	13	20
Con	0.30 <sup>aA</sup> ± 0.11	0.25 <sup>aAB</sup> ± 0.07	0.07 <sup>aC</sup> ± 0.01	0.14 <sup>bBC</sup> ± 0.00
O	0.21 <sup>abA</sup> ± 0.02	0.19 <sup>abA</sup> ± 0.00	0.04 <sup>abcB</sup> ± 0.02	0.07 <sup>bcB</sup> ± 0.05
OCo	0.23 <sup>abA</sup> ± 0.04	0.18 <sup>bA</sup> ± 0.00	0.06 <sup>abB</sup> ± 0.02	0.05 <sup>cB</sup> ± 0.01
Co	0.14 <sup>bcB</sup> ± 0.05	0.20 <sup>abA</sup> ± 0.01	0.03 <sup>bcdC</sup> ± 0.01	0.06 <sup>bcC</sup> ± 0.01
UO	0.25 <sup>abAB</sup> ± 0.11	0.15 <sup>bB</sup> ± 0.01	0.01 <sup>dC</sup> ± 0.01	0.34 <sup>aA</sup> ± 0.02
UOCo	0.05 <sup>cC</sup> ± 0.01	0.14 <sup>bB</sup> ± 0.02	0.02 <sup>cdC</sup> ± 0.02	0.37 <sup>aA</sup> ± 0.01
UCo	0.05 <sup>cC</sup> ± 0.01	0.16 <sup>bB</sup> ± 0.02	0.04 <sup>bcdC</sup> ± 0.01	0.38 <sup>aA</sup> ± 0.07

<sup>a-d</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A-C</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 7. Colour values of peanut butters during storage at room temperature

Colour parameter	Day	Sample code						
		Con	O	OCo	Co	UO	UOCo	UCo
L*	0	70.92 <sup>aA</sup>	71.74 <sup>aA</sup>	72.56 <sup>aA</sup>	70.89 <sup>aA</sup>	54.68 <sup>bA</sup>	57.57 <sup>bA</sup>	59.12 <sup>bA</sup>
	6	65.79 <sup>bA</sup>	70.61 <sup>aA</sup>	69.99 <sup>aB</sup>	70.01 <sup>aA</sup>	47.90 <sup>dC</sup>	54.76 <sup>cAB</sup>	55.91 <sup>cBC</sup>
	13	67.82 <sup>aA</sup>	70.75 <sup>aA</sup>	70.05 <sup>aB</sup>	71.18 <sup>aA</sup>	48.60 <sup>bBC</sup>	45.96 <sup>bB</sup>	54.28 <sup>bC</sup>
	20	69.10 <sup>aA</sup>	71.61 <sup>aA</sup>	70.52 <sup>aB</sup>	70.07 <sup>aA</sup>	51.09 <sup>cB</sup>	51.40 <sup>cAB</sup>	56.82 <sup>bB</sup>
a*	0	1.98 <sup>bB</sup>	2.05 <sup>bA</sup>	2.64 <sup>abA</sup>	2.85 <sup>abA</sup>	2.38 <sup>abB</sup>	2.93 <sup>abB</sup>	3.18 <sup>aA</sup>
	6	4.00 <sup>aA</sup>	2.44 <sup>cA</sup>	2.94 <sup>bcA</sup>	2.27 <sup>cdA</sup>	3.32 <sup>abA</sup>	1.58 <sup>deD</sup>	1.27 <sup>cC</sup>
	13	3.70 <sup>aA</sup>	2.54 <sup>cdA</sup>	2.97 <sup>bcA</sup>	2.62 <sup>cdA</sup>	3.46 <sup>abA</sup>	2.30 <sup>dC</sup>	2.34 <sup>dB</sup>
	20	2.05 <sup>cB</sup>	2.17 <sup>cA</sup>	2.87 <sup>abcA</sup>	2.48 <sup>bcA</sup>	3.77 <sup>aA</sup>	3.54 <sup>abA</sup>	3.42 <sup>abA</sup>
b*	0	26.29 <sup>bA</sup>	27.41 <sup>abA</sup>	27.17 <sup>abB</sup>	28.18 <sup>abA</sup>	26.30 <sup>bA</sup>	29.53 <sup>abA</sup>	30.41 <sup>aA</sup>
	6	31.06 <sup>aA</sup>	26.86 <sup>abA</sup>	28.37 <sup>abA</sup>	27.63 <sup>abA</sup>	26.96 <sup>abA</sup>	24.47 <sup>bD</sup>	23.47 <sup>bC</sup>
	13	27.92 <sup>aA</sup>	28.52 <sup>aA</sup>	27.91 <sup>aAB</sup>	27.86 <sup>aA</sup>	26.36 <sup>bA</sup>	25.86 <sup>bC</sup>	26.33 <sup>bB</sup>
	20	25.44 <sup>cA</sup>	27.98 <sup>bA</sup>	27.99 <sup>bAB</sup>	28.31 <sup>bA</sup>	27.12 <sup>bcA</sup>	28.24 <sup>bB</sup>	30.56 <sup>aA</sup>

<sup>a-e</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A-D</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

As the  $L^*$  values of the samples were examined in terms of storage time, Con, O and Co samples showed no change during storage ( $P > 0.05$ ), whereas the  $L^*$  values of OCo sample and emulsified samples (UO, UOCo and UCo) tended to decrease over time ( $P < 0.05$ ). Changes were observed in  $a^*$  values of control and the samples including ultrasonicated oils ( $P < 0.05$ ) over time, while no change was observed in the other samples ( $P > 0.05$ ). When the  $b^*$  values at the beginning of storage were compared with the values at the end of storage, just the  $b^*$  value of UOCo at the end of storage was found to be significantly different from its initial value ( $P < 0.05$ ), but for the other samples, no difference was observed ( $P > 0.05$ ).

As a result, the addition of ultrasonicated emulsions containing orange oil, orange oil-coconut oil mixture and coconut oil into peanut butter reduced the sensitivity to lipid oxidation for about two weeks. However, further study is needed to produce nano-size emulsions, which may lead to more effective results.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors thank to TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey) for the financial support of the project with the Scholarship "2209-A University Students Research Projects Support Program".

#### REFERENCES

- Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A.R., Abbaszadeh, A. (2014). Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *J Mycol Med*, 24(2): e51-e56.
- Anton, A.A., Fulcher, R.G., Arntfield, S.D. (2009). Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chem*, 113: 989-996.
- Anton, N., Vandamme, T.F. (2009). The universality of low-energy nano-emulsification. *Int J Pharm*, 377(1-2): 142-147.
- AOAC. (1990). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 28: 25-30.
- Canselier, J.P., Delmas, H., Wilhelm, A.M., Abismail, B. (2002). Ultrasound emulsification-an overview. *J Dispers Sci Technol*, 23: 333-349.
- Carraeu, P.J., Cotton, F., Citerne, G.P., Moan, M. (2002). Rheological properties of concentrated suspensions: applications in foodstuffs. In: *Engineering and food for the 21st century*, Welti-Chanes, J., Barbosa-Canovas, G.V., Aguilera, J.M. (eds.), CRC Press, New York, pp. 327-345.
- Çiftçi, D., Kahyaoglu, T., Kapucu, S., Kaya, S. (2008). Colloidal stability and rheological properties of sesame paste. *J Food Eng*, 87: 428-435.
- Co, E., Marangoni, A.G. (2012). Organogels: an alternative edible oil- structuring method. *J Am Oil Chem Soc*, 89(5): 749-780.
- Cucheval, A., Chow, R.C.Y. (2008). A study on the emulsification of oil by power ultrasound. *Ultrason Sonochem*, 15: 916-920.
- Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Sci Technol*, 44(9): 1908-1914.
- El-Rawas, A., Hvizdzak, A., Davenport, M., Beamer, S., Jaczynski, J., Matak, K. (2012). Effect of electron beam irradiation on quality indicators of peanut butter over a storage period. *Food Chem*, 133: 212-219.
- Ghasemi, S., Jafari, S.M., Assadpour, E., Khomeiri, M. (2017). Production of pectin-whey protein nano-complexes as carriers of orange peel oil. *Carbohydr Polym*, 177: 369-377.
- Gogate, P.R., Tayal, R.K., Pandit, A.B. (2006). Cavitation: a technology on the horizon. *Curr Sci (Bangalore)*, 91: 35-46.

- Hashtjin, A.M., Abbasi, S. (2015). Nano-emulsification of orange peel essential oil using sonication and native gums. *Food Hydrocoll*, 44: 40-48.
- Huang, Q., Yu, H., Ru, Q. (2010). Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *J Food Sci*, 75(1): R50–R57.
- İlyasoğlu, H., El. S.N. (2010). Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, yapıları ve kolloidal salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. *GIDA*, 35(2): 143-150.
- Jayadas N.H., Nair K.P. (2006). Coconut oil as base oil for industrial lubricants-evaluation and modification of thermal, oxidative and low temperature properties. *Tribol Int*, 39: 873-878.
- Lu, W.-C., Huang, D.-W., Wang, C.-C.R., Yeh, C.-H. Tsai, J.-C. Huang, Y.-T. Li, P-H. (2018). Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. *J Food Drug Anal*, 26: 82-86.
- Martins, P.F., Medeiros, H.H.R., Sbaite, P., Wolf Maciel, M.R. (2013). Enrichment of oxyterpenes from orange oil by short path evaporation. *Sep Purif Technol*, 116: 385-390.
- McClements, D.J. (2011). Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7: 2297-2316.
- McClements, D.J., Decker, E.A., Park, Y., Weiss, J. (2009). Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 49(6): 577-606.
- Mohamed, H.M.H., Mansour, H.A. (2012). Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. *LWT-Food Sci Technol*, 45: 79-87.
- Norazatul Hanim, M.R., Chin, N.L., Yusof, Y.A. (2016). Effects of grinding time on rheological, textural and physical properties of natural peanut butter stored at different temperatures. *J Texture Stud*, 47: 131-141.
- Özogul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Özogul, F., Regenstein, J.M. (2016). Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innov Food Sci Emerg*, 33: 422-430.
- Pengon, S., Chinatangkul, N., Limmatvapirat, C., Limmatvapirat, S. (2018). The effect of surfactant on the physical properties of coconut oil nanoemulsions. *Asian J. Pharm*, 13: 409-414.
- Piorkowski, D.T., McClements, D.J. (2013). Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocoll*, 42: 5-41.
- Ramisetty, K.A., Pandit, A.B., Gogate, P.R. (2015). Ultrasound assisted preparation of emulsion of coconut oil in water: Understanding the effect of operating parameters and comparison of reactor designs. *Chem Eng Process*, 88: 70-77.
- Rodriguez, M.V., Medina, L.M., Jordano, R. (2002). Prolongation of shelf life of sponge cakes using modified atmosphere packaging. *Acta Aliment*, 31: 191-196.
- Sanders III, C.T., DeMasie, C.L., Kerr, W.L., Hargrove, J.L., Pegg, R.B., Swanson, R.B. (2014). Peanut skins-fortified peanut butters: Effects on consumer acceptability and quality characteristics. *LWT-Food Sci Technol*, 59: 222-228.
- Santos, K.A., Filho, O.P.A., Aguiar, C.M., Milinsk, M.C., Sampaio, S.C., Palú, F., Antônio da Silva E., (2017). Chemical composition, antioxidant activity and thermal analysis of oil extracted from favela (*Cnidocolus quercifolius*) seeds. *Ind Crop Prod*, 97: 368-373.
- Sivakumar, M., Tang, S.Y., Tan, K.W. (2014). Cavitation technology – a greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions. *Ultrason Sonochem*, 21: 2069-2083.
- Tan K.W., Tang S.Y., Thomas, R., Vasanthakumari, N., Manickam, S. (2016). Curcumin-loaded sterically stabilized nanodispersion based on non-ionic colloidal

system induced by ultrasound and solvent diffusion-evaporation. *Pure Appl Chem*, 88: 43-60.

Tanti, R., Barbut, S., Marangoni, A.G. (2016). Oil stabilization of natural peanut butter using food grade polymers. *Food Hydrocoll*, 61: 399-408.

Vieira, A.J., Beserra, F.P., Souza, M.C., Totti, B.M., Rozza, A.L. (2018). Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chem-Biol Interact*, 283: 97-106.

Vural, H., Öztan, A. (1996). *Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu*. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 36, Ankara, Turkey, 236 p.



## TİCARİ KEFİRLERİN BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ

Fatma Nur Ünal<sup>1</sup>, Alperen Kalyas<sup>1</sup>, Zeynep Gürbüz-Kaçan<sup>2</sup>,  
Mustafa Şengül<sup>2</sup>, Bayram Ürkek<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Gümüşhane, Türkiye

<sup>2</sup> Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

<sup>3</sup> Gümüşhane Üniversitesi, Şiran Mustafa Beyaz Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gümüşhane, Türkiye

Geliş / Received: 08.02.2020; Kabul / Accepted: 22.05.2020; Online baskı / Published online: 03.06.2020

Ünal, F.N., Kalyas, A., Gürbüz Kaçan, Z., Şengül, M., Ürkek, B. (2020). Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(3) 555-563 doi: 10.15237/gida.GD20026

Ünal, F.N., Kalyas, A., Gürbüz Kaçan, Z., Şengül, M., Ürkek, B. (2020). Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(3) 555-563 doi: 10.15237/gida.GD20026

### ÖZ

Bu çalışmada, piyasada satışa sunulan 6 adet farklı ticari kefir örneği incelenmiştir. Kefir örneklerinin bazı fizikokimyasal (% kurumadde, % yağ, pH, % asitlik, % su bağlama kapasitesi), reolojik (viskozite, kıvam katsayısı, akış davranış indeksi), mikrobiyolojik (laktobasil, laktokok, maya-küf ve koliform bakteri sayıları) ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır. K4 kodlu örnek en yüksek viskozite (50 rpm'de 461.90 cP) ve kıvam katsayısı (K 8.16) değerlerine sahip olduğu ortaya konulmuştur. Diğer taraftan, K5 kodlu örneğin su tutma kapasitesi (%38.75) ve viskozite (100 rpm'de 285.87 cP) değerleri en yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin ortalama laktobasil, laktokok ve maya-küf sayıları sırasıyla 8.15-9.09, 8.39-9.34 ve 4.38-5.37 log kob/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. 6 örneğin hiçbirinde koliform bakteri tespit edilememiştir. Duyusal değerlendirme sonucunda tüm kefir örnekleri değerlendirilen duyuşal karakteristikler açısından panelistler tarafından düşük puanlar almıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kefir, fizikokimyasal özellikler, mikrobiyolojik özellikler, reolojik özellikler

## DETERMINATION OF SOME QUALITY PARAMETERS OF COMMERCIAL KEFIRS

### ABSTRACT

In this study, six different commercial kefir samples obtained from markets were examined. Some physicochemical (% dry matter, % fat, pH, % acidity, % water holding capacity), rheological (viscosity, consistency coefficient, flow behavior index), microbiological (lactobacilli, lactococci, yeast and mould and coliform bacteria counts) and sensory properties of the kefir samples were investigated. The sample coded as K4 had the highest viscosity (461.90 cP at 50 rpm) and consistency coefficient value (K 8.16). Water holding capacity (%38.75) and viscosity (285.87 cP at 100 rpm) values of sample K5 were the highest. The average *lactobacilli*, *lactococci* and yeast and mould counts of kefir samples were between 8.15-9.09, 8.39-9.34 and 4.38-5.37 log CFU/mL, respectively. Coliform bacteria were not detected in the samples. As a result of sensorial evaluation, all samples were scored low in terms of sensorial properties.

**Keywords:** Kefir, physicochemical properties, microbiological properties, rheological properties,

\* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ bayramurkek@gumushane.edu.tr

☎ (+90) 456 233 1000-3600

☎ (+90) 456 233 1009

Fatma Nur Ünal; ORCID no: 0000-0002-0804-9453

Alperen Kalyas; ORCID no: 0000-0002-7483-0029

Zeynep Gürbüz-Kaçan; ORCID no: 0000-0003-4066-0241

Mustafa Şengül ; ORCID no: 0000-0001-8447-2256

Bayram Ürkek; ORCID no: 0000-0002-7909-7364

## GİRİŞ

Viskoz, ferahlatıcı, çok az miktarda alkol ve karbondioksit içeren kefir geleneksel fermente bir süt içeceğidir (Farnworth, 2005). Kefir, yoğurt ve kıymaz gibi fermente süt ürünlerinin besleyici ve terapötik özellikleri bu ürünlere olan ilgiyi arttırmaktadır (Yıldız-Akgül vd., 2018).

Kefirin anlamı “güzel hissettiren” anlamındaki Türkçe “keyif” kelimesinden türemiştir (Yıldız-Akgül vd., 2018). Kefir “kefer”, “kippi”, “kanphon”, “kiaphur” gibi farklı isimlerle de anılmaktadır (Ürkek vd., 2011; Sulmiyati vd., 2019). Kefir içerdiği birçok farklı starter kültür içeriği ile diğer fermente süt ürünlerinden ayrılmaktadır (Yıldız-Akgül vd., 2018). Kefir Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’nde “Fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullanıldığı fermente süt ürününü” şeklinde tanımlanmıştır (Anonim 2009). Kefir fermente asidik bir içecek olup özellikle de Kafkaslarda insan sağlığını yararlı etkileri nedeniyle oldukça fazla tüketilmektedir (Atalar, 2019). Kefir günümüzde sadece Kafkaslar’da değil Avrupa, Asya ve Rusya’da da tüketilmektedir (Delgado-Fernández vd., 2019). Laktik asit bakterileri, mayalar ve asetik asit bakterileri arasındaki simbiyotik ilişki kefirin kendine özgü tat ve aromasının oluşmasında etkilidir (Gul vd., 2018; Atalar, 2019; Delgado-Fernández vd., 2019; Sulmiyati vd., 2019). Kefir doğal bir probiyotik olması ve besleyici içeriği nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Otlas and Cagindi, 2003; Atalar, 2019; Sulmiyati vd., 2019). Kefirin tüketilmesinde sadece zengin besin içeriği değil, aynı zamanda laktoz intoleransı ve bağırsak hastalıklarına karşı koruyucu, (Gul vd., 2018) antimikrobiyal, antioksidatif, antikansorejenik, antihipertansif ve antiinflamatuvar (Ürkek vd., 2011; Delgado-Fernández vd., 2019) özellikleri etkili olmaktadır. Kefirin kalitesi kullanılan sütün çeşidinden (inek, koyun vb), kefir danesinin miktarından, laktik asit bakterilerinin ve mayaların çeşidinden ve

inkübasyon zamanından önemli derecede etkilenmektedir (Sulmiyati vd., 2019). Bunlara ek olarak, üretimde kefir danesi veya starter kullanılması da kefirin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerini etkilemektedir (Dertli and Çon, 2017; Delgado-Fernández vd., 2019; Tomar vd., 2019). Özellikle endüstriyel kefir üretimde maya tadı daha az öne çıkmakta, bununla birlikte geleneksel olarak üretilen kefiirlere göre endüstriyel üretilen kefiirlere daha viskoz bir yapıya sahip olmaktadır (Tomar vd., 2019).

Kefir danelerindeki mikrobiyal farklılık kefir danesinin kaynağından, daneyi üretme metodlarından, sanitasyon şartlarından ve koruma tekniklerinden kaynaklanmaktadır. Bu farklılıklar standart kefir üretiminde problemlere neden olmaktadır (Gul vd., 2018). Geleneksel üretimde kullanılan kefir danesi sahip olduğu farklı mikrobiyal içerikle kefirin kendine özgü tat-aromasının (Dertli and Çon, 2017) ve biyoaktif bileşiklerin oluşmasında önemli bir yere sahiptir. Liyofilize kefir kültürü endüstriyel üretimde standart bir ürün elde etmek için kullanılmaktadır. İnek sütü endüstriyel üretimde en çok tercih edilen süttür. Fakat diğer süt çeşitleri (koyun, keçi ve soya sütü gibi) de kullanılmaktadır. Ticari olarak üretilen kefirin lezzet, aroma ve ağızda bıraktığı his özellikleri bakımından kabul edilebilir düzeyde olması sağlanmalıdır (Gul vd., 2018). Ticari kefiirlere göre daha düşük olabilir. Bunun sebebi ise ticari kefiirlere göre geleneksel kefiirlere olan bazı bakteri ve mayaların bulunmamasıdır (Tomar vd., 2019).

Bu çalışmada, endüstriyel üretilen ticari kefiirlere bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik, reolojik ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca ticari kefiirlere arasındaki bazı özellikler bakımından farklılıklar da ortaya konulmuştur.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada ticari olarak piyasada satılan 6 farklı firmaya ait kefir örnekleri çeşitli marketlerden alınarak soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırılmıştır. Tüm kefir örnekleri inek sütünden üretilmiş olup, meyve gibi katkıları içermeyen sade

kefirlerden toplanmıştır. Kefirler rastgele K1, K2, K3, K4, K5 ve K6 şeklinde kodlanmıştır.

## Yöntem

### Fizikokimyasal Analizler

Kefir örneklerinin kurumadde oranı % olarak gravimetrik yöntemle, asitlik değerleri titrasyon yöntemi ile % laktik asit olarak belirlenmiştir (Demirci and Gündüz, 2004). pH değerleri birleşik elektrotlu pH metre (WTW 3110) ile tespit edilmiştir. Yağ değerlerinin belirlenmesinde Gerber metodu kullanılmıştır (Metin, 2009).

Kefir örneklerinin su tutma kapasiteleri (STK), Bensmira and Jiang (2012) tarafından verilen metot modifiye edilerek tespit edilmiştir. Bunun için 10 gr kefir örnekleri falkon tüplerine tartılmıştır. Örnek koyulan tüpler 2750g'de (Nüve NF 200, Ankara) 4 °C'de 30 dak satrifişlenmiştir (Bensmira and Jiang, 2012). Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$STK = \left(1 - \frac{W_1}{W_2}\right) \times 100$$

W1= Santrifişlemeden sonra kefirde ayrılan serumun ağırlığı

W2= Kefirden tartılan örnek miktarı.

### Viskozite ve Reolojik Analizler

Kefir örneklerinin viskozite ölçümleri için Brookfield Viscometer Model DV-II cihazı kullanılmıştır. Ölçümler için 4 nolu başlık kullanılmış, 30 sn rotasyon yapıldıktan sonra değerler cP olarak verilmiştir. Reolojik değerleri Steffe (1967) tarafından verilen "Power Law Modeli" kullanılarak belirlenmiştir. Bu modele göre değerler belirlenirken aşağıdaki formülden faydalanılmıştır. Formülde ifade edilen  $\eta$  ile görünür viskozite (Pa.s),  $K$  ile kıvam indeksi,  $\gamma$  ile kayma hızı (rpm) ve  $n$  ile akış davranış indeksi ifade edilmiştir.

$$\eta = K\gamma^{(n-1)}$$

### Mikrobiyolojik Analizler

Kefir örnekleri (10 mL) 90 mL %0.85'lik steril NaCl çözeltisinde seyreltilmiştir. Stomacher cihazında (Interscience-Bagmixer 400 P, St Nom, Fransa) homojenize edilen kefir örneklerinden seri dilüsyonlar oluşturulmuştur. Laktobasil sayıları anaerobik şartlarda 30 °C'de de 3 gün

inkübe edilen MRS agarda oluşan koloniler sayılarak belirlenmiştir. Kefir örneklerinin laktokok sayıları M17 agar kullanılarak anaerobik şartlarda 30 °C'de de 3 gün inkübasyon sonrasında oluşan koloniler sayılarak belirlenmiştir. Koliform bakteri sayıları Violet Red Bile Agar (VRBA) ile belirlenmiştir. Besiyerleri 37 °C'de 2 gün inkübasyon sonrasında oluşan koloniler sayılarak tespit edilmiştir. Maya küf sayısı %10'luk steril tartarık asitten 14 mg/L ilave edilen Patato Dekstroz Agar (PDA)'da 25 °C'de 5 gün inkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayılarak belirlenmiştir (Irigoyen vd., 2005). Analiz sonuçları log kob/mL olarak verilmiştir.

### Duyusal Analizler

Kefir örneklerinin belirlenmesinde eğitilmemiş panelistlerden oluşan 30 kişilik bir grup kullanılmıştır. Panelistler 20-40 yaş aralığında 17 kadın 13 erkekten oluşmuştur. Panelistler örnekleri 1 ile 9 puan arasında değerlendirmiş ve 1: Asla beğenmedim, 2: Beğenmedim, 3: Orta düzeyde beğenmedim, 4: Hafif beğenmedim, 5: Ne beğendim ne beğenmedim, 6: Orta düzeyde beğendim, 7: Az beğendim, 8: Beğendim, 9: Çok beğendim olarak kabul edilmiştir (Meilgaard vd., 1999). Örnekler kıvam, asitlik, tat, koku, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik gibi özellikler bakımından değerlendirilmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Kefir Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

Kefir örneklerinin bazı fizikokimyasal ve reolojik özelliklerine ait değerler Çizelge 1'de verilmiştir. Kefir örneklerinde en yüksek kurumadde değeri K6 kodlu örnekte %10.68 olarak en düşük ise K5 kodlu örnekte %8.71 olarak belirlenmiştir. Ortalama kurumadde ise %9.67 olup K1, K2 ve K5 nolu örneklerin kurumadde değerlerinin ortalamasının altında olduğu tespit edilmiştir. Çetinkaya and Mus (2012), Bursa'da satılan kefirlerin en düşük, en yüksek ve ortalama kurumadde değerlerini sırasıyla %8, %16.5 ve %11.3 olarak bulmuşlardır. Hecer vd. (2019) farklı sıcaklık derecelerinde fermente ettiği kefir örneklerinin kurumadde değerlerini %11.00 ile %11.60 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Uslu (2010) tarafından Ankara'da marketlerde satılan sade kefirlerin kurumadde değerlerini %11.29-



14.01 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Çetinkaya and Mus (2012), Hecer vd. (2019) ve Irigoyen vd. (2005) tarafından bulunan kurumadde değerlerinin bizim bulduğumuz değerlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinin pH değerleri 4.26 ile 4.37 arasında değişen değerler aldığı belirlenmiştir (Çizelge 1). Kefir örneklerinde en düşük asitlik değeri (%0.67) K5 kodlu örnekte en yüksek (%0.88) ise K1 ve K3 kodlu örneklerde tespit edilmiştir (Çizelge 1). Çetinkaya and Mus (2012), Bursa'da marketlerden topladıkları kefirlerin pH değerlerini 3.9 ile 4.7 arasında değiştiğini ortalamasının ise 4.30 olduğunu, asitlik değerlerinin ise %0.7 ile 1.4 arasında ve ortalama %0.8 olduğunu belirlemişlerdir. Hecer vd. (2019) farklı fermantasyon sıcaklıkları uygulayarak ürettiği kefirlerin pH değerlerinin 3.90 ile 5.65 arasında bulmuşlardır. Goncu vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada bir kısmına elma ve

limon lifi ilave ederek, bir kısmına da hiçbir şey ilave etmeden ürettikleri kefirleri 20 gün boyunca depolamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda kontrol örneğinin pH değerlerinin depolama süresince 4.48 ile 4.65 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada bulunan ortalama değer, Çetinkaya and Mus (2012) tarafından bulunan ortalama değerden biraz yüksek, Hecer vd. (2019) ve Goncu vd. (2017) tarafından bulunan değerlerin üst değerlerinden düşük olduğu belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğine (Anonim, 2009) göre kefir en az %0.60 asitlik değerine sahip olmalıdır. Buna göre tüm kefir örneklerinin asitlik değerlerinin tebliğ ile uyumlu olduğu ortaya konulmuştur. Fermente ürünlerde pH ve asitlik değerleri üzerinde fermantasyon sürecinin etkili olduğu ifade edilmektedir (Nielsen vd., 2014). Bu çalışmada örnekler arasında farklılıklar üzerinde ürünler arasındaki mikroorganizma sayılarındaki farklılıkların neden olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 1. Kefir örneklerinin bazı fizikokimyasal ve reolojik özellikleri  
Table 1. Some physicochemical and rheological properties

Kefir örnekleri <i>Kefir samples</i>	Kurumadde (%) <i>Dry matter (%)</i>	pH	Asitlik (%) laktik asit <i>Acidity (% lactic acid)</i>	Yağ (%) <i>Fat (%)</i>	Su tutma kapasitesi (%) <i>Water holding capacity (%)</i>	K (Pa sn)	<i>n</i>	R <sup>2</sup>
K1	9.38	4.26	0.88	1.30	30.25	2.89	0.37	0.9994
K2	8.96	4.33	0.83	2.10	31.25	1.30	0.44	0.9995
K3	10.13	4.36	0.88	0.55	38.00	4.82	0.32	0.9934
K4	10.16	4.33	0.80	0.95	33.10	8.16	0.26	0.9965
K5	8.71	4.37	0.67	0.90	38.75	6.06	0.33	0.9998
K6	10.68	4.33	0.84	2.90	29.45	2.10	0.45	0.9999
En düşük <i>The lowest</i>	8.71	4.26	0.67	0.55	29.45	1.24	0.27	
En Yüksek <i>The highest</i>	10.68	4.37	0.88	2.90	38.75	8.19	0.44	
Ortalama <i>Average</i>	9.67	4.33	0.82	1.45	33.47	4.25	0.36	
Standart sapma <i>Standard deviation</i>	0.77	0.04	0.08	0.88	4.00	2.62	0.07	

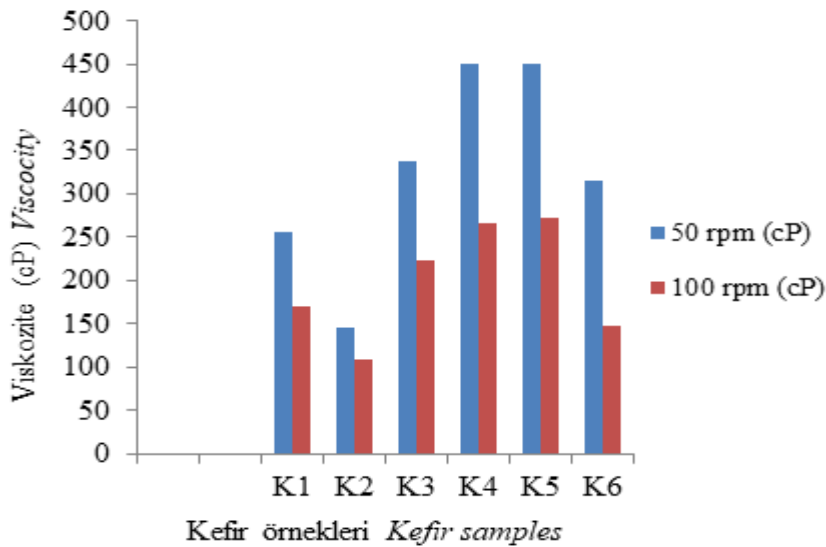
cP: centi-poise, K: Kıvam katsayısı, *n*: Akış davranış indeksi, *cP*: centi-poise, *K*: consistency coefficient, *n*: Flow behavior index

Kefir örneklerinin yağ değerleri Çizelge 1’de gösterilmiştir. En düşük yağ değeri %0.55 ile K3 örneğinde en yüksek ise %2.90 ile K6 kodlu örnekte belirlenmiştir. Tomar vd. (2019), inek ve manda sütünden kefir üretmişler, inek sütünden üretilen kefirin yağ oranını %3.04 ve manda sütünden üretilen kefirin yağ oranını ise %3.05 olarak belirlemişlerdir. Çetinkaya and Mus (2012), ticari kefirlerin en düşük, en yüksek ve ortalama yağ oranlarını sırasıyla %0.3, %4.5 ve %2.3 olarak bulmuşlardır. Uslu (2010) Ankara’da marketlerde satılan sade kefirlerin yağ değerlerini en düşük %1.95, en yüksek %3.12 ve ortalama %2.67 olarak tespit etmiştir.

Su tutma kapasitesi kefir örneklerinde %29.45 ile %38.75 arasında değiştiği, ortalama değerinin ise %33.47 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). K5 kodlu örnek en yüksek su tutma kapasitesine sahip iken en düşük K6 kodlu örneğin sahip olduğu belirlenmiştir. Atalar (2019), farklı oranlarda fındık sütü karıştırılmış süttan elde edilen kefirlerin su tutma kapasitelerinin %18.55-38.71 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Goncu vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada elma ve limon lifi ilave edilmeden üretilen kefirlerin su tutmam kapasitelerinin depolama süresince %35.73-38.76 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Gul vd.

(2018), manda sütünden kefir danesi ve starter kültür ile ürettikleri kefir örneklerinin su tutma kapasitelerini %42.61 ile %77.35 arasında bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan ortalama su tutma kapasitesi değerinin Goncu vd. (2017) ve Gul vd. (2018) tarafından bulunan değerlerden düşük, Atalar (2019) tarafından bulunan değerlerin bir kısmından yüksek bir kısmından düşük olduğu belirlenmiştir.

Kefir örneklerinin 50 rpm’deki ortalama viskozite değeri 318.46 cP iken 100 rpm’deki ortalama değer 196.36 cP olarak bulunmuştur. En yüksek viskozite değerine 50 rpm’de K4 kodlu örnek sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Örnekler arasında 100 rpm de en yüksek viskozite değeri K5 kodlu örneğin sahip olduğu belirlenmiştir. Irigoyen vd. (2005), farklı oranlarda kefir danesi ilave ederek ürettikleri kefirleri 28 gün depolamışlar ve depolama süresince örneklerin 100 rpm’deki viskozite değerlerinin %1 kefir danesi ilave edilen örneklerde 179 ile 425 cP arasında, %5 ilave edilenlerde ise 296 ile 501 cP değiştiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tarafından bulunan değerler bu çalışmada bulunan 100 rpm’deki viskozite değerlerinden daha yüksektir.



Şekil 1. Kefir örneklerinin 50 ve 100 rpm’deki viskozite değerleri

Figure 1. Viscosity values at 50 and 100 rpm of kefir samples

Power law modelinde kıvam katsayısı ( $K$ ) ve akış davranış indeksi ( $n$ ) olmak üzere iki parametre bulunmakta olup akışkan gıdaları karakterize etmekte kullanılmaktadırlar.  $K$  değeri gıdalarda kıvam indeksine olarak başvurulurken,  $n$  değeri ise Newtonyen akışa yakınlığını göstermektedir (Rao, 2014). Kefir örneklerinde en düşük  $K$  değerinin K2 kodlu örnekte, en yüksek K4 kodlu örnekte bulunmuştur (Çizelge 1). Akışkanların  $n=1$  ise Newtonyen,  $n >1$  ise dilitant,  $0 < n < 1$  ise psödoplastik davranış göstermektedirler (Steffe, 1967; Rao, 2014). Tüm kefir örneklerinin  $n$  değerleri 0.26-0.45 arasında belirlenmiştir. Buna göre tüm kefir örnekleri psödoplastik akış gösterdiği ortaya konulmuştur. Gul vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada manda ve inek sütünden üretilen kefirlerin  $K$  değerlerinin 2.947 ile 9.014 arasında,  $n$  değerlerinin ise 0.332-0.412 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır.

### Kefir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Kefir örneklerine ait mikrobiyolojik özellikler Çizelge 2'de verilmiştir. Kefir örneklerinin

laktobasil sayıları 8.15 ile 9.09 log kob/mL arasında değiştiği ve ortalama değerinin 8.47 log kob/mL olduğu belirlenmiştir. En yüksek laktobasil sayısı K2, en düşük ise K1 kodlu örnekte tespit edilmiştir. Çetinkaya and Mus (2012), Bursa'da satılan ticari kefirlerin laktobasil sayılarının 1 log kob/mL ile 8.77 log kob/mL arasında değiştiğini, ortalama değerini 7.56 log kob/mL olarak bulmuşlardır. Öner vd. (2010), inek, koyun ve keçi sütü ile kefir danesi ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerin laktobasil sayılarının 7.406 log kob/mL ile 8.822 log kob/mL arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Hecer vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, farklı fermantasyon sıcaklığı uygulanan kefirlerin laktobasil sayılarının 4.45-7.54 log kob/mL aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada bulunan değerler Çetinkaya and Mus (2012) ve Hecer vd. (2019) tarafından bulunan değerlerden yüksek, Öner vd. (2010) tarafından bulunan değerler ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 2. Kefir örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/mL)  
Table 2. Microbiological properties of kefir samples (log CFU/mL)

Kefir örnekleri <i>Kefir samples</i>	Laktobasil sayısı <i>Lactobacil count</i>	Laktokok sayısı <i>Lactococ count</i>	Maya-küf sayısı <i>Mould-yeast count</i>	Koliform bakteri sayısı <i>Coliform bacteria count</i>
K1	8.15	8.70	5.04	ND
K2	9.09	8.84	5.37	ND
K3	8.39	8.77	4.97	ND
K4	8.30	8.39	5.08	ND
K5	8.39	8.65	4.38	ND
K6	8.48	9.34	4.62	ND
En düşük <i>The lowest</i>	8.15	8.39	4.38	
En Yüksek <i>The highest</i>	9.09	9.34	5.37	
Ortalama <i>Average</i>	8.47	8.78	4.91	
Standart sapma <i>Standard deviation</i>	0.32	0.31	0.35	

ND: Tespit edilemedi, ND: Not detected

Örneklerin en düşük, en yüksek ve ortalama laktokok sayıları sırasıyla 8.39 log kob/mL, 9.34 log kob/mL ve 8.78 log kob/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). En düşük K4 kodlu örnekte en yüksek ise K6 koldu örnekte belirlenmiştir. Harmankaya vd. (2019) sade, muz, çilek ve şeftali içerikli kefirler üretmişler, sade kefirlerin laktokok sayılarının 14 günlük depolama süresince 6.681 log kob/mL ile 9.079 log kob/mL arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Çetinkaya and Mus (2012), kefir örneklerinin laktokok sayılarını en düşük 5 log kob/mL, en yüksek 8.80 log kob/mL ve ortalama 8.26 log kob/mL olarak bulmuşlardır. Irigoyen vd. (2005), yaptığı çalışmada kefir örneklerinin ortalama laktokok sayısını 8 log kob/mL olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen ortalama laktokok sayılarının Çetinkaya and Mus (2012) ve Irigoyen vd. (2005) tarafından bildirilen değerlerden daha yüksek değerler sahip olduğu ortaya konulmuştur. Tebliğe göre (Anonim, 2009), kefir en az 7 log kob/mL spesifik mikroorganizma içermelidir. Tüm kefir örnekleri hem laktobasil hem de laktokok sayıları bakımından tebliğe uygun olduğu, tebliğde verilen değerlerden daha yüksek mikroorganizma sayılarına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinde maya-küf sayısı olarak sadece maya tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin ortalama maya-küf sayısı 4.91 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Öner vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, inek sütünden kefir danesi ile ürettiği kefirlerin maya-küf sayılarının 15 günlük depolama süresince 4.698 ile 5.342 log kob/mL arasında iken, starter kültür ile üretilenlerde 6.372 ile 6.658 log kob/mL arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çetinkaya and Mus (2012) yaptıkları çalışmada, ortalama maya-küf sayısını 6.89 log kob/mL, Irigoyen vd. (2005) ise ortalama sayıyı 5 log kob/mL olarak bulmuşlardır. Uslu (2010) Anakara piyasasında satılan kefirlerin en yüksek, en düşük ve ortalama maya küf sayılarını sırasıyla 6.43, 6.90 ve 6.70 log kob/mL belirlemiştir. Bu çalışmalarda araştırmacılar tarafından bulunan değerlerin genel olarak bizim çalışmamızda bulduğumuz değerlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde kefirlerin maya-küf sayılarının en az 4 log kob/mL olması

istenilmektedir. Tüm kefir örneklerinin maya-küf sayıları tebliğe uygun olduğu ortaya konulmuştur.

Kefir örneklerinde koliform bakteri tespit edilmemiş olup, tüm örneklerin tebliğe uygun olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Öner vd. (2009) yaptıkları çalışmada, kefir örneklerinde koliform bakteri tespit etmemişlerdir. Kalkan (2019) yaptığı çalışmada, mikroenkapsüle *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* ilave ederek ürettiği kefir örneklerinde koliform bakteri tespit edememişlerdir.

### Kefir Örneklerinin Duyusal Özellikleri

Kefir örnekleri 30 farklı tüketici tarafından değerlendirilmiş olup, panelistler tarafından verilen puanlar Çizelge 3'te gösterilmiştir. Tüm duyusal özellikler bakımından en çok beğenilen kefir örneğinin K4 kodlu örneğin olduğu belirlenmiştir. Kıvam, asitlik, tat ve genel kabul edilebilirlik özellikleri bakımında en az beğenilen örneğin K3, koku ve ağızda bıraktığı his bakımından ise en düşük puanları K6 kodlu örneğin aldığı tespit edilmiştir. Genel olarak tüm duyusal özellikler 9 puan değerlendirilmesine karşın kefir örneklerinin aldığı puanların ortalama değerlerin altında olduğu ortaya konulmuştur. Özellikle genel kabul edilebilirlik açısından kefir örneklerinin genel olarak 5 puanın altında alması halen genel olarak kefirlerin halk tarafından damak tadı olarak tam benimsenemediğini göstermektedir. Yapılan bazı anket çalışmalarında araştırmaya katılanların büyük çoğunluğunun (%84.7) kefir tüketmediğini ve büyük bir kısmının (%52) ise kefirin sağlığa faydaları hakkında herhangi bir bilgiye sahip olmadığı belirlenmiştir (Tarakçı vd., 2015).

### SONUÇ

Bu çalışmada, ulusal olarak satılan kefirlerin bazı fizyokimyasal, reolojik, mikrobiyolojik ve duyusal özelliklerinin incelenerek, örneklerin kalite özellikleri belirlenmiştir. Tüm kefir örneklerinin asitlik değerlerinin, laktobasil, laktokok ve maya-küf sayılarının Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilen değerlere uygun olduğu belirlenmiştir. Hiçbir kefir örneğinde koliform bakteri belirlenmemiştir. Kefir örnekleri arasında kurumadde, yağ, viskozite (50 ve 100 rpm), K

değerleri bakımından farklılıklar tespit edilmiştir. Duyusal özellikler bakımından hemen hemen tüm kefir örnekleri oldukça düşük puanlar almışlardır. Sonuç olarak kefirin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler bakımından tebliğe uygun olmasına karşın, tebliğde kurumadde ve yağ değerlerinin bir

alt sınırı olması daha standart bir üretim sağlayabilir. Buna ek olarak kefirin faydaları hakkında bilinçlendirmeye ve kefir tüketimini artırılmasına yönelik çalışmalar yapılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Çizelge 3. Kefir örneklerinin duyusal özellikleri

Table 3. Sensorial properties of kefir samples

Kefir örnekleri <i>Kefir samples</i>	Kıvam <i>Consistency</i>	Asitlik <i>Acidity</i>	Tat	Koku	Ağızda Bıraktığı His	Genel Kabul Edilebilirlik
K1	5.29	4.71	4.00	4.07	3.75	4.30
K2	4.64	4.39	3.57	3.61	3.46	4.26
K3	4.11	3.36	3.07	3.68	3.36	3.89
K4	6.04	5.32	5.39	5.68	5.36	5.70
K5	5.04	4.61	4.93	5.00	4.68	4.81
K6	4.57	3.82	3.43	3.18	3.25	3.96
En düşük <i>The lowest</i>	4.11	3.36	3.07	3.18	3.25	3.89
En Yüksek <i>The highest</i>	6.04	5.32	5.39	5.68	5.36	5.70
Ortalama <i>Average</i>	4.95	4.37	4.07	4.20	3.98	4.49
Standart sapma <i>Standard deviation</i>	0.67	0.69	0.91	0.95	0.85	0.68

## KAYNAKLAR

Anonim. (2009). *Fermente Süt Ürünleri Tebliğ (Tebliğ No: 2009/25)*.

Atalar, I. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *Lwt- Food Sci Technol*, 107: 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.013>

Bensmira, M., Jiang, B. (2012). Effect of some operating variables on the microstructure and physical properties of a novel Kefir formulation. *J Food Eng*, 108(4): 579–584. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.07.025>

Çetinkaya, F., Mus, T. E. (2012). Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59: 217–221. [https://doi.org/10.1501/vetfak\\_0000002528](https://doi.org/10.1501/vetfak_0000002528)

Delgado-Fernández, P., Corzo, N., Lizasoain, S., Olano, A., Moreno, F. J. (2019). Fermentative

properties of starter culture during manufacture of kefir with new prebiotics derived from lactulose. *Int Dairy J*, 93: 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.014>

Demirci, M., Gündüz, H. H. (2004). *Süt Teknoloğünün El Kitabı*. İstanbul: Turkey: Hasad Yayınları..

Dertli, E., Çon, A. H. (2017). Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT - Food Sci Technol*, 85: 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.017>

Farnworth, E. R. (2005). Kefir - a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2(1), 1–17. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.13938>

Goncu, B., Celikel, A., Guler-Akin, MB., Akin, MS. (2017). Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber doi: *Mljekarstvo*

- 67:208–216. doi: 10.15567/mljekarstvo.2017.0305
- Gul, O., Atalar, I., Mortas, M., Dervisoglu, M. (2018). Rheological, textural, colour and sensorial properties of kefir produced with buffalo milk using kefir grains and starter culture: A comparison with cows' milk kefir. *Int J Dairy Technol*, 71(March): 73–80. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12503>
- Harmankaya, S., Gülbaz, G., Kamber, U. (2019). Microbiological, chemical and sensory characteristics of kefir prepared with various fruit additives. *Van Veterinary Journal*, 30(1): 13–18.
- Hecer, C., Ulusoy, B., Kaynarca, D. (2019). Effect of different fermentation conditions on composition of kefir microbiota. *Int Food Res J* 26:401–409
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibáñez, F. C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chem*, 90(4): 613–620. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.021>
- Kalkan, S. (2019). Mikroenkapsüle *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* kullanılarak üretilen kefirin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. *İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1): 572–580. <https://doi.org/10.21597/jist.435476>
- Meilgaard, M. C., Carr, B. T., Civille, G. V. (1999). Sensory Evaluation Techniques. In *Boca Raton, FL: CRC Pres, Inc.* (3rd ed.). <https://doi.org/10.1017/S1431927611002686>
- Metin, M. (2009). *Süt ve Mamulleri Analiz Yöntemleri*. İzmir, Turkey: EÜ, Ege Meslek Yüksekokulu Yay. No: 24.
- Nielsen, B., Gürakan, G. C., Ünlü, G. (2014). Kefir: A multifaceted fermented dairy product. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6(3–4): 123–135. <https://doi.org/10.1007/s12602-014-9168-0>
- Öner, Z., Karahan, A. G., Çakmakçı, M. L. (2010). Effects of different milk types and starter cultures on kefir. *Gıda*, 35(3): 177–182.
- Otles, S., Cagindi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2): 54–59.
- Rao, M. A. (1999). *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications* (3th ed.), Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Steffe, J. F. (1967). *Rheological Methods in Food Process Engineering* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4832-3245-4.50016-9>
- Sulmiyati, Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., Maruddin, F. (2019). The physicochemical, microbiology, and sensory characteristics of kefir goat milk with different levels of kefir grain. *Tropical Animal Science Journal*, 42(2): 152–158. <https://doi.org/10.5398/tasj.2019.42.2.152>
- Tarakçı, Z., Karaağaç, M., Çelik, Ö. F. (2015). Araştırma Ordu il merkezindeki tüketicilerin fermente süt ürünleri tüketim alışkanlıkları. *Akademik Ziraat Dergisi*, 4(2): 71–80.
- Tomar, O., Akarca, G., Çağlar, A., Beykaya, M., Gök, V. (2019). The effects of kefir grain and starter culture on kefir produced from cow and buffalo milk during storage periods. *Food Sci Technol (N Y)*, 2061: 3–9. <https://doi.org/10.1590/fst.39418>
- Uslu, G. (2010). Ankara piyasasında satılan kefirlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine bir araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 70 s.
- Ürkek, B., Erkaya, T., Şengül, M. (2011). Kefir: Bileşimi, üretimi, probiyotik ve terapötik özellikleri. *Akademik Gıda*, 9(5): 60–66.
- Yıldız-Akgül, F., Yetişemiyen, A., Şenel, E., Yıldırım, Z. (2018). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir produced by secondary fermentation. *Mljekarstvo*, 68(3): 201–213. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0305>

## SOME CHARACTERISTICS OF “KATIK KEŞ” A TRADITIONAL TURKISH DAIRY PRODUCT

Hayri Coşkun, Ercan Sarıca\*, Büşranur Büyüktanır, Nizamettin Baş,  
Emine Tanrıku, Kübra Nur Bıçak, Cansu Güzel, Burcu Emecen

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

Received / Geliş: 27.02.2020; Accepted / Kabul: 04.06.2020 Published online / Online baskı: 11.06.2020

Coşkun, H., Sarıca, E., Büyüktanır, B., Baş, N., Tanrıku, E., Bıçak, K.N., Güzel, C., Emecen, B. (2020). Some characteristics of “Katik Keş” a traditional Turkish dairy product. GIDA (2020) 45(3) 564-571 doi: 10.15237/gida.GD20033

Coşkun, H., Sarıca, E., Büyüktanır, B., Baş, N., Tanrıku, E., Bıçak, K.N., Güzel, C., Emecen, B. (2020). Geleneksel bir ürünümüz olan Katik Keşinin bazı özellikleri. GIDA (2020) 45(3) 564-571 doi: 10.15237/gida.GD20033

### ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine some chemical, microbiological and sensorial properties of Katik Keş samples produced and sold in local bazaars in Bolu. Totally 15 “Katik Keş” samples were collected and analyzed. According to the results obtained; mean dry matter, fat, protein, total ash, salt, acidity and pH of the samples were found as 67.05 %, 8.78 %, 36.59 %, 11.11 %, 5.20 %, 1.35 % and 3.90, respectively. The numbers of yeasts & molds and coliforms of the samples were 5.98 and 3.36 log CFU/g, respectively. Mean water activity value was obtained as 0.76. In terms of sensorial properties, the samples were found mostly in shape of symmetric cone, hard in structure, porcelain white color, salty, acidic and having strained yogurt smell.

**Key words:** Katik Keş, kurut, cheese, traditional product

## GELENEKSEL BİR ÜRÜNÜMÜZ OLAN KATIK KEŞİNİN BAZI ÖZELLİKLERİ

### ÖZ

Bu çalışmada, Bolu'daki yerel pazarlarda üretilen ve satılan Katik Keş örneklerinin bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam 15 Katik Keş örneği toplanmış ve analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; örneklerin ortalama kuru madde, yağ, protein, toplam kül, tuz, asitlik ve pH değerleri sırasıyla % 67.05, % 8.78, % 36.59, % 11.11, % 5.20, % 1.35 ve 3.90 şeklinde tespit edilmiştir. Örneklerin maya-küf ve koliform mikroorganizma sayıları sırasıyla 5.98 ve 3.36 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Keş örneklerinin ortalama su aktivite değeri 0.76 olarak bulunmuştur. Örneklerin duyuşal özellikleri bakımından; çoğunlukla simetrik koni şeklinde, sert yapıda, porselen beyaz renkte, tuzlu ve asidik tatta, süzme yoğurt kokusuna sahip oldukları saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Katik Keş, kurut, peynir, geleneksel ürün

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ ercansarıca@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000-4839

☎ (+90) 374 253 4558

Hayri Coşkun; ORCID no:0000-0001-9813-0046

Ercan Sarıca; ORCID no:0000-0002-8269-9403

Büşranur Büyüktanır; ORCID no:0000-0003-1740-4039

Nizamettin Baş; ORCID no:0000-0003-0362-1614

Emine Tanrıku; ORCID no:0000-0001-7890-4251

Kübra Nur Bıçak; ORCID no:0000-0002-9399-327X

Cansu Güzel; ORCID no:0000-0001-8337-2667

Burcu Emecen; ORCID no:0000-0002-6446-7318

## INTRODUCTION

“Kurut” or “Keş” is known as a traditional Turkish dairy product produced and consumed in Middle Asia and in Anatolia for centuries. Kaşgarlı Mahmud, lived between years of 1008-1105, explained the word “qurut” as dry cheese or “çökelek” produced from non-fat milk or from “ayran”, so the word “kurut” comes from the root of drying in Turkish language (Erdi and Yurtsever, 2005). Kurut is obtained from yogurt by removing its serum and then by drying in the air. The Kurut has the same meaning as “Keş”. In Turkey, there are many kinds of Kurut or Keş whose properties vary according to region, producer and consumer preference. Some examples of them are the Keş for macaroni, the Keş for frying, the Keş eaten with bread (Coskun et al., 2008), Fresh Keş, Yellow Keş, Dry Keş, Skin Keş, Gök (mouldy) Keş (Kalender and Güzeler, 2013), Kars creamy Kurut, Hatay style spicy Sürük, Bitlis Kurut and Giresun Keş (Ünsal, 2007). This dairy product is known as Kashk in Iran, Kishk in Lebanon, Jub-Jub in Syria and Kuşuk in Iraq. Kurut is also a dairy product widely produced by the Kyrgyz, Kazakh, Tatar and Uzbek Turks and consumed in Central Asia (Soltani and Güzeler, 2013). All varieties may have their own properties and different usage area, but they are mostly similar product. The presence of many Keş varieties in our country shows our cultural richness in terms of cheese production and consumption.

Some characteristics of Kurut or Keş varieties were studied by many researchers. First, Eralp (1953) reported some chemical properties of Kurut as dry matter 80.03 %, fat 11.07 %, protein 52.35 %, salt 9.11 %, ash 4.80 and acidity 21.2 SH.

Akyüz and Gülümser (1987) reported the contents of dry matter, fat, ash, salt, protein and acidity of Kurut samples as 79.69 %, 10.58 %, 11.06 %, 9.66 %, 52.89 % and 59.75 SH respectively. They also reported total microorganisms as 3.93 log CFU/g, yeasts and molds as 3.70 log CFU/g and no coliform was found in the samples.

Akyüz et al. (1993) analyzed the chemical and microbiological properties of Kurut samples collected from Van city and found that Kurut samples had dry matter as 85.51 %, fat 8.52 %, protein 54.64 %, acidity 1.18 %, total bacteria count 4.15 log CFU/g and yeasts-molds count 3.15 log CFU/g.

Tarakcı et al. (2001) found dry matter as 60.69-78.40 %, moisture 21.60-39.31 %, fat 4.5-23.5%, protein 31.22-50.68 %, total mineral content 4.36-14.23 %, salt 2.84-13.19 %, titratable acidity 1.49-3.26 % and pH 3.37-4.24 in Kurut samples collected from Ordu province.

Coşkun et al. (2008) analyzed Keş samples for macaroni from Bolu province and reported dry matter as 57.35 %, fat 7.50 %, acidity 0.31 %, pH 3.68 and  $a_w$  0.75. They also reported the number of total live bacteria, yeasts and molds, *Lactobacilli*, *Streptococci*, coliforms and *Escherichia coli* as 5.37, 5.37, 4.50, 5.25, 3.31 and 3.55 log CFU/g, respectively.

Kalender and Güzeler (2013) reported chemical properties of fresh Keş as the following: Dry matter 34.96 %, fat 3 %, protein 27.18 %, salt 0.93 %, acidity 2.68 %, pH 3.54. For yellow Keş, they reported dry matter as 57.37 %, fat 8.70 %, protein 29.80 %, salt 4.70 %, acidity 1.87 % and pH 4.65; for dry Keş, the values were 89.58 %, 4.40 %, 73.44 %, 2.54 %, 6.03 %, 4.56 respectively.

The production parameters of Keş for frying and Keş for macaroni were optimized by Emirmustafaoğlu and Coşkun (2017a,b) and Yaman and Coşkun (2017), respectively. Emirmustafaoğlu and Coşkun (2017a,b) also patented their study as “A new method for production of Keş for frying” with number TR 2016 08793 B. The production parameters of both products are ready for industrial production when requested.

Mollabashı and Aydemir Atasever (2018) found moisture amount as 19.56 %, fat as 12.53 %, protein as 50.74 % ash as 11.47 %, salt as 9.63 %, acidity as 1.80 %, pH as 4.74, water activity as



0.598 in traditional Kurut samples obtained from Maku city in Iran. They also reported total mesophilic aerobic bacteria as  $1.51 \pm 0.54$  logCFU/g, yeasts and molds as  $1.31 \pm 0.54$  log CFU/g and *Enterobacteriaceae* as  $1.75 \pm 0.57$  log CFU/g.

One of the Keş varieties is "Katık Keş". In the past, it was usually consumed by farmers in fields during working or by shepherd during animal grazing in pasturages. Katık Keş is consumed with bread during outstanding period mentioned. Today it is still produced traditionally. However, a sustainable production by industry is required to move this product, which has been produced for centuries, into the future. In literature, there is some information about how to produce Katık Keş in traditional way (Coşkun et al., 2008), however, no information is available about chemical, microbiological and sensorial properties of Katık Keş. In this study, it was aimed to determine some chemical, microbiological and sensory characteristics of Katık Keş samples bought from directly farmers in local bazaars in Bolu.

## MATERIALS AND METHODS

First, the local bazaars in Bolu were visited and the production information of Katık Keş were obtained from the sellers. While taking samples, it was observed that some samples were still fresh and some were dried.

The samples were collected from different local bazaars in Bolu by every week in October of 2019. Totally 15 samples were bought from different bazaars in different weeks. The samples were brought to the laboratories of Food Engineering Department of Bolu Abant İzzet Baysal University and some chemical, microbiological and sensorial analyses were done.

Dry matter, protein, fat, total ash, salt, pH and acidity of the samples were determined according to the methods given by Kurt et al. (1993). The counts of coliforms and yeasts & molds were enumerated according to Frank et al. (1985), using Violet Red Bile Agar (VRBA) and Potato Dextrose Agar (PDA), respectively. Water activity

( $a_w$ ) was measured using a water activity measuring device (Novasina, Lab MASTER-aw, Switzerland). Sensorial analyses were done by 8 panelists, each panelist was asked to test the samples and described properties in terms of color and appearance, structure and consistency and taste and smell sensorially (Metin, 1977).

## RESULTS AND DISCUSSION

### The production of Katık Keş

According to the knowledge obtained, mostly strained yoghurt is used in making Katık Keş. However, differently cream and whey as raw material are also used. In traditional way of making Katık Keş, first the cream of milk is separated and the rest (skim milk) is heated. Then the milk is cooled to fermentation temperature and yogurt starter culture is added. The yogurt obtained is cooled and transferred to a cloth bag. As such, it is filtered overnight. Then it is transferred into another cloth and a weight (usually a clean stone) is put on it. Thus, the serum of the yogurt is removed. After that the strained yogurt is salted and pressed again. Pressing takes 1-3 days. Then, the press is removed and the yogurt precipitation is salted again and the precipitate (the Keş dough) is kneaded. The kneading process continues until the precipitate (drained yogurt) picks up itself. If desired, black cumin seed is added. During kneading, salt may be added again. The desired shape (usually symmetric cone shape) is given to the Keş and dried in open air for 10-15 days. The cone shape is done manually. The production of the Keş in villages and highland houses is mostly done to meet family consumption. There are also those who do it as income generating activities and sell it in the markets. The product Keş can be stored for a long time. Pictures of Katık Keş produced in this way are given in Figure 1.

### Some chemical properties of Katık Keş

The minimum, maximum and mean values and the distribution of the chemical analysis of Katık Keş samples are given in Table 1 and in Figure 2, respectively. When Table 1 is examined, the mean dry matter value of the samples was found to be 67.052 %. While one of the samples had dry matter value as 85 %, the values of ten samples

were over 60 % and five samples between 40-60 %. The general distribution was changed between 45 and 70 % (Figure 2). Therefore, it can be said that Katık Keş may be evaluated in category of hard cheese. The probable reason for the variations in the values of dry matter to be so high may be due to the fact that manufacturers sometimes market their fresh product

immediately after production, or sometimes marketed after a long wait from production, or the production style habit. The values obtained were similar to the values reported by Akyüz et al. (1993). In addition, the results were lower compared with the values obtained by Güven and Karaca (2009).



Figure 1. Katık Keş sold in Bolu local bazaars

Table 1. Chemical properties of Katık Keş samples (n=15)

	Chemical properties (%)						
	Dry matter	Fat	Protein	Total ash	Salt	Acidity	pH
Minimum	44.90	1.50	29.09	6.55	2.80	0.80	3.46
Maximum	85.12	28.00	47.79	15.25	6.93	2.30	4.74
Mean	67.05	8.78	36.59	11.11	5.20	1.35	3.90
	±8.842	±5.897	±5.837	±3.410	±1.381	±0.364	±0.346

Milk fat significantly influences the flavor and nutritional value of the Katık Keş as in other dairy products. When Table 1 is examined, the mean fat value of the samples was found to be 8.78 % and the distribution of the values of thirteen samples was found between 5-12 % (Figure 2). Fat ratios of the samples were found quite different. The reason for that may be due to the different fat content of the raw material used in making; such as strained yogurt, cream and whey. The fat values

were lower than the Kurut samples produced in Elazığ (Patır and Ateş, 2002).

The mean protein value of the samples examined was 36.59 % as average (Table 1). The general distribution of protein values was between 29-48 % (Figure 2). Akyüz et al. (1993) reported protein values between 36.71-69.86 % and the average as 54.64 % in the Kurut samples obtained from the province of Van. Eralp (1953) reported lowest

protein value as 34.48 %, the highest value as 65.59 % and the average as 52.35 %. It can be said that the composition of the raw material used in

the Kurut and difference in processing might affect protein value.

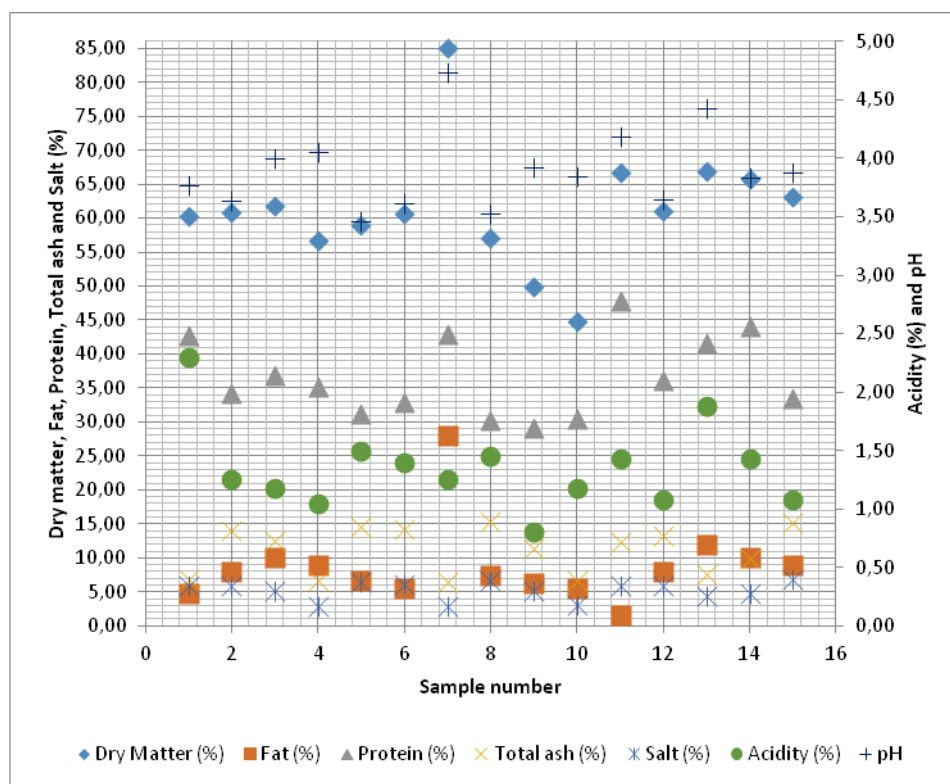


Figure 2. Distribution of chemical values of Katık Keş samples

The mean total ash content of Katık Keş samples was found to be 11.11 % (Table 1) and the general distribution was between 6.5-15 % (Figure 2). The mean value was similar to the value obtained by Akyüz and Gülümser (1987), which was 11.06 %.

Salt contents of the samples analyzed were shown in Table 1. As seen from the table the mean value was found as 5.20 %, which was lower than that of Akyüz and Gülümser (1987). The salt values were generally distributed between 4-7 % (12 of 15 samples) (Figure 2). Our values were fairly lower than those (mean 14.98 %) given by Coşkun et al. (2008). The reason for that Katık Keş is eaten directly and in this case salt level should be lower. Keş for macaroni is produced with higher salt content because the cooking of macaroni is done without salt and thus no need to add salt into the macaroni.

Since Katık Keş is produced from the strained yogurt, it is acidic. The mean acid value as lactic acid (%) of the samples was found to be 1.35 % (Table 1). However, the distribution of the acid values belonged to twelve samples occurred between 1.0-1.5 as percentage. Kalender and Güzeler (2013) reported higher values.

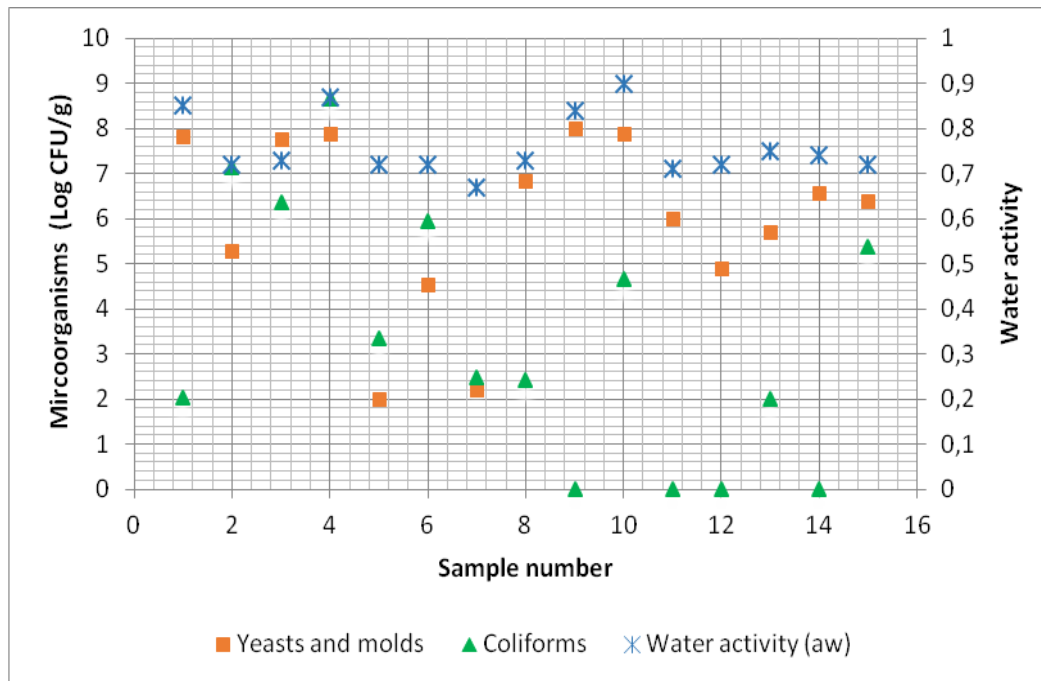
Katık Keş samples had pH values between 3.46 as minimum and 4.74 as maximum (Table 1), which were similar to those reported by Kalender and Güzeler (2013).

### Some microbiological properties of Katık Keş samples

The results of microbiological analyses and water activity values of the samples were given in Table 2. The distributions of counts of the microorganisms and water activity values of the samples were given in Figure 3.

Table 2. Some microbiological properties of Katık Keş samples

	Microbiological properties		
	Yeasts and molds (log CFU/g)	Coliforms (log CFU/g)	Water activity ( $a_w$ )
Minimum	2.00	0.00	0.67
Maximum	8.01	8.65	0.90
Mean	5.98±2.000	3.36±2.854	0.76±0.068

Figure 3. Distribution of counts of the microorganisms and  $a_w$  in Katık Keş samples

The numbers of yeasts and molds of 13 samples distributed between 4 and 8 log CFU/g (Figure 3) and the average number took the value of 5.98 log CFU/g. Coşkun et al. (2008) reported similar results. Higher values above 6.00 log unit maybe because of; 1) giving the shape to the Keş by hand, 2) selling the samples in open air and finally 3) handling by costumers and these factors may increase contamination.

Five samples of Katık Keş contained no coliforms (Table 1), the rest of the samples had coliforms between 2.00 and 9.00 log CFU/g (Figure 3). The numbers were lower than those reported by Akyüz et al. (1993) and Coşkun et al. (2008). In 6 samples, coliform counts were higher than 4.00 log unit and the high numbers may show the

availability of post contamination from production to marketing.

The results of analysis showed that the most of Keş samples (11 of 15 samples) had water activity ( $w_a$ ) below 0.75 and in this  $w_a$ , limited groups of organisms may grow such as halophilic bacteria and some molds and yeasts (Ayhan, 2000). The rest of the samples were between 0.84 and 0.90  $w_a$ , average was 0.76. The average was similar to that reported by Yaman and Coşkun (2017).

#### Defining sensorial properties of Katık Keş

All samples of Katık Keş were in the shape of symmetric cone (see Figure 1). The color of the samples was mostly porcelain white, however, some of them were in color of yellowish, white and off-white.

In terms of structure and consistency, 3 of the Keş samples were in soft structure and 12 of the samples were in hard structure. Five of the samples were easily dispersed in the mouth. However, some of the samples were sticky in the mouth, some were crumbling like sand, some were fatty consistency and some contained air gaps.

The Katık Keş samples usually had the taste of salty (sometimes less or normal) and acidic. Smell of the samples was mostly similar to strained yogurt. Two of the samples had heavy smell. Differently, one of the samples had fatty taste.

## CONCLUSION

In this study, Katık Keş samples were collected from the villagers in Bolu local bazaars. Totally 15 samples analyzed. Results showed that Katık Keş samples had higher amount of dry matter, fat and protein ratios since the products were dried. Even if some samples contained no coliforms, it can be said that post contamination risk available. Sensorial descriptions showed that the samples were mostly porcelain white color, symmetric cone in shape, hard structured and easily dispersed in the mouth, salty and acidic taste and smelling as strained yogurt.

## REFERENCES

- Akyüz, N., Coşkun, H., Bakırcı, İ., Çon, A.H. (1993). A Study on the Kurut produced in Van and its province. *GIDA / The Journal of Food* 18(4): 253-257.
- Akyüz, N., Gülümser, S. (1987). A research on production and composition of Kurut. *GIDA / The Journal of Food* 12(3): 185-191.
- Ayhan, K. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara, Türkiye, 522 s.
- Coşkun, H., Bayrak, A., Çakır, İ., Akoğlu, İ.T., Kıralan, M., İşleyen, F. (2008). Bolu ve çevresinde üretilen ve geleneksel bir süt ürünü olan Keş'in yapılışı. *Dünya Gıda Dergisi*, 13:42-48.

Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2017a). Optimization of production technology of Keş for Frying. *YYU J Agr Sci* 27(3): 357-369.

Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2017b). The changes revealed during storage of "Keş for Frying" samples made with optimized production parameters. *GIDA / The Journal of Food* 42(6): 643-653.

Eralp, M. (1953). Kurut Yapılışı ve Terkibi. *A. Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı*. Fasikül 3-4: 201-208.

Erdi, S., Yurtsever, S.T. (2005). *Dîvânü Lügâti't Türk (by Kaşgarlı Mahmud)*. Kabcı Yayınevi, Himaye-i Etfal Sok. 8-B Cagaloglu 34110, İstanbul.

Frank, J.F., Hankin, L., Koburger, J.A., Marth, E.H. (1985). Testsforgroup of microorganisms. In: *Standart Methods for The Examination of Dairy Products*, Richardson, G. H. (Chief ed.), 15th ed. American Public Health Association, Washington D.C., the USA, pp. 189-201.

Güven, M., Karaca, O.B. (2009). Compositional properties of dried yoghurt (Kurut) provided from Van and Şırnak. *GIDA / The Journal of Food* 34(6):367-372.

Kalender, M., Güzeler, N. (2013). Types of Keş Cheese from Anamurregion and their some chemical properties. *J Agric Fac Ç.Ü.* 28(2): 1-10.

Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1993). *Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum, Türkiye, 257 s.

Metin, M. (1977). *Süt ve Mamüllerinde Kalite Kontrolü*. Ankara Ticaret Borsası Yayınları No: 1, Ankara, Türkiye, 352 s.

Mollabashi, N.M., Aydemir Atasever, M. (2018). Microbiological and chemical properties of Kurut (Kishk) samples collected from Iranian. *Atatürk Univ Journal of Vet Sci* 13(1): 70-76, DOI:10.17094/ataunivbd.292589.

Patır, B., Ateş, G. (2002). Investigations on some microbiological and chemical features of "Kurut". *Turk J Vet Anim Sci* 26:785-792.

Soltani, M., Güzeler, N. (2013). The production and quality properties of liquid Kashks. *GIDA / The Journal of Food* 38(1):1-7.

Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Yurt, B. (2001). A study on some properties of Keş produced in Ordu and its surround. *GIDA / The Journal of Food* 26(4):295-300.

Ünsal, A. (2007). “*Silivrim Kaymak*” *Türkiye'nin Yoğurtları*, 2. Baskı, Yapı Kredi Kültür Sanat Yayınları, İstanbul, Türkiye, 304 s.

Yaman, H., Coşkun, H. (2017). Optimization of production technology of Keş for Pasta. *Indian J Dairy Sci* 70(2): 167-177.



## MODEL BASED COMPARISON OF DRYING OF ASPARAGUS (*ASPARAGUS OFFICINALIS* L.) WITH TRADITIONAL METHOD AND MICROWAVE

Cem Baltacıoğlu<sup>1\*</sup>, İlhami Okur<sup>1,2</sup>, Sencer Buzrul<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Niğde Ömer Halisdemir University, Niğde, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

<sup>3</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Konya Food and Agriculture University, Konya, Turkey

Received / Geliş: 11.03.2020; Accepted / Kabul: 08.06.2020; Published online / Online baskı: 16.06.2020

Baltacıoğlu, C., Okur, İ., Buzrul, S. (2020). Model based comparison of drying of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) with traditional method and microwave. *GIDA* (2020) 45(3) 572-580 doi: 10.15237/gida.GD20040

Baltacıoğlu, C., Okur, İ., Buzrul, S. (2020). Geleneksel yöntem ve mikrodalga ile kuşkonmazın (*Asparagus officinalis* L.) kurutulmasının model tabanlı karşılaştırılması. *GIDA* (2020) 45(3) 572-580 doi: 10.15237/gida.GD20040

### ABSTRACT

In this study, asparagus slices were dried with traditional oven and microwave oven methods. Model based approach was used to investigate the differences and similarities between two drying methods. Weibullian and linear equations were used as the primary and secondary models, respectively. Secondary model integrated into the primary model could successfully be used to describe the moisture ratio of asparagus in one-step procedure. Appropriate fits were obtained for both drying techniques, but microwave drying had slightly better fit than the conventional drying. Tailing was observed for the curves of traditional drying whereas sigmoidal curves were observed for microwave drying. The time parameter ( $\delta$ ) value of the lowest power of the microwave drying (100 W) was just one third of the  $\delta$  value of the highest temperature of the traditional drying (90 °C) indicating that microwave drying was effective method in terms of time comparing to traditional drying.

**Keywords:** Drying curves, hot air oven, microwave oven, modeling, Weibullian model

## GELENEKSEL YÖNTEM VE MİKRODALGA İLE KUŞKONMAZIN (*ASPARAGUS OFFICINALIS* L.) KURUTULMASININ MODEL TABANLI KARŞILAŞTIRILMASI

### ÖZ

Bu çalışmada kuşkonmaz dilimleri farklı sıcaklıklarda geleneksel fırın veya farklı güç seviyelerindeki mikrodalga fırın ile kurutulmuştur. İki kurutma yöntemi arasındaki fark ve benzerliklerin araştırılmasında model tabanlı yaklaşım kullanılmıştır. Birincil ve ikincil modeller olarak sırasıyla Weibullian model ve doğrusal denklem kullanılmıştır. Birincil modele bütünleştirilen ikincil model, tek aşamalı yöntemle kuşkonmazın nem oranını tanımlamak için başarıyla kullanılabilmiştir. Her iki kurutma tekniği için uygun modeller elde edilmiştir, ancak mikrodalgada geleneksel kurutmada daha yüksek uygunluk görülmüştür. Geleneksel kurutma eğrileri için kuyruklu, mikrodalga kurutma için s-biçimli eğriler gözlenmiştir. Mikrodalga kurutmanın en düşük gücünün (100 W) zaman parametresi ( $\delta$ ) değeri, geleneksel kurutmanın en yüksek sıcaklığının (90 °C)  $\delta$  değerinin sadece üçte biridir, bu da mikrodalga kurutmanın geleneksel kurutmaya kıyasla zaman açısından etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kurutma eğrileri, sıcak hava fırını, mikrodalga fırın, modelleme, Weibullian model

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ cembaltacioglu@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 225 4227

☎ (+90) 388 225 0112

Cem Baltacıoğlu; ORCID no: 0000-0001-8308-5991

İlhami Okur; ORCID no: 000-0002-2541-7123

Sencer Buzrul; ORCID no:000-0003-2272-3827



### INTRODUCTION

*Asparagus officinalis* L. is consumed worldwide due to its high nutritional values rich in bioactive compounds, such as flavonoids, phenolics, and dietary fiber (Wang et al., 2013). This vegetable is native to Europe, Africa and Asia. Although different types of asparagus exist such as white and purple, the most common type is green. Green asparagus (*Asparagus officinalis* L.), which has unique flavor and alterative properties, is a good source of phenolic substances, phytochemicals, including flavonoids, sterols, saponins, oligosaccharides, carotenoids, sulfurated acids, amino acids and fibers. Therefore, green asparagus extracts used for the treatment of many diseases like a cough, rheumatism, neuritis, and different types of cancers such as leukemia, lung cancer, nose cancer, breast cancer and lymphatic gland cancer. Moreover, its extract has a wide range of therapeutic activities such as anti-diabetic, anti-tumor, antifungal, diuretic (Sergio et al., 2018).

The preservation of food materials by drying has been carried out since the early recorded history of human civilization. Drying is a preservation method widely used in the food industry, and it is recognized as one of the most common and most energy-consuming food preservation methods (Liu et al., 2016). It is a critical operation to remove moisture of food substances in order to preserve them for longer periods of time (Kucuk et al., 2014). Conventional hot-air drying or traditional drying is the most common drying method for foods but microwave drying is more rapid and highly energy efficient system than the traditional drying (McLoughlin et al. 2003, Al-Harashseh et al. 2009). Advantages of microwave drying compared to conventional hot air drying are higher drying rate and minimal heating of food items with less water, thus reducing overheating where heat application is not required. (İlter et al., 2018). Although different vegetables such as spinach (Ozkan et al., 2007), green pea (Zielinska et al., 2013) and green bean (Doymaz et al., 2015) were dried by microwave, studies on asparagus were generally done by conventional drying (Bala et al., 2010; Jokic et al., 2009). A notable example

of asparagus drying with microwave is the work of Kipcak and İsmail (2018).

One of the important aspects of the drying operation is to describe the change of water content in the food substance via mathematical models (Bi et al., 2015). Although many mathematical models were proposed and used to describe the moisture ratio of certain food products, none of them can be considered as matchless. Moreover, parameters of the models have no concrete meanings so that it is not easy to have a certain idea about the drying process by evaluating these parameters (Karacabey and Buzrul 2017). The objective of this study was to make a model based comparison between traditional oven drying and microwave oven drying. The model selected is very simple and has two interpretable parameters, namely time and shape parameters.

### MATERIALS AND METHODS

#### Material

Asparagus spears were obtained from the local market and stored laboratory refrigerator at +4 °C. The spears were stripped and then cut to desired dimensions by using an adjustable chopper (Sinbo, Turkey). Slices were sized in 30 mm × 40 mm dimensions and sliced at 3 mm in thickness. Moisture of fresh asparagus was expressed as  $94.19 \pm 0.89\%$ .

#### Drying

Oven drying was performed in the preheated air circulating oven (Nüve, EN 400, Turkey) at temperatures of 70, 80 and 90 °C. The ventilation hole of the oven was open for two main purposes: (i) for effective drying; (ii) for removing the moisture from the oven without cooking the samples. Asparagus slices were spread as a single layer on the tray attached to the balance (Kern, EW-1500-2M, Germany). The weight of the sample was recorded at regular time intervals by switching off the oven and after the sample weight was recorded, it was replaced in the oven again within 5 sec during drying. The experiments were terminated when the sample weights were unchanged in 3 consecutive measurements.



A programmable domestic microwave oven (Samsung, MW71E, Malaysia) with a maximum output of 800 W and wavelength of 2450 MHz was used for microwave drying. Different power levels (100, 200 and 300 W) were used to determine their effects on drying. The dimensions of the microwave cavity were 307×185×292mm. Weighed asparagus slices (one slice for each run) were spread in a glass dish as a single layer and placed in the center of microwave oven. Initial values of 66.55 and 199.67 W/g values were determined according to selected microwave power values. The sample was removed from the glass petri dish at each 60 sec intervals by switching off the microwave oven and after the sample weight was recorded, it was replaced in the oven again within 5 sec and then drying process continued. All weighing operations were carefully performed and the same procedure was applied in all samples. Fresh air entered the microwave oven on each weighing process. The experiments were terminated when the sample weights were unchanged in 3 consecutive measurements.

### Modeling Theory

Moisture ratio ( $MR$ ) was defined as:

$$MR = \frac{X_w - X_{we}}{X_{w0} - X_{we}} \quad (1)$$

where  $X_{w0}$ ,  $X_w$ ,  $X_{we}$  are the initial, at a time  $t$ , and at equilibrium moisture content respectively.

Weibull model is one of the simplest equations with two parameters and it was used to describe the drying kinetics of certain foods (Blasco et al., 2006; Corzo et al., 2008). In those studies  $e$  (exp) base was used in the Weibull model. However, in this study  $MR$  was modeled by using Weibull-type (Weibullian) model:

$$MR = 10 \left[ -\left( \frac{t}{\delta(T)} \right)^{n(T)} \right] \quad (2)$$

where  $\delta(T)$  is the temperature ( $T$ ) dependent time parameter that describes time to reduce the initial moisture ratio by 90% i.e. it is the time to reduce  $MR$  to  $MR/10$  and  $n(T)$  is the temperature dependent and dimensionless shape parameter.

Since  $MR$  ranges from 1.0 to 0.0 the use of base 10 instead of  $e$  (exp) fits well.

Normally it is expected that  $n(T)$  is not dependent on air temperature (Karacabey and Buzrul 2017), so Eq.(2) can be reduced to:

$$MR = 10 \left[ -\left( \frac{t}{\delta} \right)^n \right] \quad (3)$$

i.e., fixed  $n$  values could be used for all temperature levels.

If microwave oven is used instead of conventional oven Eq.(3) becomes:

$$MR = 10 \left[ -\left( \frac{t}{\delta(P)} \right)^n \right] \quad (4)$$

where  $P$  is the power of the microwave oven.

The effects of model parameters on the  $MR$  curves are demonstrated in Figure 1. When  $n < 1$  the curve has tailing, when  $n = 1$  the curve has concave shape and when  $n > 1$  the curve has sigmoidal pattern i.e., starting with convex and ending up with concave shape. All the curves are overlapped at  $MR = 0.1$  and  $t = 150$  because time parameter ( $\delta$ ) is same for all these curves, therefore, time necessary to reduce initial  $MR$  (1.0) to  $MR/10$  (0.1) is the same point for three different curves (Figure 1a). The parameter  $n$  is called the shape parameter since the curve's shape is determined by  $n$ .

In Figure 1b the effect of different  $\delta$  values are shown. Since  $n$  value is less than 1 and same for all the curves, tailings are observed for them. Time necessary to reduce initial  $MR$  (1.0) to  $MR/10$  (0.1) is selected as 50, 100 and 200, therefore, each curve has different meeting point (different time values) with the  $MR$  value of 0.1 (Figure 1b). Note that both Figure 1a and Figure 1b were generated curves with different time ( $\delta$ ) and shape ( $n$ ) parameter values in order to demonstrate the effects of these parameter values on curves' shape.

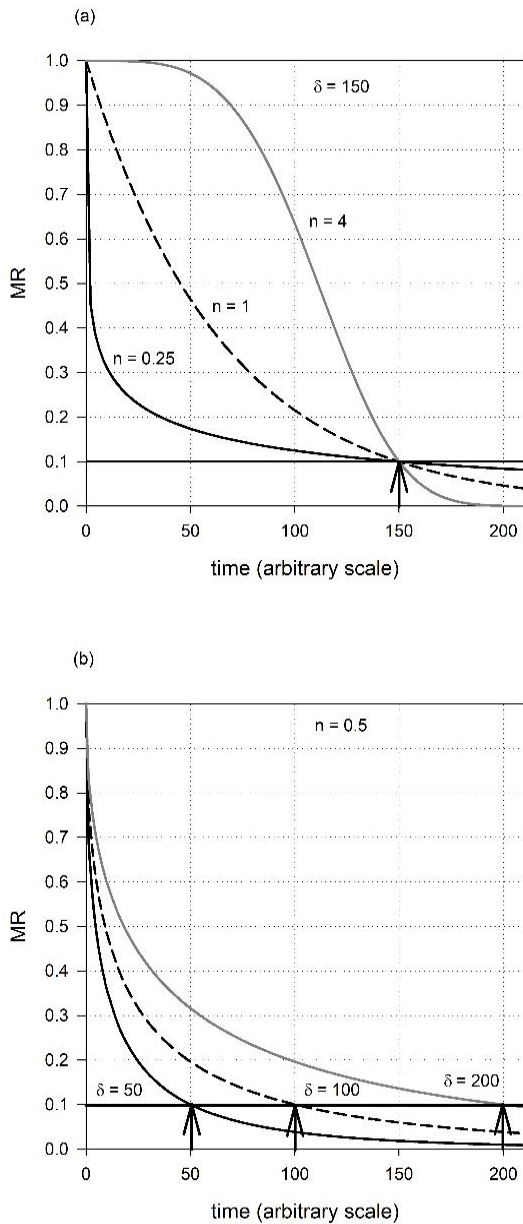


Figure 1. (a): Effect of shape parameter ( $n$ ) of the Weibullian-type model on curve's shape. Time parameter ( $\delta$ ) is equal to 150, (b): Effect of time parameter ( $\delta$ ) of the Weibullian-type model on curve's shape. Shape parameter ( $n$ ) is equal to 0.5. Arrows indicate the overlapping points of the curves where moisture ratio ( $MR$ ) is 0.1.

Dependence of the time parameter  $\delta(T)$  on air temperature or  $\delta(P)$  on power can be represented by ad hoc empirical equations. It could be possible to use exponential decay function or

Arrhenius-type equation (Karacabey and Buzrul 2017). However, since only three temperature or power levels were used in this study it is wise to select linear equation:

$$\delta(T) = c_0 + c_1 T \tag{5}$$

or

$$\delta(P) = c_0 + c_1 P \tag{6}$$

where  $c_0$  and  $c_1$  are the coefficients of the equations.

Note that linear equation is not the only option any other equation with two adjustable coefficients could be also used with the same goodness-of-fit (results not shown).

If Eq.(5) is integrated into Eq.(3) and if Eq.(6) is integrated into Eq.(4) the following models are obtained:

$$MR = 10 \left[ -\left( \frac{t}{c_0 + c_1 T} \right)^n \right] \tag{7}$$

and

$$MR = 10 \left[ -\left( \frac{t}{c_0 + c_1 P} \right)^n \right] \tag{8}$$

Eqs. (7) and (8), at least theoretically, can be used to describe the conventional oven and microwave oven drying of asparagus, respectively in one-step.

### Model assessment

SigmaPlot® (Version 12.0, Chicago, IL, USA) was used for non-linear regressions to obtain model parameters/coefficients adjusted determination coefficient ( $R^2_{adj}$ ) and mean square error (MSE) values were used to evaluate the goodness-of-fit of the models.

## RESULTS AND DISCUSSION

The fits of Eqs. (7) and (8) are shown in Figure 2 and 3, respectively. The coefficients of the model and their standard errors of two drying methods together with the adjusted determination coefficient ( $R^2_{adj}$ ) and mean square error (MSE) values are given in Table 1. One-step modeling procedure i.e., secondary models [Eqs. (5) and (6)] integrated into the primary models [Eqs. (3) and (4)] and then applying the integrated models [Eqs. (7) and (8)] in one-step regression could be successfully used for both drying methods.

Nevertheless, microwave drying had slightly better fit than the conventional drying as it had higher  $R^2_{adj}$  and lower MSE values (Table 1).

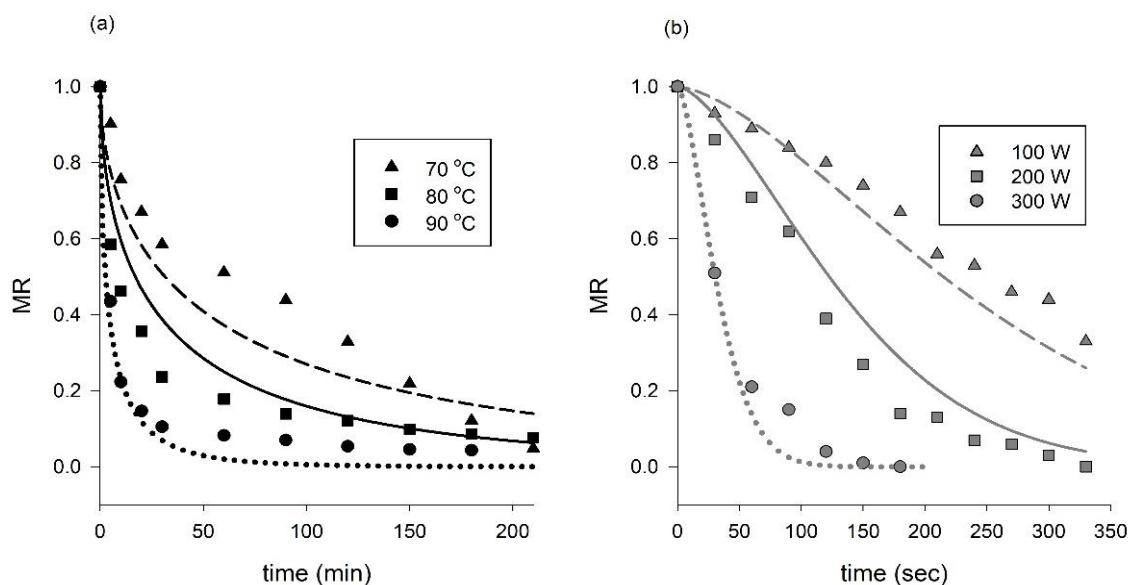


Figure 2. (a): Experimental data points and the fit of Eq.(7) to the traditional drying of asparagus. (b): Experimental data points and the fit of Eq.(8) to the microwave drying of asparagus.

Table 1. Coefficients and their standard errors of two drying methods together with adjusted determination coefficient ( $R^2_{adj}$ ) and mean square error (MSE) values

	$a_0$	$c_1$	$n$	$R^2_{adj}$	MSE
Hot oven drying	$1175.4 \pm 228.2$	$-12.8 \pm 2.5$	$0.55 \pm 0.05$	0.94	0.0064
Microwave drying	$666.2 \pm 48.0$	$-2.0 \pm 0.2$	$1.55 \pm 0.14$	0.96	0.0055

The shape parameter ( $n$ ) of traditional drying was less than 1 (0.55) therefore tailing behavior was obvious (Figure 2a) whereas microwave drying had  $n$  value of 1.55. Although it was not easy to observe, especially at 300 W, sigmoidal shape (shoulder followed by tailing) could be seen in the early stages at 100 and 200 W (Figure 2b).

Time parameter ( $\delta$ ) values for each drying methods can be calculated by using the  $a_0$  and  $c_1$  values given at Table 1. In Table 2 calculated  $\delta$  values are given and comparisons can be made by using these values. For instance,  $\delta$  value at 70 °C was 279.4 min for traditional drying whereas it was 266.2 sec at 200 W for microwave drying. The

$\delta$  value of the lowest power of microwave drying was just one third of the  $\delta$  value of the highest temperature of traditional drying (Table 2). This indicated that microwave drying was an effective method in terms of time comparing to traditional drying. Similar drying times were obtained by Kipcak and İsmail (2018) who also dried asparagus with microwave at power levels of 90, 180 and 360 W. Comparison of  $\delta$  values could be useful to differentiate two drying methods. Karacabey and Buzrul (2017) claimed that  $\delta$  can also be a useful parameter to design drying experiments.

Table 2. Time parameter ( $\delta$ ) values calculated for each drying methods

$T$ (°C)	$\bar{a}$ (min)	$P$ (W)	$\bar{a}$ (sec)
70	279.4	100	466.2
80	151.4	200	266.2
90	23.4	300	66.2

It could be possible to predict drying curves at different temperature or power levels by using Eqs. (7) and (8) and the values given in Table 1; however, experimental verification is certainly needed. Simulation at any temperature or power levels within the interpolation region is possible. Simulated drying curves at 77 and 84 °C for traditional drying and at 160 and 230 W for microwave drying are shown in Figure 4. These

temperature and power levels were totally selected arbitrarily; any temperature and power level could be used within the interpolation region. Tailing and sigmoidal behaviors of traditional drying and microwave drying were observed since  $n < 1$  and  $n > 1$ , respectively. Note that if  $n < 1$  and as it approaches to 0 tailing becomes more pronounced i.e., strong tailing is observed. In such a case a sudden drop in moisture ratio may be observed in the early stages of drying and then as the time passes no change occurs in moisture content. Similarly, if  $n > 1$  and as it becomes higher and higher, convex shape at the beginning of drying takes the form of shoulder and it is followed by tailing see Figure 1a and Figure 3b for comparison.

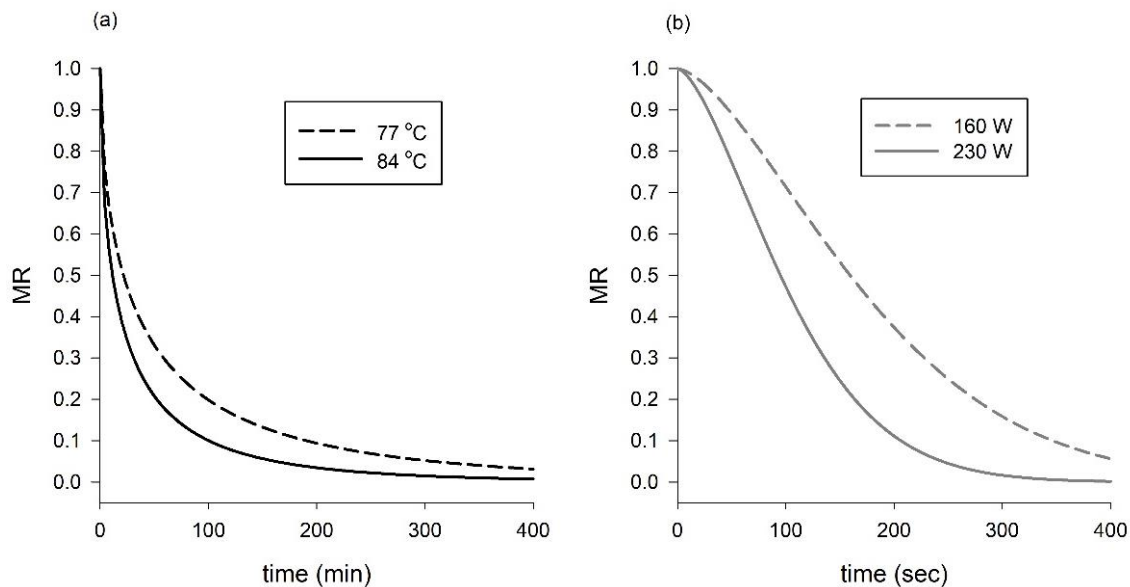


Figure 3. Simulation of (a): traditional drying of asparagus at 77 and 84 °C, (b): microwave drying of asparagus at 160 and 230 W.

A number of models for describing  $MR$  such as Lewis (Newton) equation (Lewis, 1921), Page (Page, 1949), Modified Page (Overhults et al., 1973), Logarithmic (Asymptotic) model (Chandra and Singh, 1995), Midilli equation (Midilli et al., 2002), Two-term model (Henderson, 1974) have been proposed. However, the modeling studies on drying are mostly based on the comparisons of the above models. The researchers applied

different models to data and they compared the goodness-of-fit of the models and they concluded by finding the best-fit model for the drying data (Ertekin and Ziya Firat, 2017; Kohli et al., 2018; Akpınar et al., 2003; Menges and Ertekin, 2006; Sacilik and Elicin, 2006; Toğrul, 2005). It should be noted that Page model or modified Page model can also be used with the same degree of goodness-of-fit as the Weibullian model for the

drying data of asparagus; however, since the aim was not to compare different models application of other models were not applied to the data.

Traditionally, modeling is done by two-step procedure: (i) fit of the primary model to drying data, (ii) describing the primary model parameters with respect to temperature or power. However, in this study secondary model was integrated into the primary one and regression was performed in one step. The results of the one-step procedure would be three-dimensional surfaces; however, for ease of visualization two dimensional plots were given (Figure 2). The advantages of using one-step procedure were producing more information in one calculation since time and temperature (or power) appeared simultaneously in the integrated model and saving time (Karacabey, 2016).

## CONCLUSION

Asparagus slices were dried with traditional oven or microwave oven. The differences between two drying methods were investigated via model based approach. Weibullian-type equation as a primary model and linear equation as a secondary model were used together to describe the moisture ratio of asparagus in one-step procedure. Results revealed that integrated model produced reasonable fits for both drying methods ( $R^2_{adj} \geq 0.94$  and  $MSE \leq 0.0064$ ). Still microwave drying had slightly better fit than the conventional drying as it had higher  $R^2_{adj}$  and lower MSE values. Tailing was observed for curves of traditional drying whereas sigmoidal curves were observed for microwave drying. Comparisons of time parameter ( $\delta$ ) values for each drying methods indicated that microwave drying was more effective than traditional drying in terms of time.

## Nomenclature

$X_{w0}$  initial moisture content (g water/g dry weight)

$X_w$  moisture content at a time  $t$  (g water/g dry weight)

$X_{we}$  moisture content at equilibrium (g water/g dry weight)

MR moisture ratio (dimensionless)

$\delta(T)$  temperature dependent time parameter that describes time to reduce the initial moisture ratio by 90% (min)

$\delta(P)$  power dependent time parameter that describes time to reduce the initial moisture ratio by 90% (min)

$n(T)$  temperature dependent and dimensionless shape parameter (dimensionless)

$n$  temperature independent and dimensionless shape parameter (dimensionless)

$a_0$  model coefficient of linear equation (min)

$a_1$  model coefficient of linear equation (min/°C or min/W)

$R^2_{adj}$  adjusted determination coefficient

MSE mean square error

## STATEMENT OF CONFLICT OF INTEREST

We declare that there are no conflicts of interest among the authors.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

CB designed the research and made the drying process. CB, SB and İO wrote the paper. SB made the model based comparison. All authors have read and approved the final article.

## REFERENCES

- Akpınar, E. K., Bicer, Y., Midilli, A. (2003). Modeling and experimental study on drying of apple slices in a convective cyclone dryer. *J Food Process Eng*, 26(6): 515–541.
- Al-Harashseh, M., Al-Muhtaseb, A. H., Magee, T. R. A. (2009). Microwave drying kinetics of tomato pomace: Effect of osmotic dehydration. *Chem Eng Process: Process Intensification*, 48(1): 524–531.
- Bala, B. K., Hoque, M. A., Hossain, M. A., Uddin, M. B. (2010). Drying characteristics of asparagus roots (*Asparagus racemosus* wild.). *Drying Technol*, 28(4): 533–541.
- Bi, J., Yang, A., Liu, X., Wu, X., Chen, Q., Wang, Q., Wang, X. (2015). Effects of pretreatments on explosion puffing drying kinetics of apple chips. *LWT - Food Sci Technol*, 60(2): 1136–1142.
- Blasco, M., García-Pérez, J. V., Bon, J., Carreres, J. E., Mulet, A. (2006). Effect of blanching and air

- flow rate on turmeric drying. *Food Sci Technol Int*, 12(4), 315–323.
- Chandra, P. K., Singh, R. P. (1995). *Applied Numerical Methods for Food and Agricultural Engineers*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA 512 p., ISBN 9780849324543.
- Corzo, O., Bracho, N., Pereira, A., Vásquez, A. (2008). Weibull distribution for modeling air drying of coroba slices. *LWT - Food Sci and Technol*, 41(10): 2023–2028.
- Doymaz, I., Kıpçak, A. S., Piskin, S. (2015). Microwave drying of green bean slices: Drying kinetics and physical quality. *Czech J Food Sci*, 33(4): 367–376.
- Ertekin, C., Ziya Fırat, M. (2017). A comprehensive review of thin-layer drying models used in agricultural products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57(4):701-717.
- İlter, I., Devseren, E., Okut, D., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. (2018). Microwave and hot air drying of garlic puree: drying kinetics and quality characteristics. *Heat Mass Transfer*, 54: 2101-2112.
- Jokic, S., Mujic, I., Martinov, M., Velic, D., Bilic, M., Lukinac, J. (2009). Influence of Drying Procedure on Colour and Rehydration Characteristic of Wild Asparagus. *Czech J Food Sci*, 27(3): 171–177.
- Karacabey, E. (2016). Evaluation of Two Fitting Methods Applied for Thin-Layer Drying of Cape Gooseberry Fruits. *Braz Arc Biol Technol*, 59(0): 1–10.
- Karacabey, E., Buzrul, S. (2017). Modeling and predicting the drying kinetics of apple and pear: Application of the weibull model. *Chem Eng Comm*, 204(5): 573–579.
- Kıpçak, A. S., Ismail, O. (2018). Comparison of the microwave drying kinetics of culture and natural asparagus. *Acta Sci Technol*, 40(1): 39922.
- Kohli, D., Shahi, N. C., Kumar, A. (2018). Drying Kinetics and Activation Energy of Asparagus Root (*Asparagus racemosus* Wild.) for Different Methods of Drying. *Curr Res Nutr Food Sci*, 6(1): 191-202.
- Kucuk, H., Midilli, A., Kilic, A., Dincer, I. (2014). A Review on Thin-Layer Drying-Curve Equations. *Drying Technol*, 32(7): 757–773.
- Lewis, W. K. (1921). The Rate of Drying of Solid Materials. *Ind and Eng Chem*, 13(5): 427–432.
- Liu, Z., Zhang, M., Wang, Y. (2016). Drying of restructured chips made from the old stalks of *Asparagus officinalis*: Impact of different drying methods. *J Sci Food Agric*, 96(8): 2815–2824.
- McLoughlin, C. M., McMinn, W. A. M., Magee, T. R. A. (2003). Microwave drying of multi-component powder systems. *Drying Technol*, 21(2): 293–309.
- Menges, H. O., Ertekin, C. (2006). Mathematical modeling of thin layer drying of Golden apples. *J Food Eng*, 77(1): 119–125.
- Midilli, A., Kucuk, H., Yapar, Z. (2002). A new model for single-layer drying. *Drying Technol*, 20(7): 1503–1513.
- Overhults, D. G., White, G. M., Hamilton, H. E., Ross, I. J. (1973). *Drying Soybeans With Heated Air*. Biosystem and Agricultural Engineering Faculty Publications, University of Kentucky. p 112–113.
- Ozkan, I. A., Akbudak, B., Akbudak, N. (2007). Microwave drying characteristics of spinach. *J Food Eng*, 78(2): 577–583.
- Page, GE. (1949). *Factors Influencing the Maximum Rates of Air Drying Shelled Corn in Thin Layers*. Purdue University.
- Henderson, S. M. (1974). Progress in Developing the Thin Layer Drying Equation. *Transactions ASAE*, 17(6): 1167–1168.
- Sacilik, K., Elicin, A. K. (2006). The thin layer drying characteristics of organic apple slices. *J Food Eng*, 73(3): 281–289.
- Sergio, L., Cantore, V., Spremulli, L., Pinto, L., Baruzzi, F., Di Venere, D., Boari, F. (2018). Effect of cooking and packaging conditions on quality of semi-dried green asparagus during cold storage. *LWT*, 89: 712–718.
- Toğrul, H. (2005). Simple modeling of infrared drying of fresh apple slices. *J Food Eng*, 71(3): 311–323.

Wang, J., Liu, Y., Zhao, J., Zhang, W., Pang, X. (2013). Saponins extracted from by-product of *Asparagus officinalis* L. suppress tumour cell migration and invasion through targeting Rho GTPase signalling pathway. *J Sci Food Agric*, 93(6): 1492–1498.

Zielinska, M., Zapotoczny, P., Alves-Filho, O., Eikevik, T. M., Blaszcak, W. (2013). A multi-stage combined heat pump and microwave vacuum drying of green peas. *J Food Eng*, 115(3): 347–356.



**DEVELOPING A NEW ESTERIFICATION METHOD FOR THE  
DETERMINATION OF FATTY ACID COMPOSITIONS OF MARINE OIL  
SUPPLEMENTS BY GAS CHROMATOGRAPHY WITH ORTHOGONAL  
CENTRAL COMPOSITE DESIGN AND RESPONSE SURFACE  
METHODOLOGY**

**İsmail Tarhan\***

Selçuk University, Faculty of Science, Department of Biochemistry, Selçuklu, Konya, Turkey

Received / Geliş: 23.03.2020; Accepted / Kabul: 09.06.2020; Published online / Online baskı: 16.06.2020

Tarhan, İ. (2020). *Developing a new esterification method for the determination of fatty acid compositions of marine oil supplements by gas chromatography with orthogonal central composite design and response surface methodology*. *GIDA* (2020) 45(3) 581-589 doi: 10.15237/gida.GD20043

Tarhan, İ. (2020). Ortogonal merkezi kompozit tasarım ve yüzey cevap metodolojisinden faydalanarak balık yağı gıda takviyelerinin yağ asidi kompozisyonlarının gaz kromatografisi ile tayini için yeni bir esterleştirme metodunun geliştirilmesi. *GIDA* (2020) 45(3) 581-589 doi: 10.15237/gida.GD20043

**ABSTRACT**

In this study, an efficient, applicable, and special esterification method for the quantification of fatty acid compositions of MOs has been created with chemometric techniques. The esterification variables which are the temperature of esterification (A), the time of esterification (B), and the amount of hexane (C), were optimized by using the orthogonal central composite design (OCCD). The relationships of the variables with each other and with the response value (R) are interpreted with response surface methodology (RSM). The optimal conditions were as follows: the temperature of esterification, 60°C; the time of esterification, 40 min; and the amount of hexane, 4.3 mL. Even MOs that are difficult to esterify can be easily esterified and the fatty acid compositions of all MOs, especially important fatty acids such as eicosapentaenoic acid (20:5) and docosahexaenoic acid (22:6), have been successfully analyzed by gas chromatography with the new method developed.

**Keywords:** Chemometrics, esterification, fatty acid composition, gas chromatography, marine oil supplements.

**ORTAGONAL MERKEZİ KOMPOZİT TASARIM VE YÜZEY CEVAP  
METODOLOJİSİNDEN FAYDALANARAK BALIK YAĞI GIDA  
TAKVİYELERİNİN YAĞ ASIDI KOMPOZİSYONLARININ GAZ  
KROMATOĞRAFİSİ İLE TAYİNİ İÇİN YENİ BİR ESTERLEŞTİRME  
METODUNUN GELİŞTİRİLMESİ**

**ÖZ**

Bu çalışmada kemometrik tekniklerden faydalanılarak MO'ların yağ asidi kompozisyonlarının tayini için etkili, uygulanabilir ve özel bir esterleştirme yöntemi geliştirilmiştir. Esterifikasyon parametrelerinden esterleşme sıcaklığı (A), esterleşme süresi (B) ve hekzan miktarı (C) ortogonal merkezi kompozit tasarım (OCCD) kullanılarak optimize edilmişlerdir. İlgili parametrelerin birbirleriyle ve cevap değeri (R) ile ilişkileri cevap yüzey metodolojisinden (RSM) faydalanılarak yorumlanmıştır. İlgili parametrelerin tespit edilen optimum değerleri esterleşme sıcaklığı için 60°C, esterleşme süresi için 40 dakika ve hekzan miktarı için 4.3 mL olarak tespit edilmiştir. Gaz kromatografisi ve geliştirilen yeni metot ile esterleştirilmesi kolay olmayan MO numuneleri kolaylıkla esterleştirilebilmiş ve başta eikosapentanoik asit (20:5) ve dokosahekzaenoik asit (22:6) olmak üzere tüm önemli yağ asitleri analiz edilebilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kemometri, esterleştirme, yağ asidi kompozisyonu, gaz kromatografisi, balık yağı gıda takviyesi.

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ ismtarhan@gmail.com,

☎ (+90) 332 223 3901

☎ (+90) 332 241 2499

İsmail Tarhan; ORCID no: 0000-0003-3353-8635



## INTRODUCTION

Fatty acids that include more than one double bond in their hydrocarbon chain are called as polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and these compounds have many important bio compounds, such as essential fatty acids. PUFAs can be classified in three groups by their chemical structure. The first group is methylene-interrupted polyenes, the second group is conjugated fatty acids and the last group is other PUFA compounds. The omega-3 (n-3 or  $\omega$ 3) long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs), especially eicosapentaenoic (EPA, 20:5) and docosahexaenoic (DHA, 22:6) acids, have beneficial effects on human health and they have been recognized the essential ingredient to the human diet. PUFAs such as EPA and DHA, play a crucial role in health promotion and disease prevention. While EPA is one of the most important precursors of the signal molecules that regulate immune responses and ion transport (Chang et al., 2013; Li et al., 2015), DHA accounts for about 95% of the amount of PUFAs in the aminophospholipid structures of the cell membranes in the retina and brain (Mata et al., 2001; Niemoller and Bazan, 2010; SanGiovanni and Chew, 2005). EPA and DHA also can prevent the formation of many diseases in humans, especially cardiovascular ailments (Marchioli et al., 2002; Mozaffarian and Rimm, 2006). However, the irony is that PUFAs, which have such important benefits to human health, cannot be adequately synthesized by the human body (Barceló-Coblijn and Murphy, 2009).

The n-3 PUFAs needed are provided from the  $\alpha$ -linolenic acid (18:3) taken into the body, mostly by consuming vegetable oils such as flaxseed oil, canola oil, and soybean oil (Olgunoglu, 2017), but the transformation of vegetable-derived n-3 PUFAs into EPA and DHA in human metabolism has a very low rate (Burdge and Calder, 2005). Therefore, it is understood that the essential fatty acids such as EPA and DHA should be obtained from different sources and at this point, marine oils (MOs) rich in these fatty acids, containing between 5.4-13.2% EPA and 7.6-11.5% DHA (Wang et al., 2010), come to the fore. While people living at the seaside can take EPA

and DHA fatty acids that their bodies needed from kind of seafood, which constitutes an important part of their diets, other people have turned to omega-3 food supplements from MO to close this diet gap.

For this reason, MOs for providing rich PUFA have expanded in recent years and omega-3 food supplements from MO have become one of the popular dietary supplement products for consumers. Due to this high demand for these supplements, control analysis methods to ensure both label accuracy and product quality are of great importance in terms of protecting consumers who consume these products. Since the most important factor in determining the health-promoting properties and effectiveness of these MO products is the ratios of essential fatty acids such as EPA and DHA, the determination of fatty acid compositions with a suitable analytical technique is an important issue.

Currently, the composition of fatty acids in many samples such as biological samples and foods is commonly determined by gas chromatography (GC) with flame ionization detection (FID) due to its high sensitivity, selectivity, and wide analysis range. GC-FID is a unique technique for analysis of the fatty acid composition of edible oils and it is the highly recommended method of analysis in the edible oil industry and many research institutes (AOCS, 2017). In this method, the fatty acids in triglyceride form are first broken down into free fatty acids by a base-catalyzed reaction and then converted into volatile fatty acid methyl esters (FAME) derivatives with low molecular weight alcohol such as methanol. In this way, fatty acids converted into volatile ester derivatives can be separated by GC-FID employing a capillary GC column having high-polarity. Since all the fatty acids in the sample must be converted to the FAME derivatives, the most important step of this procedure is the correct esterification process. If the esterification of the oil sample is not done correctly, not all of the fatty acids can be converted to FAME derivatives and the analysis results having negative errors are obtained.

While the same GC-FID technique can be successfully applied for many edible oil samples, especially, the esterification step requires minor modifications because each edible oil has a different bioactive composition (Ayyildiz et al., 2015; Topkafa, 2016). Besides, food flavors that give to MOs a pleasant flavor, especially for children to willingly consume, and triglyceride preservatives are added to commercial MOs that are desired to have a long shelf life and, in this case, it is inevitable to develop a suitable and efficient esterification method for the edible oil to be analyzed.

Carvalho and Malcata (2005) studied the influence of various parameters in each step of derivatization reactions, using both cod liver oil and microalgal biomass. The accuracies of the methodologies were tested with AOCS standard method, whereas their reproducibility was assessed by analysis of variance. They showed that alkaline catalysts generated lower levels of long-chain unsaturated FAME than acidic ones. Among these, acetyl chloride and  $\text{BF}_3$  were statistically equivalent to each other. The standard method provided equivalent results when compared with acidic methylation with  $\text{BF}_3$  alone. However, they were not apply the method developed in their studies to any food supplements obtained marine oils and were not benefit from chemometric techniques.

To the best of our knowledge, there is no study involving an esterification method specifically developed for the determination of fatty acid compositions of MO supplements. In this study, an efficient, applicable, and special esterification method for the quantification of fatty acid compositions of MOs has been created. The esterification parameters, which are the temperature of esterification (A), the time of esterification (B), and the amount of hexane (C), were optimized within the framework of chemometric approaches by response surface methodology (RSM).

## MATERIALS AND METHODS

### Samples and Reagents

A total of 18 MO dietary supplements samples of different brands were purchased from the local

markets in Turkey. All chemicals and solvents of the analytical chromatographic grade used in this study were purchased from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA). The standard of FAME containing 37 compounds was purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA).

### Fatty Acid Composition by GC-FID

For the determination of fatty acid content of MOs, AOCS standard method (AOCS 2017) with some modifications was used. Briefly, the triglyceride structures of MOs were esterified by adding 1 mL of 2 N methanolic-KOH solution to the 1g of MO sample in a glass test tube. The mixture was heated in a magnetic stirrer and FAMEs were extracted using hexane. The temperature of esterification, the time of esterification, and the amount of hexane of the esterification procedure were changed according to the chemometric design. Then the mixture was dried using a small amount of anhydrous sodium sulfate. 1.5 mL of the dried mixture was filtered by 0.45  $\mu\text{m}$  nylon syringe filter and injected into GC-FID system in triplicate.

GC-FID system used in this study was employed consisting of an FID detector, thermostated column oven, and Agilent (CA, USA) HP-88 capillary column (100m x 0.25mm x 0.25 $\mu\text{m}$ , 88%-cyanopropyl)aryl-polysiloxane). The operating conditions were as follows: The temperature program of the column oven was held at 50°C for 2 min, and then increased at 4 °C/min from 50°C to 240°C, held at 240°C for 10 min. The temperature of the injection block was 250°C; the carrier gas was hydrogen; the flow rate was 1.0 mL/min; and the sample injection volume was 1.0  $\mu\text{L}$  (splitless). FAME peaks of the samples were identified based on comparing their retention times with FAME standard. The detector response was recorded on the software of the Chemstation data processor (Ver. B.03.02).

### Chemometric Experimental Design

RSM is one of the most relevant multivariate statistical technique in analytical method optimization and it is a hybrid of statistical and mathematical branches based on the fit of a polynomial model to the experimental data (Arslan et al., 2013; Memon et al., 2015; Tarhan et

al., 2017; Tarhan and Kara, 2016; Tarhan and Kara, 2019). Thanks to RSM, the behaviors of a data group are successfully defined by making statistical predictions. In order to develop a new esterification method for the quantification of fatty acid compositions of MOs, the esterification parameters that are the temperature of esterification (A), the time of esterification (B), and the amount of hexane (C), were optimized with RSM. The calibration design, three variables including A, B, and C was used based on the orthogonal central composite design (OCCD) by employing a three-variables, five-levels. The parameters and their coded level values are given in Table 1. The experimental designs generated and RSM graphics were achieved using the Design-Expert software (MN, USA, version 11). The level of 1.68179 represents the axis point of OCCD for three independent variables.

Firstly, 18 MO samples were esterified according to the standard method and the sample with the lowest esterification efficiency, MO1, was chosen for the experimental design. The sample of MO1 was esterified according to each experimental design given in Table 1 and injected into GC-FID system. The average peak areas of EPA and DHA fatty acids were calculated by using the chromatograms obtained from each analysis in Table 1 and the response value (R) was generated for each experimental design. The design with the highest R is considered the best esterification condition.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Optimization of The Proposed Esterification Method Parameters

The experimental design given in Table 1 was done to determine of optimum values of the developed esterification method parameters. Rs obtained from the chromatographic separation of EPA and DHA were determined in Table 1. From the variable values given in Table 1, equation 1 was generated and RSM plots (Figure 1) were generated using that equation.

$$R = 284.6490 - 113.6160A - 8.1134B + 18.9436C - 44.4725AB + 32.3450AC - 30.9500BC - 90.4758A^2 - 31.5862B^2 + 130.6970C^2$$

(Equation 1)

Figure 1a displays the effect of A and B on the relative response value. With a given A value up to the level of 0 (60°C), the relative response value increased and slowly decreased above the level of 0 (60°C) of A. This result indicates that the R value is the best for the esterification of the fatty acids at 60°C as the temperature of esterification. For B parameter, there is an increase of the relative response value, with the increase of B up to the level of 0 (40 min). The maximum response obtained from these levels was observed as 60°C and 40 min for A and B, respectively.

The effect of A and C on the relative response value shown in Figure 2b. With a given A value up to the level of 1.68179 (94°C), the relative response value decreased. But for C parameter, the relative response value was decreased up to the level of 0 (6 mL) and increased above the level of 0. The maximum response obtained from these levels was observed as 40°C and 4.3 mL for A and C, respectively.

The effect of B and C on the relative response value shown in Figure 3b is similar to the effect of A and C. The maximum response obtained from these levels was observed as 40 min and 7.7 mL for B and C, respectively.

The optimal conditions obtained using RSM and OCCD for the esterification of MO1 sample were as follows: the temperature of esterification, 60°C; the time of esterification, 40 min; and the amount of hexane, 4.3 mL. MO1 sample was esterified according to the optimal conditions and injected into GC-FID system. It was seen that all fatty acids of MO1 were successfully esterified and separated in Figure 1d. With the standard esterification method, only 16% of 18 MO samples gave usable results. The method we developed within the scope of the study has successfully esterified 88% of 18 MO samples.

### Fatty Acid Compositions of MO Samples with the Developed Esterification Method

18 MO samples were esterified according to the optimal conditions and injected into GC-FID system in order to validate. The fatty acid composition results obtained are given in

Supplementary files. 88% of all MO samples except MO6, MO7, MO11, and MO12 samples were successfully analyzed. It has been interpreted that this situation in the samples that failed to esterification is due to the different preservative, flavoring or coloring contents contained in the

relevant samples. The rate of degradation and utilization levels in human metabolism of this type of marine oils, whose triglyceride structure cannot be broken down even under harsh esterification conditions, is a matter of separate discussion.

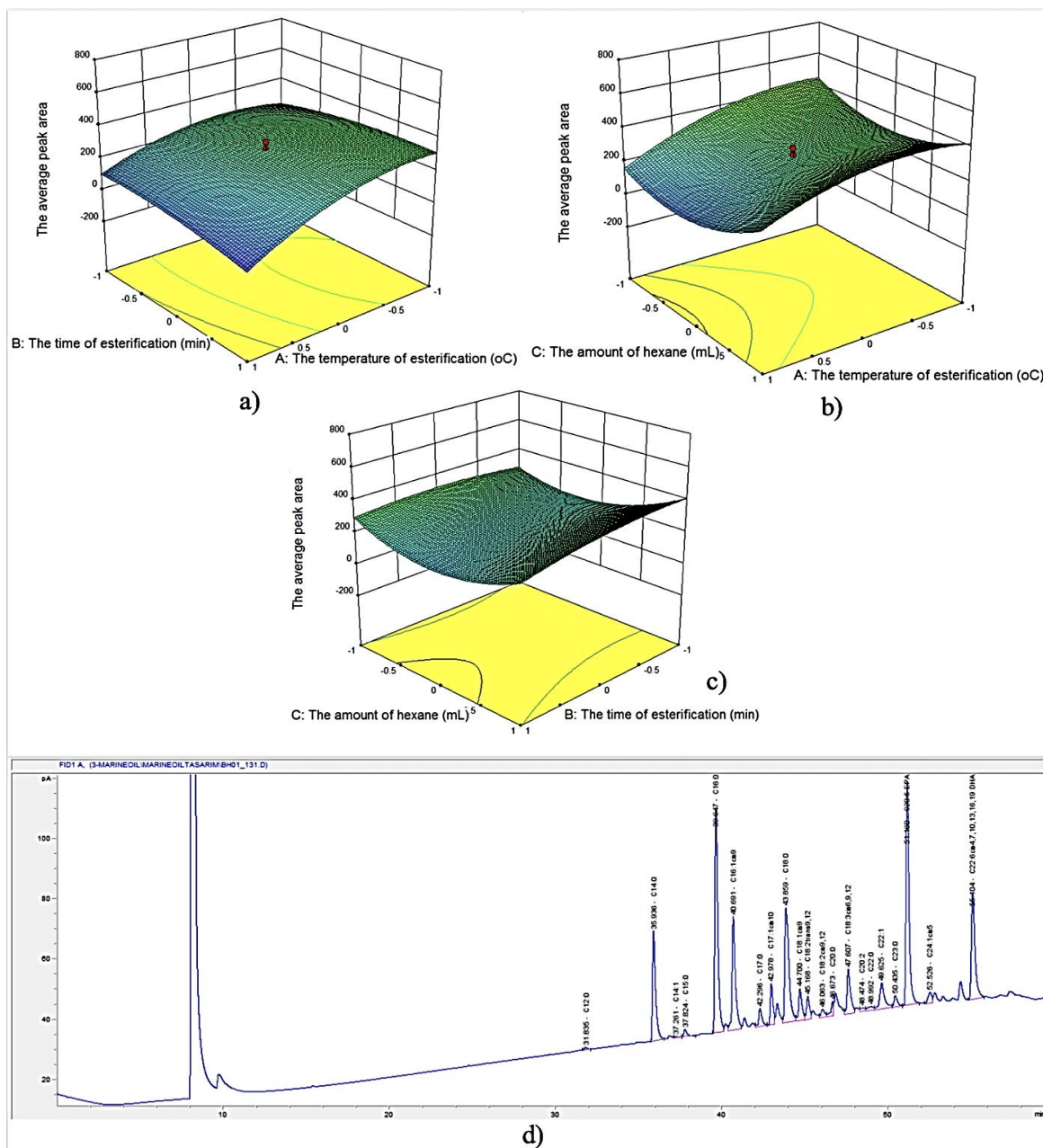


Figure 1. RSM profiles affected by the developed method parameters for the esterification of the fatty acids and their chromatogram obtained (a) A (the temperature of esterification) and B (the time of esterification), (b) B and C (the amount of hexane), (c) A and C, and (d) the chromatogram of the fatty acid composition of MO1 sample.

Table 1. OCCD and the values of the parameters used in RSM for (A: The temperature of esterification, °C; B: The time of esterification, min; C: The amount of hexane, mL; and R: Response value)

Coded levels and the values of the parameters							
Experiment number	Level for A	A (°C)	Level for B	B (min)	Level for B	B (mL)	R
1	-1	40	-1	20	-1	5	391.13
2	1	80	-1	20	-1	5	15.60
3	-1	40	1	60	-1	5	434.23
4	1	80	1	60	-1	5	1.25
5	-1	40	-1	20	1	7	452.93
6	1	80	-1	20	1	7	327.22
7	-1	40	1	60	1	7	492.67
8	1	80	1	60	1	7	68.63
9	-1.68179	26	0	40	0	6	114.98
10	1.68179	94	0	40	0	6	0.00
11	0	60	-1.68179	6	0	6	200.48
12	0	60	1.68179	74	0	6	247.63
13	0	60	0	40	-1.68179	4.3	754.57
14	0	60	0	40	1.68179	7.7	611.55
15	0	60	0	40	0	6	298.28
16	0	60	0	40	0	6	338.52
17	0	60	0	40	0	6	252.98
18	0	60	0	40	0	6	263.53
19	0	60	0	40	0	6	279.32
20	0	60	0	40	0	6	265.40

Fatty acid compositions of MO samples were evaluated using 11 different fatty acids and 4 different total saturation levels. Among them, stearic acid (C18:0) and EPA (20:5) were the major compounds as expected and it was followed by DHA (22:6) and palmitic acid (C16:0). The compound of stearic, EPA, DHA, and palmitic acids varied from 10.34% (MO3) to 37.68% (MO2), 0.00% (M11 and MO12) to 20.27% (MO16), 0.00% (MO6, MO7, MO11, MO12, and MO17) to 17.60% (MO18), and 5.48% (MO12) to 23.18% (MO7), respectively. The total ratio of saturated fatty acids (SFAs), the total ratio of monounsaturated fatty acids (MUFAs), the total ratio of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), and the total ratio of omega-3 fatty acids were found to be highest in MO2 (57.59%), MO5 (18.48%), MO18 (36.59%), and

MO18 (36.59%), respectively (Supplementary files).

## CONCLUSION

In this study, a new esterification method for the esterification of fatty acids of MOs has been successfully developed by employing the chemometric techniques. The method is effective, applicable, and simple as well as avoiding the use of excessive chemicals. The developed method has great potential for the routine analysis of MO samples and certification of the commercial MO products. As a result, the proposed esterification method could be easily used for effective determination of the fatty acid composition of MOs with GC-FID system.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

The author wants to thank the Scientific Research Projects Foundation of Selçuk University (SUBAP-Grant Number 19401049) for the financial support of this work. The author also would like to thank Büşra Allak and Hatice Bulut, who are undergraduate students in the Biochemistry Department, for their helps during the studies.

**REFERENCES**

- AOCS (2017). Official methods of analysis: Fatty Acids in Edible Oils and Fats by Capillary GLC, Ce 1a-13, USA.
- Arslan, F.N., Kara, H., Ayyildiz, H.F., Topkafa, M., Tarhan, I., Kenar, A. (2013). A Chemometric Approach to Assess the Frying Stability of Cottonseed Oil Blends During Deep-Frying Process: I. Polar and Polymeric Compound Analyses. *J Am Oil Chem Soc* 90:1179-1193, doi:10.1007/s11746-013-2266-4.
- Ayyildiz, H.F., Topkafa, M., Kara, H., Sherazi, S.T.H. (2015). Evaluation of Fatty Acid Composition, Tocols Profile, and Oxidative Stability of Some Fully Refined Edible Oils. *Int J Food Prop* 18:2064-2076, doi:10.1080/10942912.2014.962657.
- Barceló-Coblijn, G., Murphy, E.J. (2009). Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Prog Lipid Res* 48:355-374, doi:https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.07.002.
- Burdge, G.C., Calder, P.C. (2005). Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod Nutr Dev* 45:581-597.
- Carvalho, A.P., Malcata, F.X. (2005). Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Marine Lipids: Insight Studies. *J Agric Food Chem* 53(13):5049-5059, doi:10.1021/jf048788i.
- Chang, G., Gao, N., Tian, G., Wu, Q., Chang, M., Wang, X. (2013). Improvement of docosahexaenoic acid production on glycerol by *Schizochytrium* sp. S31 with constantly high oxygen transfer coefficient. *Bioresour Technol* 142:400-406, doi:https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.107.
- Li, J. et al. (2015). A strategy for the highly efficient production of docosahexaenoic acid by *Aurantiochytrium limacinum* SR21 using glucose and glycerol as the mixed carbon sources. *Bioresour Technol* 177:51-57, doi:https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.046.
- Marchioli, R. et al. (2002). Early Protection Against Sudden Death by n-3 Polyunsaturated Fatty Acids After Myocardial Infarction. *Circulation* 105:1897-1903, doi:doi:10.1161/01.CIR.0000014682.14181.F2.
- Mata, A., Liu, S., Sjöberg, M., Zetterström, R., Griffiths, W., Sjövall, J., Perlmann, T. (2001). Docosahexaenoic Acid, a Ligand for the Retinoid X Receptor in Mouse Brain. *Science* 290:2140-2144, doi:10.1126/science.290.5000.2140.
- Memon, F.N. et al. (2015). Application of central composite design for the optimization of on-line solid phase extraction of Cu<sup>2+</sup> by calix[4]arene bonded silica resin. *Chemometr Intell Lab* 146:158-168, doi:https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2015.05.020.
- Mozaffarian, D., Rimm, E.B. (2006). Fish Intake, Contaminants, and Human Health Evaluating the Risks and the Benefits. *JAMA* 296:1885-1899, doi:10.1001/jama.296.15.1885.
- Niemoller, T.D., Bazan, N.G. (2010). Docosahexaenoic acid neurolipidomics. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 91:85-89, doi:https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2009.09.005.
- Olgunoglu, İ. (2017). Review on Omega-3 (n-3) Fatty Acids in Fish and Seafood. *J Biol Agri Health* 7:37-45,
- SanGiovanni, J.P., Chew, E.Y. (2005). The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res* 24:87-138, doi:https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2004.06.002.

Tarhan, İ., Ismail, A.A., Kara, H. (2017). Quantitative determination of free fatty acids in extra virgin olive oils by multivariate methods and Fourier transform infrared spectroscopy considering different absorption modes. *Int J Food Prop* 20:S790-S797, doi:10.1080/10942912.2017.1312437.

Tarhan, İ., Kara, H. (2016). A chemometric study: Automated flow injection analysis method for the quantitative determination of humic acid in Ilgın lignite. *Arab J Chem* 9:713-720, doi:https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.09.002

Tarhan, İ., Kara, H. (2019). A new HPLC method for simultaneous analysis of sterols, tocopherols, tocotrienols, and squalene in olive oil deodorizer

distillates using a monolithic column with chemometric techniques. *Anal Methods* 11:4681-4692, doi:10.1039/C9AY01525F.

Topkafa, M. (2016). Evaluation of chemical properties of cold pressed onion, okra, rosehip, safflower and carrot seed oils: triglyceride, fatty acid and tocol compositions. *Anal Methods* 8:4220-4225, doi:10.1039/c6ay00709k.

Wang, J., Reyes Suárez, E., Kralovec, J., Shahidi, F. (2010). Effect of Chemical Randomization on Positional Distribution and Stability of Omega-3 Oil Triacylglycerols. *J Agric Food Chem* 58:8842-8847, doi:10.1021/jf101582u.

Supplementary file 1. Fatty acid (%) composition<sup>a</sup> of MO samples

Sample	C14:0 (Rt:35.9)	C16:0 (Rt:39.6)	C16:1 (Rt:40.7)	C18:0 (Rt:43.9)	C18:1 (Rt:44.7)	C18:2 (Rt:46.0)	C18:3 (Rt:47.6)	C20:0 (Rt:46.7)	C22:1 (Rt:49.6)	C20:5 EPA (Rt:51.2)	C22:6 DHA (Rt:55.1)
MO1	7.69	15.25	8.75	11.09	2.48	0.76	0.93	3.04	3.68	15.88	9.07
SD±	0.27	0.34	0.20	0.17	0.02	0.04	0.05	0.27	0.10	0.33	0.26
MO2	5.49	12.18	5.54	37.86	1.90	0.00	2.05	1.22	1.69	8.12	5.01
SD±	0.44	0.46	0.44	5.21	0.15	0.00	1.04	0.46	0.25	1.47	0.93
MO3	4.59	13.59	6.05	10.34	1.01	0.41	2.35	3.75	1.96	9.56	13.69
SD±	0.43	1.40	0.54	0.76	0.14	0.13	0.05	0.89	0.07	0.81	1.98
MO4	6.46	14.22	8.68	11.21	2.17	0.60	1.49	1.95	4.38	14.39	7.45
SD±	1.33	2.38	1.41	1.39	0.20	0.19	0.67	0.43	0.73	1.42	0.97
MO5	3.80	8.44	9.60	19.94	0.53	0.38	15.14	8.34	2.95	7.52	8.26
SD±	0.21	0.19	0.22	0.22	0.01	0.02	0.09	0.16	0.02	0.09	0.13
MO6	0.00	12.92	0.00	17.88	0.00	0.00	0.00	3.66	0.00	8.76	0.00
SD±	0.00	3.81	0.00	5.94	0.00	0.00	0.00	6.34	0.00	5.54	0.00
MO7	0.00	23.18	0.00	20.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.96	0.00
SD±	0.00	10.84	0.00	17.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.45	0.00
MO8	6.62	21.42	8.49	11.57	1.84	0.00	2.47	2.07	2.75	14.52	7.28
SD±	0.36	0.02	0.20	0.12	0.30	0.00	0.26	0.16	0.08	0.84	0.64
MO9	7.49	16.37	9.00	11.58	2.14	0.57	2.87	3.35	3.04	16.19	10.32
SD±	0.58	0.33	0.23	0.15	0.07	0.02	0.11	0.37	0.05	0.36	0.23
MO10	7.03	14.78	9.59	11.95	2.84	0.55	0.63	2.43	2.82	16.19	6.02
SD±	0.39	0.37	0.24	0.11	0.04	0.06	0.05	0.32	0.08	0.39	0.30
MO11	0.00	6.22	0.00	11.65	1.15	0.00	0.00	1.05	0.00	0.00	0.00
SD±	0.00	0.32	0.00	1.58	0.07	0.00	0.00	1.81	0.00	0.00	0.00
MO12	0.00	5.48	0.00	12.84	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SD±	0.00	0.15	0.00	0.42	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MO13	2.29	14.14	6.04	16.84	0.89	0.75	4.50	6.81	2.06	13.13	12.80
SD±	0.19	0.30	0.19	0.46	0.32	0.13	0.13	1.11	0.01	0.34	0.25
MO14	5.08	13.50	8.71	12.34	2.12	1.08	2.92	4.62	3.23	17.32	5.11
SD±	0.72	1.11	1.01	0.67	0.16	0.37	0.30	1.29	0.47	1.74	0.85
MO15	3.74	13.15	8.30	12.68	1.94	0.63	3.23	4.15	3.24	19.30	6.96
SD±	0.23	1.10	0.76	0.41	0.13	0.06	0.20	0.36	0.02	0.78	0.67
MO16	0.94	10.20	4.00	15.50	0.00	0.00	0.00	8.48	0.78	20.27	14.90
SD±	1.63	1.05	0.56	1.80	0.00	0.00	0.00	0.58	1.35	1.48	3.27
MO17	0.00	20.06	0.00	35.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00
SD±	0.00	0.07	0.00	1.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.19	0.00
MO18	0.00	12.93	4.43	21.25	0.00	0.00	0.00	7.44	0.00	18.99	17.60
SD±	0.00	0.56	0.21	0.65	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.21	0.53

<sup>a</sup>Values are means of three measurements and ± standard deviation

MO: Marine oil      EPA: Eicosapentaenoic acid      DHA: Docosahexaenoic acid      SD±: Standard deviation  
Rt: Retention time (min)

Supplementary file2. Fatty acid (%) composition<sup>a</sup> of MO samples (contunied)

Sample	Other	Total SFA	Total MUFA	Total PUFA	Total $\omega$ 3
MO1	21.37	34.97	14.26	29.40	28.64
SD $\pm$	0.76	0.65	0.16	0.56	0.57
MO2	18.95	57.59	8.66	14.81	14.81
SD $\pm$	9.83	7.01	0.20	2.65	2.65
MO3	32.70	30.86	10.81	25.62	25.21
SD $\pm$	5.69	2.53	0.88	2.62	2.75
MO4	27.01	33.38	12.79	26.82	26.23
SD $\pm$	7.35	4.47	1.17	1.97	2.04
MO5	15.11	47.32	18.48	19.10	18.72
SD $\pm$	0.40	0.56	0.06	0.22	0.19
MO6	56.79	30.80	3.66	8.76	8.76
SD $\pm$	6.92	9.55	6.34	5.54	5.54
MO7	52.35	43.68	0.00	3.96	3.96
SD $\pm$	11.04	7.71	0.00	3.45	3.45
MO8	20.97	42.08	12.40	24.55	24.55
SD $\pm$	0.86	0.43	0.35	1.52	1.52
MO9	17.08	38.31	14.49	30.12	29.54
SD $\pm$	0.30	0.76	0.23	0.65	0.65
MO10	25.17	34.39	14.86	25.58	25.03
SD $\pm$	0.69	0.79	0.23	0.81	0.75
MO11	79.93	17.87	2.20	0.00	0.00
SD $\pm$	0.61	1.87	1.78	0.00	0.00
MO12	81.68	18.32	0.00	0.00	0.00
SD $\pm$	0.56	0.56	0.00	0.00	0.00
MO13	19.74	37.78	13.74	28.74	27.99
SD $\pm$	0.61	0.17	0.75	0.59	0.57
MO14	23.97	33.85	15.45	26.74	25.66
SD $\pm$	1.66	1.87	1.43	2.19	2.26
MO15	22.70	32.79	14.39	30.12	29.49
SD $\pm$	0.71	1.52	0.57	1.44	1.39
MO16	24.93	26.64	12.48	35.95	35.95
SD $\pm$	1.22	4.28	0.66	5.76	5.76
MO17	41.21	55.79	0.00	3.00	3.00
SD $\pm$	4.14	1.05	0.00	5.19	5.19
MO18	17.37	34.18	11.86	36.59	36.59
SD $\pm$	1.16	1.21	0.30	0.37	0.37

<sup>a</sup>Values are means of three measurements and  $\pm$  standard deviation

MO: Marine oil

SFA: Saturated fatty acid

MUFA: Mono unsaturated fatty acid

PUFA: Poly unsaturated fatty acid

$\omega$ 3: Omega-3



## GIDA ETİKETLERİNDE YER ALAN BİLGİLERİN SAĞLIKLI ALGILANMA (HEALTH HALO) ETKİSİ

Atilla Bektaş<sup>\*1</sup>, Meltem Ulusoy<sup>2</sup>, Vuslat Bektaş<sup>3</sup>

<sup>1</sup>) Özel Ankara Cerrahi Tıp Merkezi, Gastroenteroloji Bölümü, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>) Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Uygulamalı Biyoloji ABD, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>) Tarım ve Orman Bakanlığı, SGB Emekli, Ankara, Türkiye

Geliş / *Received*: 27.03.2020; Kabul / *Accepted*: 06.06.2020; Online baskı / *Published online*: 16.06.2020

Bektaş, A., Ulusoy, M., Bektaş, V. (2020). Gıda etiketlerinde yer alan bilgilerin sağlıklı algılanma (health halo) etkisi. *GIDA* (2020) 45(3) 590-599 doi: 10.15237/gida.GD20045

Bektaş, A., Ulusoy, M., Bektaş, V. (2020). Health halo effect of food labels. *GIDA* (2020) 45(3) 590-599 doi: 10.15237/gida.GD20045

### ÖZ

Sosyal psikolojide ilk etki olarak bilinen halo etkisi/ hatası bir nesne veya kişi ilk görüldüğünde edinilen anlık izlenim olup, kararların temelini oluşturur. Günümüzde birçok gıda şirketi, ürün etiketlerinde yer alan FOP (front on package) bilgisini kullanarak bir çeşit sağlıklı algılanma etkisi yaratmayı satış stratejisi olarak kullanmaktadır. Örneğin gıda etiketleri üzerinde yer alan, düşük yağlı, tuzsuz, düşük kalorili, glutensiz, yüksek proteinli, yüksek lifli, GDO'suz, gibi gıdanın içerik bilgilerinin yanında; ürünün üretim sürecindeki tercihleri ifade eden organik, doğal, katkısız, "süper gıda" ya da "fair trade" gibi etik ifadeler kullanılmaktadır. Sağlıklı algılanma etkisi ile tüketici tercihleri manipüle edilmektedir. Çölyak hastalığı, fenilketonüri hastalığı gibi özel hastalıklar için hazırlanan ürünler ve laktozsuz, tuzsuz vb durumlar hariç; sağlıklı algılanma etkisi yaratan zihinsel kısa yolları devre dışı bırakmak için "düz paketleme" önerilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Sağlıklı algılanma etkisi, ilk etki, gıda etiket bilgileri

### HEALTH HALO EFFECT OF FOOD LABELS

#### ABSTRACT

Nowadays, many food companies are creating some kind of health halo effect with the FOP (front on package) information on their product packaging. The halo effect/mistake, known as the first effect in social psychology, is the instant impression you get when you first see an object or person, and it is the basis of how we evaluate and assess that person or object. For example, in addition to ingredients information that appears on the FOP such as low-fat, no-salt, low-calorie, gluten-free, high-protein, high-fiber, GMO-free information is also provided about the production process used to produce the product, such as organic, natural, unadulterated, "super food", "fair trade". Unfortunately, consumer preferences are being manipulated through health halo effect. With the exception of foods that are sold for special diseases such as celiac, or phenylketonuria diseases, or for lactose-free, salt-free, etc products "plain packaging" would be recommended to disable mental short cuts that create health halo effect.

**Key words:** Health halo effect, halo effect, food label information

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉ atillabektas2000@yahoo.com

☎: (+90) 312 473 8855

☎: (+90) 312 473 7222

Atilla Bektaş; ORCID no: 0000-0001-7775-3770

Meltem Ulusoy; ORCID no: 0000-0002-3885-2714

Vuslat Bektaş; ORCID no: 0000-0002-7885-2997

## GİRİŞ

Gıda etiketleri üzerinde düşük yağlı, tuzsuz, düşük kalorili, glutensiz, yüksek proteinli, yüksek lifli, GDO'suz, gibi gıdanın içerik bilgilerinin yanında; ürünün üretim sürecindeki tercihleri ifade eden organik, doğal, katkısız, süper gıda tanımları, fair trade gibi adil ticaret yapıldığına ilişkin ifadeler kullanılmaktadır. Her iki bilgilendirme de tüketicide sağlıklı algılanma etkisi yaratmakta ve tüketicinin o ürüne yönelmesine neden olmaktadır.

Etiket bilgisinin (görsel ya da yazılı ifade) tüketicide yarattığı bu algı, ilk etki (halo effect) olarak üründen bağımsız olarak gelişmekte ve ürünün gerçekte olduğundan farklı değerlendirilmesine yol açabilmektedir (Talatı, et.al., 2016; Fernan, et.al., 2018)

Farklı markalar satış amaçlı olarak, etiket bilgileri üzerinden tüketici eğilimlerini manipüle etmektedirler. Bu şekilde ürünün daha sağlıklı algılanmasını, tüketicinin seçimini ve tüketim miktarını etkilemektedirler. Bu konudaki mevzuat yetersizliği ve uygulamadaki aksaklıklar nedeniyle tüketicinin yanıltılması söz konusudur

## BESLENME VE HASTALIK İLİŞKİSİ

Geçmişte ölümlere neden olan mikrobik hastalıkların yerini günümüzde kalp damar hastalıkları, obezite, tip 2 diyabet, nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı vb) gibi kronik hastalıklar ve kanser almıştır (Mozaffarian, 2016).

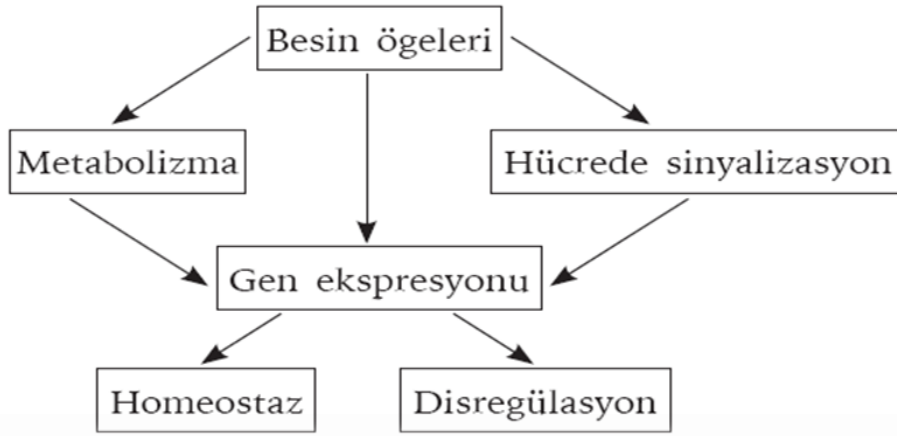
FDA raporuna göre, Dünya'daki 10 ölüm nedeninden 6'sında gıda, beslenme ve yaşam tarzı etkili olmaktadır (FDA, 2018). Dolayısıyla "sağlıksız beslenme" ile kronik hastalık ve kanser oluşumu arasındaki pozitif ilişki her geçen gün önem kazanmaktadır. Günümüzde sanayileşme ile insanlar "Akdeniz diyeti" gibi geleneksel beslenme şekillerini terk edip, "Batı tipi beslenme" "Western diet" olarak da adlandırılan sağlıksız bir beslenme şekline geçmektedirler. Şekerli/gazlı içecekler, fazla miktarda doymuş yağ içeren hayvansal gıdalar, tatlılar, rafine unlu mamuller, tuzlu atıştırmalıklar ve işlenmiş gıdalar ile tekrar tekrar ısıtılıp servis edilen yiyecekler bu diyetin

temelini oluşturmaktadır. "Western diet"e geçiş obezite ve gıdalara bağlı kronik hastalıklara ve bazı kanser türlerinde artışa neden olmaktadır (Castro-Quezada, et.al., 2014; Mentella, et.al.,2019).

Beslenme (nutrisyon) biliminde, 1780'lerden sonra besinlerin kimyasal yapısının aydınlatılmasıyla "kimyasal devrim" yaşandı. Bu şekilde "klasik beslenme anlayışı" oluştu ve beslenmede besin öğelerinin eksikliğinin, hastalık oluşumuna etkisi ortaya konuldu. Eskiden uzun deniz seferlerine çıkan denizcilerde, taze meyve sebze tüketmemeleri nedeniyle görülen skorbut hastalığının C vitamini eksikliğinden kaynaklandığı, beriberi hastalığının B1 vitamini eksikliğinde ortaya çıktığı örnek olarak verilebilir (Carpenter, 2003; Lee, 2019). Tıpta bir ya da daha fazla besin öğesinin vücut dengesini bozacak şekilde yetersiz alınması sonucunda ortaya çıkan klinik tablo malnütrisyon olarak adlandırılmaktadır. Bu tablo genel olarak ilk beş yaşta protein ve enerji malnütrisyonu (PEM) olarak karşımıza çıkmaktadır (WHO, Geneva, 2010).

Klasik beslenme anlayışı ile "Yeterli ve dengeli beslenme" kavramı ortaya çıkmıştır. Böylelikle insanın yaş, cinsiyet ve fizyolojik durumuna göre; gereksinimi olan bütün besin öğelerini yeterli miktarda ve dengeli olarak alması hedeflenmiştir. Son yıllarda makrobesin ve vitamin-mineral gibi mikrobislerin yanı sıra fitokimyasalların, prebiyotikler, biyoaktif peptitler ve diyet lifi gibi fonksiyonel gıdaların da beslenmedeki öneminin anlaşılmasıyla "Optimal beslenme" kavramı ortaya çıkmıştır (Percival, 1997; Hasler, 1998; Shao,et.al., 2017).

1989 da başlayan ve 14 yıl sonra 2003 yılında tamamlanan, İnsan Genom Projesi (HUGO) ile gerçekleşen 'genomik devrim', hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir devrim başlamasına neden olmuştur (Van Ommen, 2002; Phelan, et.al., 2013; Shamim,et.al.,2017). Genomik devrimle, besin öğelerinin doğrudan ve dolaylı olarak gen ekspresyonu üzerindeki etkileri incelenmeye başlanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Gen ekspresyonu

Bütün bunlar kronik hastalıkların ve kanserin önlenmesinde "akılcı diyet (intelligent)" ya da "tailor made" beslenme kavramlarını tartışmaya açmıştır. Böylece bireylerin genetik yapılarına dayalı farklılıklar nedeniyle, uygulanan diyetle verdikleri farklı tepkiler, insan sağlığının iyileştirilmesi ve hastalıkların önlenmesinde kullanılabilir (Trujillo, et.al., 2006; Guasch-Ferré, et.al.,2018).

Bugün coğrafi sınırların aşıldığı global dünyada, herhangi bir yerde üretilen, gıdaya erişim kolaylaşmıştır. Tüketicinin, market ve pazar alışverişlerinde farklı yerlerde üretilmiş pek çok yeni ürünle karşılaşma olanağının artırılması, bireylerin gıda tercihlerinde, daha bilinçli, dikkatli ve seçici olmalarını gerektirmektedir.

### SAĞLIKLI ALGILANMA ( HALO ) ETKİSİ NEDİR

Sosyal psikolojide ilk etki olarak bilinen halo etkisi/ hatası (halo effect) bir nesne veya kişi ilk görüldüğünde edinilen anlık izlenim olup, alınan kararların temelini oluşturur. Gıda etiketlerinin halo etkisinde iki mekanizma rol oynamaktadır.

Self-Regulatory Mechanisms: Tüketici bir gıdayı lezzeti için ya da faydası için tüketmektedir.

Inferential Mechanisms: Tüketici bir reklamda yer alan sağlıklı ifadesini kabul edilmiş, onaylanmış

bir bilgi olarak görür ve sorgulamadan kabul eder (Chandon, et.al. 2007).

### GIDA ETİKET BİLGİLERİNİN GIDA ETİĞİ VE SAĞLIKLI ALGILANMA ETKİSİ (HEALTH HALO EFFECT) AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Günümüzde birçok gıda şirketi ürün etiketlerinde yer alan FOP (front on package) bilgisiyle bir çeşit sağlıklı algılanma etkisi yaratmaktadır (Méjean, et.al.,2013).

Gıda etiketinde yer alan düşük yağlı, düşük kalorili, glutensiz, yüksek proteinli, yüksek lifli, GDO'suz, gibi gıdanın içerik bilgilerinin yanında; ürünün üretim sürecindeki tercihleri ifade eden organik, doğal, katkısız, adil ticaret (fair trade) vb ifadelerin de sağlıklı algılanma etkisi yarattığı konusunda pek çok akademik çalışma bulunmaktadır (Orquin, et.al., 2015; Talatı, et.al., 2016; Ikonen, et.al., 2019).

Sektör kimi zaman gıda etiketlerinde dini inançlara uygun olarak üretildiğini öne sürdüğü gıdalarla da health halo etkisi oluşturabilmektedir.

Örneğin etnik merkezli (ethnocentric) pazarlamada ön plana çıkan etiketlerdeki helal ürün ifadesi, gıda pazarında en çok kullanılan dinsel içerik olmuştur. (Wilkins, et.al.,2019).

Piyasada talep yaratmak, rekabet edebilmek için tüketici eğilim ve davranışları yönlendirilmektedir. Sağlık mı? Kâr mı? İkilemindeki etik anlayışından insan sağlığı olumsuz şekilde etkilenebilmektedir.

### **GIDADA PAZARLAMA STRATEJİSİ OLARAK SAĞLIKLI ALGILANMA ÖRNEKLERİ**

Gıda sektörü tarafından sağlıklı algılanma etkisinin bir pazarlama stratejisi olarak kullanılması 1990'ların sonlarında "kolesterolsüz" ifadesinin bazı gıdaların etiketlerinde yer almasıyla başlamıştır (Fernan, et.al, 2018).

Piyasadaki rekabet ortamında, tüketici eğilim ve davranışlarını yönlendirerek talep yaratmak ve satışları artırmak için, görsel, yazılı ve sosyal medyada yeni bir görsel ve yazılı içerik kullanımı söz konusudur.

Satış amaçlı yaratılan bu yeni içerik üretimi, sağlıklı algılanma (health halo) etkisi üzerinden tüketici satın alma davranışlarının manipüle edilmesine yol açmaktadır.

#### **Gıda etiketlerindeki etik bilgilerin "sağlıklı algılanma etkisi"**

Üretici firmanın etikette sosyal sorumlulukları dikkate aldığı belirten etik ifadeler kullanması, çoğunlukla tüketicileri olumlu şekilde etkilemektedir.

Örneğin firmanın çevreye duyarlılık, çalışanların sosyal güvenliğinin sağlanması, kadın işgücüne öncelik, çocuk işgücü kullanılmaması konularının ilke edindiği adil ticaret (fair trade) ifadesinin etiketlerde kullanılması tüketicinin o ürüne olan tercihini olumlu olarak etkilemektedir.

Bu konuda ABD'de yapılan bir çalışmada, çikolata etiketinde adil ticaret ilkelerine uygunluk (fair trade) ifadesinin yer almasının tüketici talebine olan etkisi araştırılmıştır.

Araştırmaya katılan farklı yaş, cinsiyet, eğitim ve siyasi görüşte 192 tüketici, etiketinde fair trade ifadesi bulunan çikolatayı daha az kalori içerdiğini düşünerek tercih etmiştir. Tüketici tercih yaparken, fair trade ifadesinin ürünün başka özelliklerini de iyileştirdiğini düşünmüştür (Chandon, et.al.2007; Benson, et.al. 2018).

#### **Gıda etiketlerindeki light, zero, diyet ifadeli içeceklerin "sağlıklı algılanma etkisi"**

Tüketici özellikle şeker yerine yapay tatlandırıcı kullanılan içeceklerin (diyet, light, zero) daha sağlıklı olduğu gibi bir yanılgıya sahiptir.

Ancak araştırmalar, diyet içecek seçeneklerinin kilo alımına neden olduğu göstermişlerdir. Fazla miktarda aspartam içeren bu içeceklerin, insülin salgısının artışı neden olarak kan şekerini düşürüp, açlık hissi oluşturduğunu göstermektedir (Mooradian, et.al., 2017; Sylvetsky, et.al., 2018).

#### **Gıda etiketlerindeki doğal organik katkısız ifadelerinin "sağlıklı algılanma etkisi"**

Araştırmalar bir gıdanın bir yönüyle sağlıklı olarak gösterilmesinin, tüketicilerin genellikle bu gıdayı tamamen sağlıklı olarak kategorize ettiklerini ve kalori içeriğini küçümseyerek fazla miktarda tükettiklerini göstermektedir.

Örneğin trans yağ içeren patates cipsi etiketinde "organik patatesten yapılmıştır" ifadesinin olması o marka cipsin yağ ve tuz içeriğini ihmal edilmesine neden olmaktadır. Hamburgerin "anne hamburgeri" etiketiyle sunulması da tüketicide sahte bir sağlıklı olma algısı oluşturmakta, tüketilen gıda miktarını artırmaktadır (Chandon, et.al. 2007; Sundar, et.al. 2015).

Benzer şekilde etiketinde GDO içermeyen ifadesi taşıyan bir ürün, trans yağ ve fazla miktarda nişasta bazlı fruktoz içeren bir gıda olabilir. Kişiler bu gıdaları daha sağlıklı olduğunu düşünerek fazla miktarda tüketebilir.

#### **Gıda etiketlerindeki "glutensiz" ifadesinin "sağlıklı algılanma etkisi"**

Çölyak hastalığının toplumda görülme sıklığı % 1 civarında olmasına rağmen ABD'de pek çok kişi; "çölyak hastası" olmamasına rağmen, daha sağlıklı olduğunu düşünerek glutensiz gıdaları tercih etmektedir (L. G. H. 2016).

Çölyak dışı gluten hassasiyeti/duyarlılığı (ÇDGH) ise özellikle son on yılda adı sıkça duyulan bir durumdur. ÇDGH'nin toplumda yaklaşık %6 oranında görüldüğü kabul edilmektedir. Bununla beraber ÇDGH tanısı için, Çölyak hastalığındaki gibi kesin tanı kriterlerinin olmaması ve çoğu kez

tıbbi bir değerlendirme yapılmadan kişilerin kendi kendilerine bu tanıyı koymalarından dolayı, hastalığın gerçek görülme sıklığı hakkında güvenilir bir veri mevcut değildir. Hastalığın görülme sıklığı, çoğu kez anket gözlemlerine dayanan heterojen grupları içerdiğinden %0.63-6 gibi geniş bir aralıkta bildirilmektedir. (Venter, et.al., 2016; Bektaş, et.al., 2018).

Bazı araştırmacılara göre, çölyak hastalığından biraz daha yaygın görülen ÇDGH, toplumun % 10-20'sini etkileyen irritabl bağırsak sendromunun (IBS) bir alt grubunu olduğu düşünülmektedir. ÇDGH ile ilgili şikayetler IBS ile benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, her iki durumda çölyak hastalığı kadar ciddi değildir (Bektaş,et.al., 2018).

Buna karşın Tüketici Anketleri Ulusal Araştırma Merkezi tarafından yapılan anket sonuçlarına göre, Amerikalıların % 63'ü glutensiz bir diyetin zihinsel veya fiziksel sağlıklarına iyi geleceğine inanmaktadır. 2016'da 15.5 milyar dolarlık glutensiz diyet pazarının önümüzdeki yıllarda daha da büyüyeceği öngörülmektedir (Niland,et.al.,2018).

Glutensiz ürünlerin büyük kısmı, işlenmiş ürünlerdir. Bunlar doymuş yağ ve tuz miktarı fazla, kalorisi yüksek aynı zaman pahalı ürünlerdir. Hâlbuki buğday gibi tahıl grubu gıdalar, hem ekonomik hem de kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle beslenmede önem taşırlar. Tahıllar dünyadaki en sağlıklı diyetlerden biri olarak kabul edilen Akdeniz diyetinin ana bileşenini oluştururlar. O nedenle doktor tanısı ve tavsiyesi olmadan, sağlıklı olma açısından glutensiz diyet uygulamalarının önerilmesi doğru değildir (Bektaş, et.al. 2018; Gül, et.al., 2018; Lee, et.al., 2019; Devries, et.al., 2020).

#### **Fermente ürünlerin sağlıklı algılanma etkisi**

Dünyada 42 milyar dolarlık bir probiyotik pazarı vardır (Holban, et.al., 2018). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) probiyotikleri, yeterli miktarda alındıklarında insan sağlığı üzerinde faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar (bakteri, maya) olarak tanımlamaktadır (Markowiak, et.al.,2017).

Ancak içinde canlı bakteri içeren her fermente beslenme ürünü "probiyotik gıda" olarak kabul edilmez (Rezac, et.al., 2018).

Türk Gıda Kodeksine göre probiyotik gıda; içerisinde raf ömrünün sonuna kadar yeterli miktarda canlı probiyotik mikroorganizma (1 gramında ya da mililitresinde  $10^6$  KOB bakteri) bulunduran ve bunu muhafaza eden üründür (Anonim, 2006).

Yoğurt, kefir, kırmızı, turşu, boza, kombu çayı vb gıda ancak yukarıda bahsi geçen miktarda probiyotik özellikte bakteri taşıyorsa; probiyotik ürün olarak kabul edilir (Talatı, et.al., 2016; WGO, 2017).

Bir gıdanın probiyotik özelliğini, yüksek ısıya maruz kalması, raf ömrünü tamamlamış olması, ve gıdaya bazı kimyasalların ilave edilmesi bozar (Van den Nieuwboer, et.al., 2016; Flach, et.al., 2018; Fenster, et.al., 2019).

Kopenhag Üniversitesi'nde herhangi bir sponsor desteği olmadan probiyotik takviyeli bisküvi, süt bazlı içecekler ve kapsüllerin incelendiği yedi farklı randomize-plasebo kontrollü çalışma masaya yatırılmıştır. Araştırmada bu ürünleri tüketen kişilerin dışkı örneklerinde probiyotik bakteri çeşitliliğinin değişip değişmediği incelenmiş, bu çalışmalardan sadece birinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmuştur. Ancak bunun da klinik fayda sağladığına dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır (Kristensen, et.al., 2016).

#### **Sporcu içecekleri ve protein barlarının sağlıklı algılanma etkisi**

The California Center for Public Health Advocacy(CDC)raporuna göre, milyonlarca dolarlık sporcu içecekleri endüstrisi insanları bu içeceklerin faydası konusunda ikna etmek için "Health Halo" etkisi oluşturmaya çalışmaktadır. ABD'de içecek endüstrisi, okullarda gençlerin tercihlerini etkileyerek tüketimi artırmak için yılda 71 milyon dolardan fazla harcama yapmaktadır. Dünyadaki en büyük otomobil yarışı Formula-1'in destekleyicisi ünlü bir enerji içeceği markasıdır.

CDC araştırmacılarının 2011'de yaptıkları bir ankete göre 12-17 yaş arası gençlerin yüzde 20'si enerji içeceklerinin gençler için güvenli içecekler olduğuna inanmaktadır. Raporda sporcu içecekleri konusunda özellikle ebeveynlerin bilinçlendirilmesi ve çocukların bu takviyelerden uzak tutulması gerektiği konusunda vurgu yapılmıştır. Çünkü bu tür içecekler özellikle çocuklar için zararlı olabilecek çeşitli maddeler içermeleri yanında, fazla miktarda şeker taşıdıkları için obezite ve diyabet riskini de arttırmaktadır (Crawford, et.al., 2014).

Benzer şekilde doğal birçok protein kaynağı gıda varken, bu gün ABD'de her beş kişiden biri sağlıklı olduğuna inandığı için protein barlarını diyetlerine alarak, günlük protein ihtiyaçlarını tamamladıklarını düşünmektedir (Holban, et.al., 2018).

#### **Amerikan obezite paradoksu**

1991-2001 yılları arasında genç yaştaki Amerikalılarda obezite %23'den %31'e çıkmıştır. Aynı sürede düşük kalorili yiyecek ve içecek tüketimi ise % 48 den % 60'a çıkmıştır. Bu süre içinde ulusal tüketici anketlerine göre Amerika'da "sağlıklı diyet" (healthy diet) tüketim oranı yılda % 6 oranında artmıştır.

Ancak düşük kalorili içecek ya da yiyecek tüketimi beklendiği gibi obeziteyi azaltmamış tersine artırmıştır. Buna "Amerikan obezite paradoksu" denilmektedir. Bir başka anlatımla Amerikalılar etiketinde "light" ya da "diyet" yazan bir ürünü aşırı miktarda tüketerek fark etmeden fazla kalori almakta, dolayısıyla kilo vermek isterken kilo alabilmektedirler. Gıda tercihlerinin daha çok damak zevkine göre yapıldığı Belçika ve Fransa'da ise, obezite Amerika'ya göre daha düşük oranda görülmektedir. (Chandon, et.al. 2007).

Diğer taraftan araştırmalar bir gıdanın bir yönüyle sağlıklı olarak gösterilmesi durumunda, tüketicilerin genellikle bu gıdayı tamamen sağlıklı olarak kategorize ettiklerini ve kalori içeriğini küçümseyerek fazla miktarda tükettiklerini göstermektedir.

Journal of Consumer Research yayınlanan bir araştırmada, A zincir restoranlarının, B zincir restoranlarına göre daha sağlıklı olduğu yönündeki algı, Illinois Üniversitesindeki 320 öğrenci ve çalışanın tercihleri üzerinden analiz edilmiştir. Araştırma, deneklerin aynı miktarda kalori içermesine rağmen, A zincir restoranlarının daha az kalori içerdiğine inanıp, menüye tatlı veya içecek ilave ettiklerini göstermiştir. (Chandon, et.al., 2007).

#### **TÜRKİYE'DE "SAĞLIKLIL ALGILANMA ETKİSİ" KONUSUNDA YASAL DÜZENLEMELER VE ÖRNEKLER**

Sağlıklı algılanma (health halo) etkisinin gıda sanayisi tarafından bir pazarlama stratejisi olarak kullanılması, 90'lı yılların sonlarında "kolesterolsüz" ifadesinin bazı gıdaların etiketlerinde yer almasıyla başlamıştır (Fernan, et.al., 2018). "Health halo" Türkçe kelime olarak tam bir karşılığı olmasa da "sağlıklı algılanma etkisi" olarak ifade edilebilir.

Sağlıklı algılanma etkisi pazarlama stratejisi olarak ülkemizde de uygulanmaktadır. Konuyla ilgili mevzuat: 29/12/2011 tarih ve 28157 üçüncü mükerrer sayılı Resmî Gazetede yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği", 26 Ocak 2017 tarih ve 29960 mükerrer sayılı Resmî Gazetede yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği" ve kılavuzudur.

Mevzuat ve uygulama kılavuzunda konuyla ilgili bilgi ve açıklamalar mevcuttur. Gıda etiketlerindeki bilgilerin gıdanın niteliklerini yansıtması, etiketlerdeki gösterimler ve resimlerin, gıdanın çeşidi, bileşimi, kalitesi veya menşei açısından tüketiciyi yanıltmaması gerektiği belirtilmektedir.

Etiketlerde yer alan doğal, katkısız, negatif/pozitif beyanlar, var-yok tanımları, % 100 ifadelerinin nasıl kullanılacağı açıklanmıştır. Gıda etiketlerde "saf, gerçek ve hakiki" ifadelerinin kullanımı yasaktır. "Geleneksel" ifadesi ise, Türk Patent Enstitüsü tarafından tescil edilmiş ürünler için kullanılabilir. "Ev yapımı, anne eli değmiş" gibi

ifadeler, endüstriyel ölçekte üretilen gıdalar için kullanılamaz.

Ancak, ev yapımı tadında, anne eli değmiş gibi, geleneksel tat vb. ifadeler tüketici tercihine bırakıldığından kullanılabilir. Süper, bol, ekstra, daha fazla ifadelerinin kullanım şekilleri de aynı kılavuzda belirtilmiştir. "Anne hamburgeri" ifadesi yasal açıdan kullanılması uygun olmakla birlikte gerçekten sağlıklı mıdır? Meyve suyu konsantrelerinin "Vitamin" ya da "Antioksidan" ismi altında satılması doğru mu? Tüm bu soruların cevapları tartışmaya açıktır.

### SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Gıda etiket bilgilerinde standartlaşmaya gidilmesi, konuyla ilgili mevzuatlar üzerinden etiket bilgilerinin kontrol ve denetlemelerinin yapılması önemlidir. Bu konuda, "Sağlıklı algılanma etkisi" yaratan zihinsel kısa yolları devre dışı bırakmak için tüm gıdalarda düz/sade paketleme (plain package) uygulanması söz konusu olabilir.

Tüketicilerin günlük diyet seçimlerinde "Akdeniz diyeti" beslenme tarzı, doğal, işlenmemiş gıdalara ve yerel ürünlere öncelik vermesi önem taşır. Bu konuda üreticilerin desteklenmesi tüketicilerin bilinçlendirilmesi gıda güvenliği ve sağlık politikalarının öncelikleri arasında yer almalıdır.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bu makalede yazarların, diğer kişilerin ve kurumların arasında bir çıkar çatışması yoktur.

### YAZAR KATKILARI

AB makale konusunu araştırdı ve tasarladı. AB, VB ve MU makaleyi yazdı. Tüm yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

### KAYNAKLAR

Anonim, (2006). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme Ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Tebliğ No (2006/34). Sayı 26221.

Ares, G., Giménez, A., Gámbaro, A. (2009). Consumer perceived healthiness and willingness to try functional milk desserts. Influence of

ingredient, ingredient name and health claim. *Food Qual and Preference*, 20(1), 50-56.

Barreiro-Hurle, J., Gracia, A., De.Magistris, T. (2010). The effects of multiple health and nutrition labels on consumer food choices. *J Agricult Econ*, 61(2), 426-443.

Bektaş, A., Özel, M. (2018). Gluten: Dost mu, Düşman mı? *Güncel Gastroenteroloji* 22/2. ISSN 1301-2487. <http://guncel.tgv.org.tr/journal/74/pdf/100584.pdf>

Benson, T., Lavelle, F., Bucher, T., McCloat, A., Mooney, E., Egan, B., Dean, M. (2018). The impact of nutrition and health claims on consumer perceptions and portion size selection: results from a nationally representative survey. *Nutr*, 10(5), 656.

Carpenter, K. J. (2003). A short history of nutritional science: Part 1 (1785–1885). *J Nutr*, 133(3), 638-645.

Castro-Quezada, I., Román-Viñas, B., Serra-Majem, L. (2014). The Mediterranean diet and nutritional adequacy: A review. *Nutrients*, 6(1), 231-248.

Chandon, P., Wansink, B. (2007). The biasing health halos of fast-food restaurant health claims: lower calorie estimates and higher side-dish consumption intentions. *J Consumer Res*, 34(3), 301-314.

Crawford, P., Atkins, V., Goldstein, H., (2014). Hiding Under a Health Halo: Examining the Data Behind Health Claims on Sugary Beverages. <https://phadvocates.org/wp-content/uploads/2019/11/Health-Halo-Policy-Brief.pdf>

Devries, S., Van Horn, L., Willett, W. (2020). The Mediterranean Diet. *Med Roundtable Gen Med Ed.* ; 1(1): 42-49.

Dixon, H., Scully, M., Wakefield, M., Kelly, B., Chapman, K., Donovan, R. (2011). Parent's responses to nutrient claims and sports celebrity endorsements on energy-dense and nutrient-poor foods: an experimental study. *Public Health Nutr*, 14(6), 1071-1079.

- FDA, (2018). Authorized Health Claims That Meet the Significant Scientific Agreement (SSA) Standard. <https://www.fda.gov/food/labelingnutrition/ucm2006876.htm>, 21 CFR 101.
- Fenster, K., Freeburg, B., Hollard, C., Wong, C., Rønhave Laursen, R., Ouwehand, A. C. (2019). The production and delivery of probiotics: A review of a practical approach. *Microorg*, 7(3), 83.
- Fernan, C., Schuldt, J. P., Niederdeppe, J. (2018). Health halo effects from product titles and nutrient content claims in the context of "protein" bars. *Health Commun*, 33(12), 1425-1433.
- Flach, J., van der Waal, M. B., van den Nieuwboer, M., Claassen, E., Larsen, O. F. (2018). The underexposed role of food matrices in probiotic products: Reviewing the relationship between carrier matrices and product parameters. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58(15), 2570-2584.
- Guasch-Ferré, M., Dashti, H. S., Merino, J. (2018). Nutritional genomics and direct-to-consumer genetic testing: an overview. *Adv Nutr*, 9(2), 128-135.
- Gül, H., Hayit, F., Acun, S., Tekeli, S. G. (2018). Improvement of quality characteristics of gluten-free cookies with the addition of xanthan gum. In "Agriculture for Life, Life for Agriculture" *Conf Proc* (Vol. 1, No. 1, pp. 529-535). Sciendo.
- Hasler, C. M. (1998). Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Food Technology-Champaign Then Chicago-*, 52, 63-147.
- Holban, M. A., Grumezescu, M. A., (Ed.). (2018). Diet, Microbiome and health. Handbook of Food Bioengineering Volume 11. Academic press is an imprint of Elsevier. United Kingdom.
- Hwang, J., Lee, K., Lin, T. N. (2016). Ingredient labeling and health claims influencing consumer perceptions, purchase intentions, and willingness to pay. *J Food service Business Res*, 19(4), 352-367.
- Ikonen, I., Sotgiu, F., Aydinli, A., Verlegh, P. W. (2019). Consumer effects of front-of-package nutrition labeling: an interdisciplinary meta-analysis. *J Acad Marketing Sci*, 1-24.
- Kapsak, W. R., Schmidt, D., Childs, N. M., Meunier, J., White, C. (2008). Consumer perceptions of graded, graphic and text label presentations for qualified health claims. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48(3), 248-256.
- Kristensen, N. B., Bryrup, T., Allin, K. H., Nielsen, T., Hansen, T. H., Pedersen, O. (2016). Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials. *Genome Med*, 8(1), 52.
- Lee, A. R., Wolf, R. L., Lebwohl, B., Ciaccio, E. J., Green, P. H. (2019). Persistent economic burden of the gluten free diet. *Nutr*, 11(2), 399.
- Lee, W. J. (2019). Vitamin C in Human Health and Disease: Effects, Mechanisms of Action, and New Guidance on Intake. Springer.
- Markowiak, P., Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutr*, 9(9), 1021.
- Maubach, N., Hoek, J., Mather, D. (2014). Interpretive front-of-pack nutrition labels. Comparing competing recommendations. *Appetite*, 82, 67-77.
- Méjean, C., Macouillard, P., Péneau, S., Hercberg, S., Castetbon, K. (2013). Perception of front-of-pack labels according to social characteristics, nutritional knowledge and food purchasing habits. *Public Health Nutr*, 16(3), 392-402.
- Mentella, M. C., Scaldaferrri, F., Ricci, C., Gasbarrini, A., Miggiano, G. A. D. (2019). Cancer and Mediterranean Diet: A Review. *Nutr*, 11(9), 2059.
- Mooradian, A. D., Smith, M., Tokuda, M. (2017). The role of artificial and natural sweeteners in reducing the consumption of table sugar: A narrative review. *Clin Nutr Espen*, 18, 1-8.
- Mozaffarian, D. (2016). Dietary and policy priorities for cardiovascular disease, diabetes, and obesity: A comprehensive review. *Circulation*, 133(2), 187-225.
- Niland, B., Cash, B. D. (2018). Health benefits and adverse effects of a gluten-free diet in non-



- celiac disease patients. *Gastroenterol Hepatol*, 14(2), 82.
- Orquin, J. L., Scholderer, J. (2015). Consumer judgments of explicit and implied health claims on foods: Misguided but not misled. *Food Policy*, 51, 144–157.
- Percival, M. (1997). The importance of optimal nutrition. *Clin Nutr Insights*, 5, 1-6.
- Phelan, J. C., Link, B. G., Feldman, N. M. (2013). The genomic revolution and beliefs about essential racial differences: A backdoor to eugenics? *Am sociological review*, 78(2), 167-191.
- Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Front microbiol*, 9, 1785.
- Roberto, C. A., Khandpur, N. (2014). Improving the design of nutrition labels to promote healthier food choices and reasonable portion sizes. *Int J Obes*, 38(1), S25-S33.
- Shamim, N., Gupta, A., Paul, V., Vida, E. (2017). Nutritional genomics: A review. *The Pharma Innov*, 6(4, Part A), 17.
- Shao, A., Drewnowski, A., Willcox, D. C., Krämer, L., Lausted, C., Eggersdorfer, M., Griffiths, J. C. (2017). Optimal nutrition and the ever-changing dietary landscape: a conference report. *Eur J Nutr*, 56(1), 1-21.
- Siegrist, M., Leins-Hess, R., Keller, C. (2015). Which front-of-pack nutrition label is the most efficient one? The results of an eye-tracker study. *Food Qual Pref*, 39, 183-190.
- Sundar, A., Kardes, F. R. (2015). The role of perceived variability and the health halo effect in nutritional inference and consumption. *Psychol Marketing*, 32(5), 512-521.
- Sylvetsky, A. C., Rother, K. I. (2018). Nonnutritive sweeteners in weight management and chronic disease: A review. *Obesity*, 26(4), 635-640.
- Talati, Z., Pettigrew, S., Dixon, H., Neal, B., Ball, K., Hughes, C. (2016). Do health claims and front-of-pack labels lead to a positivity bias in unhealthy foods? *Nutr*, 8(12), 787.
- The, L. G. H. (2016). Gluten: going against the grain? *The Lancet Gastroenterol Hepatol*, 1(2), 85.
- Trujillo, E., Davis, C., Milner, J. (2006). Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics. *J Am Diet Assoc*, 106(3), 403-413..
- Van den Nieuwboer, M., van Hemert, S., Claassen, E., de Vos, W. M. (2016). Lactobacillus plantarum WCFS 1 and its host interaction: a dozen years after the genome. *Microb biotechnol*, 9(4), 452-465.
- Van Herpen, E., Hieke, S., Van Trijp, H. C. (2014). Inferring product healthfulness from nutrition labelling. The influence of reference points. *Appetite*, 72, 138-149.
- Van Ommen, G. J. (2002). The Human Genome Project and the future of diagnostics, treatment and prevention. *J Inherit Metab Dis*, 25(3), 183-188.
- Venter, C., Maslin, K., Arshad, S. H., Patil, V., Grundy, J., Glasbey, G., Dean, T. (2016). Very low prevalence of IgE mediated wheat allergy and high levels of cross-sensitisation between grass and wheat in a UK birth cohort. *Clin Translational Allergy*, 6(1), 22.
- Wansink, B. (2003). How do front and back package labels influence beliefs about health claims?. *J Consumer Affairs*, 37(2), 305-316.
- Wansink, B., Chandon, P. (2006). Can "low-fat" nutrition labels lead to obesity? *J Marketing Res*, 43(4), 605-617.
- WGO Review Team (2017). Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines.
- Wilkins, S., Butt, M. M., Shams, F., Pérez Ruiz, A. (2019). The acceptance of halal food in non-Muslim countries: Effects of religious identity, national identification, consumer ethnocentrism and consumer cosmopolitanism. Vol. 10 No. 4, pp. 1308-1331
- Wilkins, S., Butt, M. M., Shams, F., Pérez, A. (2019). Product standardisation in the food service industry: post-purchase attitudes and repurchase intentions of non-Muslims after

consuming halal food. *J Strategic Marketing*, 27(3), 210-226.

Wong, C. L., Mendoza, J., Henson, S. J., Qi, Y., Lou, W., L'abbé, M. R. (2014). Consumer attitudes and understanding of cholesterol-lowering claims on food: randomize mock-package experiments with plant sterol and oat fibre claims. *Eur J Clin Nutr*, 68(8), 946-952.

World Health Organization. (2010) Indicators for assessing infant and young child feeding practices: Part III Country Profiles. WHO, Geneva.

## IN VITRO CYTOTOXICITY ANALYSIS AND SYNTHESIS OF BIOCIDAL ALLICIN/MT/MMA/PEG/POSS NANOCOMPOSITES FOR THE FOOD PACKAGING

Gülay Baysal\*

Istanbul Aydın University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Istanbul, Turkey

Received / Geliş: 28.04.2020; Accepted / Kabul: 10.06.2020; Published online / Online baskı: 16.06.2020

Baysal, G. (2020). *In vitro cytotoxicity analysis and synthesis of biocidal Allicin/MT/MMA/PEG/POSS nanocomposites for the food packaging*. GIDA (2020) 45(3) 600-611 doi: 10.15237/gida.GD20057

Baysal, G. (2020). *In vitro cytotoxicity analysis and synthesis of biocidal Allicin/MT/MMA/PEG/POSS nanocomposites for the food packaging*. GIDA (2020) 45(3) 600-611 doi: 10.15237/gida.GD20057

### ABSTRACT

In this study, the new nanocomposites were synthesized using antibacterial and antioxidant curcumin (Cr) and allisin (Ac), the high mechanical strength montmorillonite clay (Mt) and biocompatible methylmethacrylate (MMA), polyethylene glycol (PEG) and polyocta-hedral oligomeric silsesquioxanes (POSS) polymers. Firstly, monomer 1 was synthesized by using Ag<sup>+</sup>-montmorillonite, the curcumin extract and POSS, then the synthesized monomer 1 was interacted with MMA and PEG polymers, and nanocomposites were synthesized. The synthesized nanocomposites were analyzed by using the methods of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). After this, the inhibition zones and the surface activity resistances of the nanocomposites were analyzed against the bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and carried out biocompatibility analysis. According to the analysis results, the nanocomposites have been found to have the strong antibacterial resistance and biocompatibility.

**Keywords:** Surface activity, biocompatibility, the curcumin, biopolimers, the allisin.

### GIDA AMBALAJI İÇİN BİYOSİDAL ALLİSİN / MT / MMA / PEG / POSS NANOKOMOZİTLERİNİN SENTEZİ VE İN VİTRO SİTOTOKSİSİTE ANALİZİ

#### ÖZ

Bu çalışmada, antibakteriyel ve antioksidan kurkumin (Cr) ve allisin (Ac), yüksek mekanik mukavemetli montmorillonit kili (Mt) ve biyoyumlu polimetilmetakrilat (PMMA), polietilen glikol (PEG) ve polioktahedral oligomerik silseskioksan (POSS) polimerleri kullanılarak yeni nanokompozitler sentezlenmiştir. Öncelikle, Ag<sup>+</sup>-montmorillonit, kurkumin ekstraktı ve POSS kullanılarak monomer 1 sentezlendi, daha sonra sentezlenen monomer 1, MMA ve PEG polimerleri ile etkileştirilmiş, ve nanokompozitler sentezlenmiştir. Sentezlenen yüzey nanokompozitler, Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), X-ışını kırınımı (XRD) ve taramalı elektron mikroskopisi (SEM) yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Daha sonra, nanokompozitlerin inhibisyon bölgesi alanları ve yüzey aktivite dirençleri, *Escherichia coli* (*E.coli*), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Salmonella* ve *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) bakterilerine karşı analiz edilmiş ve biyoyumluluk testleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, nanokompozitlerin güçlü antibakteriyel dirence ve biyoyumluluğa sahip olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Yüzey aktivitesi, biyoyumluluk, kurkumin, biyopolimerler, allisin.

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ gulaybaysal@aydin.edu.tr,

☎ (+90) 444 14 28-22409

☎ (+90) 212 425 5759

Gülay Baysal; ORCID no: 0000-0001-7081-1472

## INTRODUCTION

Biopolymers have been the focus of interest in the industrial and health sectors due to the rapidly decreasing oil resources in the world and the toxic and carcinogenic effects of synthetic petroleum-derived polymers (Sögüt et al., 2017). In the structure of biopolymer-based nanocomposites, biopolymers are used as matrix and nanoparticles, nanofiller materials, nanotubes and nanoclays are used as filling materials. Thus, it is possible to synthesize nanocomposites of different structures and properties. The silver-based multilayer biocompatible nanocomposites are widely used in a wide range of applications. Nanomaterials are used in many fields such as; the biosensors, bone cements, anticarcinogenic materials, (Dag et al., 2019) antibacterial products in biomedical applications (Sögüt et al., 2017), controlled release systems in pharmaceutical industry, optical applications, dielectric material in electrical applications, (Rostami et al., 2019) antimicrobial (Baysal and Çelik, 2018) and antioxidant (Rostami et al., 2019) materials in packaging systems in the food industry. The turmeric plant extract curcumin is a phenolic compound and has a strong antimicrobial effect (Dhivya et al., 2017). The allium sativum is among the most important chemical compounds found in garlic. According to the literature, Garlic plant has anti-bacterial, anti-fungal (Özçelik et al., 2007), anti-parasitic and anticarcinogenic properties that have been proven (Cheng and Huang, 2018). PMMA, POSS and PEG used in this study are biocompatible polymers that are miscible with each other. The C=O group of PMMA essentially interacts with the terminal -OH group of PEG to develop C=O...H-O species (Shinzawa and Mizukada, 2018).

Although PLA blends with PC and PMMA are not biodegradable, they can be preferred for making durable goods with increased bio-based content for food packaging. According to the researches, it is seen that the modified PMMA composites can be a promising candidate for active food packaging. In particular, mechanical stability, gas barrier properties and antibacterial properties support studies in this area (Abdel Rehim et al., 2020; Deng et al., 2017). PMMA is particularly important for mixing with PHA and PHB since it is a biocompatible polymer that

allows the polyester to be used in the food packaging. Besides, PMMA is one of the important materials used in a variety of optical devices such as polymer optical fibers, optical films for liquid-crystal displays, optical disks, lenses, etc. because of its exceptional clarity in the visible range (Yalcin et al. 2006; Abdel Rehim et al., 2020).

In this study, silver, turmeric extract curcumin and garlic extract allicin, montmorillonite clay, POSS, MMA and polyethylene glycol as biomaterials were interacted by chemical synthesis and developed a multifunctional material in the areas of surface-active, biocompatible and mechanical strength. The surface activity and antibacterial properties of synthesized nanocomposites against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *E. coli* bacteria were analyzed and examined biocompatibility tests. Figure 1 shows the molecular structure of curcumin (a) and allicin (b).

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

*Curcuma longa* (turmeric, molecular weight: 368.38 g/mol, curcuminoid content  $\geq 94\%$ ), garlic extract (Cas number: 8000-78-0, the allium sativum  $< 100\%$ ), methyl methacrylate, dimethylformamide, diethyl ether, polyethylene glycol monoacrylate octaphenyl-polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS, Molecular weight: 1033.51 g/mol), silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ) were purchased from Sigma-Aldrich (Germany).  $\text{Na}^+$ -Montmorillonite was provided by Southern Clay Products Inc. (U.S.A.). The physical and chemical properties of Mt are shown in Table 1.

### Nanocomposites synthesis

#### Modification of $\text{Ag}^+$ -Montmorillonite (Mt)

The silver nitrate solution (0.05 M, 50 mL) was added to the sodium montmorillonite (1.0 g) and mixed for 3 h at 25 °C in a dark room. The mixture was then centrifuged at 3000 rpm for 20 min. The liquid phase from the obtained product was decanted and then washed with distilled water for 4-5 times to remove the nitrate ions from the precipitate. The final product was waited to dry in a dark environment under room conditions (Sohrabnezhad et al., 2016).

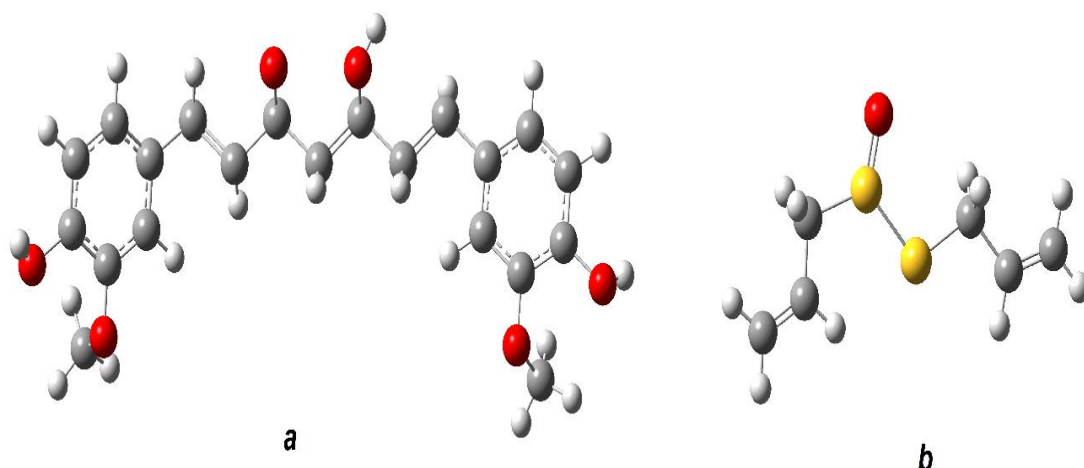


Figure 1. The molecular structure of curcumin (a) and allicin (b)

Table 1. The physical and chemical properties of Na<sup>+</sup>- Mt.

Molecule formula	(Na, Ca) <sub>0.33</sub> (Al, Mg) <sub>2</sub> Si <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O
The density (g. cm <sup>-3</sup> )	2.86
pH (%3 solution)	8
The specific surface area (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	750
CEC (meg.100 g <sup>-1</sup> )	92
The percent of composition (%)	1.40 Na, 2.44 Ca, 9.99 Al, 8.88 Mg, 20.7 Si, 35.53 O, 0.37 H

#### Organoclay Synthesis

Ag<sup>+</sup>-Mt (2.0 g) was added to a mixture of deionized water-ethanol (v: v (1: 1) 100 mL) and stirred for 1 h at room temperature. In a separate apparatus, curcumin (2.0 g) were mixed with a water-ethanol mixture prepared in a ratio of 1: 1 and stirred at room temperature for 1 h. The two different solutions prepared were mixed with each other and stirring continued for 24 h. After 24 h, the solution mixture was passed through filter paper and precipitate was washed with water/ethanol mixture 3-4 times on average. The resulting filtrate was dried in an oven at 70 °C for 24 h. The same operations were performed in allicin. The synthesized product was named Ag<sup>+</sup>-Mt-Cr and Ag<sup>+</sup>-Mt-Ac (Baysal and Çelik, 2018).

#### Preparation of the Ag<sup>+</sup>-Montmorillonite-Curcumin extract-POSS (Monomer1)

Ag<sup>+</sup>-Mt (3.0 g) was mixed into 250 mL of distilled water for 2 h under room conditions. POSS and curcumin (3.0 g) were then added to 10 mL of ethanol that did not contain any water and mixed

for 5 min, followed by adding 2 mL of acetic acid and mixing for 24 h at 70 °C. The final product was centrifuged at 3500 rpm for 15 min and the supernatant was decanted. The precipitate that was obtained was washed 3 times with a mixture of deionized water-ethanol (v: v (1:1)), filtered and left to dry under room conditions (Zhao et al., 2009).

#### Synthesis of nanocomposites 1, 2 and 3

Monomer 1 (1.5 g), methylmethacrylate (6.0 g), polyethylene glycol (0.3 g) were added to 8 mL of dimethylformamide solvent. The solution was stirred at 60 °C for 5 h. After 5 h, the mixture was cooled, and 60 mL of diethyl ether were added to precipitate. The liquid phase was separated from the precipitate and the precipitate was dried with nitrogen and stored as a final product in the dark in a refrigerator and under nitrogen at +4 °C. Similarly, the three different nanocomposites were synthesized by changing chemical ratios and contents. Table 2 shows the chemical ratio of nanocomposites.

Table 2. The chemical ratio of nanocomposites (g)

	$Ag^+-Mt-Ac$	<i>Monomer1</i>	<i>MMA</i>	<i>PEG</i>
Composite 1		1,5	6	0,3
Composite 2		1,5	6	0,6
Composite 3	0,5	-	3	-

### Characterization

The synthesized nanocomposites were observed and examined by using a JOEL JSM 5600 LV scanning electron microscope (SEM) with an accelerating beam at a voltage of 40 kV. FTIR spectra (Mattson 1000 infrared spectrophotometer) were measured in the wavenumber range of 4000–400  $cm^{-1}$  at a resolution of 4  $cm^{-1}$ . The crystallinity of the nanocomposites was examined by X-ray diffraction measurements (XRD). The Bragg's Law was used to calculate the distances between clay layers.

### Biocidal Activity

#### The Surface Activity Analysis

The bacteria *E. coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, and *L. monocytogenes* were inoculated onto Nutrient agar and incubated for 24 h at 37 °C in an aerobic setting. The cells were also spread in the same medium, and after 24 h, significant reductions in numbers of bacteria were observed around the disk the nanocomposite specimen was applied at inhibition concentrations. The surface activity performances of nanocomposites against bacteria were examined by using Zeiss Microscope at magnification scale of X40.

#### Antibacterial Analysis

The bacteria *E. coli*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, and *S. aureus* were inoculated onto Nutrient agar and incubated at 37 °C for 24 h in an aerobic setting by using the well diffusion method. The cells were also spread in the same medium, and after 24 h, the compounds created inhibition zones around the disk it was applied at inhibition concentrations was checked. The radii of the inhibition zones were measured in units of mm (Baysal and Çelik, 2018).

#### Biocompatibility Analysis

Samples were prepared by dissolving in water-based (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)

DMEM medium. Photometric reading was performed at 570 nm. In 96-well plates, the cell seeding was performed so that the L929 fibroblast cell line was 105 cells / mL and allowed to adhere to cells in a 37 °C CO<sub>2</sub> incubator for 24 h. After 24 h, the cell culture MTT (3-[4,5-Dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) viability test was performed. The results were calculated assuming that the negative control was 100% viable.

#### Statistical Analysis

In this research, Minitab 16 software was used for statistical analysis. Results are presented as the mean value  $\pm$  standard deviation (SD). Statistical analysis is made using analysis of variance (one-way ANOVA with t test). and Tukey's test at a confidence level of 95% were used.

## RESULTS AND DISCUSSION

### FTIR Analysis

In FTIR spectra, polymethylmethacrylate (PMMA) exhibits C-H tensile bands around 2996, 2993, 2951, 2930, 2933, 2926  $cm^{-1}$ . The wide band peaks seen at 3622-3473-3469  $cm^{-1}$  are due to the axial stretching of the O-H groups forming the H bonds with the polymeric material. The characteristic peaks of PMMA represent the C = O carbonyl group around 1725, 1724 and 1672  $cm^{-1}$ , the C-O vibration stresses around 1000-1119  $cm^{-1}$ , the off-axis and in-axial C-O-C bending peaks of about 800-700  $cm^{-1}$ . In the spectrum of composite 1 and composite 2, the peaks at 3069 and 3073  $cm^{-1}$  are shown as C-H stresses of aromatic groups in the structure of curcumin. The peaks at 1437, 1433, 1432, 1386 and 1388  $cm^{-1}$  represent the C-H and C-O tensile bands found in the structure of curcumin and allicin (Silva et al., 2019). Si-O-Si bonds in the clay structure are represented by the peaks seen in the 1000-1100  $cm^{-1}$  range. Figure 2 shows FTIR spectra of nanocomposites 1, 2 and 3.

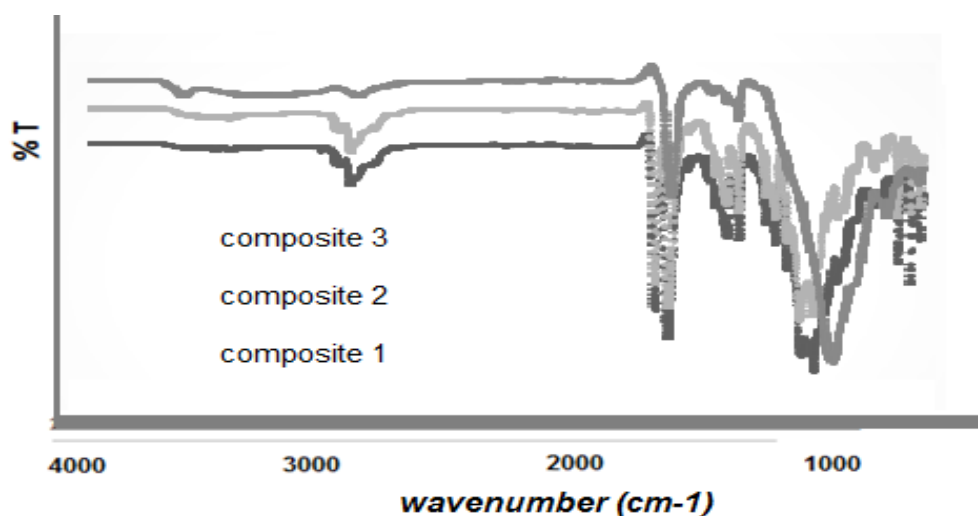


Figure 2. FTIR spectra of nanocomposites 1, 2 and 3.

### ***XRD Analysis***

Figure 3 shows the XRD spectra of composite 1, 2 and 3 samples. The  $d_{001}$  spacing was calculated and listed in Table 3 from peak positions using Bragg's law equation  $2d \sin\theta = n\lambda$ . It is seen that

the  $d$ -spacing for Mt ( $9.7\text{\AA}$ ) increased to  $10.50\text{\AA}$ . Because the clay was first modified with curcumin and allicin and then added to the synthesis step. Table 3 shows peak values of composite 1, 2 and 3 according to Bragg's law.

Table 3. Peak values of composite 1, 2 and 3 according to Bragg's law

	<i>Pos. [<math>^{\circ}2\theta</math>.]</i>	<i>Height [cts]</i>	<i>FWHM [<math>^{\circ}2\theta</math>.]</i>	<i>d-spacing [<math>\text{\AA}</math>]</i>	<i>Rel. Int. [%]</i>
Composite 1	8.5009	59.28	0.2362	10.40173	11.35
Composite 2	8.3787	56.72	0.3542	10.55320	54.88
Composite 3	8.9161	47.80	0.2362	9.91823	37.63

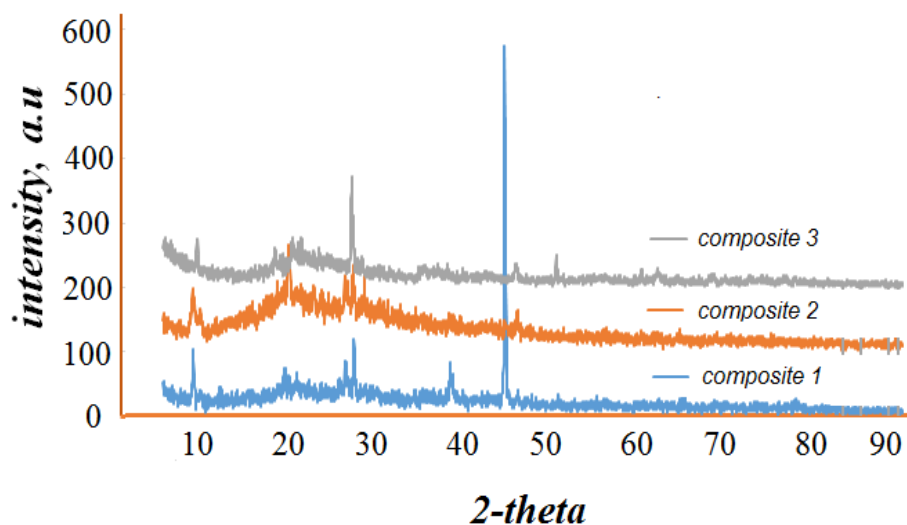


Figure 3. XRD spectra of nanocomposite 1, 2 and 3.

When XRD spectra are examined, Figure 3 shows the samples of the spectrum of exfoliated and intercalated composite structures. The composite 2 and 3 spectra show completely exfoliated structures, while composite 3 exfoliated and intercalated. The amorphous structure of PMMA in the synthesized composition appears to be supported by the compounds (Silva et al., 2019; Philip et al., 2019). In the case of composite 1, the organoclay did not completely lose its crystal structure when interacting with the polymer, but

when the amount of PEG was increased, the structure showed a completely exfoliated character. This result can be interpreted as supporting the effect of PEG on an amorphous structure in PMMA and organoclay interaction.

**SEM Analysis**

Figure 4 shows SEM images of the surface morphology of pure PMMA and composite 3 samples at magnification scales of 10 to 200 μm, respectively.

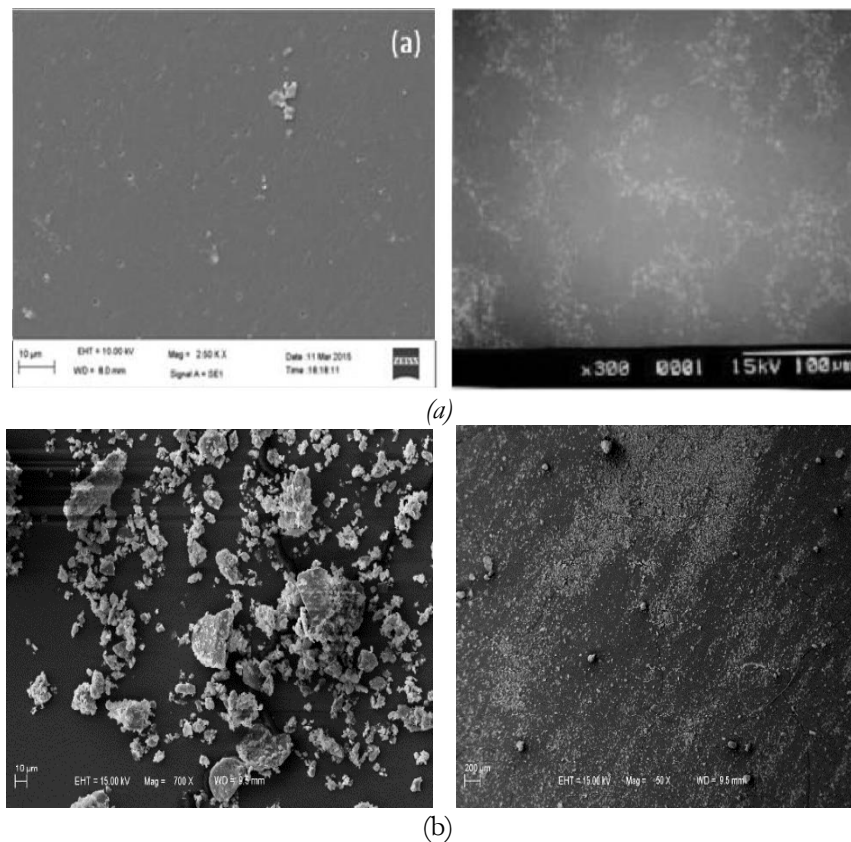


Figure 4. SEM images of pure PMMA (a) (Ravindar Reddy et al., 2019; Kim et al., 2004 ) and nanocomposite 3 (b)

In Figure 4 (a), the SEM image of PMMA (Ravindar Reddy et al., 2019; Kim et al., 2004) shows that the surface is homogeneous and smooth. In Figure 4 (b), the surface morphological image of the nanocomposite 3 sample shows that the surface is transformed into a rough and porous structure (Radha et al., 2017). Increased surface pores in composite structures indicate improved mechanical properties and

strong adsorption (Kang et al., 2016; Kim et al., 2004).

**The Surface Activity Analysis**

Figures 5, 6 and 7 show the surface activities of the synthesized composites against *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *S. aureus*, respectively. Table 4 gives the results of surface activity analysis.



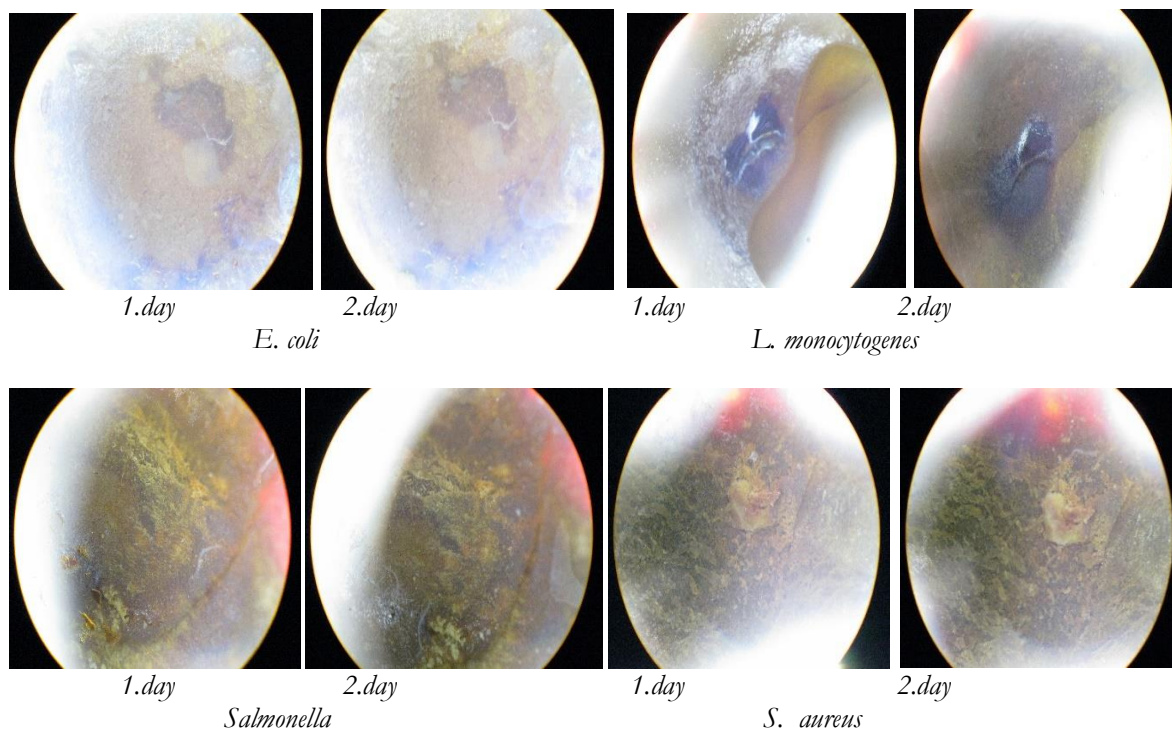


Figure 5. The surface Activity against bacteria *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *S. aureus* of nanocomposite 1

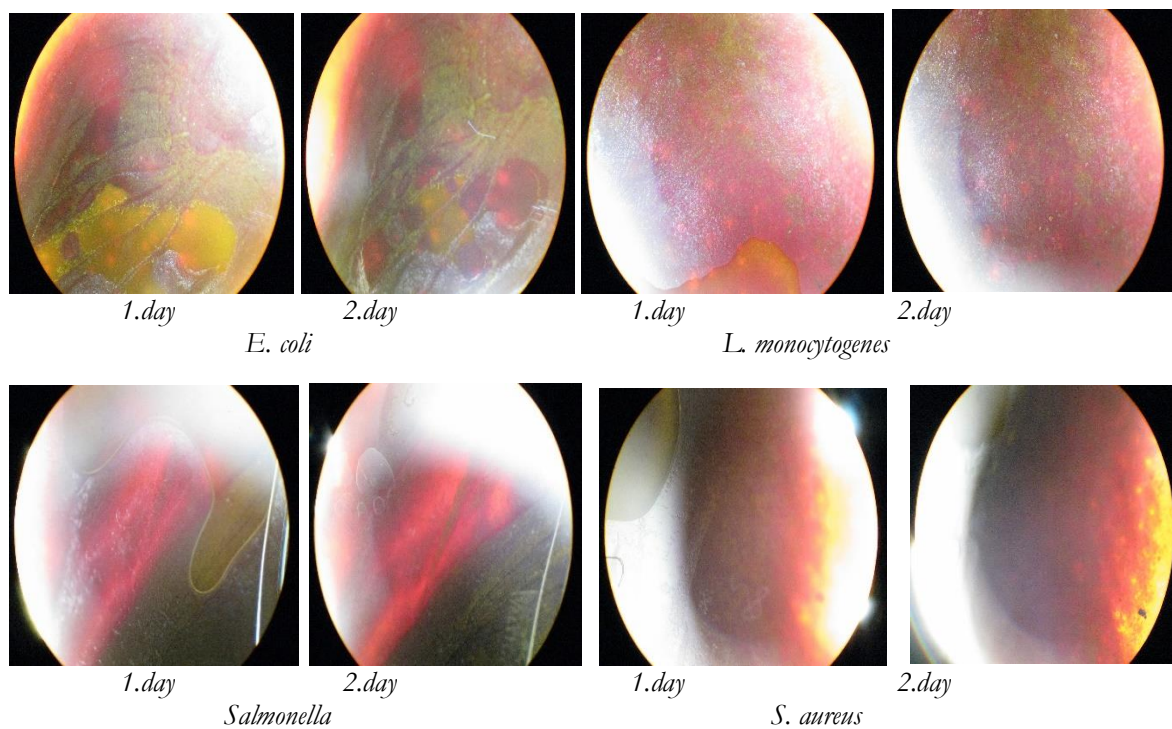


Figure 6. The surface Activity against bacteria *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *S. aureus* of nanocomposite 2.

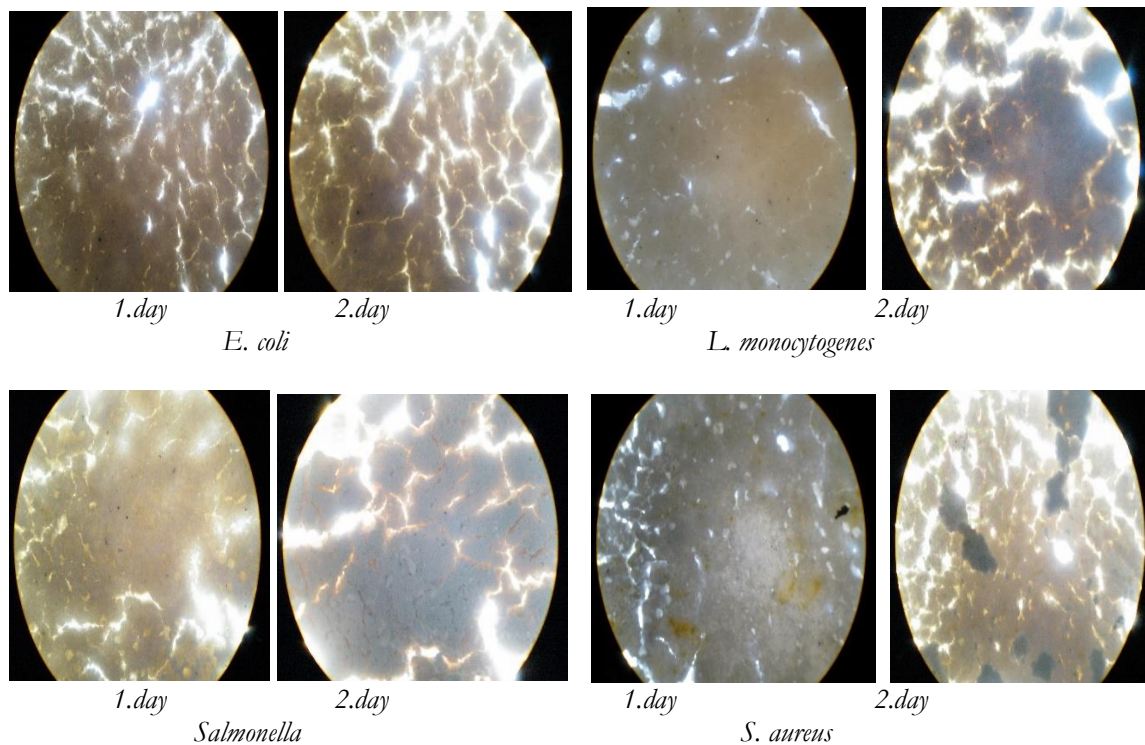


Figure 7. The surface Activity against bacteria *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *S. aureus* of nanocomposite 3.

Table 4. The surface activity analysis of the nanocomposites

	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>
Composite 1	+	+	-	-
Composite 2	-	-	+	-
Composite 3	+	+	+	+

\*Note: + denotes the presence

According to the results of surface activity analysis, nanocomposite 3 structure shows the highest activity against *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, and *S. aureus*. Nanocomposite 1 and 2 contain a curcumin extract in the chemical composition, while nanocomposite 3 contains the allicin extract. This result confirms that the allicin extract has a stronger surface activity than the curcumin extract. According to this result, nanocomposite 1 and nanocomposite 2 showed stronger mechanical properties and flexibility, because no cracking or cracking occurred on the <Figure 8 and Table 5>

surfaces. In the surface of nanocomposite 3 was observed to have very deep cracks and fractures. According to this result, it can be said that the monomer 1 compound increases the mechanical stability of the nanocomposites.

#### **Antibacterial Analysis**

Figure 8 and Table 5 show the antibacterial resistance of monomer 1 and Ag<sup>+</sup>-Mt-Cr against bacteria *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *Salmonella*.



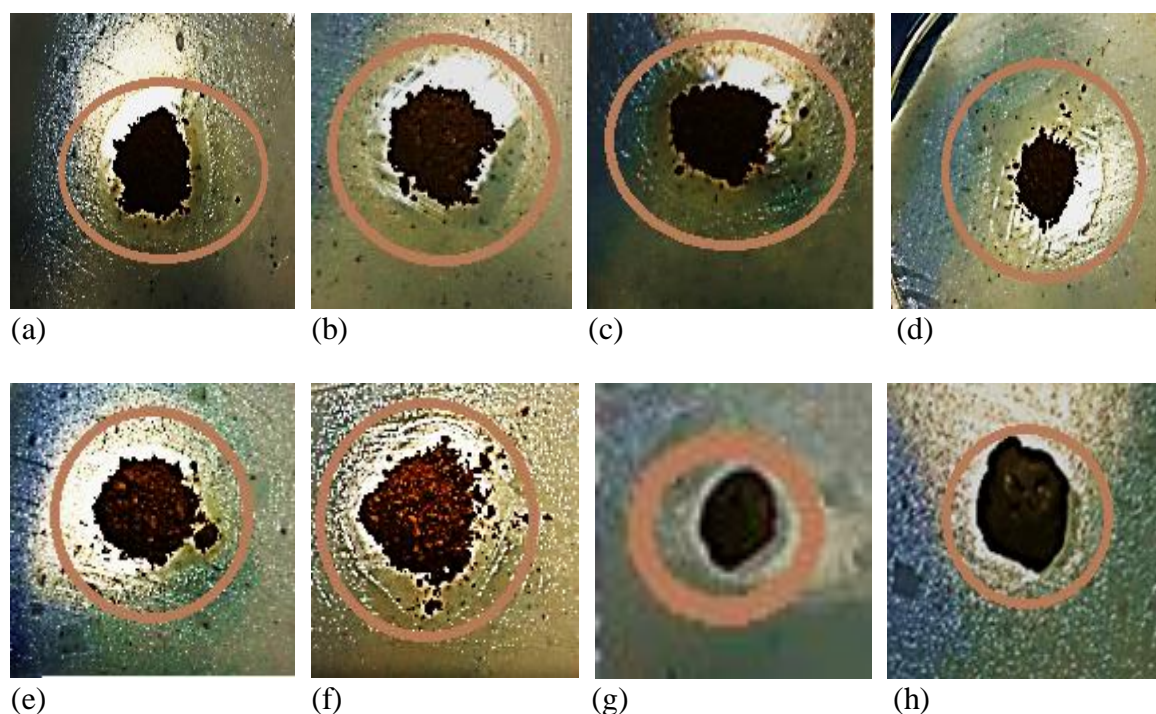


Figure 8. The inhibition zones against bacteria *E. coli* (a), *S. aureus* (b), *Salmonella* (c) ve *L. monocytogenes* (d) of  $\text{Ag}^+$ -Mt-Cr, *E. coli* (e) and *Salmonella* (f), *S. aureus* (g), *L. monocytogenes* (h) of monomer 1.

Table 5. The inhibition zones of the samples (mm)

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>L. monocytogenes</i>
$\text{Ag}^+$ -Mt-Cr	$10^{\alpha} \pm 0.26$	$12^{\alpha} \pm 0.23$	$16^{\alpha} \pm 0.38$	$14^{\alpha} \pm 0.27$
Monomer 1	$4^{\alpha} \pm 0.12$	$2.8^{\alpha} \pm 0.05$	$6^{\alpha} \pm 0.15$	$3.5^{\alpha} \pm 0.08$

\* The test was done in triplicate. Data are mean of triplicate measurements  $\pm$ SD. Alphabetical letter in the columns indicate significant ( $P \leq 0.05$ ) differences between means in Tukey's test.

According to the results of antibacterial analysis,  $\text{Ag}^+$ -Mt-Cr showed very high resistance to bacteria. In particular, It showed an  $16 \pm 0.38$  and  $14 \pm 0.27$  mm inhibition zones against *Salmonella* and *L. monocytogenes* bacteria according to Table 5. However, antibacterial resistance decreased with the addition of POSS to the chemical composition. According to experiments, the curcumin showed stronger antibacterial effect when used alone. POSS has a hydrophobic surface and was added to the formulation of composites. This causes the intermolecular interaction of the polymeric network due to the plasticizing effect of absorbed water molecules penetrated between the chain segments. However, it can also lead to reduced contact

surface by preventing curcumin extract from reaching the bacterial cell membrane (Bordianu et al., 2012). This result may have caused to decrease of antibacterial properties. Besides, analysis of variance table (One way ANOVA) and Tukey test for differences between means demonstrated statistical significance of the data ( $P \leq 0.05$ ).

#### **Biocompatibility Analysis**

After 24 and 72 h of treatment, data showed that the percentage of cell viability increased from 8 to 15% for composite 1 and from 15 to 18% for composite 2, respectively. The cell viability results correlated with PEG amount confirmed that composite 2 showed better biocompatibility. As the amount of PEG increased twice, the

biocompatibility increased at the same rate (Marinescu et al., 2019). Figure 9 shows the effect

of treatment with nanocomposites on cell viability of L929 fibroblast cells assessed by MTT.

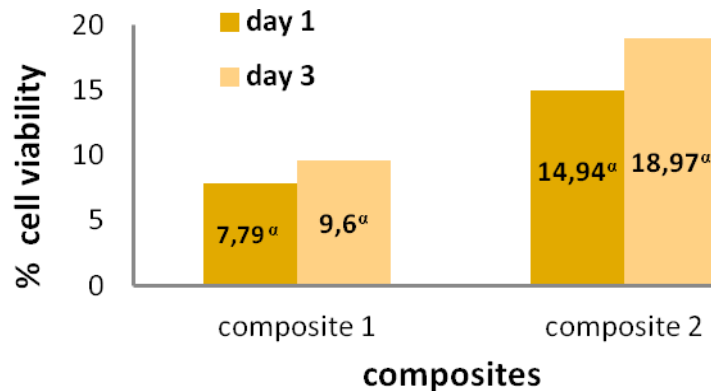


Figure 9. The effect of treatment with nanocomposites on cell viability of L929 fibroblast cells assessed by MTT.

Compared with the literature, the biocompatibility values of PMMA increased to 20% with Sr5-HA (strontium-substituted hydroxyapatite) for 7 days (Lam et al., 2011). In this study, a biocompatibility rate of  $9.6 \pm 0.39\%$  and  $18.97 \pm 0.77\%$  for 3 days was obtained for composites 1 and 2, respectively. Analysis of variance table (One way ANOVA) and Tukey test for differences between means demonstrated statistical significance of the data ( $P \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONS

In this study, new surface-active nanocomposites were synthesized. After synthesis of monomer 1, new material was synthesized with MMA, curcumin, allicin and  $\text{Ag}^+$ -montmorillonite and monomer 1. The synthesized new nanocomposites were analyzed for their surface activity against *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *S. aureus* bacteria and biocompatibility tests were carried out. Antibacterial resistance of the synthesized monomer 1 and  $\text{Ag}^+$ -Mt-Cr against *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* and *S. aureus* bacteria were analyzed by the well diffusion method. The analysis results confirmed that the nanocomposites obtained showed surface activity against both gram-negative and gram-positive bacteria. The new compounds synthesized showed the highest inhibition zones against salmonella and *L. monocytogenes* bacteria at

$16 \pm 0.38$  and  $14 \pm 0.27$  mm, respectively. According to results, the increase in the amount of PEG in the nanocomposite structure increased biocompatibility at the same rate. Increasing the amount of PEG will increase the percent cell viability to higher rates for nanocomposites. Besides, in the article studies, it was seen that the allicin did not cause unwanted odors in the composite synthesis and the migration values were quite below the reference values (Baysal and Doğan, 2020). The reason it did not cause unwanted odors was the addition of limited amounts of reactions. As the amount of allicin used increases, it has the risk of causing unwanted odors.

## ACKNOWLEDGMENT

This study was carried out with the support of the Istanbul Aydin University Scientific Research Project. Project number: 27/06/2018-10.

## REFERENCES

Abdel Rehim, M.H., Yasin, M.A., Zahran, H., Kamel, S., Moharam, M.E., Turkey, G. (2020). Rational design of active packaging films based on polyaniline-coated polymethyl methacrylate/nanocellulose composites. *Polym Bull*, 77(5): 2485- 2499.

- Baysal, G., and Çelik, B.Y. (2018). Synthesis and characterization of antibacterial bio-nano films for food packaging. *J Environ Sci Heal B*, DOI: 10.1080/03601234.2018.1530546.
- Baysal, G., and Doğan, F. (2020). Investigation and preparation of biodegradable starch-based nanofilms for potential use of curcumin and garlic in food packaging applications. *J Biomater Sci Polym Ed*, 31(9): 1-17
- Bordianu, I.E., David, G., Simionescu, B., Aflori, M., Ursu, C., Coroaba, A., Hitruc, G., Cotofana, C., Olaru, M. (2012). Functional silsesquioxane-based hierarchical assemblies for antibacterial/antifungal coatings. *J Mater Chem B*, 00: 1-5.
- Cheng, H., and Huang, G. (2018). Extraction, characterisation and antioxidant activity of allium sativum polysaccharide. *Int J Biol Macromol*, 114: 415–419.
- Dag, D., Guner, S., Halil Oztop M. (2019). Physicochemical mechanisms of different biopolymers (lysozyme, gum arabic, whey protein, chitosan) adsorption on green tea extract loaded liposomes. *Int J Biol Macromol*, 138: 473–482.
- Deng, F., Li, M.C., Ge, X., Zhang, Y., Cho, U.R. (2017). Cellulose nanocrystals/poly(methyl methacrylate) nanocomposite films: Effect of preparation method and loading on the optical, thermal, mechanical, and gas barrier properties. *Polym Compos*, 38: E137- E146.
- Dhivya, R., Ranjani, J., Bowen, P. K., Rajendhran, J., Mayandi, J., Annaraj, J. (2017). Biocompatible curcumin loaded PMMA-PEG/ZnO nanocomposite induce apoptosis and cytotoxicity in human gastric cancer cells. *Mater Sci Eng C*, 80: 59–68.
- Kang, T., Hua, X., Liang, P., Rao, M., Wang, Q., Quan, C., Zhang, C., Jiang, Q. (2016). Synergistic reinforcement of polydopamine-coated hydroxyapatite and BMP2 biomimetic peptide on the bioactivity of PMMA-based cement. *Compos Sci Technol*, 123:232-240.
- Kim, S.B., Jick Kim, Y., Lim Yoon, T., Park, S.U., Cho, I.H., Kim, E.J., Kima, I.A., Shin, J.W. (2004). The characteristics of a hydroxyapatite–chitosan–PMMA bone cement. *Biomaterials*, 25: 5715–5723.
- Lam, W.M., Pan, H.B., Fong, M.K., Cheung, W.S., Wong, K.L., Li, Z.Y., K. Luk, K.D., Chan, W.K., Wong, C. Yang, C.T., Lu, W.W. (2011). In Vitro characterization of low modulus linoleic acid coated strontiumsubstituted hydroxyapatite containing PMMA bone cement. *J Biomed Mater Res B*, 96B(1): 76-83
- Marinescu, C., Sofronia, A., Anghel, E.M., Baies, R., Constantin, D., Seciu, A.M., Gingu, O., Tanasescu, S. (2019). Microstructure, stability and biocompatibility of hydroxyapatite -titania nanocomposites formed by two step sintering process. *Arab J Chem*, 12: 857–867.
- Özçelik, S., Sümer, Z., Değerli, S., Ozan, F., Sökmen, A. (2007). Garlic (*Allium Sativum*) extract scolocidal can be used as agent. *Turkiye Parasitol Derg*, 31 (4): 318-321.
- Philip, P., Tomlal Jose E., Chacko, J K., Philip, K.C., Thomas, P.C. (2019). Preparation and characterisation of surface roughened PMMA electrospun nanofibers from PEO-PMMA polymer blend nanofibers. *Polym Test*, 74: 257–265.
- Radha, G., Balakumar, S., Venkatesan, B., Vellaichamy, E. (2017). A novel nano-hydroxyapatite-PMMA hybrid scaffolds adopted by conjugated thermal induced phase separation (TIPS) and wet-chemical approach: Analysis of its mechanical and biological properties. *Mater Sci Eng C*, 75: 221–228.
- Ravindar Reddy, M., Subrahmanyam, A. R., Maheshwar Reddy, M., Siva Kumarc, J., Kamalaker, V., and Jaipal Reddy, M. (2019). X-RD, SEM, FT-IR, DSC Studies of polymer blend films of PMMA and PEO. *Mater Today: Proceedings*, 3: 3713–3718.
- Rostami, M.R., Yousefi, M., Khezerlou, A., Aman Mohammadi, M., Jafari, S.M. (2019). Application of different biopolymers for nanoencapsulation of antioxidants via electrohydrodynamic processes. *Food Hydrocoll*, 97: 105170.
- Shinzawa, H., and Mizukado, J. (2018). Rheo-optical near-infrared (NIR) spectroscopy study of

partially miscible polymer blend of polymethyl methacrylate (PMMA) and polyethylene glycol (PEG). *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 192: 236–243.

Silva, M.N., Fonseca, J.M., Feldhaus, H.K., Soares, L.S., Valencia, G.A., Maduro de Campos, C.E., Di Luccio, M., Monteiro, A.R. (2019). Physical and morphological properties of hydroxypropyl methylcellulose films with curcumin polymorphs. *Food Hydrocoll*, 7: 105217.

Sohrabnezhad, S., Rassa, M., Mohammadi Dahanesari, E. (2016). Spectroscopic study of silver halides in montmorillonite and their antibacterial activity. *J Photoch Photobio B*, 163:150-155. Doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.08.018.

Sögüt, E., Seydim, A.C. (2017). Bio-based nanocomposites and applications in food packaging. *The Journal of Food*, 47(6): 821-833.

Yalcin, B., Cakmak, M., Arkin, A.H., Hazer, B., Erman, B. (2006). Control of optical anisotropy at large deformations in PMMA/chlorinated PHB (PHB-Cl) blends: Mechano-optical behavior. *Polymer*, 47: 8183-8193.

Zhao, F., Wan, C., Bao, X., Kandasubramanian, B. (2009). Modification of montmorillonite with aminopropylisooctyl polyhedral oligomeric silsequioxane. *J Colloid Interface Sci*, 333:164–170.

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. *Quality characteristics of tarhana produced with different ratios of whole wheat and buckwheat flour* / Farklı oranlarda tam buğday ve kara buğday unu ile üretilen tarhanaların bazı kalite özellikleri.....421-432
- 19160 Gunes, R., Cetin, B. *Investigation of some quality parameters of pickled pepper produced by low value dairy by-products* / Süt endüstrisi yan ürünleri ile üretilen biber turşusunun bazı kalite parametrelerinin araştırılması.....448-460
- Çakmak, H. *Evaluation of foam-mat drying behaviour of crab apple (Malus floribunda) fruit juice and powder quality* / Süs elması (Malus floribunda) suyunun köpük kuruma davranışı ve toz ürünün kalite özelliklerinin belirlenmesi.....530-543
- Ozvural, E. B., Celen, E. *Emulsions of orange and coconut oils and their use in peanut butters* / Portakal ve hindistan cevizi yağı emülsiyonları ve fıstık ezmelerinde kullanımları .....544-554
- Coşkun, H., Sarıca, E., Büyüktanır, B., Baş, N., Tanrıku, E., Bıçak, K. N., Güzel, C., Emecen, B. *Some characteristics of "katık keş" a traditional Turkish dairy product* / Geleneksel bir ürünümüz olan katık keşinin bazı özellikleri .....564-571
- Baltacıoğlu, C., Okur, İ., Buzrul, S. *Model based comparison of drying of asparagus (Asparagus officinalis L.) with traditional method and microwave* / Geleneksel yöntem ve mikrodalga ile kuşkonmazın (Asparagus officinalis L.) kurutulmasının model tabanlı karşılaştırılması .....572-580
- İsmail Tarhan, İ. *Developing a new esterification method for the determination of fatty acid compositions of marine oil supplements by gas chromatography with orthogonal central composite design and response surface methodology* / Ortogonal merkezi kompozit tasarım ve yüzey cevap metodolojisinden faydalanarak balık yağı gıda takviyelerinin yağ asidi kompozisyonlarının gaz kromatografisi ile tayini için yeni bir esterleştirme metodunun geliştirilmesi.....581-589
- Baysal, G. *In vitro cytotoxicity analysis and synthesis of biocidal alliin/MT/MMA/PEG/POSS nanocomposites for the food packaging* / Gıda ambalajı için biyosidal allisin/MT/MMA/PEG/POSS nanokompozitlerinin sentezi ve in vitro sitotoksitesite analizi .....600-611

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Diñer, C., Tongur, T., Erkamaz, T. *Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin hibiskus ekstraktlarının kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırılması / Investigation of the effect of different extraction methods on the quality properties of hibiscus extracts.....409-420*
- Arslaner, A., M. A. Bayburt Civil peynirinin bazı kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile mineral ve ağır metal içerikleri / *Some chemical, biochemical, microbiological properties, mineral and heavy metal contents of Bayburt Civil cheese .....433-447*
- Anlı, E. A., Şanlı, T., Şenel, E. *Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının bazı özelliklerinin incelenmesi / Investigating some properties of butters produced by using yogurt and kefir .....461-472*
- Köten, M., Ünsal, A. S. Şanlıurfa yöresine özgü ırnaklı (düz) ekmekte bazı katkı maddelerinin kullanımının ekmek kalitesine etkisi / *The effect of using some additives on bread quality of "ırnaklı (flat) ekmek" native to Şanlıurfa .....473-484*
- Uzundağ, D., Yüksekdağ, Z., Uludağ, M. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin liofilize ekzopolisakaritlerinin bifidobakterilerin gelişimini düzenleyici etkisinin belirlenmesi / *Determination of the lyophilized exopolysaccharides (L-EPD) of Lactobacillus bacteria bifidogenic growth stimulator effect .....495-505*
- Öztürk, F. *Midye örneklerinde Vibrio parahaemolyticus'a karşı koruk, limon ve nar suyunun antibakteriyel etkisi / Antibacterial effect of unripe grape, lemon and pomegranate juice against Vibrio parahaemolyticus in mussels samples.....506-516*
- Ünal, F. N., Kalyas, A., Gürbüz-Kaçan, Z., Şengül, M., Ürkek, B. *Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi / Determination of some quality parameters of commercial kefirs .....555-563*

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Aşık-Canbaz, E., Çömlekçi, S., Seydim, A. C. *Et teknolojisinde vurgulu elektrik alan tekniğinin kullanılması / Application of pulsed electric field in meat technology .....485-495*
- Baysal, G. *Gıda endüstrisinde nanosistemlerin kullanımı / The use of nanosystems in the food industry .....517-529*
- Bektaş, A., Ulusoy, M., Bektaş, V. *Gıda etiketlerinde yer alan bilgilerin sağlıklı algılanma (health halo) etkisi / Health halo effect of food labels.....590-599*