

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK

GIDA



Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida> Cilt/Volume:18 Sayı/Number:1 Ocak - Mart 2020

ACADEMIC FOOD JOURNAL
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

SİDAS MEDYA

AKADEMİK GIDA®
ACADEMIC FOOD JOURNAL

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

Baş Editör / Editor-in-Chief

Oğuz Gürsoy
(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Editörler / Editors

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

Teknik Editör / Technical Editor

Hande Özge Güler (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu

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

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

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

Akademik Gıda 18 (1) (2020)
İÇİNDEKİLER / CONTENTS

■ Editörden / Editorial

IV-V

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

Low Cost, Sensitive and Selective Chronoamperometric Determination of Vanillin at a Disposable Poly (Eriochrome Black T)/Pencil Graphite Electrode / Tek Kullanımlık Poli (Eriokrom Siyahı T) Modifiye Kalem Grafit Elektrotta Vanilinin Düşük Maliyetli, Seçici ve Duyarlı Kronoamperometrik Tayini / Serkan Karakaya

1-11

Effect of Transglutaminase on Textural and Microstructural Properties of Probiotic Yoghurt Produced With Mixture of Cows' Milk and Soy Drink / İnek Sütü ve Soya İçeceği Karışımından Üretilen Probiyotik Yoğurtların Tekstürel ve Mikroyapısal Özellikleri Üzerine Transglutaminaz İlavasının Etkisi / Hasan Temiz, Elif Büşra Ersöz

12-18

Color and Ascorbic Acid Degradation Kinetics of Red Pepper (Capsicum annuum L.) Slices during Vacuum Drying / Kırmızıbiber (Capsicum annuum L.) Dilimlerinin Vakumla Kurutulması Sırasında Renk ve Askorbik Asidin Bozunma Kinetiği / Engin Demiray, Yahya Tulek

19-26

Türk Mutfağında Yeni Bir Fonksiyonel Gıda Olarak Siyah Sarımsak (Allium sativum L.): Fenolik Madde İçeriği ve Bakteriye İletişim (Quorum Sensing) Üzerine Etkisi / Black Garlic (Allium sativum L.) as a New Functional Food in Turkish Cuisine: Phenolic Content and Effect on Bacterial Communication (Quorum Sensing) / Ayşe Gül Özaydın, Evren Arın, Ebru Önem

27-35

Meriç Nehri (Edirne) Boyunca Nehir Suyuyla Sulanan Çeltiklerde Pestisit Kalıntıları / Pesticide Residues in Rice Paddies Irrigated Along Meriç River in Edirne (Turkey) / Çağatay Kulaksız, Abdullah Akgün

36-44

Farklı Oranlarda Gam, Protein ve Emülgatör Kullanımı ve Jelatinizasyonun Pirinç Makarnası Kalitesine Etkisi / Effect of Gum, Protein and Emulsifier Use at Different Ratios and Gelatinization on Rice Pasta Quality / Dilek Büyükbese, Emine Elçin Emre, Ahmet Kaya

45-63

Sünme (Rope) Problemi Olan Ekmeklerden İzole Edilen Bacillus Türlerinin Enterotoksin Üretme Potansiyeli / Enterotoxin Production Potential of Bacillus Species Isolated from Ropy Bread / Fundagül Erem, Muharrem Certel, Barçın Karakaş Budak

64-72

Hazır Yemek Sektöründe Çalışan Gıda Mühendislerinin Sorunları / Problems of Food Engineers Employed in Catering Industry in Turkey / Mehmet Akif Şen

73-78

■ Derleme Makaleler / Review Papers

Developments and Regulations About Functional Foods in Turkey: A Literature Review / Türkiye'de Fonksiyonel Gıdalarla İlgili Gelişmeler ve Yasal Düzenlemeler: Bir Literatür Taraması / Deniz Sezgin

79-86

Çeşit, Olgunluk ve Yoğurma Şartlarının Zeytinyağının Sterol Profili Üzerine Etkisi / Effect of Variety, Maturity and Malaxation Conditions on Sterol Profile of Olive Oil / Sedef Aydın, Gülcan Özkan, Aslı Yorulmaz

87-95

Bitkisel Yağlarda 3-Monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD) ve Glisidil Esterleri Oluşumu ve Azaltılması / 3-Monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) and Glycidyl Esters Formed in Vegetable Oils / Kübra Emektar, Meryem Nur Kantekin Erdoğan, Aziz Tekin

96-104

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

VI-IX

■ Etik Beyanı / Ethics and Publication Malpractice Statement

X-XV

**Sahibi**

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

Genel Yayın Yönetmeni

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

Baş Editör

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY
ogursoy@yahoo.com

Editörler

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

Reklam Müdürü

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

Hukuk Danışmanı

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

Abone Sorumlusu

Halil SOLAK

Grafik Tasarım

Sidas Medya Tasarım Grubu

Yönetim Yeri

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 18

Sayı: 87

Ocak - Şubat - Mart 2020

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİMEDYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli

Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 18. yayın yılının ilk sayısında yine sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 8 araştırma ve 3 derleme çalışması olmak üzere toplam 11 makale yer almaktadır.

Makale yazarlarından zaman zaman gelen sorular nedeniyle makale kabulü ile ilgili daha önce yaptığımız bilgilendirmeyi tekrar etmek istiyoruz. Dergimiz 2017 yılı birinci sayısından itibaren <http://www.academicfoodjournal.com> adresinin yanı sıra TÜBİTAK ULAKBİM çatısı altında, Türkiye'de yayımlanan akademik dergiler için elektronik ortamda barındırma ve editöryal süreç yönetimi hizmeti sunan DergiPark'ta, <http://dergipark.gov.tr/akademik-gida> adresinde yayımlanmaya başlamıştır. Ancak dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne 2020-2021 yılları içerisinde geçilmesi planlanmaktadır. Dergimizin tüm arşivine DergiPark üzerinden erişiminin sağlanması için gerekli çalışmalar TÜBİTAK ULAKBİM tarafından yapılmakta olup, bu çalışmaların kısa bir süre içerisinde tamamlanması beklenmektedir. Söz konusu çalışmalarla birlikte dergimizde yayımlanan makalelerin ulaşılabilirliğinde de önemli düzeyde artış olması beklenmektedir.

Yazarlarımıza hatırlatmak istediğimiz diğer önemli bir husus 2020 yılından itibaren dergimize gönderilecek makalelerde Etik Kurul izni gerektiren çalışmaların ilgili izni aldıkları ile ilgili bilgi ve belgelerini TR-Dizin'e yüklemek üzere dergimize (makalelerini dergimize gönderme aşamasında) sunmaları gerekliliğidir. Dergimizin etik hususlarla ilgili detaylı etik beyanına web sayfamızdan (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/page/6477>) ulaşılabilir.

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

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

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

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

Saygılarımızla.

Oğuz Gürsoy
Baş Editör

Özer Kınık
Ramazan Gökçe
Yusuf Yılmaz
Editörler

BİLİMSEL ETKİNLİKLER**Peynir Çalıştayı**

Peynir ve Peynir Teknolojileri ile ilgili çalışanlar veya bu sektörlere hizmet verenler ile bilim insanlarının bir araya getirilmesi, güncel gelişmeler ve sektör sorunların tartışılması hedefleriyle Sidas Medya Ltd. Şti. ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü tarafından düzenlenecek Peynir Çalıştayı ile ilgili bilgilere etkinliğin Facebook ve Instagram sosyal medya hesaplarından ulaşılabilir.

IV. Et Ürünleri Çalıştayı

Ülkemizde Et Bilimi ve Teknolojisi alanında öncü bir organizasyon olma özelliği taşıyan ve teması "Et Ürünleri Üretiminde Yenilikçi Yaklaşımlar" olarak belirlenen IV. Et Ürünleri Çalıştayı ile ilgili ayrıntılı bilgilere <https://etcalistayi2020.ege.edu.tr/> adresinden ulaşılabilir.

3. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi

Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi'nin üçüncüsünü 4-6 Haziran 2020 tarihleri arasında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi UZEM sistemi (Adobe Connect) ile Uzaktan Online Sunum şeklinde gerçekleştirecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://ihslc.mehmetakif.edu.tr/> adresinden ulaşılabilir.

7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi

Gıda Güvenliği Derneği tarafından düzenlenen Uluslararası Gıda Güvenliği Kongrelerinin yedincisi 3-4 Haziran 2021 tarihlerinde İstanbul'da (Grand Cevahir Hotel Convention Center) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguvenligikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.


10.Ulusal Analitik Kimya Kongresi

2002 yılından bu yana iki yılda bir düzenlenen Analitik Kimya Kongrelerinin onuncusu Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi ev sahipliğinde 3-6 Eylül 2020 tarihlerinde düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://uakk2020.mu.edu.tr/> adresinden ulaşılabilir.

Türkiye 13. Gıda Kongresi

Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020 tarihlerinde Gıda Teknolojisi Derneği ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü işbirliği ile Çanakkale Üniversitesi Troia Kongre Merkezi'nde düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://gidakongresi2020.org/> adresinden ulaşılabilir.

Low Cost, Sensitive and Selective Chronoamperometric Determination of Vanillin at a Disposable Poly(Eriochrome Black T)/Pencil Graphite Electrode

Serkan Karakaya  

Department of Chemistry, Faculty of Science and Arts, Çanakkale Onsekiz Mart University, 17020 Çanakkale, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 15.11.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 23.03.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): skarakaya@comu.edu.tr (S. Karakaya)

☎ +90 286 218 00 18 / 1955 📠 +90 286 218 05 33

ABSTRACT

In this study, low cost, sensitive and selective chronoamperometric determination of vanillin (VNL) is firstly achieved by using a disposable poly(Eriochrome Black T) modified pencil graphite electrode (poly(EBT)/PGE). Electro-oxidation behavior of 1.0 mM VNL was investigated at both poly(EBT)/PGE and PGE by the cyclic voltammetry (CV) method. CV measurements showed that oxidation current of VNL at poly(EBT)/PGE was much higher than the bare one. Furthermore, the pH effect on electro-oxidation current of VNL was tested at different pH values (2.0-8.0) of Britton Robinson Buffer solution (BRBS) for poly(EBT)/PGE and the highest current was obtained at pH 7.0 BRBS. Significant analytical parameters such as linear response range (LRR), limit of detection (LOD), and sensitivity were found as 0.050-10.0 μM , 0.013 μM and 5355 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$, respectively. The fabricated sensor was tested on a VNL-containing sample (VNL content: 3.0%) and the result (3.04% \pm 0.01) obtained from the applicability study showed that the proposed sensor enables the determination of VNL with high accuracy and precision.

Keywords: Vanillin, Pencil graphite electrode, Chronoamperometry, Cyclic voltammetry, Electrochemical sensor

Tek Kullanımlık Poli(Eriokrom Siyahı T) Modifiye Kalem Grafit Elektrotta Vanilinin Düşük Maliyetli, Seçici ve Duyarlı Kronoamperometrik Tayini

ÖZ

Bu çalışmada, vanilinin (VNL) düşük maliyetli, duyarlı ve seçici kronoamperometrik tayini tek kullanımlık bir poli(Eriokrom Siyahı T) modifiye kalem grafit elektrodun (poly(EBT)/PGE) kullanılması ile ilk defa gerçekleştirilmiştir. 1.0 mM VNL'nin elektro-yükseltgenme davranışı, hem PGE'de hem de poly(EBT)/PGE'de döngüsel voltammetri (CV) metodu ile incelenmiştir. CV ölçümleri poly(EBT)/PGE'deki yükseltgenme akımının yalın elektroda göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, poly(EBT)/PGE'de VNL'nin yükseltgenme akımına pH'nın etkisi, farklı pH değerlerindeki (2.0-8.0) Britton Robinson tampon çözeltilerinde (BRBS) test edilmiş ve en yüksek akımın pH 7.0 BRBS'de alındığı gözlenmiştir. Doğrusal yanıt aralığı (LRR), belirtme alt sınırı (LOD) ve duyarlılık gibi önemli analitiksel parametreler sırasıyla 0.050-10.0 μM , 0.013 μM ve 5355 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Tasarlanan sensör, VNL içeren bir örnekte (VNL içeriği %3.0) başarıyla test edilmiş ve uygulanabilirlik çalışmasından elde edilen sonuç (%3.04 \pm 0.01), önerilen sensörün, VNL'nin yüksek doğrulukta ve kesinlikte tayinine imkân sağladığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Vanilin, Kalem grafit elektrot, Kronoamperometri, Döngüsel voltammetri, Elektrokimyasal sensör

INTRODUCTION

A food flavor, vanillin (VNL) known as 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde is extensively utilized for many purposes, such as drugs, food products and cosmetics [1, 2]. The source of vanilla is the bean or shell of a tropical VNL orchid [3]. VNL can be obtained either by extraction from natural vanilla or artificial synthesis in laboratory. Natural VNL is generally preferred by many consumers instead of artificial one. Below 100 ppm for VNL capsules or natural VNL extracts or 250 ppm for synthetic vanillin are used in food products by food companies. Intaking of higher doses of VNL to human body causes serious metabolic disorders such kidney injury, vomiting, nausea and headaches [2]. For all these mentioned reasons, rapid, reliable, accurate and sensitive detection of low VNL concentrations in samples is always a critical issue for the protection of human health and food security. For this purpose, many traditional methods have been utilized for the determination of VNL such as mass spectrometry - gas chromatography coupled solid-phase microextraction technique [4, 5], electrophoresis [6, 7], high performance liquid chromatography (HPLC) [8, 9], etc. Although these techniques have been extensively used in VNL determination, they have significant restrictions such as needing high-cost equipment, including complicated procedures, inconvenient and time-sink sample preparation steps, high consumption of organic solvent and the need for well-experienced specialists. Among these procedures, electrochemical methods have aroused specific interest in sensing applications because of their considerable and useful advantages like fast response, simplicity low cost, better sensitivity and ease of operation [10-16]. In addition, the selection of electrode material is highly significant in construction of electrochemical sensors, because the type of electrode can affect the sensitivity, cost, stability and selectivity of an electrochemical sensor [17-20]. Glassy carbon electrode (GCE) [1, 21-24] and carbon paste electrode (CPE) [25-27] have been extensively used in fabrication of electrochemical VNL sensors. However, GCE and CPE require hard and time-consuming surface polishing and cleaning steps. Among these carbon-originated electrodes, PGEs have numerous advantages such as disposable, low cost, commercially availability, ease of modification, high mechanical rigidity and electrochemical reactivity and also, PGE offers a simpler and faster renewable surface than the other solid electrodes. Therefore, it has been reported that PGE provides beneficial and reproducible results due to their single-use properties [17, 19, 20, 28]. To get better sensitivity and response, bare electrode surfaces have been generally modified with functional materials including metal nanoparticles [29, 30], multiwall carbon nanotubes (MWCNTs) [31, 32], quantum dots [33-35] and conducting polymer films [36, 37]. In recent years, polymer film modified electrodes have aroused grate notice with their good repeatability and stability properties [38]. An azo naphthol dye, EBT is a metachromic indicator [39] and it is commonly used for coloring materials such as wool, silk and nylon [40]. EBT have been also used to modify on surfaces of various kinds of electrode to improve the response and

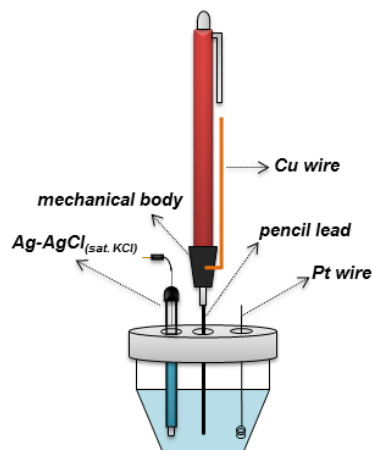
sensitivity towards many analytes due to the fact that SO_3^- groups and electron-rich oxygen atoms of EBT provide electrochemically active surface area and accelerate interaction and electron transfer between analytes and the electrode [41-44].

According to the literature research, bare PGE was used without any modification for differential pulse voltammetric determination of VNL [10]. In this study, EBT and PGE have been firstly used together for low cost, disposable, sensitive and selective chronoamperometric determination of VNL and better analytical performances were obtained with proposed method compared with published study [10]. In this work, EBT was electro polymerized on PGE surface by cyclic voltammetry (CV) method and proposed electrode was successfully applied on real samples.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals and Apparatus

Vanillin, 99% was supplied from Alfa Aesar. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CH_3COOH , H_3PO_4 , H_3BO_3 , NaOH , KCl , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, MgCl_2 , $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, Na_2SO_4 , NaNO_3 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, ZnCl_2 , D-(+)-glucose and D-(+)-sucrose, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ were supplied from Sigma Aldrich or Merck. A Q7B Elga Option system for water purification was used to obtain ultrapure water for the preparation of buffer solutions. The pH of buffer solutions was ordered with a pH meter, HI-1332 Hanna. An electrochemical Compactstat Interface Analyzer (Ivium Technologies, Eindhoven, Netherlands) was used to perform the electrochemical measurements. Triple electrode system containing $\text{Ag-AgCl}_{(\text{sat. KCl})}$ (as reference electrode), Pt wire (as counter electrode) and Tombow 2B pencil polymer lead (0.50 mm) (as working electrode) were used to perform all electrochemical measurements. A Rotring mechanical pencil (Germany) that bought from a book store was used to hold the pencil lead. A copper wire was brazed on metallic body of mechanical pencil for the connection of electricity. A schematic representation for the triple electrode system including reference electrode, counter electrode and working electrode, was given in Scheme 1.



Scheme 1. A schematic representation for the triple electrode system

Preparation of Poly(EBT)/PGE

Firstly, the effect of monomer concentration, anodic potential and number of cycle at electrodeposition step were optimized by examining the cyclic voltammetric response of 1.0 mM VNL in pH 7.0 PBS including 100 mM KCl. Then, poly(EBT)/PGE was prepared by recording CVs of Ar saturated 0.50 mM EBT in 0.10 M NaOH under optimized conditions (Potential range: -0.40 V - +0.90 V; scan rate: 50 mV/s and number of cycle: 15).

Electrochemical Applications

In all electrochemical applications, a total of 1.0 cm length (0.159 cm² of geometric area) of pencil lead was used for all electrochemical studies. Electrochemical impedance measurements of poly(EBT)/PGE and PGE were realized in 10.0 mM solution of Fe(CN)₆^{3-/4-} including 100 mM KCl at a +0.18 V constant potential with a frequency range of 0.10–100000 Hz (sinusoidal signal: 0.005 V). CV behaviors of the poly(EBT)/PGE and PGE were investigated towards 1.0 mM VNL prepared in 0.10 M PBS pH 7.0 including 100 mM KCl. The effects of pH and scan rate on oxidation current of VNL were examined towards 1.0 mM VNL by CV method. Chronoamperometric responses of both poly(EBT)/PGE and PGE were investigated in presence of increased concentrations of VNL in 0.10 M BRBS pH 7.0 at an applied potential of +0.60 V (Interval time: 0.20 s).

Real Sample Study

The practical usability of the VNL sensor was tested on vanillin powder that supplied from a local market by combination of chronoamperometry and standard addition methods. For the determination of VNL content, 5.0 g (1 packet) of powder was dissolved in 100 mL of pure water. After obtaining a stable background current, prepared solution was diluted with a ratio of 1/10⁴ with pH 7.0 BRBS in electrochemical cell. Then, equal additions (1.0 μM) from standard VNL solution (500 μM) were performed. Calibration curves from the obtained

chronoamperograms were drawn and the percentage of VNL content in vanillin powder was calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

Electrochemical Polymerization of EBT on PGE

Figure 1 displays the voltammograms of electro-polymerization step (Potential range: -0.40 V - +0.90 V; scan rate: 50 mV/s and number of cycles: 15). During the electropolymerization process, two anodic peaks (I and II) at +0.07 V and +0.51 V, which correspond to oxidation of EBT gradually decreased with increase of cycle. A cathodic peak (III) observed at approximate -0.30 V, which corresponds to reduction of EBT with continuous scans and also this peak decreased continuously. After the cycles completed, both cathodic and anodic peaks were completely vanished, which points the formation of the polymer film on the PGE and became less conductive and more compact with the scan cycles, exhibiting a self-regulating feature. A mechanism for redox processes of EBT can be clarified as in Scheme 2.

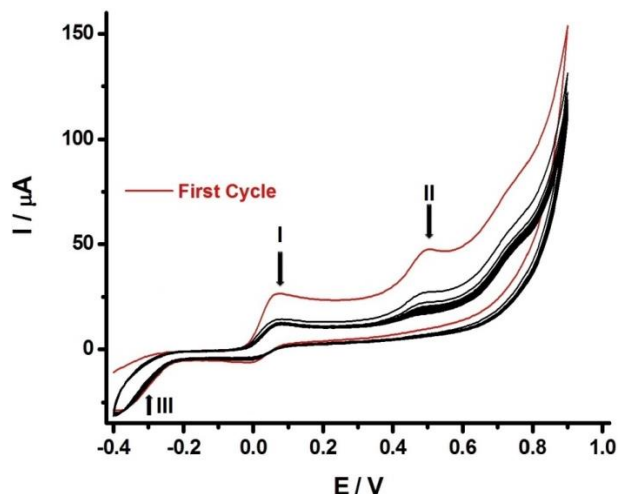
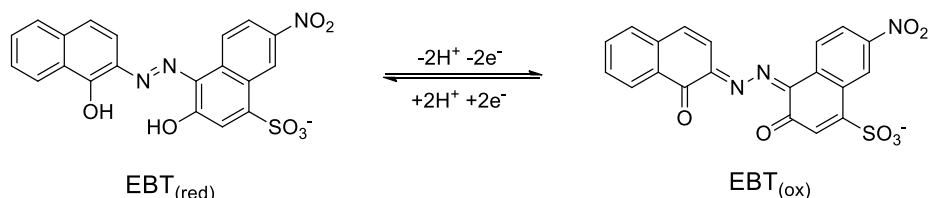


Figure 1. Cyclic voltammograms of Ar saturated 0.50 mM EBT in 0.10 M NaOH recorded in the potentials between -0.40 V and +0.90 V for 15 cycles (Scan rate: 100 mV/s).



Scheme 2. A proposed mechanism for EBT occurred during the electrodeposition process [43, 45].

Firstly, initial form of EBT (EBT_(red)) oxidized to benzoquinone di-imine form (EBT_(ox)) (observed as peaks I and II) and then the di-imine structure (EBT_(ox)) was reduced to initial form (EBT_(red)) (observed as peak III) on the surface of PGE. The electrodeposition behavior of EBT on PGE was found to be similar with some reports [43, 45]. As a result, EBT shows two-step one electron redox process in CVs (mentioned in

Scheme 1), which is in good agreement with the mechanism reported by Yao et al. [43].

Investigation of Voltammetric Response of VNL at Poly(EBT)/PGE

In order to find the most suitable conditions for modification of EBT on PGE, firstly, modified electrodes were prepared in different concentrations of EBT (0.25,

0.50, 0.75 and 1.0 mM) and the responses of these modified electrodes were tested in presence of 1.0 mM VNL in pH 7.0 PBS. Obtained current vs. monomer concentration graphs showed that the highest oxidation current was obtained for the modified electrode that prepared with 0.50 mM EBT and this concentration was chosen as the optimum value (Figure 2A). Secondly, the effect of anodic potential range during the electropolymerization step was optimized. For this purpose, modified electrodes were prepared in 0.50 mM EBT solution including 0.10 M NaOH between increased anodic potential ranges (-0.40 V \rightarrow 0.80, 0.90, 1.0, 1.2,

1.4, 1.6, 1.8 and +2.0 V) and these obtained electrodes were in presence of 1.0 mM VNL in pH 7.0 PBS. Obtained current vs. anodic potential graphs supported that the highest response was observed with the potential range of -0.40 V \rightarrow +0.90 V at electropolymerization step (Figure 2B). In final step of optimizations, modified electrodes were prepared with increased cycles (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30) under optimized conditions. Current vs. number of cycle graph proved that the best response was obtained with 15 cycles (Figure 2C).

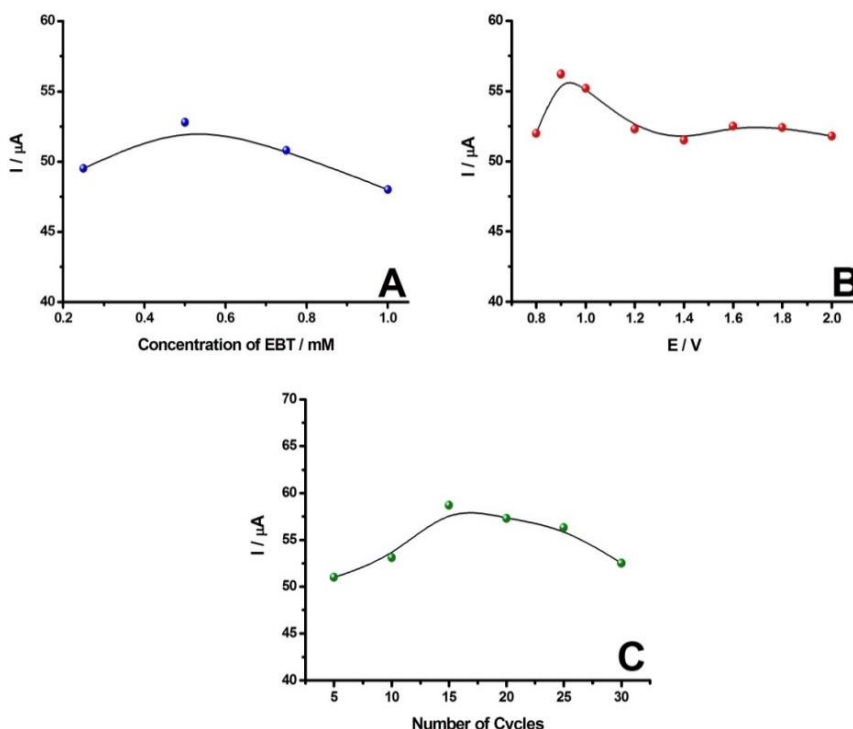


Figure 2. A) Current vs. EBT concentration (0.25, 0.50, 0.75 and 1.0 mM), B) current vs. anodic potential (0.80, 0.90, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 and +2.0 V) and C) current vs. number of cycles graph (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30) towards 1.0 mM VNL in PBS 7.0 including 100 mM KCl.

After the determination for the most suitable condition for preparation of the modified electrode, the cyclic voltammetric behavior of 1.0 mM VNL was evaluated at both PGE and poly(EBT)/PGE in pH 7.0 PBS between the potentials of 0 – +1.0 V (Figure 3). As a result of the CV measurements, it is clear that no significant change was seen at oxidation potential of VNL and oxidation peak for bare and modified electrodes was observed at +0.65 V and +0.60 V, respectively. Furthermore, oxidation current of VNL was found to be much higher at poly(EBT)/PGE compared with bare PGE. Consequently, it is concluded that poly(EBT) facilitates the electron transfer between vanillin and PGE and the remarkable enhancement in oxidation current was obtained. A mechanism for oxidation process of VNL has been previously explained for GCE [21], CPE [27] and screen-printed carbon electrode (SPCE) [46]. The same redox behavior can be taken in consider for poly(EBT)/PGE. In this mechanism, phenolic hydroxyl and methoxy groups oxidized to carbonyl groups after

losing equal numbers of protons (2H^+) and electrons (2e^-) (Scheme 3).

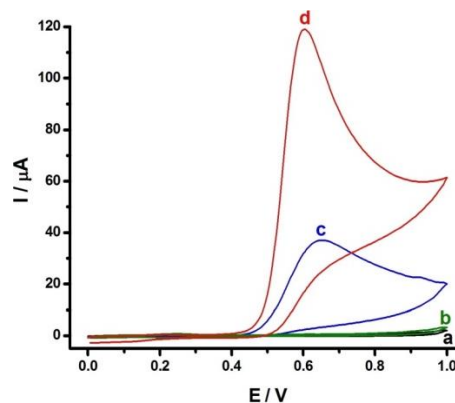
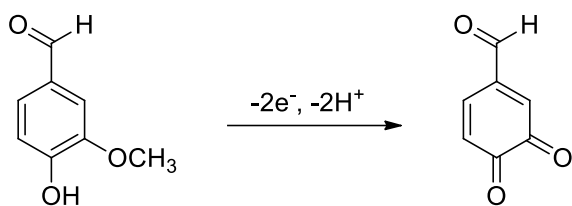


Figure 3. CV responses of PGE (a and c) and poly(EBT)/PGE (b and d) in presence of 0 mM (a and b) and 1.0 mM (c and d) VNL in 0.10 M PBS pH 7.0 including 100 mM KCl (Potential range: 0 V - +1.0 V; scan rate: 50 mV/s).



Scheme 3. Electrochemical oxidation mechanism for VNL [21, 27, 46].

pH value of supporting media is a significant parameter that effects oxidation potential and oxidation current of polyphenolic compounds. To examine the most suitable condition for the pH of supporting electrolyte, CVs of 1.0

mM VNL were recorded in BRBS between the pH values of 2.0 - 8.0 for poly(EBT)/PGE (Figure 4A). The recorded voltammograms indicated that oxidation peak potential shifts to cathodic direction with increment of pH and also, a significant enhancement in peak current occurred at pH 7.0 (Figure 4B). Because of the highest current obtained at 7.0, this pH value was chosen as the optimum condition for further studies. The linear relationship between potential vs. pH was also given in Figure 4C. The obtained slope (0.053) was found to be near to Nernstian slope (0.059) and indicated that equal numbers of protons and electrons act in electro-oxidation reaction of VNL on the electrode surface.

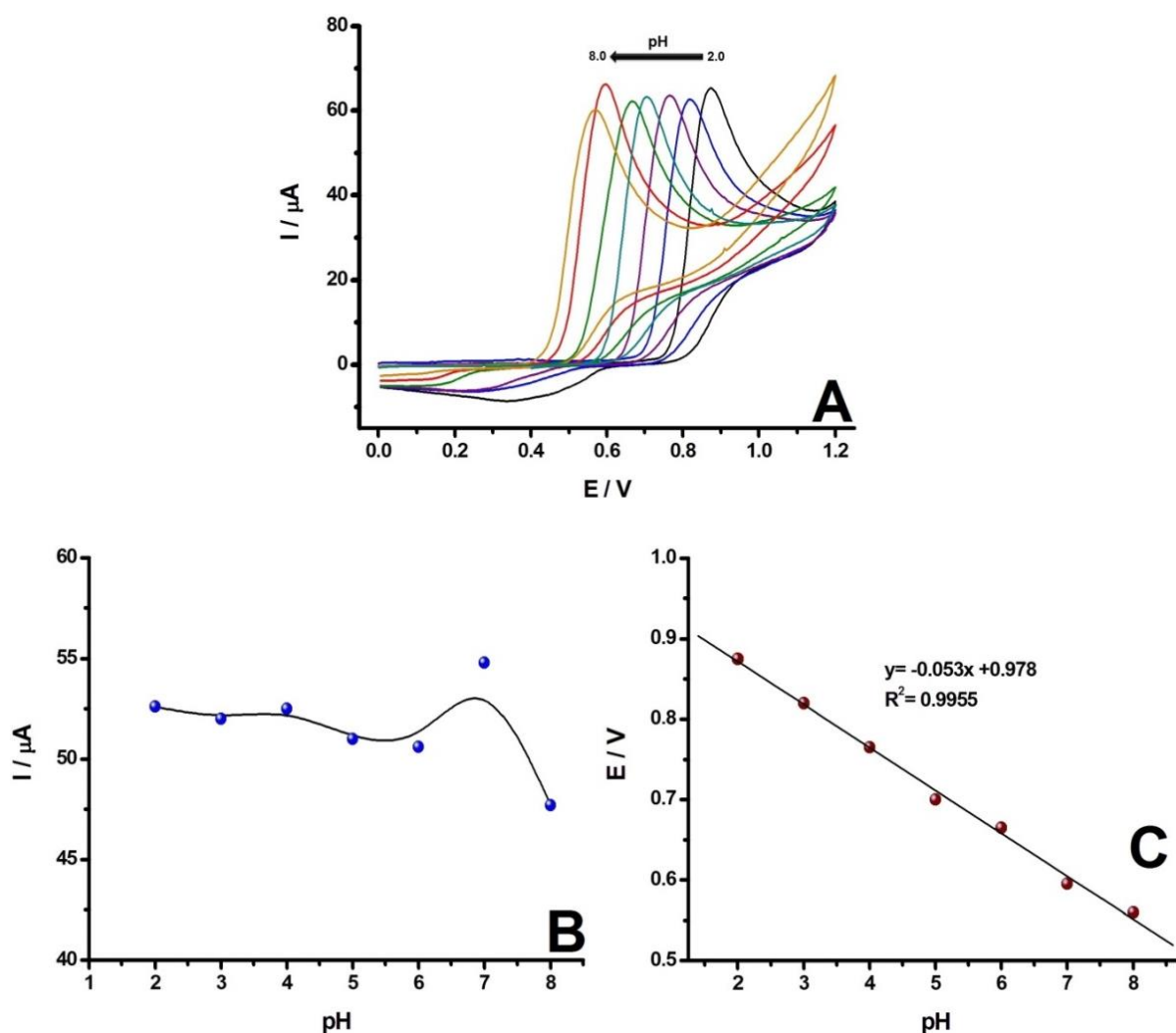


Figure 4. A) CV responses of 1.0 mM VNL solution in BRBS at increased pH values (2.0-8.0) including 100 mM KCl at poly(EBT)/PGE (Potential range: 0 V - +1.2 V; scan rate: 50 mV/s), B) current vs. pH graphs obtained from the voltammograms and C) the graph for linear relationship between pH and potential ($E(V) = -0.053(\text{pH}) + 0.978$ and $R^2 = 0.9955$).

The effect of scan rate on electro-oxidation of VNL was also studied (Figure 5A). It is clear from the Figure 5B that oxidation current increases linearly between 10-800 mV/s. The equation was found as $I(\mu\text{A}) = 3.2804 v^{1/2} + 9.9759$ with correlation coefficient of 0.9968 from I vs.

$v^{1/2}$ plots the (Figure 5B). Also the high linear relationship between the I and $v^{1/2}$ indicates that electrode reaction occurs by diffusion controlled process.

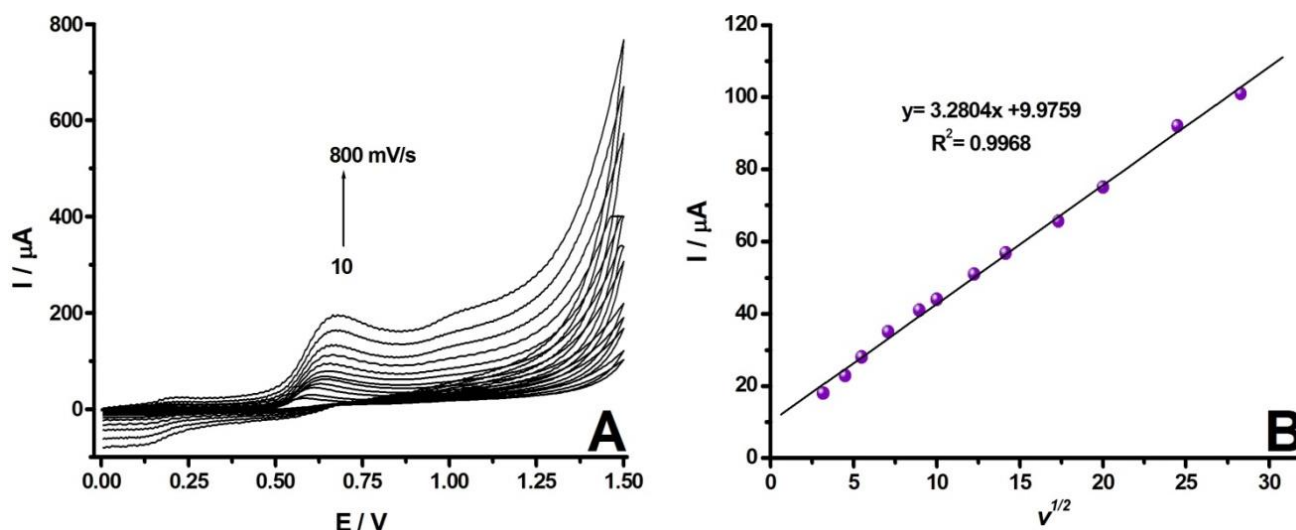


Figure 5. A) CV responses of 1.0 mM VNL solution in pH 7.0 BRBS at increased scan rates (10-800 mV/s) at poly(EBT)/PGE (Potential range: 0 V - +1.5 V) and B) the calibration curve obtained from I vs. $v^{1/2}$ plots ($I(\mu\text{A}) = 3.2804 v^{1/2} + 9.9759$ and $R^2 = 0.9968$).

Electrochemical and Surface Characterizations of PGE and Poly(EBT)/PGE

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was used to examine the conductivity properties of the carbon-based electrodes. EIS curves of the electrodes were recorded in 10.0 mM solution of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ including 100 mM KCl (Figure 6). As it can be clearly seen from the figure, charge transfer resistance (R_{ct}) at PGE (50 Ω) significantly increased (212 Ω) after polymer film (poly(EBT)) formed on the surface of PGE. The enhancement in R_{ct} was attributed to the electrostatic repulsion between negatively charged $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redox probe and negatively charged functional groups ($-\text{N}=\text{N}-$ and $-\text{SO}_3^-$) of EBT. As a result, significant decrement observed in conductivity and electron transfer between poly(EBT)/PGE and redox probe. Although the decrease in conductivity was seen EIS curves, the enhancement in electrochemical response towards oxidation of VNL may be attributed to the possible interactions (H bonding and/or ion ($-\text{SO}_3^-$ group of poly(EBT)) – dipole ($-\text{CHO}$ group of VNL) interaction) which provide highly electrochemically active surface area and result acceleration in electron transfer between VNL and the poly(EBT)/PGE (Figure 3).

Surface characterizations of both electrodes were performed by recording their SEM micrographs and EDX spectrums (Figure 7). When the SEM images of the electrodes were considered, a flat and smooth surface that seen at PGE (Figure 7A) prominently changed after formation of layered polymer film (Figure 7B). In order to obtain more information about surface morphology, EDX analyzes of electrodes were also performed. When the EDX spectra are examined, the signals (90.5% C, 7.3% O, 2.1% Si, 0.1% Al) appearing on the lean electrode confirm that PGE is composed of

graphite and clay minerals (Figure 7C) [12]. Apart from these signals, additional signals (1.6% N, 0.6% Na, 0.1% S correspond to $-\text{N}=\text{N}-$ and $-\text{SO}_3\text{Na}$ groups of EBT) and increment in C signal (90.5% to 97.8%) seen on the modified electrode indicate that formation of the polymer film certainly occurred on the PGE surface (Figure 7D). The relevant morphological findings indicate that EBT has been successfully modified on the PGE surface by electropolymerization

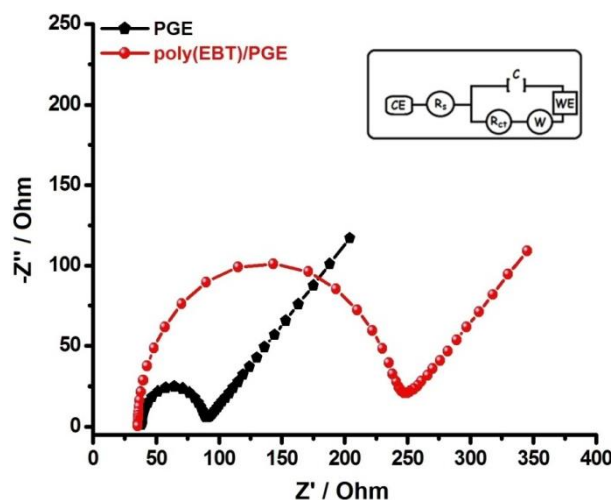


Figure 6. EIS curves of poly(EBT)/PGE (red) and PGE (black) that recorded in 10.0 mM solution of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ including 100 mM KCl (Frequency range: 0.10 – 100000 Hz, sinusoidal signal: 0.005 V and constant potential: +0.18 V) and inset: equivalent circuit model (CE as counter electrode, R_s as ohmic resistance, C: double layer capacitance, W: Warburg impedance, WE: working electrode).

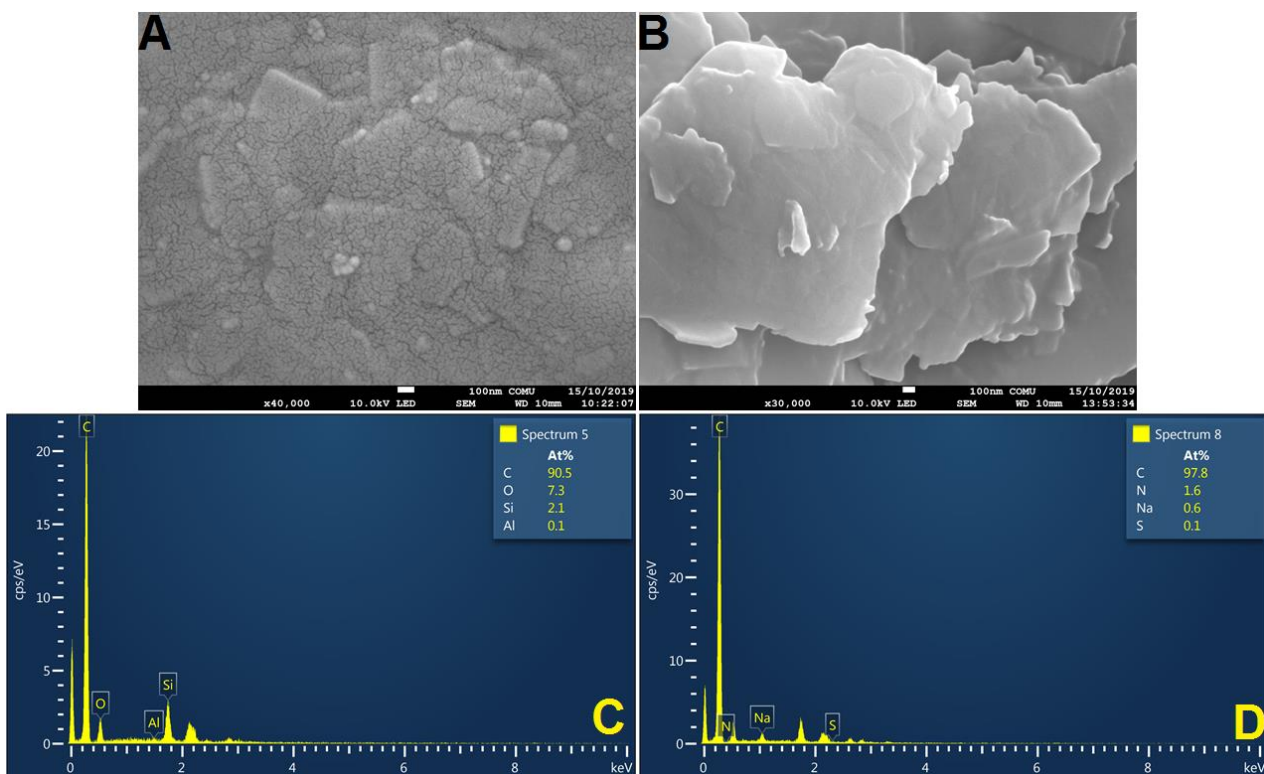


Figure 7. SEM micrographs of A) PGE and B) poly(EBT)/PGE and EDX spectrums of C) PGE and D) poly(EBT)/PGE.

Chronoamperometric Determination of VNL at Poly(EBT)/PGE

The significant parameters of amperometric VNL sensor (such as LRR, LOD and sensitivity) were further investigated. For this aim, chronoamperograms of increased concentrations of VNL were recorded at +0.60 V under optimized conditions for both electrodes (Figure 8A). The poly(EBT)/PGE showed a wider linear response in concentrations between 0.050 and 10.0 μM VNL compared with bare PGE (0.20 – 2.0 μM VNL). Calibration curves obtained from the chronoamperograms were also given in Figure 8B.

The equation for linear response was found as $I(\mu\text{A}) = 0.851(\mu\text{M}) + 0.036$ with correlation coefficient of 0.9984 for poly(EBT)/PGE. LOD and LOQ values of proposed sensor were determined as 0.013 μM and 0.043 μM according to the 3(s/m) and 10(s/m), respectively (s: standard deviation of the currents for the ten times additions of the lowest concentration (0.05 μM) that gives a measurable signal and m: the slope obtained from the calibration curve). The sensitivity was found to be 5355 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^2$ according to the ratio of slope/active surface area (1.0 cm of geometric area of PGE was measured as 0.159 cm^2).

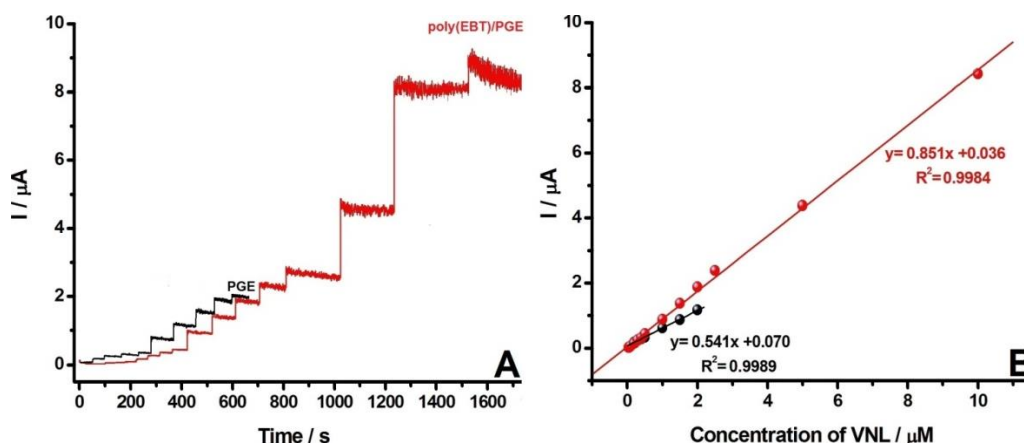


Figure 8. A) Chronoamperometric responses of poly(EBT)/PGE (red line) and PGE (black line) at increased concentrations (0.20–2.5 μM for PGE and 0.050–15.0 μM for poly(EBT)/PGE) of VNL in BRBS pH 7.0 (Applied potential: +0.60 V and interval time: 0.20s) and B) the calibration curve for PGE (black line, $I(\mu\text{A}) = 0.541(\mu\text{M}) + 0.070$ and $R^2 = 0.9989$) and poly(EBT)/PGE (red line, $I(\mu\text{A}) = 0.851(\mu\text{M}) + 0.036$ and $R^2 = 0.9984$) obtained from the chronoamperograms.

For evaluation of the analytical performance of the poly(EBT)/PGE, the obtained parameters were compared with those in previously published works (Table 2). In these works, GCE [22, 24, 47, 48] and CPE [25-27] were intensively used for construction of VNL sensors. But as it was previously mentioned, the drawbacks such as hard and time-consuming cleaning/polishing steps limit their uses. On the other hand, PGE does not include these limitations and PGE has superior advantages compared with mentioned electrodes. PGEs also provide fast, renewable surfaces and high reproducibility. According to the literature

research, pre-treated form of PGE was used in DPV determination of VNL without modification of any material [10]. In proposed study, VNL has been determined with polymer film (poly(EBT) modified PGE by chronoamperometric method for the first time. Also designed sensor shows wider LRR compared with published works [10, 22, 47] and has a lower LOD than many studies [10, 22, 24, 25, 47, 48]. After all, it is clear that poly(EBT)/PGE shows better and comparable analytical performance than the other published VNL sensors.

Table 1. Comparison of proposed sensor with the other published studies

The Type of Electrode	Method	LRR (μM)	LOD (μM)	Ref.
Graphene-GCE	DPV	0.60-48	0.056	[22]
CDA/Au-AgNPs/GCE	Amperometry	0.20-50	0.040	[24]
CuHCF thin film	CV	0.76-120	0.23	[48]
CoS nanorods/GCE	DPV	0.50-56	0.070	[47]
CuFe ₂ O ₄ /ionic liquid/CPE	SWV	0.10-700	0.070	[25]
CPE/CdO/SWCNTs/DPIB	SWV	0.03-1200	0.009	[26]
CPE/NiO-SWCNTs/BPrPF ₆	SWV	0.01-350	0.007	[27]
p-PGE	DPV	0.50-10	0.16	[10]
<i>poly(EBT)/PGE</i>	<i>Amperometry</i>	<i>0.050-10.0</i>	<i>0.013</i>	<i>This work</i>

CDA: cellulose diacetate; CuHCF: copper hexacyanoferrate; DPIB: dipropylimidazolium bromide; BPrPF₆: 1-butylpyridinium hexafluorophosphate; p-PGE: pre-treated pencil graphite electrode.

Examination of the Selectivity at VNL Sensor

Selectivity of the poly(EBT)/PGE were investigated in presence of 1.0 μM VNL towards some potential interference species (100 folds of NO_3^- , SO_4^{2-} , CH_3COO^- , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , glucose and sucrose) and the recorded time vs. current graph was given in Figure 9. The recorded chronoamperograms

have proved that the interference effects of higher concentrations of these ionic and molecular species on electro-oxidation current of VNL were found to be insignificant. As a result, it can be said that the proposed method can be successfully used for selective determination of VNL in real samples, which include these interference species.

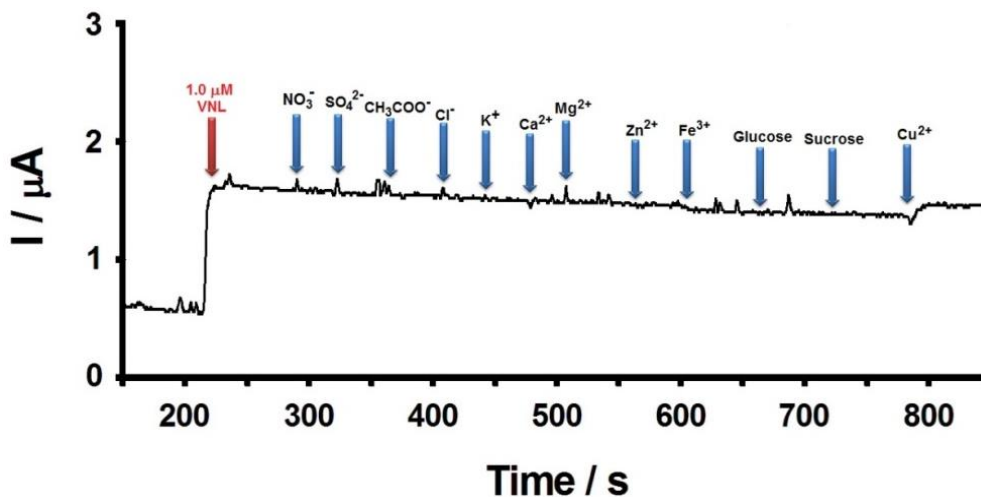


Figure 9. Chronoamperometric responses towards 1.0 μM VNL in presence of various ionic and molecular interferences (100 folds (100 μM) of NO_3^- , SO_4^{2-} , CH_3COO^- , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , glucose and sucrose) at poly(EBT)/PGE under optimized conditions.

Application on Real Sample

Applicability for proposed sensor was tested on vanillin powder, which was supplied from a local market. VNL determination at poly(EBT)/PGE was performed by

using chronoamperometry combined with standard addition method and the result was given in Table 4. The result showed that poly(EBT)/PGE exhibits good applicability for determining VNL in real samples.

Table 4. The results for determination of VNL in vanillin powder (n=3).

Sample	Percentage (%) of Vanillin Written on Label	Found (%) with Proposed Method
Vanillin Powder	3.0	3.04±0.01

CONCLUSION

In present study, two useful and advantageous approaches were used for chronoamperometric determination of VNL for the first time: (i) PGE as a cheap and disposable electrode and (ii) EBT as redox mediator for enhancing the electrochemical response and sensitivity. Although many types of carbon originated electrodes and modification materials were used for sensitive electrochemical determination of VNL based on its electro-oxidation behavior, but as it mentioned before significant drawbacks limit their uses. In addition, the proposed sensor provides low cost, disposable, sensitive and selective chronoamperometric determination of VNL and comparable analytical performance was obtained among many published studies. The designed sensor also enables high selectivity towards the determination of VNL in presence of many potential interference species. The obtained results from real sample analysis proved that designed sensor can be successfully applied to daily used samples. It is expected that the proposed method may provide an alternative way for the low-cost, sensitive and selective determination of VNL in real samples in the future.



REFERENCES

- [1] Sun, Y.J., Jiang, X.W., Jin H., Gui, R.J. (2019). Ketjen black/ferrocene dual-doped MOFs and aptamer-coupling gold nanoparticles used as a novel ratiometric electrochemical aptasensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta*, 1083, 101-109.
- [2] Sinha, A.K., Sharma, U.K., Sharma, N. (2008). A comprehensive review on vanilla flavor: extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Science Nutrition*, 59299-59326.
- [3] Bettazzi, F., Palchetti, I., Sisalli, S., Mascini, M. (2006). A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta*, 555, 134-138.
- [4] Wang, Z.Y., Zeng, G.F., Wei, X.Q., Ding, B., Huang, C., Xu, B.J. (2016). Determination of vanillin and ethyl-vanillin in milk powder by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 9, 3360-3366.
- [5] De Jager, L.S., Perfetti, G.A., Diachenko, G.W. (2008) Comparison of headspace-SPME-GC-MS and LC-MS for the detection and quantification of coumarin, vanillin, and ethyl vanillin in vanilla extract products. *Food Chemistry*, 107, 1701-1709.
- [6] Shu, M., Man, Y.R., Ma, H., Luan, F., Liu, H.T., Gao, Y. (2016). Determination of vanillin in milk powder by capillary electrophoresis combined with dispersive liquid-liquid microextraction. *Food Analytical Methods*, 9, 1706-1712.
- [7] Ohashi, M., Omae, H., Hashida, M., Sowa, Y., Imai, S. (2007). Determination of vanillin and related flavor compounds in cocoa drink by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1138, 262-267.
- [8] Pérez-Esteve, E., Lerma-García, M.J., Fuentes, A., Palomares, C., Barat, J.M. (2016). Control of undeclared flavoring of cocoa powders by the determination of vanillin and ethyl vanillin by HPLC. *Food Control*, 67, 171-176.
- [9] Zhu, J.L., Chen, D.P., Ai, Y.H., Dang, X.P., Huang, J.L., Chen, H.X. (2017). A dummy molecularly imprinted monolith for selective solid-phase microextraction of vanillin and methyl vanillin prior to their determination by HPLC. *Microchimica Acta*, 184, 1161-1167.
- [10] Dilgin, D.G. (2019). Voltammetric determination of vanillin using a pretreated pencil graphite electrode. *Akademik Gıda*, 17, 1-8.
- [11] Dilgin, D.G. (2018) Determination of calcium dobesilate by differential pulse voltammetry at a disposable pencil graphite electrode. *Analytical Letters*, 51, 186-197.
- [12] Teoman, İ., Karakaya, S., Dilgin, Y. (2019). Sensitive and rapid flow injection amperometric hydrazine sensor using a gold nanoparticle modified graphite pencil electrode. *Analytical Letters*, 52(13), 2041-2056.
- [13] Ayaz, S., Dilgin, Y. (2017). Flow injection amperometric determination of hydrazine based on its electrocatalytic oxidation at pyrocatechol violet modified pencil graphite electrode. *Electrochimica Acta*, 258, 1086-1095.
- [14] Dilgin, D.G., Ertek, B., Dilgin, Y. (2018). A low-cost, fast, disposable and sensitive biosensor study: flow injection analysis of glucose at poly-methylene blue-modified pencil graphite electrode. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 15, 1355-1363.
- [15] Karakaya, S., Dilgin, D.G. (2019). Low-cost determination of cetirizine by square wave voltammetry in a disposable electrode. *Monatshefte Fur Chemie*, 150, 1003-1010.
- [16] Özcan, A., Gürbüz, M., Özcan, A.A. (2018). Preparation of a disposable and low-cost electrochemical sensor for prothionamide detection based on over-oxidized poly (thiophene) modified pencil graphite electrode. *Talanta*, 187, 125-132.
- [17] Wang, J., Kawde, A.N., Sahlin, E. (2000). Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, 125, 5-7.
- [18] Aslışen, B., Koçak, Ç.C., Koçak, S. (2019). Electrochemical determination of sesamol in foods by square wave voltammetry at a boron-doped diamond electrode. *Analytical Letters*, 1-12.

- [19] Jadon, N., Jain, R., Pandey, A. (2017). Electrochemical analysis of amlodipine in some pharmaceutical formulations and biological fluid using disposable pencil graphite electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 788, 7-13.
- [20] Abdul Aziz, M., Kawde, A.N. (2013). Gold nanoparticle-modified graphite pencil electrode for the high-sensitivity detection of hydrazine. *Talanta*, 115, 214-221.
- [21] Silva, T.R., Brondani, D., Zapp, E., Vieira, I.C. (2015). Electrochemical sensor based on gold nanoparticles stabilized in poly(allylamine hydrochloride) for determination of vanillin. *Electroanalysis*, 27, 465-472.
- [22] Peng, J.Y., Hou, C.T., Hu, X.Y. (2012). A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of vanillin. *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 1724-1733.
- [23] Qianwen, M., Yaping, D., Li, L., Anqing, W., Dingding, D., Yijun, Z. (2019). Electrospun MoS₂ composite carbon nanofibers for determination of vanillin. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 833, 297-303.
- [24] Zheng, D.Y., Hu, C.G., Gan, T.A., Dang, X.P., Hu, S.S. (2010). Preparation and application of a novel vanillin sensor based on biosynthesis of Au-Ag alloy nanoparticles. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 148, 247-252.
- [25] Khalilzadeh, M.A., Arab, Z. (2017). High sensitive nanostructure square wave voltammetric sensor for determination of vanillin in food samples. *Current Analytical Chemistry*, 13, 81-86.
- [26] Cheraghi, S., Taher, M.A., Karimi-Maleh, H. (2017). Highly sensitive square wave voltammetric sensor employing CdO/SWCNTs and room temperature ionic liquid for analysis of vanillin and folic acid in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 254-259.
- [27] Gupta, V.K., Karimi-Maleh, H., Agarwal, S., Karimi, F., Bijad, M., Farsi, M., Shahisi, S.A. (2018). Fabrication of a food nano-platform sensor for determination of vanillin in food samples. *Sensors (Basel)*, 18, 2817.
- [28] David, I.G., Popa, D.E., Buleandra, (2017). M. Pencil graphite electrodes: a versatile tool in electroanalysis. *Journal Analytical Methods in Chemistry*, 1905968.
- [29] Khoshroo, A., Hosseinzadeh, L., Sobhani-Nasab, A., Rahimi-Nasrabad, M., Ahmadi, F. (2019). Silver nanofibers/ionic liquid nanocomposite based electrochemical sensor for detection of clonazepam via electrochemically amplified detection. *Microchemical Journal*, 145, 1185-1190.
- [30] Chen, H.Y., Yang, T., Liu, F.Q., Li, W.H. (2019). Electrodeposition of gold nanoparticles on Cu-based metal-organic framework for the electrochemical detection of nitrite. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 286, 401-407.
- [31] Duan, D.D., Yang, H., Ding, Y.P., Li, L., Ma, G.H. (2019). A three-dimensional conductive molecularly imprinted electrochemical sensor based on MOF derived porous carbon/carbon nanotubes composites and prussian blue nanocubes mediated amplification for chiral analysis of cysteine enantiomers. *Electrochimica Acta*, 302, 137-144.
- [32] Mo, F., Xie, J., Wu, T., Liu, M., Zhang, Y., Yao, S. (2019). A sensitive electrochemical sensor for bisphenol A on the basis of the AuPd incorporated carboxylic multi-walled carbon nanotubes. *Food Chemistry*, 292, 253-259.
- [33] Bhanjana, G., Chaudhary, G.R., Dilbaghi, N., Chauhan, M., Kim, K.H., Kumar, S. (2019). Novel electrochemical sensor for mononitrotoluenes using silver oxide quantum dots. *Electrochimica Acta*, 293, 283-289.
- [34] Li, Y.X., Li, Z.P., Ye, W.X., Zhao, S., Yang, Q.C., Ma, S., Xiao, G., Liu, G., Wang, Y., Yue, Z. (2019). Gold nanorods and graphene oxide enhanced BSA-AgInS₂ quantum dot-based photoelectrochemical sensors for detection of dopamine. *Electrochimica Acta*, 295, 1006-1016.
- [35] Abbas, M.W., Soomro, R.A., Kalwar, N.H., Zahoor, M., Avci, A., Pehlivan, E., Hallam, K.R., Willander, M. (2019). Carbon quantum dot coated Fe₃O₄ hybrid composites for sensitive electrochemical detection of uric acid. *Microchemical Journal*, 146, 517-524.
- [36] Nemakal, M., Aralekallu, S., Mohammed, I., Pari, M., Reddy, K.R.V., Sannegowda, L.K. (2019). Nanomolar detection of 4-aminophenol using amperometric sensor based on a novel phthalocyanine. *Electrochimica Acta*, 318, 342-53.
- [37] Zhao, L.Y., Li, J.G., Chen, X.L., Cheng, D., Zhang, J.Y., Yang, H.X. (2019). Highly sensitive electrochemical detection of hydrogen peroxide based on polyethyleneimine-Au nanoparticles-zinc protoporphyrin. *Journal of the Electrochemical Society*, 166, B631-B636.
- [38] Gilbert, O., Swamy, B.E.K., Chandra, U., Sherigara, B.S. (2009). Electrocatalytic oxidation of dopamine and ascorbic acid at poly (eriochrome black-t) modified carbon paste electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 4, 582-591.
- [39] Liu, X., Luo, L.Q., Ding, Y.P., Kang, Z.P., Ye, D.X. (2012). Simultaneous determination of L-cysteine and L-tyrosine using Au-nanoparticles/poly-eriochrome black T film modified glassy carbon electrode. *Bioelectrochemistry*, 86, 38-45.
- [40] Kansal, S.K., Sood, S., Umar, A., Mehta, S.K. (2013). Photocatalytic degradation of eriochrome Black T dye using well-crystalline anatase TiO₂ nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 581, 392-397.
- [41] Yao, H., Sun, Y.Y., Lin, X.H., Tang, Y.H., Liu, A.L., Guangwen, L., Wei, L., Zhans, S. (2007). Selective determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid by electrocatalytic oxidation at poly(eriochrome black T) film-modified glassy carbon electrode. *Analytical Sciences*, 23, 677-682.
- [42] Liu, X., Luo, L., Ding, Y., Kang, Z., Ye, D. (2012). Simultaneous determination of L-cysteine and L-tyrosine using Au-nanoparticles/poly-eriochrome black T film modified glassy carbon electrode. *Bioelectrochemistry*, 86, 38-45.

- [43] Yao, H., Sun, Y.Y., Lin, X.H., Tang, Y.H., Huang, L.Y. (2007). Electrochemical characterization of poly(eriochrome black T) modified glassy carbon electrode and its application to simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. *Electrochimica Acta*, 52, 6165-6171.
- [44] Wei, Y.L., Luo, L.Q., Ding, Y.P., Liu, X., Chu, Y.L. (2013). A glassy carbon electrode modified with poly(eriochrome black T) for sensitive determination of adenine and guanine. *Microchimica Acta*, 180, 887-893.
- [45] Cittan, M., Celik, A. (2019). An electrochemical sensing platform for trace analysis of eriochrome black T using multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode by adsorptive stripping linear sweep voltammetry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-13.
- [46] Kutty, M., Settu, R., Chen, S.M., Chen, T.W., Tseng, T.W., Hatamleh, A.A., Yu, J., Ju, R., Huang, C.-C. (2019). An electrochemical detection of vanillin based on carbon black nanoparticles modified screen printed carbon electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 14, 5972-5983.
- [47] Sivakumar, M., Sakthivel, M., Chen, S.M. (2017). Simple synthesis of cobalt sulfide nanorods for efficient electrocatalytic oxidation of vanillin in food samples. *Journal of Colloid and Interface Science*, 490, 719-726.
- [48] Prabhu, P., Babu, R.S., Narayanan, S.S. (2019). Electrochemical determination of l-vanillin using copper hexacyanoferrate film modified gold nanoparticle graphite-wax composite electrode. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 30, 9955-9963.
-
-

Effect of Transglutaminase on Textural and Microstructural Properties of Probiotic Yoghurt Produced With Mixture of Cows' Milk and Soy Drink

Hasan Temiz , Elif Büşra Ersöz 

Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ondokuz Mayıs University, 55139, Samsun, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 24.10.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 27.02.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): hasant@omu.edu.tr (H. Temiz)

☎ +90 362 312 19 19 📠 +90 362 457 60 35

ABSTRACT

This study surveyed the effect of the addition of microbial transglutaminase (m-TGs) on textural, microstructural, FTIR spectra and SDS-PAGE electrophotogram parameters of probiotic yoghurts made with mixture of cows' milk and soy drink during refrigerated storage for 28 days. Mixture was treated with different rates of m-TGs (0, 0.5, 1, 1.5 U/g protein) and incubated with *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, *Streptococcus thermophilus* probiotic starter cultures. Yoghurts prepared with m-TGs had higher textural parameters than samples without m-TGs. SDS-PAGE patterns, SEM images and FTIR spectra demonstrated that milk caseins were well cross-linked by transglutaminase. Scanning electron microscopic studies showed that the microstructure of m-TGs added probiotic yoghurt samples appeared denser than that of control. Results of this study indicated that the textural and microstructural properties of probiotic yoghurt prepared with soy drink could be improved by incorporating m-TGs up to a level of 1.5 U/g protein.

Keywords: Transglutaminase enzyme (m-TGs), Probiotic yoghurt, Reology, Microstructure, Soy drink

İnek Sütü ve Soya İçeceği Karışımından Üretilen Probiyotik Yoğurtların Tekstürel ve Mikroyapısal Özellikleri Üzerine Transglutaminaz İlavesinin Etkisi

ÖZ

Bu çalışmada, inek sütü ve soya içeceği karışımı ile yapılan probiyotik yoğurtların 28 günlük depolama süresince tekstürel, mikroyapısal, FTIR spektrumları ve SDS-PAGE elektrofotogram parametreleri üzerine, mikrobiyal transglutaminazın (m-TG) etkisi araştırılmıştır. Karışıma, farklı m-TG oranları (0, 0.5, 1, 1.5 U/g protein) ilave edilmiş ve *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, *Streptococcus thermophilus* probiyotik starter kültürleri ile inkübe edilmiştir. m-TG ile hazırlanan yoğurtların, m-TG ilave edilmemiş olanlarla kıyaslandığında daha yüksek tekstürel özelliklere sahip olduğu görülmüştür. SDS-PAGE desenleri, SEM görüntüleri ve FTIR spektrumları, süt kazeinlerinin transglutaminaz ile iyi bir şekilde birbirine bağlandığını göstermiştir. Taramalı elektron mikroskopik çalışmalar, m-TG ilave edilmiş probiyotik yoğurt örneklerinin mikro yapılarının kontrolden daha yoğun görüldüğünü göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları soya içeceği ile hazırlanan probiyotik yoğurtların dokusal ve mikroyapısal özelliklerinin 1.5 U/g protein seviyesine kadar m-TG ilave edilerek geliştirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Transglutaminaz enzimi (m-TGs), Probiyotik yoğurt, Reoloji, Mikroyapı, Soya içeceği

INTRODUCTION

Several fermented products are produced with the use of probiotic bacteria, such as *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., and *Bifidobacterium* spp. Probiotic bacteria are the natural inhabitant of the gut of warm-blooded animals. Those organisms have an important role in human health with regular consumption because of reduction of serum cholesterol, inhibition of the growth of potential pathogens and improvement of intestinal bacterial composition [1].

Soy drink is produced by extracting soy with water and is a cheap source of protein and calories in the human diet. Similarly, it doesn't contain cholesterol or lactose. It has important nutritional constituents such as calcium, high quality protein, polyunsaturated fatty acids, isoflavones, phytosterols, lignans, saponins coumestans and phytates [2, 3]. Soybean can help to decrease the harmful low-density lipoprotein cholesterol level, prevent heart diseases and the colon, prostate and breast cancers and also osteoporosis. It may help to decrease women's menopausal symptoms by reduction of estrogen production by the ovaries [4]. The direct consumption of soybeans is limited by the raw bean flavor it possesses and the presence of α -D-galactosyl oligosaccharides such as stachyose and raffinose. Due to the unpleasant beany flavour, insufficient acidity, rigid and brittle gel structure soy yoghurt has not been generally accepted among consumer. To overcome these limitations, fermentation procedures with various microorganisms have been experienced. For example, *Bifidobacterium* strains have been used for soymilk [5, 6, 7]. Soybeans are a great raw material for the development of probiotics and can promote the growth of many probiotic strains such as *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Streptococcus thermophilus* [8].

The most significant physical feature of yoghurt is its rheological quality which is affected by milk composition, processing, heating, bacterial culture selection, incubation temperature, packaging and storage processes [9]. The most typical defects of yoghurt are low viscosity and reduced firmness. Because, the protein gels is stabilized by weak non-covalent interactions in yoghurt. Different materials have been used in the production of yoghurt such as fibers [10, 11], starches [12] and transglutaminase [13, 14] to increase water holding capacity or to improve the emulsifying behavior.

m-TGs (EC 2.3.2.13) has been used to improve stability and textural properties in dairy and many other food products. [15-17]. m-TGs catalyzes the covalent cross-linking of proteins by γ -carboxamide groups of peptides bound glutamine residues and the ϵ -amino groups of lysine residues and cross-linked protein polymers are formed [18, 19]. These polymers change functional, rheological, immunoreactivity of the casein fraction and sensorial properties of the products [20, 21]. m-TGs cross-linking may be used to improve the mechanical properties of protein films and the structure of stirred yoghurt with reduced or no addition of protein

ingredients such as whey protein concentrate, sodium caseinate and skim milk powder.

The objective of this research was to determine the effects of the cross-linking reaction of transglutaminase (m-TGs) on the textural and microstructural properties of probiotic yoghurt produced with mixture of cows' milk and soy drink with m-TGs addition of different rates.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of Soy Drink

Soybeans, Asgrow 3935 were obtained from Black Sea Agricultural Research Institute, Samsun, Turkey. Soy drink production was carried out as described in our previous article Temiz and Çakmak [22]. Soybeans were kept in water for 18 hours at 4°C. After crust separation, soybeans were ground at high speed for 2 minutes in a Waring blender (Waring Commercial Blender, Waring, Torrington, CT, USA) with water at 95°C. Then, dilution, boiling and filtering processes were done respectively. The nutrient concentrations of the soy drink produced; 7.0% total solid, 3.26% protein, 2% fat, pH 6.7 and 0.09% titratable acidity.

Preparation of Yoghurts

Yoghurt production was carried out as described in our previous article using freeze-dried probiotic yoghurt starter culture (10^8 cfu/g), type ABT-2 1000 I (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, *Streptococcus thermophilus*, Danisco Biolacta sp.z o.o. ul. Tuwima I A: 10-747 Olsztyn-Poland) and m-TGs (ACTIVA WM, Ajinomoto Foods Europe S.A.S, France) [22]. Bovine milk and soy drink were mixed as 75% bovine milk/25% soy drink. Yoghurt samples were coded according to the ratio of used: KY (0 U m-TGs /g protein), Y1 (0.5 U m-TGs /g protein), Y2 (1 U m-TGs /g protein) and Y3 (1.5 U m-TGs /g protein). Yoghurt samples were stored at 4°C until analysis. Instrumental texture analysis was carried out at 1st, 7th, 14th, 21st and 28th days of storage while SEM images, FTIR spectra and SDS-PAGE were obtained only at the 7th day of storage.

Instrumental Texture Analysis

Yoghurt samples were stored in original containers at 4°C for 24 h for texture analysis. Texture analysis was performed using a Texture Analyser (TA-XT Plus, Stable Micro Systems Co, Ltd. Surrey, England). For each sample four measurements were carried out using a cylindrical probe (SMS P/50, 50 mm diameter) attached to 30 kg load cell. The speed of measurement was set at 1.0 mm/s. Force versus time plots were used for the calculations of texture profile analysis (TPA) values, such as hardness, cohesiveness, gumminess, adhesiveness and springiness. All experiments were repeated three times.

Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM images of samples were analyzed at 7th day of storage. Samples were freeze-dried in a lyophilizer after storage at 4°C. After then, the samples were coated with a 15 nm gold-palladium (Model SC7620; Quorum Technologies, Laughton, UK) layer performed by a cathodic coater as described in by Espirito-Santo et al. [9] with some modifications. Eight areas of the samples were imaged on a scanning electron microscope (SEM; Model JSM-7001F; JEOL, Tokyo, Japan) operating at a voltage of 10 kV. Photomicrographs were recorded under 100 to 5,000 x magnified images and structural differences were analyzed in 5,000 x times magnified images [23].

Sodium Dodecylsulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis

In electrophoresis studies, SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) technique was applied according to the method described in detail by Laemmli [24] with BIO-RAD Protean II xi Cell gel electrophoresis device powered by PowerPac Universal. The sample loading volume, concentrations of separating and stacking gels were 25 µL, 18.5% and 6.0%, respectively

Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

The Fourier-transform infrared (FTIR, spectrometer (Model Spectrum Two; Perkin Elmer, Akron, OH, USA) spectras of the samples were measured using reported method by Tural and Turhan [25].

Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted using SPSS Statistical Software (2000) (SPSS Inc., Chicago, IL) and results were given as mean ± standard deviation significance differences ($P < 0.05$) between the samples and the effect of storage time were analyzed by ANOVA, followed by Duncan multiple range tests. All measurements were repeated twice.

RESULTS AND DISCUSSION

Rheological Properties

The textural parameters of probiotic yoghurts were tested during storage at 4°C and are shown Table 1. Various textural parameters like adhesiveness, cohesiveness, gumminess and hardness showed significant change with addition of m-TGs in probiotic yoghurts.

Hardness values varied between 528.01-737.50 g and showed significant differences ($P < 0.05$) during storage. The effect of m-TGs on the hardness values was only found to be significant at 21st days of storage time. Samples made from 1.5 U m-TGs/per g protein exhibited an increase in hardness compared to samples made from the other treatments and the higher value was determined at Y3 sample at 21st days of storage. The hardness values increased during storage time, however after 7th days of storage there were no differences in the KY sample with any m-TGs. Samples made with m-TGs showed the highest increase in hardness throughout the storage time.

Table 1. Rheological properties of probiotic yoghurt samples during storage time

Attributes	Treatments	Storage time (days)				
		1	7	14	21	28
Hardness	KY	561.56±4.62 ^B	622.29±17.67 ^A	630.00±28.28 ^A	632.60±20.71 ^{bA}	615.40±23.20 ^A
	Y1	528.01±8.18 ^B	622.71±31.67 ^A	596.42±41.23 ^{AB}	676.51±4.45 ^{bA}	620.36±9.46 ^A
	Y2	534.59±6.36 ^C	627.69±25.51 ^B	660.48±7.53 ^{AB}	649.67±27.81 ^{bAB}	680.66±13.37 ^A
	Y3	573.78±5.38 ^C	601.72±27.66 ^C	650.56±7.07 ^B	737.50±17.67 ^{aA}	654.18±21.35 ^B
Adhesiveness	KY	-462.29±40.75 ^{bcAB}	-385.10±0.40 ^{cbC}	-357.90±17.92 ^{cC}	-516.62±8.25 ^{bA}	-468.41±71.00 ^{bAB}
	Y1	-431.70±7.36 ^{cAB}	--370.68±17.78 ^{cb}	-212.22±58.17 ^{cC}	-536.01±87.79 ^{bA}	-483.62±0.00 ^{bAB}
	Y2	-515.87±30.21 ^{bb}	-693.20±11.27 ^{bA}	-574.55±2.415 ^{bb}	-446.34±28.05 ^{bc}	-436.62±29.73 ^{bc}
	Y3	-705.52±18.64 ^{abc}	-938.45±21.21 ^{aA}	-791.74±58.40 ^{ab}	-671.38±6.747 ^{abc}	-621.95±4.53 ^{cC}
Cohesiveness	KY	0.31±0.02 ^b	0.32±0.00 ^b	0.32±0.02	0.29±0.01	0.30±0.07
	Y1	0.28±0.00 ^b	0.27±0.01 ^c	0.31±0.01	0.29±0.04	0.25±0.04
	Y2	0.32±0.02 ^{ab}	0.27±0.00 ^c	0.31±0.03	0.33±0.00	0.29±0.00
	Y3	0.36±0.00 ^a	0.35±0.01 ^a	0.31±0.04	0.38±0.02	0.33±0.02
Gumminess	KY	160.21±2.92 ^{bb}	170.19±0.04 ^{cb}	184.03±2.00 ^C	201.77±8.03 ^{bA}	191.86±9.54 ^{bA}
	Y1	172.37±2.87 ^b	199.32±16.60 ^{ab}	177.23±23.06	196.71±7.13 ^b	187.11±4.94 ^b
	Y2	165.69±13.13 ^b	178.52±9.33 ^{ab}	199.29±17.30	193.00±22.19 ^b	188.41±18.66 ^b
	Y3	210.26±0.36 ^{abc}	212.13±15.88 ^{abc}	206.65±12.36 ^A	243.52±6.25 ^{aAB}	259.11±4.95 ^{aA}

Values are means ± standard deviation of three replicates. KY; 75% cow milk + 25% soy drink without m-TGs. Y1; 75% cow milk + 25% soy drink + 0.5 U m-TGs/per g protein. Y2; 75% cow milk + 25% soy drink + 1 U m-TGs/per g protein and Y3; 75% cow milk + 25% soy drink 1.5 U m-TGs/per g protein. Small letters (a, b, c) indicate significant differences between means within a column. Capital letters (A, B, C) indicate significant differences ($P < 0.05$) between means within a row. There is no statistically difference between non-letter columns

Our results indicated that m-TGs can help to provide the desired hardness in dairy products. Similar results were reported by Yüksel and Erdem [26], Tsevdou et al. [14], and Garcia-Comez et al. [27]. The higher numbers of glutamyl residues in cows' and soy drink, which acts as acyl donor, and the high numbers of ε-amine groups in lysine residue, which works as acyl acceptor, help to

increase the cross-linking induced by transglutaminase [16].

Adhesiveness values, varied between -212.22, -938.45, were significantly affected by enzyme application and storage time. m-TGs added samples had higher adhesiveness values compared to those made with no m-TGs (Table 1). These findings could be seen as the

result of the different effects of m-TGs on the gel properties of the final product. The highest value was determined in Y3 sample at 7th day of storage while the lower values determined in KY and Y1 samples at 14th day of storage. Similar results have been reported by Domagala et al. [13], Tsevdou et al. [14].

The cohesiveness values measured during storage are shown in Table 1. In terms of cohesiveness, no significant differences ($P < 0.05$) were observed during the storage time but cohesiveness values significantly increased with increase of m-TGs at 1st and 7th days of storage, and the higher values were observed in Y3 samples. Similar behavior was observed by Tsevdou et al. [14].

The changes of gumminess values in yoghurt samples are shown in Table 1. KY and Y3 samples increased during storage statistically and highest values were observed at 28th day of storage. In terms of m-TGs treatments, gumminess values were determined to be

significant except 14th day of storage ($P < 0.05$). Gumminess values of yoghurt samples increased with increasing m-TGs concentration. Similar results were reported by Yüksel and Erdem [26].

Microstructure of Yoghurt

SEM micrographs (x5000) of yoghurt gels prepared with and without m-TGs are illustrated in Figure 1. SEM revealed that the protein matrices of the m-TGs added samples appeared to be relatively more compact than the control (Figure 1). The differences were mainly associated with the compactness of the protein matrix. The microstructures of the yoghurts made with m-TGs treated milk changed with increasing amounts of the enzyme added to the milk. The samples made with the m-TGs showed lower pore sizes with a well-defined porous web like structure. Similar results were reported by Şanlı et al. [28].

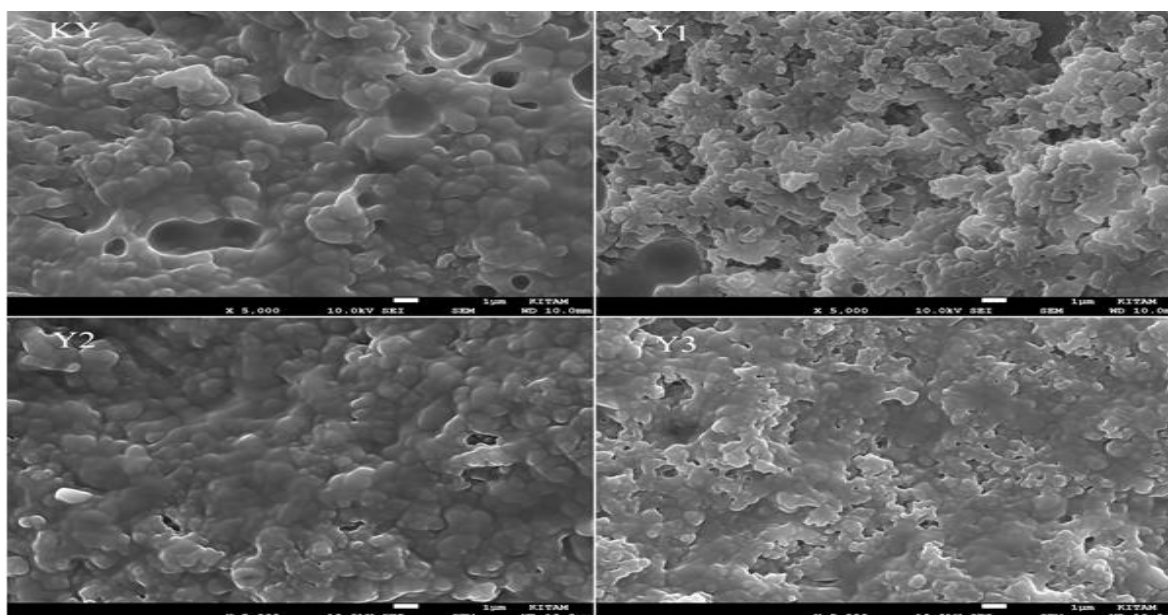


Figure 1. Scanning electron microscopy (SEM) of probiotic yoghurts. note: KY: (control) 0 U m-TGs/g protein Y1: 0.5 U m-TGs/g protein, Y2: 1 U m-TGs/g protein Y3: 1.5 U m-TGs/g protein.

These results suggested that m-TGs had some interaction with the milk proteins. These indications can be explained with the existence of m-TGs, which may have interacted with proteins to form a more compact structure with ability to catch the whey phase. Similar observations were reported by Domagala et al. [13] that the use of m-TGs improved the gel strength of the product.

Electrophoretic Studies

In this study, SDS-PAGE was used to elucidate the cross-linking of protein in m-TG treated samples. The SDS-PAGE electrophotograms of samples are shown in Figure 2. As it can be seen in first line 9 whey proteins as well as caseins are presented (bands of 25-30 kDa and 14-19 kDa), respectively. In samples line, whey proteins have been denaturalized due to thermal treatment and

thus, their bands are not present. Increase of enzyme concentration leads to the formation of new protein bands. These new bands were higher-molecular-weight bands, resulting from cross-linked proteins and a concurrent increase in polymers, which did not enter the stacking gel. The m-TG has a molecular weight of 37 kDa and thus, it is not visible in the m-TG-treated samples. Wroblewska et al. [15] reported that the addition of m-TG caused partial transformation of proteins into high molecular polymers. Similar results were reported by Tsevdou et al. [14], Al-Saadi et al. [16], Chen et al. [17].

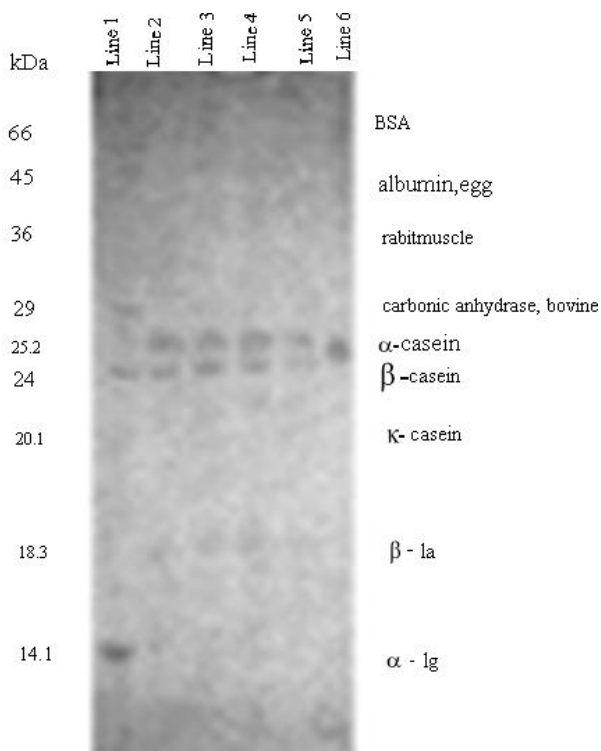


Figure 2. SDS-PAGE electrophotogram of yoghurt. line 1; molecular weight markers. line 2; KY (control) 0 U m-TGs/g protein, line 3; Y1 0.5 U m-TGs/g protein, line 4; Y2 1 U m-TGs /g protein, line 5; Y3 1.5 U m-TGs/g protein, line 6; α -casein.

Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

The effect of m-TG was investigated with FTIR spectroscopy in yoghurt samples. The FTIR spectra of control yoghurt and yoghurt containing 0.5, 1.0 and 1.5

U m-TG/g protein are shown in Figure 3. The spectra were recorded within the range of 650-4000 cm^{-1} . The shifts of particular bands, as well as the differential spectra, clearly indicated that the processes led to the complex formation. For all yoghurt samples, an amide A peak (N-H stretch, coupled with hydrogen bonding) was found at $\nu=3281\text{-}3275 \text{ cm}^{-1}$ and an amide B peak (representing CH stretching and NH_3^+) was found at $\nu=2921\text{-}2922 \text{ cm}^{-1}$. All samples had major peaks at $\nu=1633\text{-}1645 \text{ cm}^{-1}$ (amide I, representing C=O stretching/hydrogen bonding coupled with COO), 1538-1543 cm^{-1} (amide II, arising from bending vibration of NH groups and stretching vibrations of CN groups) and 1238 cm^{-1} (amide III, illustrating the in-plane bending vibrations of CN and NH groups of bound amide or vibrations of CH_2 groups). The peak situated around 1034-1037 cm^{-1} was observed in all samples, corresponding to the OH group. The main bands of samples were: 1100 and 1000 cm^{-1} which give information on sugar molecules (polysaccharide ring vibrations); 1633-1645 cm^{-1} (amide i) and 1538-1543 cm^{-1} (amide ii) are used to obtain information on protein structure and 2921-2922 cm^{-1} (amide b) was associated with the vibration from fatty acid [4].

As shown in Figure 3, both wavenumbers of Amide A and amide B shifted to the higher wavenumber and the intensity of the two peaks also increased as the m-TG increased. In addition, both the intensity of amide I and amide II were slightly enhanced and shifted to the higher wavenumber with the addition of m-TG into the samples. The results showed that the cross-linking of m-TG were facilitated the increase of amplitudes in the amide I bands. The high number of bands is correlated with the complexity of the food composition which contains proteins, carbohydrates, lipids etc.

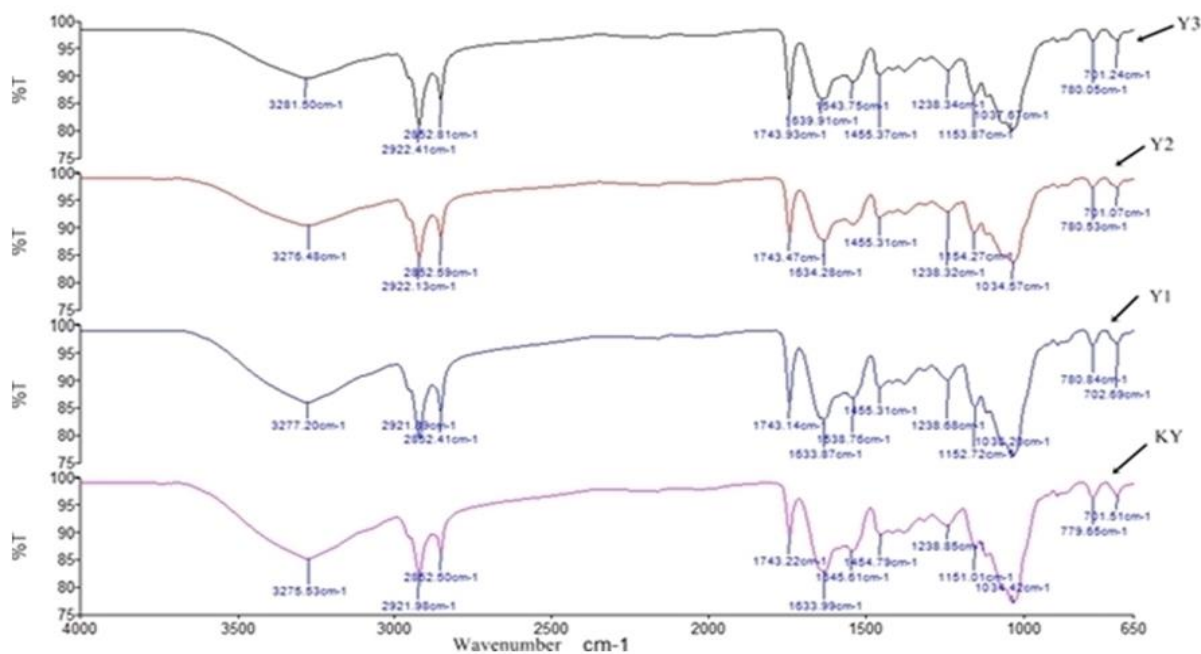


Figure 3. FTIR spectra of probiotic yoghurts, KY: (control) 0 U m-TGs/g protein Y1: 0.5 U m-TGs/g protein, Y2: 1 U m-TGs/g protein Y3: 1.5 U m-TGs/g protein.

Interestingly, the peak corresponding to Amide B (3281 cm^{-1}) was highly intense at 1.5 U m-TGs/g protein added samples, indicating that the functional groups from m-TG has cross-linked with some milk components and helped to development of gel matrix. Similar results were also found by Cheng et al. [29].

CONCLUSION

The textural properties of the probiotic yoghurts were significantly improved by addition of m-TGs and also storage period. SEM images demonstrated that addition of m-TGs could be used to improve the microstructure of the probiotic yoghurt gel. The results indicate that enzymatic cross-linking of milk proteins by m-TGs improved the properties of probiotic yoghurts. Crosslinking of milk proteins by means of m-TGs appears to be an acceptable alternative way to addition of extra stabilizers in probiotic yoghurt. According to data obtained in this study, m-TGs concentration was seen practical up to 1.5 U/g proteins when textural and microstructural properties of the probiotic yoghurts examined.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Ondokuz Mayıs University of Samsun, Turkey with Project Number; PYO.MUH.1904.15.002.

REFERENCES

- [1] Shori, A.B., Baba, A.S. (2015). Survival of *Bifidobacterium bifidum* in cow- and camel-milk yogurts enriched with *Cinnamomum verum* and *Allium sativum*. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 18, 7-11.
- [2] Rinaldoni, A.N., Campderrós, M.E., Padilla, A.P. (2012). Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltered soy milk concentrate added with inulin. *LWT - Food Science and Technology*, 45, 142-147.
- [3] Rosenthal, A., Deliza, R., Cabral, L.M.C., Cabral, L.C., Farias, C.A.A., Domingues, A.M., (2003). Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. *Food Control*, 14, 187-192.
- [4] Li, Q., Xia, Y., Zhou, L., Xie, J. (2013). Evaluation of the rheological, textural, microstructural and sensory properties of soy cheese spreads. *Food and Bioproducts Processing*, 91, 429-439.
- [5] Scalabrini, P., Rossi, M., Spettoli, P., Matteuzzi, D. (1998). Characterization of *Bifidobacterium* strains for use in soymilk fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 213-219.
- [6] Hou, J.W., Yu, R.C, Chou, C.C. (2000). Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. *Food research International*, 33, 393-397.
- [7] Farnworth, E.R., Mainville, I., Desjardins, M.P., Gardner, N., Fliss, I., Champagne, C. (2007). Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a sot yogurt formulation. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 174-181.
- [8] Pandey, S.M., Mishra, H.N. (2015). Optimization of the prebiotic & probiotic concentration and incubation temperature for the preparation of symbiotic soy yogurt using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 458-467.
- [9] Espirito-Santo, A.P., Lagazzo, A., Sousa, A.L.O.P., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M.N. (2013). Rheology, spontaneous whey separation, microstructure and sensorial characteristics of probiotic yoghurts enriched with passion fruit fiber. *Food Research International*, 50, 224-231.
- [10] Sanz, T., Salvador, A., Jimenez, A., Fiszman, S.M. (2008). Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *European Food Research and Technology*, 227, 1515-1521.
- [11] Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., Mckechnie, S., Donko, O.N. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT Food Science and Technology*, 65, 978-986.
- [12] Amaya-Liano, S.L., Martinez-Alegria, A.L., Mazueta-Morales, J.J., Bustos, F.M. (2008). Acid thinned jicama and maize starches as fast substitute in stirred yoghurt. *LWT Food Science and Technology*, 41, 1274-1281.
- [13] Domagala, J., Wszolek, M., Tamime, A.Y., Kupiec-Teahan, B. (2013). The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period. *Small Ruminant Research*, 112, 154-61.
- [14] Tsevdou, M.S., Eleftheriou, E.G., Taoukis, P.S. (2013). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 144-152.
- [15] Wroblewska, B., Kaliszewska, A., Kołakowski, P., Pawlikowska, K., Troszynska, A. (2011). Impact of transglutaminase reaction on the immunoreactive and sensory quality of yoghurt starter. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 215-227.
- [16] Al-Saadi, J.S., Shaker, K.A., Ustünoğlu, Z. (2014). Effect of heat and transglutaminase on solubility of goat milk protein-based films. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 420-426.
- [17] Chen, L., Li, Y., Han, J., Yuan, D., Lu, Z., Zhang, L. (2018). Influence of transglutaminase-induced modification of milk protein concentrate (MPC) on yoghurt texture. *International Dairy Journal*, 78, 65-72.
- [18] Bonisch, M.P., Huss, M., Weigl, K., Kulozik, U. (2007). Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *International Dairy Journal*, 17, 1360-1371.
- [19] Romeih, E., Walker, G. (2017). Recent advances on microbial transglutaminase and dairy

- application. *Trends in Food Science & Technology*, 62,133-140.
- [20] Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P.L.M., Ogliari, P.J., Bordignon-Luiz, M.T. (2009). Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and Transglutaminase. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 239-243.
- [21] Jaros, D., Jacob, M., Otto, C., Rohm, H. (2010). Excessive cross-linking of caseins by microbial transglutaminase and its impact on physical properties of acidified milk gels. *International Dairy Journal*, 20, 321–327.
- [22] Temiz, H., Çakmak, E. (2018). The effect of microbial transglutaminase on probiotic fermented milk produced using a mixture of bovine milk and soy drink. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 906-920.
- [23] Fu, R., Li, J., Zhang, T., Zhu, T., Chen, R., Wang, S., Zhang, J. (2018). Salecen stabilizer the microstructure and improves the rheological performance of yogurt. *Food Hydrocolloids*, 81, 474-480.
- [24] Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- [25] Tural, S., Turhan, S. (2017). Properties and antioxidant capacity of anchovy (*engraulis encrasicolus*) by-product protein films containing thyme essential oil. *Food Technology and Biotechnology*, 55, 77-85.
- [26] Yüksel, Z., Erdem, Y.K. (2010). The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 86-97.
- [27] Garcia-Gomez, B., Romero-Rodríguez, A., Vazquez-Oderiz, L., Munoz-Ferreiro, N., Vázquez, M. (2018). Physicochemical evaluation of low-fat yoghurt produced with microbial transglutaminase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 5479-5485.
- [28] Şanlı, T., Sezgin, E., Deveci, O., Şenel, E., Benli, M. (2011). Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloids*, 25, 1477-1481.
- [29] Cheng, S., Wang, W., Li, Y., Gao, G., Zhang, K., Zhou, J., Wu, Z. (2019). Cross-linking and film-forming properties of transglutaminase-modified collagen fibers tailored by denaturation temperature. *Food Chemistry*, 271, 527-535.
-
-

Color and Ascorbic Acid Degradation Kinetics of Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Slices during Vacuum Drying

Engin Demiray , Yahya Tulek 

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Pamukkale University, Denizli, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 08.02.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 05.05.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): edemiray@pau.edu.tr (E. Demiray)

☎ +90 258 296 30 90 📠 +90 258 296 32 62

ABSTRACT

Red pepper slices were dried in a vacuum dryer at three different temperatures (45, 55 and 65°C) and two absolute pressures (21.5 kPa and 48.0 kPa). Drying temperature and absolute pressure significantly influenced drying time. Degradation kinetics of ascorbic acid in red pepper slices during vacuum drying followed a first-order kinetic model. The highest ascorbic acid retention occurred in the samples dried the combination of 45°C and 21.5 kPa. In addition to the temperature effect, the drying absolute pressure was effective on the loss of ascorbic acid. The activation energy values for ascorbic acid under both absolute pressure of 48.0 kPa and 21.5 kPa were calculated as 70.85 kJ/mol and 81.43 kJ/mol, respectively. The sample surface color degradation after drying was also determined. The color values (Hunter *L*, *a* and *b*) decreased, while ΔE (The color difference) increased during drying. Mathematical modeling of color degradation kinetics indicated that both the zero-order and first-order kinetic model were found to describe the Hunter *L*, *a* and *b* values. However, ΔE followed zero-order kinetic model.

Keywords: Red pepper, Vacuum drying, Ascorbic acid, Color, Degradation

Kırmızıbiber (*Capsicum annuum* L.) Dilimlerinin Vakumla Kurutulması Sırasında Renk ve Askorbik Asidin Bozunma Kinetiği

ÖZ

Kırmızı biber dilimleri vakumlu bir kurutucuda üç farklı sıcaklıkta (45, 55 ve 65°C) ve iki mutlak basınçta (21.5 kPa ve 48.0 kPa) kurutulmuştur. Kurutma sıcaklığı ve mutlak basınç kuruma süresini önemli ölçüde etkilemiştir. Askorbik asitin, vakumla kurutma sırasında kırmızıbiber dilimlerindeki bozunma kinetiği, birinci dereceden bir kinetik modele uyduğu belirlenmiştir. En yüksek askorbik asit miktarı, 45°C ve 21.5 kPa kombinasyonunda kurutulmuş örneklerde belirlenmiştir. Kurutma sıcaklığının etkisine ek olarak, kurutma mutlak basıncının da askorbik asit kaybı üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Askorbik asit için hem 48.0 kPa hem de 21.5 kPa mutlak basınç altında yapılan kurutma işleminde, aktivasyon enerji değerleri sırasıyla 70.85 kJ/mol ve 81.43 kJ/mol olarak hesaplanmıştır. Çalışmada ayrıca kurutma sırasında örneklerin yüzey renginin bozulması da incelenmiştir. Renk değerleri (Hunter *L*, *a* ve *b*) azalırken, ΔE değerinin kurutma sırasında arttığı belirlenmiştir. Hunter *L*, *a* ve *b* değerlerinin renk bozulması kinetiğinin matematiksel modellemesi yapılmış ve hem sıfırıncı hem de birinci dereceden kinetik modele uyduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, ΔE değerinin sadece sıfırıncı dereceli kinetik modele uyduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kırmızıbiber, Vakumla kurutma, Askorbik asit, Renk, Bozulma

INTRODUCTION

Red pepper is an excellent source of phytochemicals and essential nutrients such as ascorbic acid and tocopherols [1]. Ascorbic acid is an important component of our nutrition and reportedly reduces the risk of cardiovascular diseases and some forms of cancer because of its antioxidant capacity. However, ascorbic acid is one of the most labile vitamins. It is easily oxidized by air, heat and oxidizing enzymes [2]. It is generally observed that if ascorbic acid is well preserved, the other nutrients are also well retained [3]. Color is one of the most important qualities of red pepper, which effects the consumers' preferences. The color of red pepper is controlled by several carotenoids (capsanthin, capsorubin, and xanthophylls for the red color) [4,5].

Red peppers are usually dried in greenhouse dryers or by spreading them on the ground under open atmosphere (namely, open sun drying) in the most part of the world [5,6]. However, sun drying requires a long drying period, affected by daily weather conditions making it rather difficult to control the moisture content of the sample [7]. In addition, the products may be degraded during sun drying due to wind-borne dirt and dust, infestation by insects, rodents, and other animals [8]. The color retention of red pepper dried either under open atmosphere or green house dryers can be challenging since necessary drying time is considerably long in either case and the browning reactions occur in red pepper [6,9].

Vacuum drying provides an alternative to conventional atmospheric drying. It allows the removal of moisture under low pressure. Vacuum expands air and water vapor present in the food and creates a frothy or puffed structure, providing a large area-to-volume ratio for enhanced heat and mass transfer [10]. Consequently, with vacuum drying it is possible to have a higher drying rate, lower drying temperature, and an oxygen deficient processing environment [11]. The objective of this experiment is to determine the kinetics of ascorbic acid and color degradation during vacuum drying of red peppers.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Fresh red pepper (*Capsicum annuum* L.) samples were purchased from a local market in Denizli, Turkey. They were taken in polyethylene packages and stored at $4 \pm 0.5^\circ\text{C}$ in a refrigerator until drying. Moisture content of the samples was determined in a vacuum oven (Model JSVO-60T, JSR, Gongju-City, Korea) at 70°C for 24h [12].

Methods

Vacuum Drying

A laboratory type vacuum oven (Model JSVO-60T, JSR, Gongju-City, Korea) was used for carrying out drying

experiments. The temperature of a vacuum oven had a sensitivity of 1°C , with a maximum temperature of 250°C . The internal dimensions of the vacuum oven were $40 \times 42 \times 35$ cm. The oven consisted of an analogous vacuum-meter. Six different temperature – absolute pressure combinations were obtained in vacuum drying by combining three different drying temperatures (45 , 55 and 65°C) and two different absolute pressure values (21.5 kPa and 48.0 kPa). The vacuum drying of red pepper studies were carried out under the combinations of 45°C – 21.5 kPa, 45°C – 48.0 kPa, 55°C – 21.5 kPa, 55°C – 48.0 kPa, 65°C – 21.5 kPa, 65°C – 48.0 kPa. The washed red peppers were sliced into 4 cm wide, 7.0 ± 2.0 cm length and 0.6 ± 0.1 cm thickness using a stainless steel knife. In vacuum drying studies about 700 g of red pepper slices were used. The sliced samples were spread in a single layer on the tray. Moisture losses of samples were recorded at 30 min intervals by a digital balance of 0.01 g accuracy (Model TP-3002, Denver, Gottingen, Germany). The vacuum was broken and restored before and after the weight measurements and each process took less than 30 s. The vacuum drying was applied until the weight of sample reduced to moisture content of about 15 g/100 g. All vacuum drying experiments were replicated three times at each temperature – absolute pressure combination and the average values were used.

Ascorbic Acid Analysis

The ascorbic acid content was determined in both fresh and dried red pepper samples following the HPLC (LC-20AD, Shimadzu, Kyoto, Japan) analytical procedure outlined by Demiray et al. [13]. Fresh or dried red pepper samples were mixed with metaphosphoric acid solution (1% , v/v) at the ratio of $1:10$ (w/v), and the mixture was blended in a Waring blender. Samples were transferred into polypropylene centrifuge tubes and centrifuged at $11000 \times g$ for 20 min at 4°C . Supernatants were filtered using a $0.45 \mu\text{m}$ PVDF syringe filters (Minisart, Sartorius, Gottingen, Germany). The content of ascorbic acid was measured by using HPLC equipped with a quaternary pump system (LC-20A), a $20 \mu\text{L}$ loop injector, a photodiode array detector (SPD-M20A), a degasser (DGU-20A) and a column oven (CTO-20A). The ascorbic acid fraction was separated on an ACE 5 C18 column (250×4.6 mm, ID, $5 \mu\text{m}$) isocratically at 35°C using the mobile phase of ultra-pure water at pH 3 (adjusted with H_3PO_4) and the flow rate of 0.5 mL min⁻¹. Eluents were monitored at 254 nm.

Color Measurements

The colors of red pepper samples were measured both before drying and at different predetermined periods during drying by a Hunter Lab MiniScan XE colorimeter (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, USA). Before performing color measurements, MiniScan XE colorimeter device was calibrated with white and black standard calibration plates.

Color measurements were made from 3 different points and averaged of these values. The color values were

expressed as L (whiteness/darkness), a (redness/greenness) and b (yellowness/blueness) at any time, respectively. And also, the color difference (ΔE) was calculated from the Hunter L, a, b values, according to Eq. (1).

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

Kinetic Models of Ascorbic Acid and Color Degradation

The degradation of ascorbic acid and color in red peppers during drying were calculated by using the standard equations for zero and first-order reactions and degradation rate constants were determined by fitting Eqs. (2) and (3) to experimental data.

$$C = C_0 + k_0 t \quad (2)$$

$$C = C_0 \exp(k_1 t) \quad (3)$$

where C is the studied parameter (ascorbic acid content, L, a, b and ΔE) at any given drying time, C_0 are initial values of untreated samples and k_0 , k_1 are rate constants. Furthermore, half-life value $t_{1/2}$ of ascorbic acid was calculated by the Eq. (4).

$$t_{1/2} = -\ln(0.5) \times k^{-1} \quad (4)$$

The Arrhenius equation is the most widely accepted method of accounting for the temperature dependence of the rate constant in food systems. The temperature and the rate constant are related according to the Arrhenius equation (Eq. (5)):

$$k = k_a \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (5)$$

where k is the rate constant at temperature T (K), k_a is the frequency factor, E_a is the activation energy (kJ/mol), and R is the universal gas constant (8.314 J/molK).

The coefficient Q_{10} is another way to characterize the effect of the temperature on the rate of a reaction and it was calculated by the Eq. (6).

$$Q_{10} = (k_2/k_1)^{10/(T_2-T_1)} \quad (6)$$

where k_1 and k_2 are reaction rate constants at temperatures T_1 and T_2 , respectively (h^{-1}).

Statistical Evaluation

Drying experiments were performed in triplicates and the measurements were performed in duplicates. Means \pm standard deviations of the experimental results were reported. Statistically significant differences between samples were determined using Microsoft Excel® (Microsoft Office, Washington, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of Vacuum Drying Conditions on Moisture Content

The moisture content of the red pepper slices was reduced from initial value of 9.58 to less than 0.3 kg water/kg dry matter. The effects of drying temperatures and pressures on the vacuum drying process are shown in Fig. 1A and 1B, where the moisture content of the samples at various time intervals was recorded. Fig. 1A and 1B showed that drying pressure had a certain effect on the drying process, the drying time was reduced by decreasing drying pressure. Drying processes at absolute pressure of 21.5 kPa took shorter than expected applications at 48.0 kPa absolute pressure. As a matter of fact, while the moisture content of red peppers at 45°C at 21.5 kPa absolute pressure drop from 9.58 to 0.3 kg water / kg dry matter value, it took 44 hours, this process was completed in 52 hours at 48.0 kPa absolute pressure at the same temperature. The results were in agreement with several researchers who had also reported a decrease when the drying pressure was decreased during the vacuum drying of some vegetables such as pumpkin [14], carrot [15], mushroom [16]. Also increase in temperature level in vacuum drying had an important effect on the reduction of drying time.

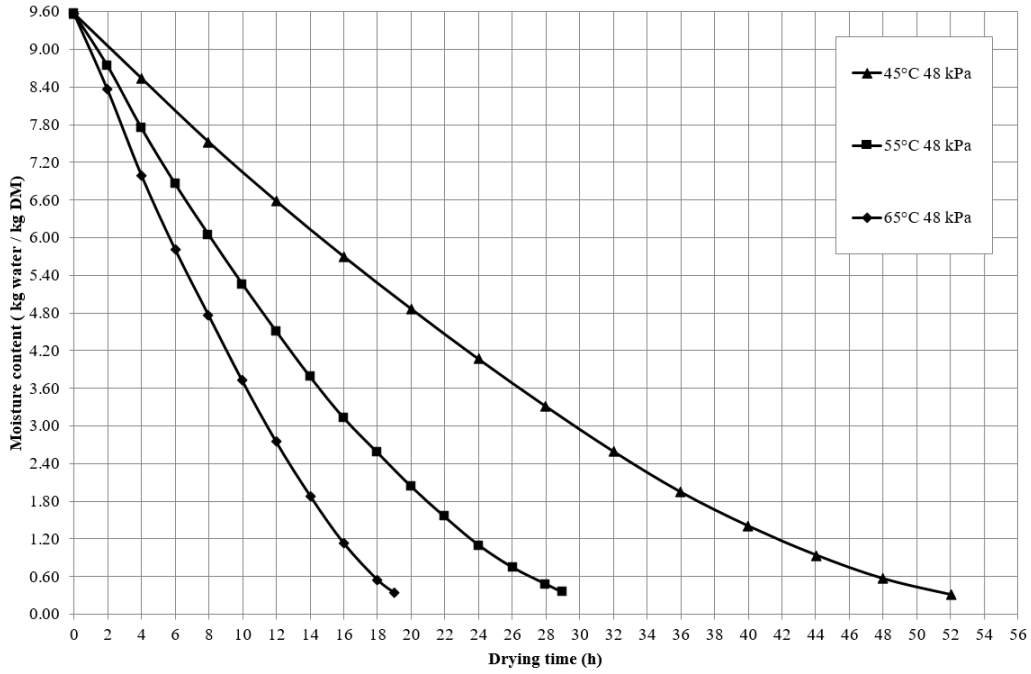
Degradation Kinetics of Ascorbic Acid

Degradation in ascorbic acid during vacuum drying of red pepper slices followed a first-order reaction. The concentration of ascorbic acid in samples with two different drying pressures (21.5 and 48.0 kPa) dried at three different temperatures (45, 55 and 65°C) for different time periods was measured and the plots of natural logarithm of ascorbic acid content of red pepper slices against time were prepared. Fig. 2A and 2B shows the achieved values of natural logarithm of ascorbic acid content of red pepper slices against time and temperature for two drying pressure.

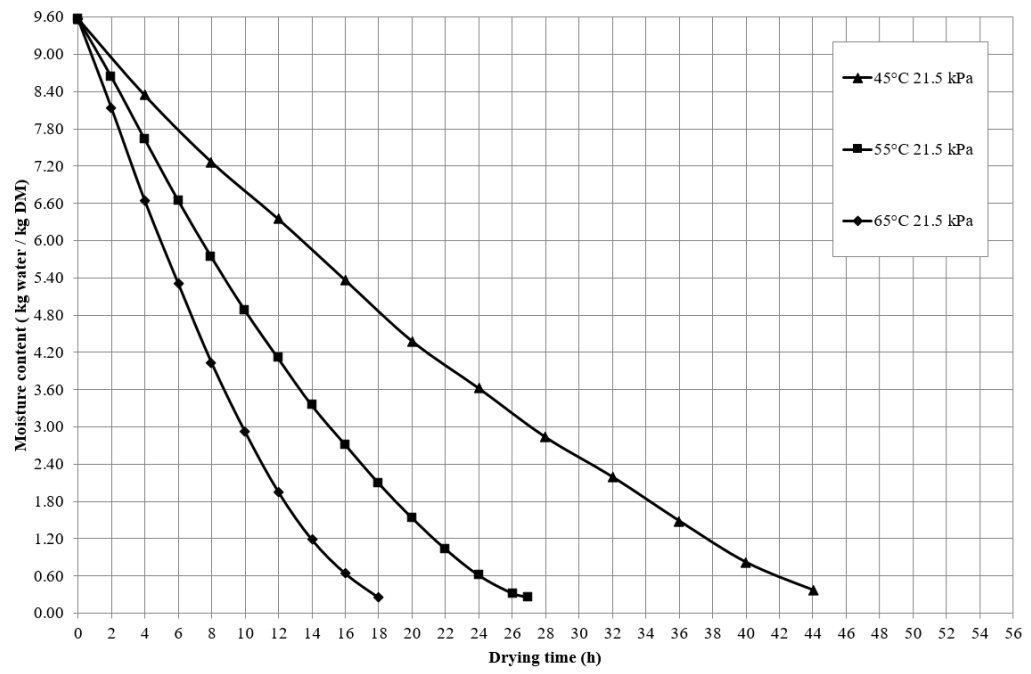
The kinetic parameters of ascorbic acids degradation during vacuum drying at selected drying conditions are shown in Table 1. The rate constant increased at higher drying temperatures. This could be explained by the assumption that accelerated the ascorbic acid degradation [17]. As found by Di Scala and Crapiste [17], drying temperature had a strong influence on the degradation of ascorbic acids in red peppers. Increasing drying temperature from 50 to 70°C increased the degradation rate constants of ascorbic acids. Also, Marfil et al. [18] indicated that degradation of tomato ascorbic acids follows first-order reaction. In addition to the temperature effect, it has been determined that the drying pressure is also effective on the loss of ascorbic acid. Thus, after drying at 45°C under 48.0 kPa absolute pressure, the amount of ascorbic acid in the samples was determined as 377.17 ± 2.30 mg / 100 g dry matter, whereas at 21.5 kPa absolute pressure and again at 45°C 643.69 ± 3.16 mg / 100 g dry matter were determined as dry matter. This result shows that the loss of ascorbic acid is further reduced by decreasing

the drying pressure. The main reason for this is the decrease in the amount of oxygen in the drying chamber due to the vacuum effect. Ascorbic acid is a vitamin which can be easily oxidized. Ascorbic acid oxidation reactions are also slowing down by decreasing the amount of oxygen in the drying chamber. Results of this present study were in good agreement with the data

reported in the literature. As a matter of fact, Methakhup et al. [19] purined after pitting of Indian gooseberries and dried by vacuum drier at 65 and 75°C under absolute pressure of 7, 10 and 13 kPa. They reported that as a result of the ascorbic acid analyzes, the loss of ascorbic acid was also increased by increasing the absolute pressure of the drying chamber.



(A)



(B)

Figure 1. Effect of drying temperature at either 48.0 kPa (A) or 21.5 kPa (B) absolute pressure on the moisture contents of red pepper slices.

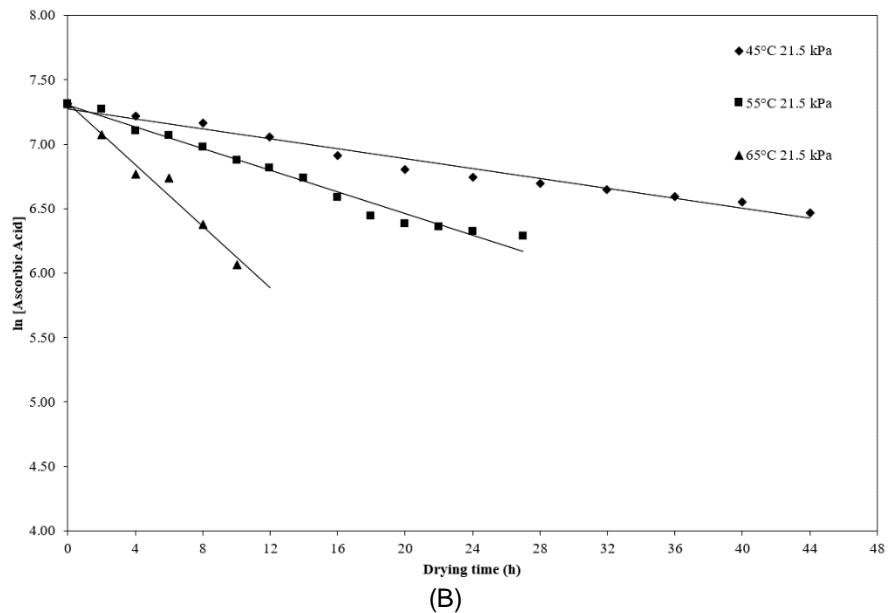
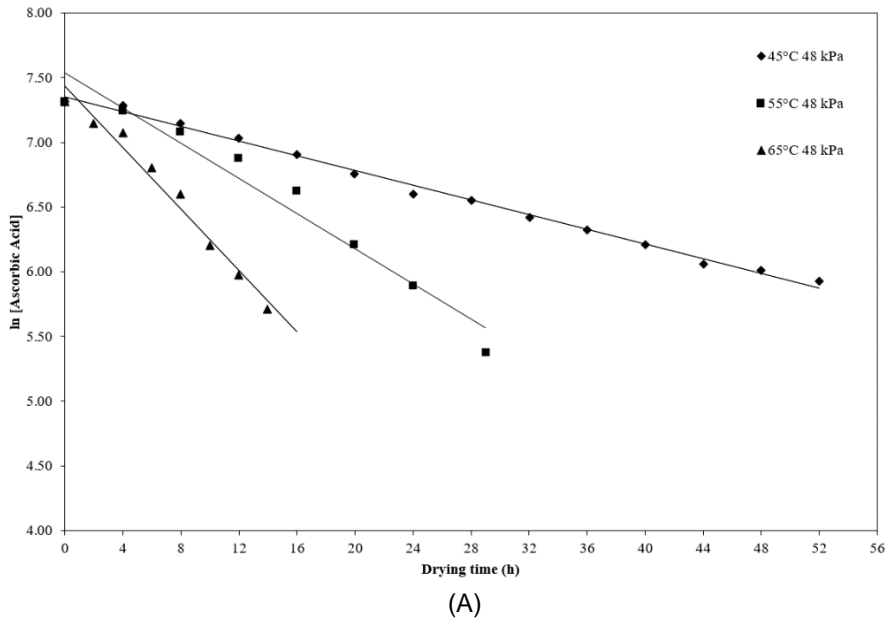


Figure 2. The degradation kinetics of ascorbic acid in red pepper slices dried at different temperatures at either 48.0 kPa (A) or 21.5 kPa (B) absolute pressure.

Table 1 gives the calculated kinetic parameters for first order kinetic model for ascorbic acid loss. It is seen from Table 1 that the reaction rate constant of ascorbic acid degradation increases with increasing drying temperature. For example, the reaction rate constants for the ascorbic acid degradation of red pepper samples dried at 45, 55 and 65°C under an absolute pressure of 21.5 kPa were calculated as 0.0193, 0.0422 and 0.1960 h⁻¹, respectively. When the Q₁₀ values given in Table 1 are examined, it was determined that the degradation rate of ascorbic acid was increased 2.4 times by increasing the temperature from 45°C to 55°C in drying processes under 48.0 kPa absolute pressure. It was found that the reaction rate increased 2.2 times in the case of drying under the pressure of 21.5 kPa at the same drying temperatures.

In the study, it was determined that ascorbic acid was effected not only by the drying temperatures but also by the absolute pressure of the drying chamber. As a matter of fact, when the half-life values given in Table 1 are examined, it has been determined that loss of ascorbic acid occurs faster by increasing the absolute pressure of the drying chamber. For example, the half-life time values obtained as a result of drying processes at 45°C under both absolute pressure of 48.0 kPa and 21.5 kPa were calculated as 24.40 hours and 35.91 hours, respectively. This result shows that the level of vacuum value has a significant effect on the half-life time value of ascorbic acid.

Table 1. The kinetic parameters^a for ascorbic acid losses in red pepper slices during drying at three different temperatures and two different absolute pressure

Drying Pressure (kPa)	Drying Temperature (°C)	Q ₁₀ value	k (h ⁻¹)	t _{1/2} (h)	E _a (kJ/mol)
48.0	45	2.394	0.0284	24.40	70.85
	55		0.0680	10.19	
	65	0.1383	5.01		
21.5	45	2.187	0.0193	35.91	81.43
	55	2.834	0.0422	16.42	
	65		0.1196	5.79	

^aQ₁₀, k, t_{1/2} and E_a: temperature coefficient, reaction rate constant, reaction half life time and activation energy, respectively.

Degradation Kinetics of Color Values

The *L*, *a* and *b* values for fresh red peppers were 27.54 ± 0.12 , 28.58 ± 0.34 and 9.76 ± 0.25 , respectively. The Hunter *L*, *a* and *b* values of the red pepper samples dried at two different absolute pressures and at three different temperatures with the vacuum dryer were measured at certain intervals in the drying process. For the kinetic modeling of color degradation of red pepper samples, zero-order and first-order kinetic models were used. Calculated kinetic parameters of color values in red peppers during various drying conditions are given in Tables 2 and 3. The results revealed that, regardless of the drying conditions, both zero- and first-order reaction kinetic models can be used adequately and equally for all values (*L*, *a* and *b*) with *R*² values from 0.8995 to 0.9968. The *R*² values of both models were not significantly different, that is why it was impossible to affirm that one model was superior to the other. The results obtained were in agreement with reported literature kiwifruits [20] and carrots [21]. As in the other color parameters, kinetic modeling of the changes in ΔE values was done. When the Tables 2 and 3 are examined, it can be seen that the changes in ΔE is better suited to the zero-order reaction model. Since the *R*² values of the zero-order reaction model are closer to 1 than the *R*² values calculated for the first-order reaction model, it is concluded that the zero-order

kinetic model represents the change better. Dadalı et al. [22] dried the okra samples with different microwave powers by microwave drying method and measured Hunter *L*, *a* and *b* color values of the samples during drying. They also calculated the ΔE values of the samples using the measured color values. As a result, when the microwave power increases the ΔE values increases and the change in the ΔE values corresponds to the zero-order reaction model.

The Q₁₀ and the activation energy values of the color values for the red pepper samples dried at different temperatures under 48.0 kPa and 21.5 kPa absolute pressure are given in Tables 2 and 3. When the activation energy values of Hunter *L*, *a* and *b* color values given in Table 2 are examined, it is seen that the activation energy calculated for the *a* value change is larger than the *L* and *b* values. This is an indication that *a* value is more influenced by temperature changes in vacuum drying processes at 45, 55 and 65°C under 48.0 kPa absolute pressure. When the Q₁₀ values for the *a* and *b* values in the same table are examined, it is seen that the effect of increasing the temperature from 45°C to 55°C is higher than the temperature from 55°C to 65°C. In Table 3, it is seen that the activation energy values calculated to express the effect of the temperature changes on the *b* value are larger than the activation energy values of the other color parameters.

Table 2 The kinetic parameters of color values of red pepper slices dried at 48 kPa absolute pressure

Color values	Temperature (°C)	Zero-Order Model				First-Order Model			
		<i>k</i> ₀	<i>R</i> ²	Q ₁₀ value	E _a (kJ mol ⁻¹)	<i>k</i> ₁ (h ⁻¹)	<i>R</i> ²	Q ₁₀ value	E _a (kJ mol ⁻¹)
<i>L</i>	45	0.0501	0.9864	1.19	47.13	0.0017	0.9845	1.29	47.98
	55	0.0598	0.9385			0.0022	0.9410		
	65	0.1448	0.8995	2.42		0.0050	0.9032	2.27	
<i>a</i>	45	0.1180	0.9046	2.41	51.41	0.0044	0.9181	2.55	54.53
	55	0.2848	0.9818			0.0112	0.9845		
	65	0.3703	0.9578	1.30		0.0148	0.9720	1.32	
<i>b</i>	45	0.0757	0.9910	1.57	32.04	0.0083	0.9861	1.80	37.18
	55	0.1186	0.9777			0.0149	0.9862		
	65	0.1547	0.9549	1.30		0.0190	0.9724	1.28	
ΔE	45	0.1382	0.9533	2.27	50.47	0.0253	0.9314	2.94	54.97
	55	0.3132	0.9834			0.0745	0.8801		
	65	0.4251	0.9591	1.36		0.0857	0.8317	1.15	

Table 3 The kinetic parameters of color values of red pepper slices dried at 21.5 kPa absolute pressure

Color Values	Temperature (°C)	Zero-Order Model				First-Order Model			
		k_0	R^2	Q_{10} value	E_a (kJ mol ⁻¹)	k_1 (h ⁻¹)	R^2	Q_{10} value	E_a (kJ mol ⁻¹)
L	45	0.1239	0.9852	1.49	34.83	0.0050	0.9860	1.44	30.11
	55	0.1841	0.9932			0.0072	0.9955		
	65	0.2700	0.9968			0.0098	0.9959		
a	45	0.1402	0.9887	2.08	43.32	0.0056	0.9830	2.04	43.95
	55	0.2913	0.9937			0.0114	0.9946		
	65	0.3676	0.9704			0.0149	0.9732		
b	45	0.0273	0.9633	2.74	62.27	0.0031	0.9606	2.90	64.07
	55	0.0749	0.9780			0.0090	0.9865		
	65	0.1092	0.9853			0.0129	0.9875		
ΔE	45	0.1922	0.9906	1.79	39.75	0.0511	0.9531	1.55	37.85
	55	0.3439	0.9959			0.0794	0.8691		
	65	0.4663	0.9865			0.1191	0.8172		

When the Tables 2 and 3 are compared with each other, it can be seen that the *a* and *L* values, which are important in terms of color during vacuum drying of red pepper, were less influenced by temperature changes with low pressures. Drying of red pepper samples under absolute pressure of 21.5 kPa resulted in less loss of redness than drying at 48.0 kPa.

CONCLUSION

In this study, it was observed that drying time increases with an increase in absolute pressure. Degradation kinetics of ascorbic acid in red pepper slices during vacuum drying followed a first-order reaction. Zero-order and first-order reaction models were used to explain the color change kinetics, and it was observed that the R^2 values of both models were not significantly different. That is why it is impossible to affirm that one model was superior to the other. On the other hand, total color change (ΔE) followed a zero-order reaction model during vacuum drying. The reaction rate constants for these constituents of red peppers were highly dependent on the drying conditions, and activation energy values for ascorbic acid under both absolute pressure of 48.0 kPa and 21.5 kPa were calculated as 70.85 and 81.43 kJ/mol, respectively. Current study on the loss kinetics of ascorbic acid and color parameters in red pepper slices dried in vacuum dryer. Further work should be carried out to explore the changes in the physicochemical properties of the dried red pepper during storage.

REFERENCES

- [1] Kim, S., Lee, K.W., Park, J., Lee, H.J., Hwang, I.K. (2006). Effect of drying in antioxidant activity and changes of ascorbic acid and colour by different drying and storage in Korean red pepper (*Capsicum annuum*, L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 90-95.
- [2] Serpen, A., Gökmen, V. (2007). Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chemistry*, 104, 721-725.
- [3] Lin, T.M., Durance, T.D., Scaman, C.H. (1998). Characterization of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices. *Food Research International*, 31, 111-117.
- [4] Minguez-Mosquera, M.I., Hornero-Mendez, D. (1994). Comparative study of the effect of paprika processing on the carotenoids in peppers (*Capsicum annuum*) of the Bola and Agridulce varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1555-1560.
- [5] Ergüneş, G., Tarhan, S. (2006). Color retention of red peppers by chemical pretreatments during greenhouse and open sun drying. *Journal of Food Engineering*, 76, 446-452.
- [6] Condori, M., Echazu, R., Saravia, L. (2001). Solar drying of sweet pepper and garlic using the tunnel greenhouse drier. *Renewable Energy*, 22, 447-460.
- [7] Maskan, A., Kaya, S., Maskan, M. (2002). Hot air and sun drying of grape leather (pestil). *Journal of Food Engineering*, 54, 81-88.
- [8] El-Beltagy, A., Gamea, G.R., Amer Essa, A.H. (2007). Solar drying characteristics of strawberry. *Journal of Food Engineering* 78, 456-464.
- [9] Ramesh, M.N., Wolf, W., Tevini, D., Jung, G. (2001). Influence of processing parameters on the drying of spice paprika. *Journal of Food Engineering*, 49, 63-72.
- [10] Jaya, S., Das, H. (2003). A vacuum drying model for mango pulp. *Drying Technology*, 21, 1215-1234.
- [11] Wu, L., Orikasa, T., Ogawa, Y., Tagawa, A. (2007). Vacuum drying characteristics of eggplants. *Journal of Food Engineering*, 83, 422-429.
- [12] AOAC, (1990). *Official Method of Analysis*, 15th Ed., pp. 1058-1059, Association of Official Analytical Communities, Washington, DC.
- [13] Demiray, E., Tulek, Y., Yilmaz, Y. (2013). Degradation kinetics of lycopene, β -carotene and ascorbic acid in tomatoes during hot air drying. *LWT-Food Science and Technology*, 50, 172-176.
- [14] Arevalo-Pinedo, A., Murr, F.E.X. (2006). Kinetics of vacuum drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*): Modeling with shrinkage. *Journal of Food Engineering*, 76, 562-567.

- [15] Arevalo-Pinedo, A., Murr, F.E.X. (2007). Influence of pre-treatments on the drying kinetics during vacuum drying of carrot and pumpkin. *Journal of Food Engineering*, 80, 152-156.
- [16] Giri, S.K., Prasad, S. (2007). Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 78, 512-521.
- [17] Di Scala, K., Crapiste, G. (2008). Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 789-795.
- [18] Marfil, P.H.M., Santos, E.M., Telis, V.R.N. (2008). Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1642-1647.
- [19] Methakhup, S., Chiewchan, N., Devahastin, S. (2005). Effects of drying methods and conditions on drying kinetics and quality of Indian gooseberry flake. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 579-587.
- [20] Maskan, M. (2001). Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48, 169-175.
- [21] Demiray, E., Tulek, Y. (2015). Color degradation kinetics of carrot (*Daucus carota* L.) slices during hot air drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 800-805.
- [22] Dadalı, G., Kılıç Apar, D., Özbek, B. (2007). Color change kinetics of okra undergoing microwave drying. *Drying Technology*, 25, 925-936.
-

Türk Mutfağında Yeni Bir Fonksiyonel Gıda Olarak Siyah Sarımsak (*Allium sativum* L.): Fenolik Madde İçeriği ve Bakteriyel İletişim (Quorum Sensing) Üzerine Etkisi

Ayşe Gül Özyaydın¹  ✉, Evren Arın² , Ebru Önem³ 

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Isparta

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Isparta

³Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 03.02.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 28.03.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ayseozaydin@sdu.edu.tr (A.G. Özyaydın)

☎ 0 246 211 80 72 📠 0 246 211 19 63

ÖZ

Sarımsak (*Allium sativum* L.) insan sağlığına yararlı olduğu bilinen ve dünya mutfağında çok eski zamanlardan bu yana yer alan bir sebzedir. Sarımsağın karakteristik kokusu ve tadı nedeniyle çiğ olarak tüketimi sınırlıdır. Bu nedenle son yıllarda sağlığa yararlı etkileri korunarak, istenmeyen kokularından izole edilmiş yeni sarımsak ürünlerinin eldesi için birçok metot denenmektedir. Bu amaçla üretilmiş olan siyah sarımsak birçok ülke ve hatta ülkemizde çok fazla bilinmemekte ve tüketilmemektedir. Yapılan bu çalışma ile siyah sarımsağın yapısında bulunan bazı fenolik bileşikler Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile araştırılmıştır. Ayrıca metanol ile hazırlanan ekstraktının *Pseudomonas aeruginosa* PA01'in sentezlediği ve patogenezinde önemli rolü olan piyosiyenin ve elastaz üretimi ile biyofilm oluşumu üzerine inhibisyon etkisine bakılmıştır. HPLC analiz sonuçlarına göre fenolik bileşiklerden kuersetin, klorojenik asit, vanillin, *p*-kumarik asit, *p*-hidroksi benzoik asit farklı oranlarda tespit edilmiştir. Mikrobiyal aktivite sonuçlarına göre ise siyah sarımsak metanol ekstraktının piyosiyenin ve elastaz üretimi ile biyofilm oluşumu üzerine (sırasıyla %38, %28 ve %84 inhibisyon oranlarıyla) inhibisyon etkisinin anlamlı olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Siyah sarımsak, Fenolik bileşikler, Biyofilm, *Pseudomonas aeruginosa* PA01

Black Garlic (*Allium sativum* L.) as a New Functional Food in Turkish Cuisine: Phenolic Content and Effect on Bacterial Communication (Quorum Sensing)

ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum* L.) is a vegetable known to be beneficial to human health and has been in the world cuisine since ancient times. The consumption of garlic is limited due to its characteristic odor and taste. For this reason, in recent years many methods have been tried to obtain new garlic products isolated from their undesired odors while preserving their beneficial health effects. Black garlic produced for this purpose is not known and consumed in many countries including Turkey. In the present study, the phenolic content of black garlic was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). In addition, the inhibition effect of methanol extract on some virulence factors such as pyocyanin, elastase and biofilm formation, which has an important role in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, was investigated. As a result, quercetin, chlorogenic acid, vanillin, *p*-coumaric acid,

p-hydroxy benzoic acid were detected in different concentrations. According to the results of microbial activity tests, the inhibition effect of black garlic methanolic extract on the production of pyocyanin, elastase and biofilm formation (38, 28 and 84% inhibition ratios, respectively) was found significant.

Keywords: Black garlic, Phenolic compounds, Biofilm, *Pseudomonas aeruginosa* PA01

GİRİŞ

Sarımsak (*Allium sativum* L.), *Alliaceae* familyasına ait *Allium* cinsinden soğanlı bir bitki türüdür. Sarımsak tarih boyunca bütün dünyada farklı kültürlerin mutfaklarında hem baharat ve yiyecek olarak hem de tedavi amaçlı kullanılmıştır. Sarımsak ilk defa bilim dünyasına 1753 yılında İsviçreli botanikçi Linne tarafından tanıtılmıştır. Anavatanı Orta ve Batı Asya olarak kabul edilen sarımsağın dünyada 700 çeşidi vardır. Sarımsağın sağlık üzerine olan olumlu etkisinin 5000 yıldan beri bilindiği Babilliler, Mısırlılar, Romalılar, Çinliler, Yunanlılar ve Hindular tarafından çok yaygın bir şekilde kullanıldığı belirtilmektedir. Doğal antibiyotik olarak bilinen sarımsağın hipoglisemi, diyabet ve hipertansiyon üzerinde tedavi edici özelliğe sahip olduğu; antibakteriyel, antifungal ve antikanserojen etkiler gösterdiği yapılan birçok çalışma ile rapor edilmiştir [1-5].

TÜİK verilerine göre, Türkiye'de toplam sarımsak üretim miktarı 2018 yılında 143 207 ton (117 688 ton kuru, 25519 ton taze) ve 2019 yılında ise 126 447 tondur (103 096 ton kuru, 23351 ton taze). Sarımsak dendiğinde akla ilk gelen il Kastamonu olmasına karşın, son yıllarda artan sarımsak üretimi ile Gaziantep ilimiz dikkat çekmektedir. Sarımsak üretiminin en yüksek olduğu iller 2018 ve 2019 yılları için sırasıyla Gaziantep, Kastamonu ve Kahramanmaraş olmuştur [6].

Sarımsağın karakteristik kokusu ve tadı nedeniyle gıda ve ilaç olarak kullanımı ve tüketimi sınırlıdır. Bu nedenle sarımsak tüketimi ve kullanımının yaygınlaşmasında etkili olabilecek birçok alternatif sarımsak ürünü piyasada yerini almıştır. Kurutulmuş sarımsak, sarımsak tozu, sarımsak yağı, sarımsak tozu tabletleri, kapsülleri bunlardan bazılarıdır. Son yıllarda sarımsağın rahatsız edici kokusunu gidermek ve lezzetini artırmak için ısıtma işlemi ve fermantasyon gibi çeşitli işleme yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır [7, 8].

Taze sarımsağın yüksek sıcaklık ve kontrollü nem altında 1 aydan uzun süre (30-40 gün) ısıtma işlemi uygulanması sonucu elde edilen siyah sarımsak taze sarımsağa alternatif olarak görülen en dikkat çekici üründür. Fermantasyon sıcaklığı siyah sarımsak üretiminde önemli bir parametre olup, fermantasyon sıcaklığının 70°C olduğu üretimlerde siyah sarımsağın; renk, tekstür ve tat yönünden uygun yapı kazandığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Düşük sıcaklıklarda istenilen siyah rengin tam olarak oluşmadığı; yüksek sıcaklıklarda ise acımsı ve ekşi bir

tat ortaya çıktığı belirtilmiştir. Yapılan son çalışmalarda siyah sarımsak üretimi için optimum koşulların 70°C ve %80-90 bağıl nemde, 30-40 gün süreyle gerçekleştirildiği görülmektedir. Üretim prosesi sonunda oluşan ürün tamamen siyah renkli, kokusuz ve elastik yapıdadır [8, 9, 10].

Siyah sarımsak ve siyah sarımsaktan elde edilen ürünler, sarımsağın sağlık yararlarının artan farkındalığı ile birlikte Kore pazarında çok uzun yıllar önce en hızlı büyüyen sağlık odaklı gıdalardan biri olmuştur. Bunun yanında siyah sarımsak uzun yıllardır Güney Kore, Japonya ve Tayland'da da tüketilmektedir. Son yıllarda ise popülaritesi dünya geneline yayılmış ve mutfaklarda sıkça kullanılan bir ürün haline gelmiştir. Özellikle gastronomi uzmanlarının birçok yemeği tatlandırmak için siyah sarımsak kullanmaları dikkat çekici olmuş ve siyah sarımsak kullanımının yaygınlaşmasını sağlamıştır [9, 11-15].

Sarımsak ısıtma işlemi tabii tutulduğu zaman lezzet, renk ve besin içeriğinde önemli fizikokimyasal değişiklikler meydana gelir. Asitlik değeri artar, karakteristik kokusunu kaybeder ve yoğun tatlı bir tat oluşur. Biyokimyasal içeriğinde ise toplam polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesinin arttığı görülür. Siyah sarımsağın eldesinde kullanılan ısıtma işlemi özellikle, Maillard reaksiyonu ve fenollerin kimyasal oksidasyonu gibi enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarına neden olur. Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları güçlü antioksidan özelliklere sahip bileşiklerin oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir [7, 8, 14, 16].

Taze sarımsağın yapısında alliin, allisin ve S-allilsistein (SAC) gibi kükürlü bileşikler bulunmakta olup, allisin taze sarımsaktaki tat ve kokudan sorumludur. Sarımsağın fermantasyonu sırasında alliaz enziminin parçalanması sonucu, allinin allisine dönüşümü engellenmektedir. Böylece sarımsaktaki karakteristik koku azalmaktadır. Alliin S-allilsisteine (SAC) dönüşmekte, kokusuz bileşenler oluşmaya başlamaktadır. SAC miktarı siyah sarımsak oluşumunda artarken; alliin, allisin ve polisakkarit oranı azalmaktadır. Bae ve ark. [13], S-allilsistein miktarı 19.61 µg/g olan taze sarımsağın 40°C'de 45 gün fermente edilmesi sonucu oluşan siyah sarımsakta 124.67 µg/g'a çıktığını bildirmişlerdir [8, 10, 12, 13, 17-19].

Birçok araştırmacı yaptıkları çalışmalarla siyah sarımsağın taze sarımsağa göre daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve metabolik hastalıkları

önleyici etkileriyle insan sağlığında koruyucu rol oynadığını belirtmişlerdir. Choi ve ark. [20] yaptıkları çalışmada toplam polifenol ve toplam flavonoid içeriği dahil olmak üzere antioksidan bileşenlerin fermantasyonun 21. gününe kadar önemli ölçüde arttığını ($p < 0.05$) belirtmişlerdir. Antioksidan içeriğini en üst düzeye çıkarmak için siyah sarımsağın optimum fermantasyon süresinin 21. gün olabileceği sonucuna varmışlardır [8, 13, 15, 16, 20, 21].

Literatürde yer alan son çalışmalar siyah sarımsağın; diyabet ve obeziteye karşı korunmada etkili olduğunu, kanser önleyici etkisinin taze sarımsaktan daha fazla olduğunu, kalp-damar hastalıklarının oluşma riskini azalttığını göstermiştir. Ayrıca siyah sarımsağın lipid peroksidasyonunu azalttığı, obeziteyi baskıladığı ve kandaki yağ oranını düşürdüğü yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Purev ve ark. [22] yılında Kore'de 21 gönüllü üzerinde bağışıklık sistemi hücrelerini izole ederek yaptıkları çalışmada, siyah sarımsak ile taze sarımsağın bağışıklık sisteminin anti-kanserojen ve antioksidan aktivite ile doğrudan ilişkili olduğunu ve siyah sarımsakta bağışıklık sistemi hücrelerinin çok daha baskın olduğunu belirtmişlerdir. Yine yapılan çalışmalarda taze sarımsağın olduğu gibi siyah sarımsağın da antibakteriyel etkiye sahip olduğu bilinmektedir (4, 22-24). Fakat son yıllarda bakterilerle olan mücadelede doğala yönelim etkili ve başarılı bir tercih gibi görülmekle beraber enfeksiyonlardan sorumlu olan bakterilerde patojeniteden sorumlu olan çevreyi algılama sisteminin (Quorum Sensing, QS) inhibisyonu, bakterilerle mücadelede üzerinde çok fazla durulan seçeneklerden biri olmuştur. Bakteriler arasındaki iletişimi ifade eden bu sistemin temeli, bakterilerin buldukları ortama sinyal molekül olarak adlandırılan bir takım maddeleri sentezlemeleri ve sentezlenen bu maddelerin yoğunluğu ile ortamdaki popülasyon yoğunluklarını algılayarak bazı özel genlerin ekspresyonunun gerçekleştirilmesidir [25]. Bakterilerde bu şekilde yüzlerce kolektif davranış mevcuttur, fakat bunlar içerisinde en önemli olanı virülens faktörlerinin sentezidir [26].

Pseudomonas aeruginosa özellikle ağır seyirli hastane enfeksiyonlarında, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, kistik fibroz hastalarında kronik enfeksiyonlar oluşturan fırsatçı bir patojen olup patogenezinde önemli rolü olan elastaz, piyosyanin, biyofilm oluşumu gibi virülans faktörlerinin salınımını çevreyi algılama sistemi kontrolünde gerçekleştirmektedir.

Bu çalışma ile son yıllarda popüleritesi artan siyah sarımsağın içerdiği fenolik bileşikler HPLC kullanılarak araştırılmış, bakteriler arası iletişimden sorumlu olan QS temelli bazı virülans faktörlerinin (piyosyanin, elastaz ve biyofilm oluşumu) üretimi üzerine inhibisyon özelliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bitki Ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan siyah sarımsak ticari (Edovital-Kastamonu) olarak temin edilmiş olup, firmanın üretim koşullarının, hasat edilen mevsim şartları dikkate alınarak, %80-90 nem aralığında, 60-80°C sıcaklıkta, 4-6 hafta süreyle olduğu bildirilmiştir. Çelik blender (Waring 8011 EB) yardımı ile parçalanmış örnekten 20 gr tartılarak 100 mL çözücü metanol eklenmiştir. Çözücü-örnek karışımı 15 dakika ultrasonik banyoda bekletildikten sonra kaba filtre kâğıdı ile süzülmüş ve vakum altında 40-45°C sıcaklıkta rotary evaporatörde (Heidolph Hei-Vap Rotary Evaporator) çözücü uzaklaştırılmıştır. Balon içerisinde kalan sarımsak özütü tartılarak kaydedilmiş ve metanol ile alınmıştır.

Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Tayini

Fenolik bileşiklerin belirlenmesinde HPLC yöntemi kullanılmıştır. Analizler Süleyman Demirel Üniversitesi, YETEM, Uygulamalı Temel Bilimler ve Teknolojileri Araştırma Birimi'nde gerçekleştirilmiştir. HPLC analizinde Gomes ve ark. [27] metodu kullanılmıştır, gradient program ayırımın daha iyi olması için modifiye edilmiştir [27]. Fenolik bileşiklerin tespiti Photo Diode Array dedektörde 278 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Agilent Eclipse XDB C-18 (250x4.6 mm) 5 µm kolon kullanılmış olup, ayırım gradient program uygulanarak yapılmıştır. Fenolik bileşik analizi üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Analizde kullanılan HPLC cihazı (Shimadzu, Kyoto, Japonya), çalışma koşulları ve gradient program Tablo 1 ve 2'de verilmiştir.

Çalışmada tayini yapılan fenolik bileşikler, gallik asit, protokateşik asit, kateşin, p- hidroksi asit, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, şiringic asit, vanillin, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapinik asit, benzoik asit, rutin, hesperidin, rosmarinik asit, eriodiktol, sinnamik asit, kuersetin, luteolin, kamferol ve apigenindir. 14 adet fenolik asit ve 9 adet flavonol standardı kullanılmıştır. Bu 23 adet fenolik bileşiğin kolonda ayırımını gösteren kromatogram Şekil 1'de gösterilmiştir.

Piyosyanin Testi

Siyah sarımsak metanol ekstraktının piyosyanin pigment üretimi üzerine inhibisyon etkisini araştırmak için 37°C sıcaklıkta bir gece üretilmiş PA01 bakteri kültüründen 600 nm'de OD 0.05 olacak şekilde, içerisinde 10 mL LB besiyeri olan şişelere 100 µL (son derişim 6,1 m) bitki ekstraktı ile birlikte eklenmiş ve 37°C'de 16-18 saat çalkalanarak inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin ardından besiyerine 5 mL kloroform eklenmiş ve 30 saniye vortekslenmiştir. Şişelerin alt kısmında kloroformdan ayrı olan faz 2 mL olacak şekilde alınarak cam tüplere konulmuştur.

Üzerine 1mL HCL-su karışımı ilave edilerek tekrar 30 saniye vortekslenmiş, tüplerin üst kısmında oluşan pembe faz OD 520 nm'de okunarak kaydedilmiştir [28].

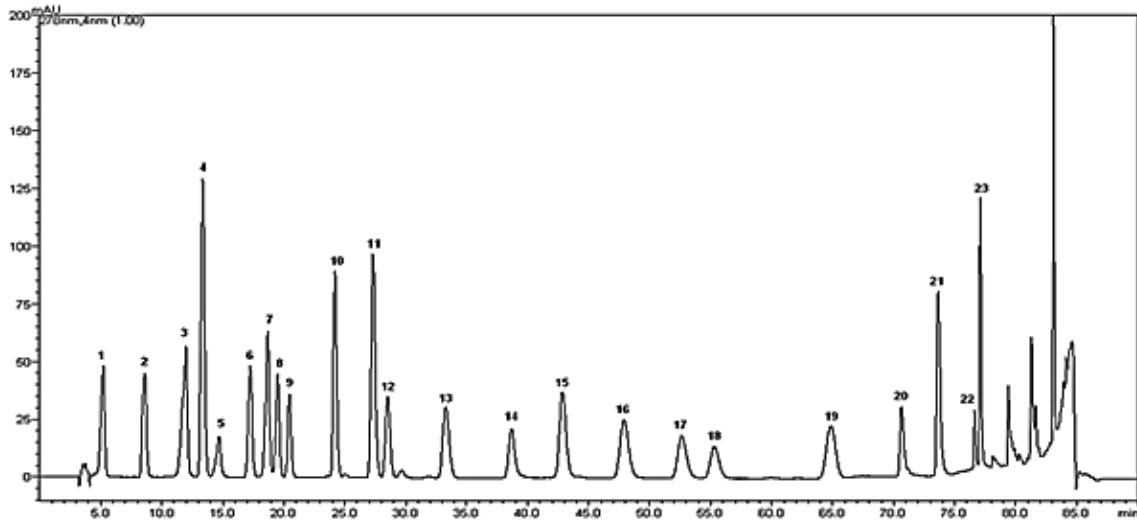
Tablo 1. HPLC çalışma koşulları

Parametre	Değer
Dedektör	Photo Diode Array dedektör ($\lambda_{max}=278nm$)
Otomatik örnekleyici	SIL-10AD vp
Sistem kontrol	SCL-10Avp
Pompa	LC-10ADvp
Gaz giderici sistem	DGU- 14A
Kolon fırını	CTO-10Avp
Kolon	Agilent Eclipse XDB C-18 (250x4,6 mm) 5 μm
Kolon sıcaklığı	30°C
Mobil faz	A = Su / asetik asit (97/3: v/v) pH:2.2 B = Metanol
Akış hızı	0.8 mL/dakika
Enjeksiyon hacmi	20 μL

Tablo 2. HPLC analizinde kullanılan gradient program*

Süre (dakika)	A (%)	B (%)
0	93	7
20	72	28
28	75	25
35	70	30
50	70	30
60	67	33
62	58	42
70	50	50
73	30	70
75	20	80
80	0	100
81	93	7

*: A=Su/asetik asit (97/3: v/v), pH:2.2, B=Metanol



Şekil 1. Siyah sarımsakta bulunan fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılan standartlara ait kromatogram. 1. gallik asit 2. protokateşik asit 3. kateşin 4. *p*-hidroksi benzoik asit 5. klorojenik asit 6. kafeik asit 7. epikateşin 8. şiringic asit 9. vanillin 10. *p*-kumarik asit 11. ferulik asit 12. sinapnik asit 13. benzoik asit 14. *o*-kumarik asit 15. rutin 16. hesperidin 17. rosmarinik asit 18. eriodiktiol 19. sinnamik asit 20. kuersetin 21. luteolin 22. kamferol ve 23. apigenindir.

Biyofilm Oluşum Testi

Biyofilm oluşumu Kristal Viyole (CV) testi ile gerçekleştirilmiş bu amaçla 96 kuyucuklu mikro-plate kullanılmış ve kuyucuklara LB besiyeri, bakteri kültürü ve 10 µL (son derişim 6,1 mg) siyah sarımsak ekstraktı eklenerek 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda plate içerisindeki kültürler dökülerek 3-5 kez saf su ile yıkanmıştır. Plate kurduktan sonra kuyucuklara %0,1 derişimdeki kristal viyole eklenmiş ve yarım saat bekletilmiştir. Süre sonunda plate yine saf su ile 3-5 kez yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra %95'lik etanol ilavesiyle 15 dakika beklenmiş ve CV'nin çözündürülmesi sağlanmıştır. Sonuçlar 570 nm'de (Biotek -Epoch 2 Miproplate Spektrofotometre) kullanılarak okunmuştur [29].

Elastaz Testi

Elastin Kongo Red (ECR) testi ile yapılan çalışmada, PA01 sıvı kültüründen 600 nm de OD değeri belirlenip, 0.05 yoğunlukta 10 mL LB sıvı besiyerine 100 µL (son derişim 6,1 mg) siyah sarımsak ekstraktı ile birlikte eklenmiş ve 37°C'de, 14-16 saat süre ile çalkalanarak inkübasyona bırakılmıştır. Bu kültürlerin supernatant kısmından 100 µL, 900 µL ECR tamponu (100 mM Tris, 1 mM CaCl₂, pH 7.5, 20 mg ECR) üzerine ilave edilmiş ve 37°C'de 3 saat 200 rpm de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda çözülmemiş olan ECR santrifüj (DLAB-D2012plus) edilerek uzaklaştırılmış ve

supernatant kısım OD 495 nm'de (Biotek-Epoch 2 Miproplate Spektrofotometre) okunmuştur [30].

İstatistiksel Analiz

Bu çalışma "tesadüf parselleri deneme desenine" göre dizayn edilmiş ve her uygulamada üç tekerrür kullanılmıştır. Veriler, JUMP istatistik paket programı ile varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve uygulamalar arasındaki farklar LSD çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir.

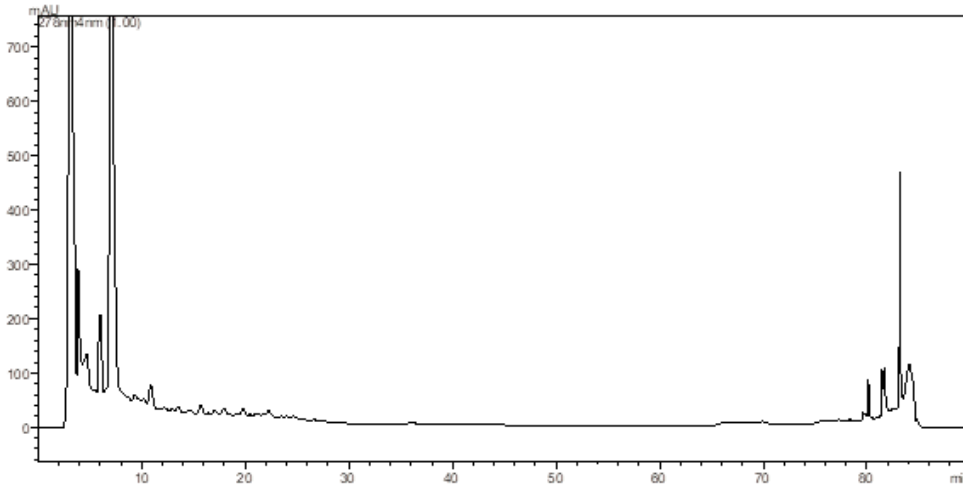
BULGULAR VE TARTIŞMA

Fenolik Bileşik Analiz Sonuçları

Siyah sarımsak metanol ekstraktında tespit edilen fenolik bileşikler ve miktarları Tablo 3'de, fenolik bileşiklerin kromatogramı ise Şekil 2'de verilmiştir. Fenolik asitlerden; gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, şiringic asit, ferulik asit, sinapinik asit, benzoik asit, o-kumarik asit, rosmarinik asit, sinnamik asit ile flavonol grubundan kateşin, epikateşin, rutin, hesperidin, eriodiktiol, luteolin, kamferol ve apigenin ise tespit edilmemiştir. Tayin edilen fenolik asitler; p-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanillin ve p-kumarik asit olup, flavonol grubundan ise sadece kuersetin saptanmıştır. Major fenolik bileşik kuersetini (7.7 µg/g) sırasıyla p-hidroksi benzoik asit (3.5 µg/g) ve klorojenik asit (2.8 µg/g) takip etmektedir.

Tablo 3. Siyah sarımsakta bulunan fenolik bileşik miktarları

Fenolik asitler	(µg/g)
p-Hidroksi benzoik asit	3.5±0.3
Klorojenik asit	2.8±0.1
Vanillin	0.3±0.03
p-Kumarik asit	0.3±0.01
Flavonoller	
Kuersetin	7.7±1.0



Şekil 2. Siyah sarımsak ekstraktında tespit edilen fenolik bileşiklere ait kromatogram

Casas ve ark. [31] yaptıkları bir çalışmada; taze sarımsağın siyah sarımsağa dönüştürüldüğünde aroma profili, şekerler ve biyoaktif bileşiklerdeki değişiklikleri araştırmışlardır. Taze sarımsağın siyah sarımsak haline dönüşümünde fenolik asit ve flavonoid seviyelerinde önemli değişiklikler olduğunu belirtmişlerdir. Fenolik asitlerden, kafeik, klorojenik, kumarik ve ferulik asit ile flavonoidlerden, epikateşin ve apigenini tespit etmişlerdir. Siyah sarımsak örneklerini taze sarımsak ile karşılaştırdıklarında; fenolik asitlerden sırasıyla klorojenik asit ile kafeik asitin taze sarımsakta 11.71 ± 9.31 mg/100g ve 3.45 ± 1.76 mg/100g iken siyah sarımsakta tespit edilmediğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, kumarik asit ve epikateşin seviyelerinde önemli ölçüde artış olduğu bulmuşlardır. Fenolik asitlerin ve flavonoidlerin bileşiminin yaşlanma sürecinde önemli ölçüde değiştiğinin, bazılarının arttıkça, diğerlerinin tamamen veya büyük ölçüde kaybolduğunun sonucuna varmışlardır [31].

Bizim yaptığımız fenolik bileşik analizinde de kafeik asit tespit edilmemiştir. Bu durumun siyah sarımsak üretilirken maruz bırakılan ısı işleminden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bir grup araştırmacı siyah sarımsağın baş ve soyulmuş halinin üç farklı ısı işlem sıcaklığında (72, 75 ve 78°C) fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Sarımsaktaki toplam polifenol içeriğinin tüm ısıtma işlemlerinde arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca polifenollerin miktarının soyulmamış halinde 3 kat, soyulmuş siyah sarımsakta yaklaşık 6 kat artış gösterdiğini tespit etmişlerdir [14].

Kore'de yapılan bir çalışmada, taze sarımsaklar farklı sıcaklık, nisbi nem ve sürelerde tutularak oluşan siyah sarımsaktaki toplam fenol ve flavanoid içerikleri araştırılmıştır. Yapılan sıcaklık uygulamalarının siyah sarımsakta fenolik asit ve flavanoid içeriğini arttığını, bununla birlikte toplam fenolik bileşik miktarının, toplam flavanoid miktarından fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte 70°C'de %60 nispi nemde 60 saat tutulan sarımsaklarda toplam flavanoid madde miktarının toplam fenolik bileşik miktarından daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca hidrosinnamik asit türevlerinin tüm farklı sıcaklık koşullarında tutulan sarımsaklarda en önemli fenolik asit olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar inceledikleri siyah sarımsaklarda flavonol grubundan kamferol ve apigenin tespit edilmediğini, kuersetin miktarının 1.70 ± 0.09 ile 7.31 ± 0.18 mg/kg arasında olduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada kamferol ve apigenin tespit edilmemiş olup, kuersetin miktarı da benzerlik göstermektedir [32].

Eyüpoğlu [33] yaptığı çalışmada siyah sarımsağın antioksidan aktivite ve fenolik içeriğini araştırmıştır. Tespit ettiği 13 fenolik bileşik içerisinde; klorojenik asit, vanilik asit, benzoik asit ve gallik asit içeriğinin oldukça

yüksek olduğunu ve vanilik asitin (750.95 ± 0.01 mg/L) en yüksek oranda olduğunu belirtmiştir. Araştırma sonuçlarına benzer olarak bizim yaptığımız çalışmada da klorojenik asit, p-hidroksi benzoik asit ve vanillin tespit edilmiştir [33].

Koca ve ark. [34] Çin ve Taşköprü siyah sarımsaklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında; Çin siyah sarımsağının antioksidan gücü ve toplam fenolik içeriğinin Taşköprü siyah sarımsak değerlerinden daha yüksek olduğunu fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ($P > 0.05$) belirtmişlerdir [34].

Yaptığımız çalışmada fenolik bileşiklerin analiz sonuçları diğer araştırmacıların çalışmalarıyla benzerlikler göstermektedir. Tespit edilen fenolik bileşikler; p-kumarik asit [28, 29], klorojenik asit [28-30], kuersetin [29] ve vanillin [30] diğer araştırmalarda da tespit edilmiştir. Araştırma sonuçlarına bakıldığında 23 adet fenolik bileşiklerden tespit edemediğimiz bazı bileşiklerin (kamferol, apigenin, kafeik asit) diğer çalışmalarda siyah sarımsaklarda da tespit edilmediği görülmüştür. Gerek tespit edilen fenolik bileşikler gerekse miktar açısından farklılıkların bulunduğu görülmektedir. Bu farklılıkların çalışmada kullanılan ticari sarımsağın çeşidi, fermantasyon koşulları (uygulanan sıcaklık, nem ve süre), morfolojik ve biyokimyasal özellikleri ile ekolojik koşullardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu düşünce, araştırmacıların çalışmalarıyla da desteklenmektedir [31, 3, 33].

Piyosiyenin Testi

Piyosiyenin, *P. aeruginosa*'ya özgü mavi-yeşil renk veren bir pigment olup, önemli virülans faktörlerinden biridir. Siyah sarımsak metanol ekstraktının PA01'in ürettiği piyosiyenin üzerine inhibisyon etkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmanın olduğu gözlenmiştir (Şekil 3). PA01'in ürettiği piyosiyenin pigmentinin sarımsak ekstraktı ile inhibisyon oranı %38 olarak tespit edilmiştir. Piyosiyenin hücrede solunumu baskılayarak, siliyer fonksiyonları bozarak patogeneze rol aldığı yapılan in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca kistik fibrozisli hastalarda akciğer hasarına sebep olduğu da bilinmektedir [35, 36]. Yapılan literatür taramasında siyah sarımsak metanol ekstraktının *P. aeruginosa* PA01 de piyosiyenin üretimi üzerine inhibisyon etkisini araştırdığı bir çalışmaya rastlanmamış olup, beyaz sarımsak yağında bulunan diallil disülfid ile yapılan bir çalışmada QS sistemine ait anahtar genler olan *las*, *rhl*, *pqs* genlerinin regülasyonunun baskılandığı bunun neticesinde piyosiyenin biyosentezi, elastaz üretimi ve biyofilm oluşumunun engellendiği bulunmuştur [37].

Biyofilm oluşumuna siyah sarımsak metanol ekstraktının etkisine bakıldığında ise %84 oranında güçlü inhibisyon etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Genel değerlendirmede bitki ekstraktının kontrol PA01 ile kıyaslandığında

biyofilm oluşumu üzerine inhibisyon etkisinin istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ($P<0.01$) tespit edilmiştir (Şekil 3).

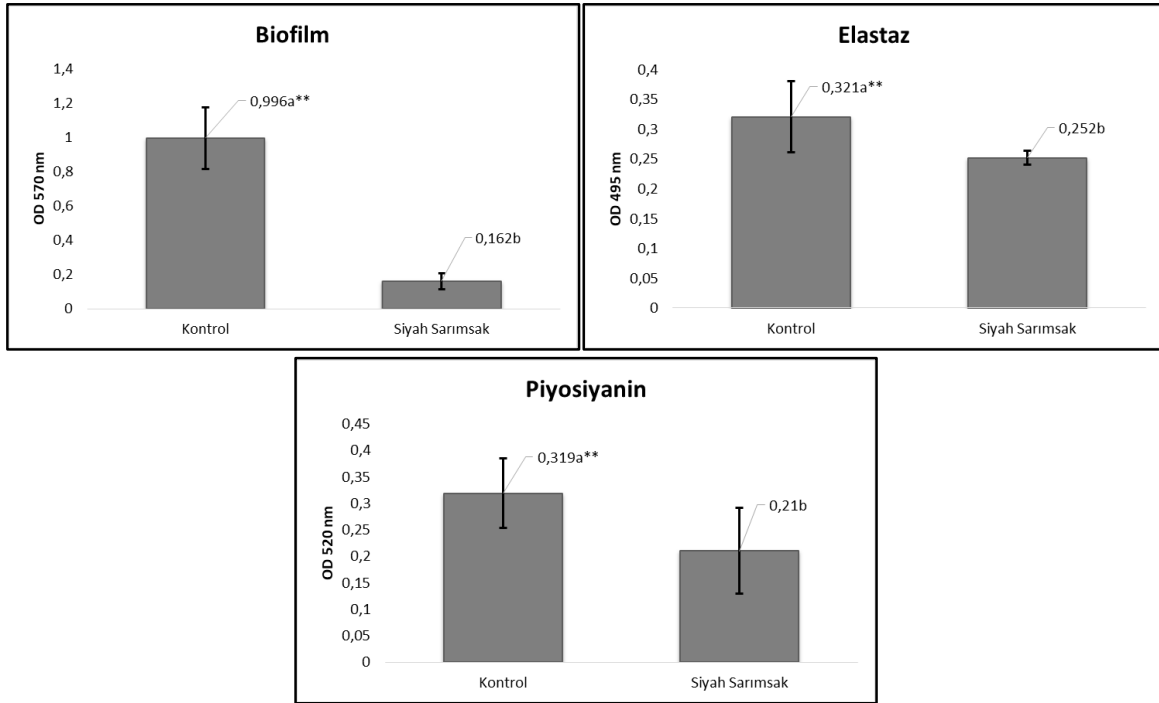
Biyofilm tabakası bakteriyi antimikrobiyal ajanlara ve konak bağışıklık sistemine karşı koruyarak, bakterinin konaktaki kalıcı kolonizasyonun da etkin rol oynar ve konağın iyileşme sürecini güçleştirir [38]. Yapılan birçok çalışma biyofilm oluşumunun çevreyi algılama (QS) sisteminin kontrolünde olduğunu göstermiş ve bakteriler arasında iletişimi sağlayan sinyallerin bloke edilmesi ile biyofilm oluşumunun engellenerek antibiyotiklere direncin azalacağı gösterilmiştir [39, 40]. Biyofilm oluşumunun bitkisel materyallerle baskılandığı çok fazla çalışma olup, bunu polimer oluşumunun engellenmesi, hücre yapışması ve bağlanmasının baskılanması, ekstraselüler matriksin üretiminin engellenmesi ile sağladıkları görülmüştür [41].

Literatürde biyofilm oluşumunun engellenmesi üzerine bitki kaynaklı birçok doğal ürünle çalışılmış olup siyah sarımsak ile yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

P. aeruginosa'nın konakçı dokularında kolonizasyonu sağlayarak immün sistemi baskıladığı virülens faktörlerinden biri de ekstraselüler proteazlardır. Bunlar

içerisinde en önemli olan iki tanesi 50-kDa alkalın proteaz AprA ve 33-kDa elastaz LasB'dir [42]. Ayrıca her iki enzim deri, akciğer ve korneada nekroza sebep olur. LasB elastaz gerek tek başına gerekse *Pseudomonas* tarafından üretilen diğer proteazlar ile birlikte işlev göstererek biyolojik olarak önemli birçok substratı parçalar veya inaktive eder [43]. Siyah sarımsak ile hazırlanan metanol ekstraktının elastaz üretimi üzerindeki inhibisyon etkisi elastin Kongo red (ECR) yöntemi ile araştırılmış ve sonuçta kontrol PA01 suşu ile kıyaslandığında çalışılan derişimde (66 mg) %28 oranında inhibisyonun gözlenirken ve bu oranın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görülmüştür (Şekil 3).

Kuersetin birçok meyve, sebze ve bitki tohumunda bulunan önemli bir polifenoldür. Yapısında kuersetin içeren bitkilerle yapılan çalışmalarda elastaz üretimini baskıladığı düşünülmüştür. Ayrıca kuersetin ile yapılan bir çalışmada ise çok düşük konsantrasyonlarda (16 µg/mL) elastaz üretimi üzerine inhibisyon etki gösterdiği tespit edilmiştir [44]. *P. aeruginosa*'da elastaz üretiminin inhibisyonu üzerine siyah sarımsak metanol ekstraktı ile yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.



Şekil 3. Siyah sarımsak metanol ekstraktının piyosiyantin ve elastaz üretimi ile biyofilm oluşumu üzerine inhibisyon etkisi.** Aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($P<0.01$)

SONUÇ

Sonuç olarak son yıllarda ismi sıkça duyulan siyah sarımsak, taze sarımsağın keskin kokusundan duyulan

rahatsızlığa karşı iyi bir alternatif olmasının yanında, içeriğinin daha zengin olması ile de tercih sebebi olmuştur. Yapılan literatür taramasında siyah sarımsakta toplam fenolik madde tayini üzerine yapılmış bir çok

çalışmaya rastlanmış olup, fenolik bileşik bazında yapılan çalışma sayısının az olduğu görülmüştür. Ayrıca *P. aeruginosa*'da çevreyi algılama sisteminin (QS) inhibisyonu üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile siyah sarımsakta bulunan fenolik bileşikler araştırılmış ve siyah sarımsağın *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörü olan elastaz ve piyosiyenin ile biyofilm oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir. HPLC sonuçlarına göre fenolik bileşiklerden; *p*-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanillin, *p*-kumarik asit ve kuersetin saptanmıştır. Temel fenolik bileşiğin kuersetin ($7.7 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$) olduğu görülmüştür.

Bakteriyel test sonuçlarına göre ise, siyah sarımsak metanol ekstraktının *P. aeruginosa* virülansında önemli rolü olan üç faktöre karşı inhibisyon etkisi gösterdiği bulunmuştur. En etkili inhibisyon sonucunun %84 ile biyofilm oluşumu üzerine olduğu görülmüştür. Antibiyotik direncinin ciddi sorun olduğu son yıllarda, bakterilerle mücadelede, bitkisel droglara yönelim ve bakteriler arasındaki iletişiminin engellenerek enfeksiyon hastalıklarının oluşumunun önlenmesi umut vaat eden stratejiler arasında görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Genç, S. (2017). Sarımsağın tarihçesi, türleri ve sarımsak ürünleri. TKDK, Kırsal Kalkınma Sayı 7.
- [2] Rivlin, R.S. (2001). Historical perspective on the use of garlic. *Journal of Nutrition*, 131, 951-954.
- [3] Ayaz, E., Alpsoy, H.C. (2007). Sarımsak (*Allium sativum*) ve geleneksel tedavide kullanımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(2), 145-149.
- [4] Kim, I., Kim, J.Y., Hwang, Y.J., Hwang, K. A., Om, A.S., Kim, J.H., Cho, K.J. (2011). The beneficial effects of aged black garlic extract on obesity and hyperlipidemia in rats fed a high-fat diet. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(14), 3159-3168.
- [5] Ryu, J.H., Kang, D. (2017). Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A Review. *Molecules*, 22, 919-931.
- [6] TÜİK (2019). Türkiye İstatistik Kurumu, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>.
- [7] Kang, O.J. (2016). Evaluation of melanoidins formed from black garlic after different thermal processing steps. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21(4), 398-405.
- [8] Medina, M.A.T., Aparicio, J.P., Ortega, A.M., Rojas, R.M. (2019). Influence of variety and storage time of fresh garlic on the physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Foods*, 8, 314-324.
- [9] Kimura, S., Tung, Y., Pan, M., Su, N., Lai, Y., Cheng, K. (2017). Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25, 62-70.
- [10] Zhang, Z., Lei, M., Liu, R., Gao, Y., Xu, M., Zhang, M. (2015). Evaluation of alliin, saccharide contents and antioxidant activities of black garlic during thermal processing. *Journal of Food Biochemistry*, 39, 39-47.
- [11] Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., Park, H.J. (2012). A comparative study of the different analytical methods for analysis of S-allylcysteine in black garlic by HPLC. *LWT Food Science and Technology*, 46, 532-535.
- [12] Kim, S.H., Jung, E.Y., Kang, D.H., Chang, U.J., Hong, Y.H., Suh, H.C. (2012). Physical stability, antioxidative properties, and photoprotective effects of a functionalized formulation containing black garlic extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 117, 104-110.
- [13] Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., Park, H.J. (2014). Changes in S-allylcysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 55, 397-402.
- [14] Angeles, T.M.M., Jesus, P.A., Rafael, M.R., Tania, M.A. (2016). Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. *Food Chemistry*, 199, 135-139.
- [15] Lu, X., Li, N., Qiao, X., Qiu, Z., Liu, P. (2017). Composition analysis and antioxidant properties of black garlic extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 340-349.
- [16] Ergin, S.Ö. (2019). The benefits of black garlic to human health. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(7), 940-945.
- [17] Akan, S. (2014). Siyah sarımsak. *Gıda*, 39(6), 363-370.
- [18] Li, N., Lu, X., Pei, H., Qiao, X. (2014). Effect of freezing pretreatment on the processing time and quality of black garlic. *Journal of Food Process Engineering*, 38(4), 329-335.
- [19] Yuan, H., Sun, L., Chen, M., Wang, J. (2018). An analysis of the changes on intermediate products during the thermal processing of black garlic. *Food Chemistry*, 239, 56-61.
- [20] Choi, S., Cha, H.S., Lee, Y.S. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19, 16811-16823.
- [21] Medina, M.A.T., Amo, T.M., Bedmar, Z.F., Font, R., Celestino, M.R., Aparicio, J.P., Ortega, A.M., Moraga, A.A., Rojas, R.M. (2019b). Physicochemical characterization and biological activities of black and white garlic: *in vivo* and *in vitro* assays. *Foods*, 8, 220-239.
- [22] Purev, U., Chung, M., Oh, D.H. (2012). Individual differences on immunostimulatory activity of raw and black garlic extract in human primary immune cells. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 34(4), 651-660.
- [23] Botas, J., Fernandes, A., Barros, L., Alves, M.J., Carvalho, A.M., Isabel, C.F.R. Ferreira. (2019). A

- comparative study of black and white *Allium sativum* L.: Nutritional composition and bioactive properties. *Molecules*, 24, 2194-2205.
- [24] Jung, I.C., Sohn H.Y. (2014). Antioxidation, antimicrobial and antithrombosis activities of aged black garlic (*Allium sativum* L.). *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 42(3), 285-292.
- [25] Lerat, E., Moran, N.A. (2004). The evolutionary history of quorum sensing systems in bacteria. *Molecular Biology and Evolution*, 21(5), 903-913.
- [26] Henke, J.M., Bassler, B.L. (2004). Bacterial social engagements. *Trends in Cell Biology*, 14(11), 648-656.
- [27] Gomes, T., Caponio, F., Alloggio, V. (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*, 64, 203-209.
- [28] Essar, D.W., Eberly, L., Hadero, A., Crawford, I. (1990). Identification and characterization of genes for a second anthranilate synthase in *P. aeruginosa*: interchangeability of the two anthranilate synthases and evolutionary implications. *Journal of Bacteriology*, 172, 884-900
- [29] O'Toole, G.A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, 47, 2437.
- [30] Ohman, D.E., Cryz, S.J., Iglewski, B.H. (1980). Isolation and characterization of a *P. aeruginosa* PAO mutant that produces altered elastase. *Journal of Bacteriology*, 142, 836-842.
- [31] Casas, L.M., Yusty, M.L., Hernandez, J.L. (2017). Changes in the aromatic profile, sugars, and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 10804-10811.
- [32] Kim, J.S., Kanga, O.J., Gweonb, O.C. (2013b). Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. *Journal of Functional Foods*, 5, 80-86.
- [33] Eyupoglu, O.Z. (2019). Antioxidant activities, phenolic contents and electronic nose analysis of black garlic. *International Journal of Secondary Metabolite*, 6(2), 154-161.
- [34] Koca, I., Tekguler, B., Koca, A.F. (2016). Some physical and chemical characteristics of Taşköprü and Chinese black garlics. VII International Symposium on Edible Alliaceae, ISHS Acta Horticulturæ 1143, 221-226.
- [35] Karatuna, O., Yağcı, A. (2008). *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörleri ve quorum sensing. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 38, 42-51.
- [36] Denning, G.M., Wollenweber, L.A., Railsback, M.A., Cox, C.D., Stoll, L.L., Britigan, B.E. (1998). *Pseudomonas* pyocyanin increases interleukin-8 expression by human airway epithelial cells. *Infection and Immunity*, 66(12), 5777-5784.
- [37] Li W.R., Ma Y.K., Xie, X.B., Shi, Q.S., Wen, X., Sun, T.L., Peng, H. (2019). Diallyl disulfide from garlic oil inhibits *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing systems and corresponding virulence factors. *Frontier Microbiology*, 9, 1-11.
- [38] Maçın, S., Kittana, F.N.A., Yılmaz, Y.A. (2017). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının virülans faktörlerinin incelenmesi. *Çukurova Medical Journal*, 42(2), 308-313
- [39] Jiang, Q., Chen, J., Yang, C., Yin, Y., Kang, Y. (2019). Quorum sensing: A prospective therapeutic target for bacterial diseases. *BioMed Research International*, 7, 1-15.
- [40] Hong, S.H., Hegde, M., Kim, J., Wang, X., Jayaraman, A., Wood, T.K. (2012). Synthetic quorum-sensing circuit to control consortial biofilm formation and dispersal in a microfluidic device. *Nature Communications*, 3, 1-8.
- [41] Lu, L., H.W., Tian, Z., Yuan, D., Yi, G., Zhou, Y., Cheng, Q., Zhu, J., Li, M. (2019). Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chinese Medicine*, 14(11), 2-17.
- [42] Casilag, F., Lorenz, A., Krueger, J., Klawonn, F., Weiss, S., Häussler, S. (2016). The LasB Elastase of *Pseudomonas aeruginosa* acts in concert with alkaline protease aprA to prevent flagellin-mediated immune recognition. *Infection and Immunity*, 84(1), 162-171.
- [43] Nicas, T., Bradley, I., Lochner, J.E., Iglewski, B.H. (1985). The role of exoenzyme S in infections with *P. aeruginosa*. *Journal of Infectious Diseases*, 152, 716-721.
- [44] Ouyang, J., Sun, F., Feng, W., Sun, Y., Qiu, X., Xiong, L., Liu, Y., Chen, Y. (2015). Quercetin is an effective inhibitor of quorum sensing, biofilm formation and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*, 120, 966-974.

Meriç Nehri (Edirne) Boyunca Nehir Suyuyla Sulanan Çeltiklerde Pestisit Kalıntıları

Çağatay Kulaksız¹ , Abdullah Akgün²  

¹Pilab Özel Gıda ve Yem Analiz ve Kontrol Laboratuvarı, Edirne

²Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Edirne

Geliş Tarihi (Received): 11.07.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 06.03.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): abdullahakgun@trakya.edu.tr (A. Akgün)

☎ 0 284 226 12 18 📠 0 284 226 12 24

ÖZ

Bu çalışmada, Meriç Nehri'nden (Edirne) sulanarak üretilen çeltiklerde kullanılan zirai ilaç kalıntılarının insan ve çevre sağlığı açısından yasal değerlerin üstünde olup olmadığı araştırılmıştır. Edirne, 2018 yılında yaklaşık 410.000 ton çeltik üretimiyle Türkiye'nin en büyük çeltik üreticisi olup, Türkiye'nin toplam üretiminin %44'ünü karşılamaktadır. Çeltik yaşam evresi boyunca suda olduğundan, üretiminde yabancı ot ve bitki zararlılarına karşı kaçınılmaz olarak tarım ilacı kullanılmaktadır. Buna ek olarak, Bulgaristan'daki Meriç havzasında da çeltik üretimi yapıldığından bu bölgeden suyla taşınabilen pestisitlerin bu bölgedeki çeltiklere bulaşma ihtimali olabileceği dikkate alınmıştır. Gıdalardaki ilaç kalıntılarının neden olabileceği olumsuzluklar dikkate alınarak yapılan yasal düzenlemeler ile her pestisit etken maddesi için belli bir maksimum kalıntı limiti belirlenmiş veya bazılarının kullanımı yasaklanmıştır. Bu çalışma üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada analizi yapılacak olan çeltik örnekleri 2018 yılında Edirne'de Meriç Nehri boyunca 25 ayrı noktadan toplanmıştır. İkinci aşamada toplanan çeltikler sap ve kavuzlarından ayrılarak kurutulmuş ve örnekler analiz edilinceye kadar uygun koşullarda muhafaza edilmiştir. Son aşamada test edilen pestisit aktif bileşenlerinin 365'i LC/MS-MS ile kalanları GC-MS sistemleri ile taranmıştır. Analizler sonucunda çeltik ve pirinç örneklerinde, azoksistrobin (0.094-0.033 mg/kg), siprokonazol (0.029-0 mg/kg), epoksikanazol (0.018-0 mg/kg), prokloraz (0.063-0.019 mg/kg), profoksidim (0.021-0 mg/kg), propikonazol (0.116-0.043 mg/kg), tebukonazol (0.045-0.017 mg/kg) ve trifloksistrobin (0.076-0.023 mg/kg) pestisitleri belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, analiz edilen çeltik ve pirinç örneklerinde bulunan pestisit kalıntı miktarının, Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği'nin ilgili pestisit kalıntı limitleri mevzuatında yer alan limitlerin altında olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, Çeltik, Pirinç, Meriç nehri

Pesticide Residues in Rice Paddies Irrigated Along Meriç River in Edirne (Turkey)

ABSTRACT

In this study, the pesticide residue levels in rice paddies irrigated by river water along the Meric River were determined in the province of Edirne in Turkey. Edirne is the Turkey's largest rice paddy producer with an annual production of around 410.000 metric tons, which accounts for as much as 44% of total Turkey's paddy production in 2018. Since paddy crop is in water throughout the life stage, pesticides are inevitably used against weeds and plant pests in production. In addition, since the rice production is being carried out in the Meric basin in Bulgaria, it may be considered that pesticides that can be transported with water from this region may be transmitted to the paddy crop in Turkey. With the legal regulations prepared by taking into consideration the negative effects of drug residues in foods, a certain maximum residue limit has been determined for the active substances of each pesticide or some of them are prohibited. This study was carried out in three stages. In the first stage, paddy samples were collected from 25 different points along the Meric River in Edirne in 2018. In the second stage, the collected rice samples were

separated from the stems and husks then dried and kept under suitable conditions until analyses. In the last stage, 365 of the pesticide active ingredients tested in this study were screened by the LC/MS-MS method while the rest were analyzed by the GC-MS method. As a result of the pesticide analyses, azoxystrobin (0,094-0,033 mg/kg), cyproconazole (0.029-0 mg/kg), epoxiconazole (0.018-0 mg/kg), prochloraz (0.063-0,019 mg/kg), profoxydim (0.021-0 mg/kg), propiconazole (0.116-0.043 mg/kg), tebuconazole (0.045-0.017 mg/kg) and trifloxystrobin (0.076-0.023 mg/kg) were determined in paddy and rice samples. Results indicated that the amount of pesticide residues in the analyzed paddy and rice samples was below the limits in the Turkish Food Codex and the European Union pesticide residue legislation.

Keywords: Pesticide, Paddy, Rice, Meric river

GİRİŞ

Çeltik dünya nüfusunun yarısından fazlasının beslenmede kullandığı bir üründür. Dünya üzerinde en çok çeltik ekilen ülkeler; Çin, Endonezya, Hindistan, Bangladeş ve Vietnam'dır. Dünya çeltik verimi 410 kg/da iken ülkemizde bu rakam 780 kg/da seviyesindedir [1]. Ülkemizde yaklaşık 30 ilde çeltik üretimi yapılmakta olup üretimin %70'i Marmara, %25'i Karadeniz bölgesindedir. En çok çeltik üretimi yapılan il Edirne (%44)'dir. Bunu sırasıyla Samsun (%15), Balıkesir (%13), Çanakkale (%7), Çorum (%6), kalanı Sinop, Tekirdağ, Kırklareli, Bursa, Çankırı, Diyarbakır ve Mersin gibi iller takip etmektedir [2]. Türkiye'de yıllık çeltik üretimi 2000'li yıllarda yaklaşık 300.000 ton iken, 2014-2019 yılları arasında yıllık üretim yaklaşık 900.000 ton olmuştur. Ancak ülkemiz çeltik üretimi ihtiyacı karşılamadığı için hemen her dönem çeltik veya pirinç ithalatı yapılmaktadır. Ülkemizin 2018 yılı çeltik ithalatı yaklaşık 60.000 ton, pirinç ithalatı ise 190.000 ton iken toplam çeltik ve pirinç ihracatımız yaklaşık 33.000 ton olarak gerçekleşmiştir [2].

Çeltik bitkisi su içinde bulunan çözünmüş oksijeni kullanarak çimlenebilen tek tahıl türüdür. Çimlenme döneminden hasat dönemine kadar geçen sürede sürekli su içerisinde olup toprak olarak seçici değildir. Su, besin maddesi ve ışık gibi faktörlerin uygun olduğu çeltik tarlalarında yabancı otlar hızla gelişim gösterirler. Çeltik üretiminde yabancı otlar ile mücadele edilmezse verimlerde %20-30 oranında azalma görülmekte aynı zamanda ürün kalitesi de düşmektedir. Bu yüzden çeltik tarımında zirai ilaç kullanımı nerdeyse zorunluluk haline gelmiştir [1].

Dünya nüfusundaki artışla beraber şehirleşme ve doğal afetlerin etkisiyle tarıma elverişli alanlar giderek azalmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) raporlarına göre dünya nüfusunun yarısına yakın bir kısmı yeterli beslenmemektedir ve her yıl, tahıl ürünleri başta olmak üzere yaklaşık 20 milyon ton gıda üretimi gerekmektedir. Bu ihtiyacı karşılayabilmek için, tarım alanı olarak kullanılan alanlarda birim alandan elde edilecek ürün miktarını artırmak, ürün kalitesini ve ürün miktarını artırmak için bitki hastalıkları ve yabancı otlar ile mücadele edilmesi gerekmektedir. Bitki korumada en yaygın olarak kullanılan tarımsal mücadele yöntemi, tarımsal ilaçla yapılan kimyasal mücadeledir. Bu yöntemin yaygın olma nedenleri arasında, etkinliğinin fazla olması, hızlı sonuç vermesi ve bilinçli kullanımlarda ekonomik olması sayılabilir [3].

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde pestisit kullanımı daha kontrollü ve bilinçli olarak yapılmaktadır. Pestisit kullanımı konusunda ABD ve AB'de olduğu gibi ülkemizde de ilgili yasalar çıkarılmıştır. Bu konuda resmi örgütlerin yanında sivil toplum örgütleri de söz sahibi duruma gelmiştir. Böylece gelişmiş ülkelerde, kontrolsüz veya bilinçsiz olarak kullanılan pestisitlerin yerine, "düşük risk" veya "doğa dostu" pestisitler tercih edilmeye başlanmış, Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı (EPA) gibi kurumlarca daha güvenilir bu pestisitlerin kullanımı teşvik edilmiş ve ruhsatlandırılması kolaylaştırılmıştır [4].

Kalıntı maddeleri, tarımsal üretimde kullanılan bitki ve hayvan sağlığı koruma ürünlerinin ya da bunların bozulma ürünlerinin gıdalarda kullanımından sonra kalan artıklarını ifade eder. En çok bilinen kalıntı maddeleri pestisitler, hormonlar ve veteriner ilaçlarıdır [5]. Pestisit etken maddelerinin kalıntı sorunu, genellikle kullanım aşamasında üretici ve tüketicilerin eğitim eksikliğinden kaynaklanmaktadır. İlaçlama esnasında yüksek dozajda pestisit kullanımı, hasat tarihlerine uygun bir şekilde ilaçlama yapılmaması, amaca uygun pestisit kullanılmaması ve tarım aletlerinin ilaçlamada yetersiz olması kalıntı sorununu ortaya çıkarmaktadır. Bu sorunlar eğitim, gerekli denetimler ve tarım aletlerinin doğru ilaçlama yapabilecek şekilde geliştirilmesiyle aşılabılır. Ülkemizde pestisit kullanımı diğer ülkelere oranla az olmasına rağmen bilinçsiz kullanımı sorun oluşturmaktadır. Bu sorunların önüne geçebilmek için, üretici çevreye en az zarar verecek şekilde uygun ilacı seçmeli, seçilen bu ilaçla hasat zamanına uygun olacak şekilde ilaçlama yapılmalıdır [3].

Maksimum kalıntı limiti; doğmamış bebekler ya da çocuk gibi hassas grupları da dikkate alarak, değerlendirme sırasındaki mevcut bilgiler göz önüne alınarak tüketiciye fark edilebilir herhangi bir sağlık riski teşkil etmeyen, bir bireyin vücut ağırlığı esas alınarak yaşadığı süre boyunca gıdalarla günlük olarak alabileceği pestisit miktarı limitidir [6]. Pestisit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi konusunda AB'de 2005 yılında yayınlanan 396/2005 sayılı Bitkisel ve Hayvansal Gıdalardaki Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Hakkında Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü göz önüne alınarak Türkiye'de Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından 2016 yılında yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği ile tüketicinin yüksek seviyede korunması hedeflenmiştir

Avrupa Birliği veri tabanına dayanarak, son on yılda resmi laboratuvarlar tarafından pirinçte 3000'den fazla

pestisit kalıntısı analizi yapılmıştır. Bu örneklerin %6'sının maksimum kalıntı limitlerinin üzerinde pestisit kalıntısı içerdiği bildirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda pirinçte en sık görülen pestisitlerin; karbendazim, malathion, iprodion, tebukonazol, kuinklorak ve trisiklazol, çeltikte; buprofezin, heksakonazol, klorpirifos ve edifenfos olduğu tespit edilmiştir [7]. 2016 yılında Edirne'nin İpsala, Meriç ve Uzunköprü ilçelerinden toplanan pirinç örneklerinde; tebukonazol (0.010-0.208 mg/kg), siprokonazol (0.024-0.040 mg/kg), propikonazol (0.018-0.030 mg/kg) ve trifloksistrobin (0.098-0.116 mg/kg) arasında tespit etmiş ayrıca İpsala'dan toplanan bazı pirinç örneklerinde maksimum kalıntı limiti üzerinde trifloksistrobin bulunduğu bildirilmiştir [8].

Çeltik üretiminde pestisit kullanımı dışında, aynı zamanda Bulgaristan'daki Meriç havzasında da çeltik üretimi yapılmakta olup orada kullanılan pestisitlerinde

su ile taşınarak Edirne'de Meriç nehrinden sulanan çeltiklere bulaşması ihtimali bulunmaktadır. Ancak bu bölgede yetiştirilen pirinçlerin pestisit kalıntısı üzerine yeterli literatür olmadığı görülmüştür. Bu çalışma ile Meriç Nehri ile sulanan belirlenen noktalardan çeltik örnekleri toplanarak pestisit analizleri yapılmış ve pirinçlere bulaşma derecesi ve insan ve çevre sağlığı açısından yasal değere uygunluğu araştırılmıştır.

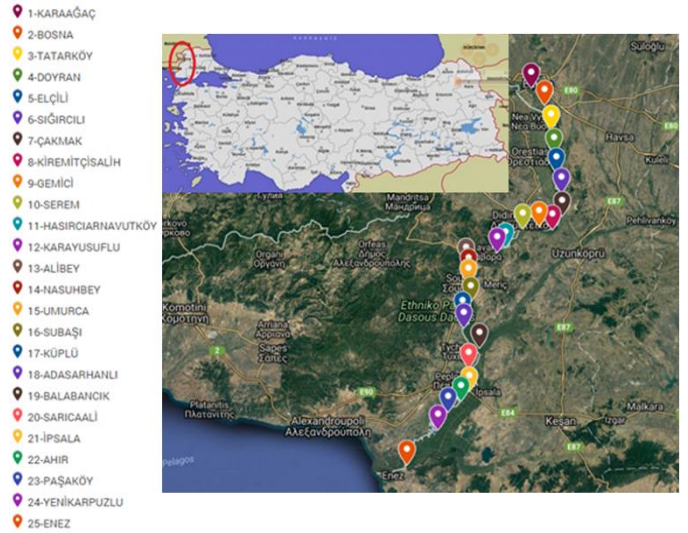
MATERYAL VE METOT

Örnek Alma

2018 yılında Edirne'de Meriç Nehri boyunca sulanan çeltik tarlalarından toplam 25 ayrı noktadan örnekleme yapılmıştır. Örnek alınan yerler Tablo 1 ve Şekil 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çeltik örneklerinin alındığı yerler

Örnek kodu	Örnek Alınan Yer	Örnek kodu	Örnek Alınan Yer
1	Karaağaç	14	Nasuhbey
2	Bosna	15	Umurca
3	Tatarköy	16	Subaşı
4	Doyran	17	Küplü
5	Elçili	18	Adasarhanlı
6	Siğircılı	19	Balabancık
7	Çakmak	20	Sarıcaali
8	Kiremitçisalih	21	İpsala
9	Gemici	22	Ahır
10	Serem	23	Paşaköy
11	Hasırcıarnavutköy	24	Yenikarpuzlu
12	Karayusuflu	25	Enez
13	Alibey		



Şekil 1. Örneklerin alındığı noktaların harita üzerinde yerleri

Örnek alımları "Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Pestisit Kalıntılarının Resmî Kontrolü İçin Numune Alma Metotları Tebliği'ne" uygun şekilde gerçekleştirilmiştir [9]. Örnek alımı yapılacak tarla belirlendikten sonra dört ayrı köşesinden çeltik örnekleri toplanarak paçal yapılmıştır. Toplanan çeltik örnekleri bulaşmaları önlemek için kilitli poşetlere alınmıştır. Ardından taneler bitki sapından ayrılarak plastik kaplar içinde kurutulmuş ve laboratuvarında analiz edilinceye kadar 3°C'de muhafaza edilmiştir.

Örnek Hazırlama

Saplarından ayıklanarak kurutulmuş olan çeltikler ve kavuzları soyularak elde edilen pirinçler bıçaklı laboratuvar öğütücüsü ile toz hale getirilmiştir. Öğütülen örnekler steril poşetlere alınmıştır. Bulaşmayı önlemek için her öğütme işlemi sonrasında öğütücü temizlenmiştir.

Kimyasallar ve Cihazlar

Pestisit kalıntı analizleri için, analitik saflıkta ($\geq 95\%$) referans standart maddeler (Dr. Ehrenstorfer GmbH Augsburg, Almanya) ve kromatografik saflıktaki asetonyitril ($\geq 99,9\%$) (J.T. Baker, ABD); asetik asit (100%), formik asit ($98,0-100\%$), metanol ($\geq 99,9\%$) (Merck, Almanya); amonyum format ($\geq 99,9\%$) (Sigma Aldrich, Almanya), örnek ekstraksiyonu için QuEChERS ekstraksiyon tuzu ve ayırıcı katı faz ekstraksiyon (d-SPE) kiti (5892-5775; 5981-5188, Agilent, ABD) kullanılmıştır. Analiz aşamaları için kullanılan cihazlar ise, laboratuvar öğütücüsü (Retsch Grindomix GM200, Almanya), vorteks karıştırıcı (Dragon Lab, Türkiye), soğutmalı santrifüj (Nüve NF 800R, Türkiye), ultra saf su cihazı (Lan Shan, LSRO-801A, Tayvan), analitik terazi (Radwag As 60/220.R2, Polonya) ve ayarlanabilir mikropipetlerdir (Mettler Toledo Rainin Pipet-Lite XLS, ABD).

LC-MS/MS Sistemi

Çalışmamızda pestisit kalıntılarını belirlemek için LC-MS/MS sistemi (Agilent Technologies, CA, ABD) (1260 HPLC, 6420 kütle dedektörü, G1311B pompa ünitesi, G1329B otomatik örnekleyici, G1316A kolon fırını ile Agilent Poroshell 120 SB-C18 Kolon, 3.0x100 mm, 2.7 µm) kullanılmıştır. Cihazda hareketli faz A olarak, 900 mL su üzerine 0.5 mL formik asit ve 1 mL amonyum format (5 M'lik) eklenerek 1000 mL'ye tamamlanmış çözelti, hareketli faz B olarak metanol kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 0.6 mL/dk. olarak ayarlanmıştır. Hareketli faz gradient programı ise 0-0.2 dk/A fazı %80, 1.6 dk./A fazı %30, 6.5-8 dk./ %5 A fazı, 8.1-13 dk./ %80 A fazı olarak uygulanmıştır. Standart ve örneklerin cihaza enjeksiyon hacmi 10 µL olup, kolon fırın sıcaklığı 35°C olarak ayarlanmıştır. Kütle dedektörü kısmında, gaz sıcaklığı 350°C, gaz akışı 11 L/dk. ve nebülizer basıncı 50 psi olarak ayarlanmış ve "Dynamic MRM" modunda tarama yapılmıştır.

GC-MS Sistemi

Örneklerdeki diğer pestisit kalıntılarının belirlenmesi için GC-MS sistemi (Agilent Technologies, CA, ABD) (7890B-5977B GC-MSD, G4513A otomatik örnekleyici ile Agilent HP-5MS Kapiler Kolon, 30m x 0.25 mm, 0.25 µm) kullanılmıştır. Cihazın çalışma koşulları olarak; 'Pulsed Splitless' enjeksiyon modu ve 2 µL enjeksiyon hacmi kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 2.8 mL/dk. akışa ayarlı sabit basınç modunda helyum gazı kullanılmıştır. Cihazda inlet başlangıç sıcaklığı 250°C'ye ayarlanmış, enjeksiyondan sonra 0.1 dakika beklenerek sonrasında 310°C'ye çıkmıştır. Kolon fırını sıcaklığı başlangıçta 40°C 2 dakika beklemeli, 150°C (40°C/dakika artış, beklemesiz), 200°C (9°C/dakika artış, beklemesiz), 280°C (16°C/dakika artış, 4 dakika beklemeli) ve son olarak 310°C (5 dakika beklemeli) olacak şekilde uygulanmıştır.

Örnek Ekstrasyonu

Öğütülmüş haldeki çeltik ve pirinç örneklerinde pestisit tayini, AOAC'nin gıdalardaki pestisit kalıntıları tayin metodunun modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir [10]. Buna göre 10 g homojenize edilmiş örnek ± 1 mg hassasiyetle 50 mL'lik falkon tüpüne tartılmıştır. Tartılan örnek üzerine 17 mL su, 10 mL %1 asetik asit içeren asetonitril ve QuEChERS ekstraksiyon tuzu (6 g MgSO₄, 1.5 g NaOAc) eklenerek kuvvetlice çalkalanmıştır. 30 saniye vortekslenerek, karıştırıcıda 400 rpm'de 10 dakika çalkalanmıştır. Çalkalama işlemi sonrasında 10 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. 6 mL asetonitril fazı (üst faz) 15 mL'lik dSPE clean-up tüpüne aktarılarak 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. dSPE clean-up tüpü 10 dakika boyunca 4000 rpm devirde santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra, çözelti 0.20 µm'lik şırınga filtresinden geçirilerek vialle alınmıştır.

Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Hazırlanan örnekler LC-MS/MS ve GC-MS cihazlarında analiz edilmiş ve 365 pestisit etken madde LC-MS/MS ile 71 pestisit etken madde ise GC-MS ile olmak üzere toplamda 436 adet pestisit etken madde taranmıştır. LC-MS/MS ve GC-MS için pestisit etken maddelerinin 1000 mg/L stok çözeltisinden 50 µg/L, 100 µg/L, 200 µg/L, 500 µg/L, 750 µg/L, 1000 µg/L kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Standart ekleme yöntemiyle her bir kalibrasyon noktası için ayrı ayrı 450 µL temiz matris ve 50 µL kalibrasyon çözeltilerinden alınarak kalibrasyon noktaları oluşturulmuştur. Sonuçların değerlendirilmesinde öncelikle örnek taranarak var/yok değerlendirmesi yapılmıştır. Değerlendirmede herhangi bir etken madde tespit edilemezse sonuç "<LOQ" olarak verilmiştir. Ancak örnekte raporlama limiti üzerinde tespit edilen bir sonuç olduğunda "gıda ve yemde pestisit kalıntıları analizi için analitik kalite kontrol ve metod validasyonu prosedürleri rehber dokümanı" içinde yer alan numunenin kontrolü "C-17, C40, D2, D8, ve E3" maddeleri göz önüne alınarak uygunluk değerlendirmesi yapılmıştır [11]. Uygunluk değerlendirmesi için; iyon oranları karşılaştırılırken aynı partide analiz edilen kalibrasyon standartlarına ait ortalama iyon oranı hesaplanmış ve bunun %30 tolerans limiti dahilinde uygunluğu kontrol edilmiş, alıkonma süresinin kalibrasyon standardı ile ± 0.1 dakika toleransla uyumlu ve iki paralel örnek sonucu arasındaki farkın ortalamasının %30'un altında olduğu kontrol edilmiştir. Değerlendirme aşaması sonucunda tüm şartların sağlanması durumunda sonuç raporlanmıştır [11]. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği, pirinç için kullanımına izin verilen pestisitlerde kabul edilebilir en yüksek kalıntı limitleri ve AB pirinçte pestisitlerin en yüksek kalıntı limitleri, pirinç için değerlendirmesi devam eden pestisitlerde en yüksek kalıntı limitleri listesi kullanılmıştır [12, 13].

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çeltik ve Pirinç Örneklerinin Pestisit Analiz Sonuçları

Pestisit etken maddelerinin tespiti için kullandığımız yöntem performansının belirlenmesine yönelik, 0.01 mg/kg konsantrasyon seviyesinde 5 tekrarlı geri kazanım çalışması yapılmıştır. Çalışmamızda pirinç ve çeltikte tespit edilen pestisit etken maddelerine ilişkin hesaplanan geri kazanım, bağıl standart sapma (RSD) ve doğrusalık değerleri Tablo 2'de; LC-MS/MS ve GC-MS'de örneklerde bulunan pestisitler için tespit edilen iyon ise bilgileri Tablo 3 ve 4'te verilmiştir.

Elde ettiğimiz bu değerler, SANTE'ye göre ölçüm limiti (LOQ) metot performans kriterleri olan %70-120 geri kazanım ve ≤20 RSD koşullarını sağladığı için bunu karşılayan en düşük konsantrasyon değeri olan 0.01 mg/kg, bu çalışmadaki LOQ değeri olarak belirlenmiştir [11].

Tablo 2. Çeltik ve pirinçte tespit edilen pestisitlerin metot performans değerleri

Pestisit Etken Madde	Geri Kazanım (%)	RSD	Doğrusallık (R ²)
Azoksistrobin	101.42	0.0666	0.9996
Siprokonazol	100.84	0.1166	0.9974
Epoksikonazol	97.02	0.0983	0.9990
Profoksidim	104.34	0.1569	0.9987
Propikonazol	101.89	0.0704	0.9993
Tebukonazol	99.11	0.1071	0.9984
Trifloksistrobin	99.90	0.0759	0.9988
Prokloraz	95.85	0.0763	0.9992

Tablo 3. LC-MS/MS'de örneklerde tespit edilen pestisit etken maddelerine ilişkin iyon bilgileri

Pestisit Etken Madde	İyon Geçişi	Ana İyon	Yardımcı İyon
Azoksistrobin	404.1 -> 372.1	404.1	372.1
Siprokonazol	292.1 -> 125.0	292.1	125
Epoksikonazol	330.1 -> 121.0	330.1	121
Profoksidim	466.0 -> 280.0	466	280
Propikonazol	342.1 -> 69.1	342.1	69.1
Tebukonazol	308.1 -> 124.9	308.1	124.9
Trifloksistrobin	409.1 -> 145.0	409.1	145

Tablo 4. GC-MS'de örneklerde tespit edilen pestisit etken maddesine ilişkin iyon bilgileri

Pestisit Etken Madde	İyon 1	İyon 2	İyon 3
Prokloraz	180	70	307.9

Analiz edilen çeltik örneklerinde elde edilen pestisit kalıntısı sonuçları Tablo 5'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre 5 noktada çeltik örneklerinde pestisit kalıntısı tespit edilmiştir. Bu çeltikler sırasıyla; 3-Tatarköy, 10-Serem, 15-Umurca, 17-Küplü, 20-Sarıcaali'den alınan örneklerdir. Çeltik örneklerinde toplam 8 farklı pestisit etken maddesi belirlenmiş olup bunlar; trifloksistrobin, prokloraz, epoksikonazol, profoksidim, tebukonazol, propikonazol, azoksistrobin ve siprokonazoldir.

Çeltik örneklerinde LC-MS/MS cihazında yapılan analizler sonucunda Edirne/Merkez'e bağlı Tatarköy'den alınan 3 numaralı örnekte 0.076 mg/kg trifloksistrobin, Edirne/Meriç ilçesine bağlı Serem köyünden alınan 10 numaralı örnekte 0.018 mg/kg epoksikonazol, Umurca köyünden alınan 15 numaralı örnekte 0.021 mg/kg profoksidim, Küplü beldesinden alınan 17 numaralı örnekte 0.045 mg/kg tebukonazol tespit edilmiştir. Edirne/İpsala ilçesine bağlı Sarıcaali köyünden alınan 20 numaralı örnekte de 0.116 mg/kg propikonazol, 0.094 mg/kg azoksistrobin ve 0.029 mg/kg siprokonazol tayin edilmiştir. GC-MS cihazı kullanılarak analizi yapılan çeltik örneklerinde ise Edirne/Meriç ilçesine bağlı Serem köyünden alınan 10 numaralı örnekte 0.063 mg/kg, Küplü beldesinden alınan 17 numaralı örnekte 0.095 mg/kg prokloraz tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'ne göre çeltik örneklerinde kavuz uzaklaştırıldıktan sonra maksimum kalıntı limitleri uygulandığından, örneklerde kavuz uzaklaştırıldıktan

sonra elde edilen pirinç pestisit analiz sonuçları Tablo 6'da verilmiştir. Yapılan çalışmalarda, pestisit kalıntısı konsantrasyonlarının pirinç işleme sırasında etkilenebilir olduğu ve genellikle son ürünlerde daha düşük olduğu bildirilmiştir [7]. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre de çeltiğe göre pirinçte daha düşük pestisit kalıntıları tespit edilmiştir.

Çeltiklerin kavuzları soyulduktan sonra elde edilen pirinç tanelerinde yapılan analizler sonucunda 4 farklı noktada pestisit kalıntısı tespit edilmiştir. Bu pirinçler sırasıyla; 3-Tatarköy, 10-Serem, 17-Küplü, 20-Sarıcaali'den alınan örneklerdir. Pirinç örneklerinde 5 farklı pestisit etken maddesi belirlenmiş olup bunlar; trifloksistrobin, prokloraz, tebukonazol, propikonazol ve azoksistrobindir.

Pirinç örneklerinde LC-MS/MS cihazı kullanılarak yapılan analizler sonucunda Edirne/Merkez'e bağlı Tatarköy'den alınan 3 numaralı örnekte 0.023 mg/kg trifloksistrobin, Edirne/Meriç ilçesine bağlı Küplü beldesinden alınan 17 numaralı örnekte 0.017 mg/kg tebukonazol, Edirne/İpsala ilçesine bağlı Sarıcaali köyünden alınan 20 numaralı örnekte de 0.043 mg/kg propikonazol, 0.033 mg/kg azoksistrobin tespit edilmiştir. GC-MS cihazı kullanılarak analizi yapılan pirinç örneklerinde ise Edirne/Meriç ilçesine bağlı Serem köyünden alınan 10 numaralı örnekte 0.019 mg/kg, Küplü beldesinden alınan 17 numaralı örnekte 0.036 mg/kg prokloraz tespit edilmiştir.

Tablo 5. Çeltikte elde edilen pestisit kalıntısı analiz sonuçları

Örnek Kodu	Örnek Alınan Yer	Tespit Edilen Pestisit	Miktar (mg/kg)	Tayin Limiti (LOQ) (mg/kg)	Kullanılan Cihaz
1		<LOQ	-	0.01	-
2		<LOQ	-	0.01	-
3	Tatarköy	Trifloksistrobin	0.076	0.01	LC-MS/MS
4		<LOQ	-	0.01	-
5		<LOQ	-	0.01	-
6		<LOQ	-	0.01	-
7		<LOQ	-	0.01	-
8		<LOQ	-	0.01	-
9		<LOQ	-	0.01	-
10	Serem	Prokloraz	0.063	0.01	GC-MS
		Epoksikonazol	0.018	0.01	LC-MS/MS
11		<LOQ	-	0.01	-
12		<LOQ	-	0.01	-
13		<LOQ	-	0.01	-
14		<LOQ	-	0.01	-
15	Umurca	Profoksidim	0.021	0.01	LC-MS/MS
16		<LOQ	-	0.01	-
17	Küplü	Prokloraz	0.095	0.01	GC-MS
		Tebukonazol	0.045	0.01	LC-MS/MS
18		<LOQ	-	0.01	-
19		<LOQ	-	0.01	-
20	Sarıcaali	Propikonazol	0.116	0.01	LC-MS/MS
		Azoksistrobin	0.094	0.01	LC-MS/MS
		Siprokonazol	0.029	0.01	LC-MS/MS
21		<LOQ	-	0.01	-
22		<LOQ	-	0.01	-
23		<LOQ	-	0.01	-
24		<LOQ	-	0.01	-
25		<LOQ	-	0.01	-

Tablo 6. Pirinçte elde edilen pestisit kalıntısı analiz sonuçları

Örnek Kodu	Örnek Alınan Yer	Tespit Edilen Pestisit	Miktar (mg/kg)	Tayin Limiti (LOQ) (mg/kg)	Kullanılan Cihaz	TGK Limiti (mg/kg)	Avrupa Birliği Limiti (mg/kg)
1		<LOQ	-	0.01	-	-	-
2		<LOQ	-	0.01	-	-	-
3	Tatarköy	Trifloksistrobin	0.023	0.01	LC-MS/MS	5.0	5.0
4		<LOQ	-	0.01	-	-	-
5		<LOQ	-	0.01	-	-	-
6		<LOQ	-	0.01	-	-	-
7		<LOQ	-	0.01	-	-	-
8		<LOQ	-	0.01	-	-	-
9		<LOQ	-	0.01	-	-	-
10	Serem	Prokloraz	0.019	0.01	GC-MS	1.0	1.0
11		<LOQ	-	0.01	-	-	-
12		<LOQ	-	0.01	-	-	-
13		<LOQ	-	0.01	-	-	-
14		<LOQ	-	0.01	-	-	-
15		<LOQ	-	0.01	-	-	-
16		<LOQ	-	0.01	-	-	-
17	Küplü	Prokloraz	0.036	0.01	GC-MS	1.0	1.0
		Tebukonazol	0.017	0.01	LC-MS/MS	1.0	1.0
18		<LOQ	-	0.01	-	-	-
19		<LOQ	-	0.01	-	-	-
20	Sarıcaali	Propikonazol	0.043	0.01	LC-MS/MS	1.5	1.5
		Azoksistrobin	0.033	0.01	LC-MS/MS	5.0	5.0
21		<LOQ	-	0.01	-	-	-
22		<LOQ	-	0.01	-	-	-
23		<LOQ	-	0.01	-	-	-
24		<LOQ	-	0.01	-	-	-
25		<LOQ	-	0.01	-	-	-

Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre, gerek çeltik gerek pirinç örneklerinde tespit ettiğimiz pestisit kalıntı miktarlarının Türk ve AB yasalarında konulan değerlerin altında kaldığı tespit edilmiştir [12, 13]. Bununla beraber çeltikte tespit ettiğimiz profoksidim etkeni, herbisit olarak darıcan ve çeltiksi darıcan yabancı otlarına karşı kullanılmaktadır. Profoksidim pestisitinin pirinç üzerindeki kavuzda kaldığı ve pirinçe geçmediği saptanmıştır. Pirinç ve çeltikte tespit edilen pestisitlere ilişkin özellikler Tablo 7'de verilmiştir. Trifloksistrobin,

prokloraz, epoksikonazol, tebukonazol, propikonazol, azoksistrobin ve siprokonazol etkenlerinin fungusit olarak çeltik yanıklığı hastalığına karşı kullanılmaktadır. Bu etkenlerden bazılarının kavuz yüzeyinden pirince geçtiği fakat bunun kavuz yüzeyine göre daha düşük seviyelerde kaldığı tespit edilmiştir. Yabancı otlara karşı kullanılan herbisitlerin, pirinç ekim mevsiminin erken evrelerinde nispeten daha yüksek, böcek ve mantar ilaçlarının ise sonraki evrelerde daha yüksek konsantrasyonlara sahip olduğu bildirilmiştir [14].

Tablo 7. Çeltik ve pirinçte tespit edilen pestisitler ve özellikleri

Tespit Edilen Pestisit Etken Maddesi	Kullanıldığı Hedef Hastalık / Zararlı	Pestisit Grubu	Tavsiye Edilen Kullanım Dozu	Son İlaçlama-Hasat Arası Önerilen Süre
Azoksistrobin	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	100 mL/da	28 gün
Siprokonazol	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	100 mL/da	56 gün
Epoksikonazol	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	200 mL/da	56 gün
Prokloraz	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	200 mL/da	56 gün
Profoksidim	Darıcan (<i>Echinochloa crus-galli</i>)	Herbisit	150 mL/da	30 gün
Profoksidim	Çeltiksi Darıcan (<i>Echinochloa oryzoides</i>)	Herbisit	150 mL/da	30 gün
Propikonazol	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	100 mL/da	56 gün
Tebukonazol	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	75 mL/da	35 gün
Trifloksistrobin	Çeltik Yanıklığı (<i>Pyricularia oryzae</i>)	Fungisit	20 g/da	35 gün

Azoksistrobin asma yaprağı, sebze ve tahıl ürünlerinde mantar hastalığı kontrolü için yaygın kullanılan ve pestisit analizlerinde limitler üzerinde tespit edilen fungusitlerinden birisidir [15, 16]. Yaygın kullanımını ve suda çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle, azoksistrobin kaçınılmaz olarak çeşitli su ortamlarına salınır ve hedef dışı türler üzerinde olumsuz etkileri olan biyolojik birikim yoluyla çeşitli organizmaların dokularına aktarılır. Kullanıldığı yerlerde su örneklerinde azoksistrobin kalıntı seviyeleri 0.01-29.70 µg/L olarak tespit edilmiş ve yarılanma ömrü yaklaşık 15.1-25.8 gün olarak bildirilmiştir [17].

Siprokonazol antibakteriyel ve bitki büyüme düzenleyicisi etkisine sahip bir tür triazol fungusittir. Genellikle yeşillik ve tahıllardaki, *Basidiomycetes*, *Ascomycetes* ve *Deuteromycetes* mantarlarının neden olduğu zararları önlemek için yaprak spreyleri şeklinde uygulanır ve suda çözünür [18]. Hemen hemen tüm triazol fungusitleri gibi, yüksek doz seviyelerinde subkronik ve kronik rahatsızlıklardan sonra kemirgenlerde karaciğer toksisitesi oluşturur [19]. Edirne'nin İpsala, Meriç ve Uzunköprü ilçelerinden toplanan 56 adet pirinç örneğinde pestisit kalıntısı üzerine yapılan bir çalışmada örneklerde 0.024-0.040 mg/kg siprokonazol tespit edilmiştir [8]. Bu değerler çeltik örneklerinde tespit ettiğimiz 0.029 mg/kg siprokonazol konsantrasyon değeriyle benzerdir. Örneklerde bu pestisitinin tespit edilmesi bu bölgelerde çeltiklerde halen çeltik yanıklığına yol açan mantar hastalıklarının devam ettiğini göstermektedir.

Epoksikonazol buğday, şeker pancarı, arpa ve yulaf ta yapraklara uygulanan yaygın bir fungusit olup, 354 gün yarılanma ömrü nedeniyle toprakta oldukça kalıcıdır. Bu nedenle, kullanıldığı yerlerde topraklardan yeraltı suyuna veya yüzey suyuna drenaj yoluyla önemli miktarlarda taşınabilir [20]. Epoksikonazolun üreme toksisitesi, gelişimsel toksisite ve hepatokarsinogenik

toksiste dahil olmak üzere çeşitli toksikolojik sonuçları olduğu kanıtlanmıştır. Gelişimsel toksisite testlerine göre, steroid hormonlarının sentezini bozma suretiyle yavrularda gelişme üzerinde engelleyici bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [21]. Bu çalışmada epoksikonazol pestisitinin sadece bir örnekte 0.018 mg/kg gibi düşük bir konsantrasyonda tespit edilmiş olması endişe verici bir durumun olmadığını, bu bölgedeki çeltik üreticilerinin bilinçlendiği ve epoksikonazolun kullanımının tercih edilmediğini göstermektedir.

Prokloraz tarımda tahıl, meyve ve sebzelerin hasat öncesi ve sonrası kullanılan bir imidazol fungusittir ve gelişimsel toksisiteye neden olan bir endokrin bozucudur [22]. Üreme organları ve ilişkili hormonlar üzerinde olumsuz etkileri olduğu ve antiandrojenik etki gösterdiği bildirilen [23] prokloraz için yasal limit 1.0 mg/kg olup, çalışmamızda sadece bir çeltik örneğinde 0.063 mg/kg ve pirinç örneğinde 0.036 mg/kg gibi düşük bir konsantrasyonda tespit edilmiş olması olumlu olarak değerlendirilmiştir.

Profoksidim pirinç tarımında, *Echinochloa crus-galli* yabancı otunun ortaya çıkmasının kontrolü için kullanılan, amino asitlerin biyosentezini inhibe eden, suda ve toprakta hızlı şekilde dağılan ancak çeltik ortamında fazla kalıcı olmayan bir herbisittir [24]. Yaptığımız çalışmada çeltik örneklerinde 0.021 mg/kg profoksidim tespit edilmiş olmasına rağmen pirinçlerde tespit edilmemiş yani profoksidimin sadece kavuzda kaldığı ve kavuz ile birlikte pirinçten uzaklaştığı belirlenmiştir.

Propikonazol diğer fungusitlere göre çeşitli su organizmalarında nispeten yüksek akut toksisite gösteren ergosterol biyosentezine müdahale eden bir triazol fungusittir [25]. Edirne'nin İpsala, Meriç ve Uzunköprü ilçelerinden toplanan pirinç örneklerinde yapılan bir çalışmada 0.018-0.030 mg/kg arasında

propikonazol tespit edilmiş olup [8], bu değer yaptığımız çalışmada pirinç örneklerinde tespit ettiğimiz 0.043 mg/kg propikonazol değerleri ile benzerdir. Buna göre bölgede benzer fungal hastalıkların ve buna karşı pestisit kullanımının devam ettiği ve incelenen çeltik örneklerinde tayin edilen 0.116 mg/kg konsantrasyonda propikonazolun önemli bir kısmının kavuzda kaldığı tespit edilmiştir.

Tebukonazol ise hormonları etkileyerek insanlar için potansiyel üreme toksisite gösteren, organizmaların endokrin dengesini bozan, oksidatif stresi uyaran, metabolizmayı değiştirip ve ağır hepatik hücre yaralanmalarına neden olan bir diğer fungusittir [26]. Tebukonazol toprakta nispeten kalıcı olup, uygulama oranına bağlı olarak yarılanma ömrü 40-170 gün arasında değişmektedir [27]. Yaptığımız çalışmada pirinç örneklerinde tayin edilen 0.017 mg/kg tebukonazol tespit edilmiş olup aynı zamanda incelenen çeltik örneklerinde tayin edilen 0.045 mg/kg konsantrasyonda tebukonazol pestisitinin bir kısmının kavuzda kalarak uzaklaştığı görülmüştür.

Son olarak trifloksistrobin, 90'lı yıllardan beri kullanımı gittikçe artan, bitkilerde mantar hastalıklarının etkin kontrolü için yaygın kullanılan, kuşlar, memeliler, arılar, diğer faydalı böcekler ve toprak solucanları için toksik olmayan ancak hedef olmayan sucul organizmalar için oldukça toksik bir kimyasaldır [16]. Bu çalışma sonucunda pirinç örneklerinde 0.023 mg/kg trifloksistrobin tespit etmiş olup, bu değer bölgede yapılan diğer bir çalışmada elde edilen 0.098-0.116 mg/kg'ın altındadır [8]. Aynı zamanda, incelenen çeltik örneklerinde tayin edilen 0.076 mg/kg trifloksistrobin pestisitinin önemli bir kısmının kavuzda kalarak uzaklaştığı tespit edilmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde yabancı otlar, mantar hastalıkları, böcek ve haşerelerden dolayı çeltik tarımında zirai ilaç kullanımı neredeyse zorunluluk haline gelmiştir. Bu yüzden elde edilen son ürün olan pirince pestisit kalıntısı bulaşması çok yüksek ihtimaldir. Ancak modern tekniklerle pestisit kalıntılarının hızlı ve sürekli şekilde tespit edilmesi mümkündür. Bu çalışma kapsamında 2018 yılında Edirne'de Meriç Nehri boyunca sulanan 25 ayrı noktadan alınan çeltik, bu çeltiklerden kavuzu uzaklaştırdıktan sonra elde edilen çeltik örneklerinde 5 noktada 9 çeşit pestisit kalıntısına rastlanmıştır. Pirinçte yapılan analizler sonucunda 4 farklı noktada 6 farklı pestisit kalıntısı tespit edilmiştir. Ancak elde edilen değerlerin, Türk Gıda Kodeksi ve AB mevzuatında ön görülen yasal limitlerin altında çıkması insan sağlığı ve çevre açısından sevindiricidir. Bununla beraber örneklerde pestisit tespit edilmiş olması, zirai ilaçları kullanan çiftçilerin son ilaçlama ile hasat arasında geçmesi gereken süreye dikkat etmemesinden veya kullanılması gereken dozdan daha fazla miktarda ilaç kullanmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bu araştırma sonuçları ayrıca, Bulgaristan sınırları içinde kalan Meriç havzasında da çeltik üretimi yapılmasından dolayı orada kullanılan pestisitlerinde su ile taşınarak Edirne boyunca Meriç nehrinden sulanan

çeltiklere bulaşma ihtimalinin çok az olduğunu da göstermiştir.

Tarımsal üretim ve özellikle çeltik üretimi yapan çiftçilerin, zirai ilaçların etkileri, bunların nasıl ve ne zaman kullanılması gerektiği konusunda bilgilendirilmesi her zaman önemli olacaktır. Bu konuda gerekli eğitimin kademeli olarak devlet kurumlarından kooperatiflere, kooperatiflerden de üreticilere aktarılması daha verimli ve hızlı bir etki sağlayacağı düşünülmektedir. Bunun için Tarım ve Orman Müdürlükleri, Ziraat Odaları ve Köy-Koop Birlikleri öncülüğünde organize edilecek eğitim ve saha çalışmaları ile çiftçilerin sahada karşılaşılabileceği sorunlar, yabancı otlar ve zararlılara karşı kullanabileceği ilaçlar, bu ilaçların doz ve kullanım önerileri gibi konularda çalışma yapılması önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için 2017/229 numaralı proje kapsamında destek sağlayan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP)'a ve laboratuvar çalışmalarında gerekli enstrümantal cihazların kullanılmasına olanak sağlayan Pılab Özel Gıda ve Yem Analiz ve Kontrol Laboratuvarı'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Anonim. (2019a). Çeltik Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Bitki%20Sa%C4%9F%C4%B1%C4%9F%C4%B1%20Hizmetleri/hastalik_zararlıları_ile_m%C3%BCcadelle_dokumanları/celtik.pdf.
- [2] Anonim. (2019b). TMO 2018 Yılı Hububat Sektör Raporu. <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/hububatsektorraporu2018.pdf>.
- [3] Çallı Altun, N. (2007). Katı-Faz Ekstraksiyon ve Gaz Kromatografik Metotlarla Gıda Örneklerinde Pestisit Analizleri. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Bursa.
- [4] Tarakçı, Ü., Türel, İ. (2009). Halk sağlığı amaçlı kullanılan pestisitlerin (Biyosidal) güvenilirlik standartlarının karşılaştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(1), 11-18s.
- [5] Şık, B., Certel, M., Yıldız, G. (2011). Pestisitler ve gıda güvenliği. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 34, 54-57s.
- [6] Şarkaya Ahat, C. (2015). Domates ve Biberde Ardışık Pestisit Uygulamasının Pestisitlerin Parçalanma Kinetiğine Olan Etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- [7] Pareja, L., Fernandez-Alba, A.R., Cesio, V., Heinzen, H. (2011). Analytical methods for pesticide residues in rice. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 30(2), 270-291.
- [8] Atabey, T. (2016). Edirne Yöresinde Üretilen Pirinçlerde Pestisit Tayini. Yüksek Lisans Tezi,

- Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- [9] TGK. (2011). Türk Gıda Kodeksi. Gıdalarda pestisit kalıntılarının resmi kontrolü için numune alma metotları tebliği. Tebliğ No: 2011/34.
- [10] AOAC. (2007). Association of Analytical Chemists. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. In Official Methods of Analysis, 2007.01.
- [11] SANTE. (2017). European Commission Directorate General For Health and Food Safety. Method validation and quality control procedures for pesticide residue analysis in food and feed, 11813/2017.
- [12] TGK. (2016). Türk Gıda Kodeksi. Pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri yönetmeliği. 25.11.2016 tarih ve 29899 sayılı Resmî Gazete.
- [13] EURL-DataPool. (2019). European Union Reference Laboratories for Residues of Pesticides. <https://www.eurl-pesticides-datapool.eu/Member/Compound>.
- [14] Añasco, N., Uno, S., Koyama, J., Matsuoka, T., Kuwahara, N. (2010). Assessment of pesticide residues in freshwater areas affected by rice paddy effluents in Southern Japan. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1-4), 371.
- [15] Bakırcı, G.T., Çınar, E., Karakaya, S. (2019). Manisa ilinden toplanan asma yapraklarında pestisit kalıntıları. *Akademik Gıda*, 17(1), 55-60.
- [16] Cao, M., Li, S., Wang, Q., Wei, P., Liu, Y., Zhu, G., Wang, M. (2015). Track of fate and primary metabolism of trifloxystrobin in rice paddy ecosystem. *Science of the Total Environment*, 518, 417-423.
- [17] Du, B., Zhang, Z., Liu, W., Ye, Y., Lu, T., Zhou, Z., Yan, L., Fu, Z., Qian, H. (2019). Acute toxicity of the fungicide azoxystrobin on the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 168, 72-79.
- [18] Zhang, H., Lu, X., Zhang, Y., Ma, X., Wang, S., Ni, Y., Chen, J. (2016). Bioaccumulation of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls by loaches living in rice paddy fields of Northeast China. *Environmental Pollution*, 216, 893-901.
- [19] Peffer, R.C., Moggs, J.G., Pastoor, T., Currie, R.A., Wright, J., Milburn, G., Waechter, F., Rusyn, I. (2007). Mouse liver effects of cyproconazole, a triazole fungicide: role of the constitutive androstane receptor. *Toxicological Sciences*, 99(1), 315-325.
- [20] Passeport, E., Benoit, P., Bergheaud, V., Coquet, Y., Tournebize, J. (2011). Epoxyconazole degradation from artificial wetland and forest buffer substrates under flooded conditions. *Chemical Engineering Journal*, 173(3), 760-765.
- [21] Wang, Y., Teng, M., Wang, D., Yan, J., Miao, J., Zhou, Z., Zhu, W. (2017). Enantioselective bioaccumulation following exposure of adult zebrafish (*Danio rerio*) to epoxyconazole and its effects on metabolomic profile as well as genes expression. *Environmental Pollution*, 229, 264-271.
- [22] Ohlsson, Å., Ullerås, E., Oskarsson, A. (2009). A biphasic effect of the fungicide prochloraz on aldosterone, but not cortisol, secretion in human adrenal H295R cells-underlying mechanisms. *Toxicology Letters*, 191(2-3), 174-180.
- [23] Vinggaard, A.M., Christiansen, S., Laier, P., Poulsen, M.E., Breinholt, V., Jarfelt, K., Jacobsen, H., Dalgard, M., Nelleman, C., Hass, U. (2005). Perinatal exposure to the fungicide prochloraz feminizes the male rat offspring. *Toxicological Sciences*, 85(2), 886-897.
- [24] Tsochatzis, E., Tzimou-Tsitouridou, R., Menkissoglu-Spiroudi, U., Karpouzas, D., Katsantonis, D. (2013). Laboratory and field dissipation of penoxsulam, tricyclazole and profoxydim in rice paddy systems. *Chemosphere*, 91(7), 1049-1057.
- [25] Pan, X., Cheng, Y., Dong, F., Liu, N., Xu, J., Liu, X., Wu, X., Zheng, Y. (2018). Stereoselective bioactivity, acute toxicity and dissipation in typical paddy soils of the chiral fungicide propiconazole. *Journal of Hazardous Materials*, 359, 194-202.
- [26] Dong, B., Yang, Y., Pang, N., Hu, J. (2018). Residue dissipation and risk assessment of tebuconazole, thiophanate-methyl and its metabolite in table grape by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 260, 66-72.
- [27] El Azhari, N., Dermou, E., Barnard, R.L., Storck, V., Tourna, M., Beguet, J., Karas, P.A., Lucini, L., Rouard, N., Botteri, L. (2018). The dissipation and microbial ecotoxicity of tebuconazole and its transformation products in soil under standard laboratory and simulated winter conditions. *Science of the Total Environment*, 637, 892-906.

Farklı Oranlarda Gam, Protein ve Emülgatör Kullanımı ve Jelatinizasyonun Pirinç Makarnası Kalitesine Etkisi

Dilek Büyükebeş¹  , Emine Elçin Emre¹ , Ahmet Kaya² 

¹Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 27310, Gaziantep,

²Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 27310, Gaziantep

Geliş Tarihi (Received): 12.07.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 18.03.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): buyukbese@gantep.edu.tr (D.Büyükebeş)

☎ 0 342 317 29 92 📠 0 342 360 10 32

ÖZ

Çölyak hastalığı, kalıcı gluten intoleransı olduğu için hastaların yeme alışkanlıklarını değiştirmesi gerekmektedir. Bu nedenle günümüzde, glutensiz makarna gibi yüksek kaliteli glutensiz ürünlere karşı talep artmıştır. Çalışmamızın amacı, hidrokolloid, emülgatör ve proteinlerin eklenmesiyle oluşan pirinç bazlı makarnanın reolojik ve tekstürel özelliklerini değerlendirmektir. Yüzde 60, 80 ve 100 jelatinize edilmiş pirinç (JP) içeren hamurlara eklenen proteinlerin ve hidrokolloidlerin etkisi, reolojik ve renk ölçümleri ile belirlenmiştir. Çalışmalarda, karboksimetil selüloz (KMS), ksantan gam (XG), guar gam (GG), karagenan gam (KG), keçiyoynuzu gamı (KBG), kazein (KZN), yumurta akı (YA) ve gliserin monostearat (GMS) kullanılmıştır. Hamurlar, hidrokolloid (%2 g/g) veya hidrokolloid+protein (farklı miktarlarda, toplam %2 g/g) karışımları ile hazırlanmıştır. Hamurların reolojik davranış çalışması; Reometre, Dinamik Mekanik Analiz (DMA) ve Tekstür Analiz cihazlarıyla yapılmıştır. Hamurun deformasyona karşı direnci ve elastikliği, sürünme-geri kazanım ve dinamik viskoelastik ölçümleriyle belirlenmiştir. Sürünme test sonuçları 4 parametrelili Burger denklemiyle modellenmiştir. Eklenen hidrokolloidler arasında en düşük sürünme komplians değerlerini XG ve KMS gamlarının gösterdiği bulunmuştur. Pirinç hamurunun elastik davranışı KZN eklendiğinde artmıştır. %100 JP hamuruna gam olarak KMS ve XG eklendiğinde geri kazanım sonuçlarının daha iyi olduğu ve en yüksek geri kazanım değerinin ise %80 JP ve KMS içeren hamur karışımının gösterdiği belirlenmiştir. Üretilen makarna örneklerine pişirme sonrası uygulanan Tekstür Profil Analizi (TPA) sonuçları %80 ve %100 JP hamuruna XG, KZN ve GMS beraber eklendiğinde yapışkanlığın azaldığı ve sertlik değerinin arttığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Pirinç, Glutensiz makarna, Reoloji, Hidrokolloid, Protein

Effect of Gum, Protein and Emulsifier Use at Different Ratios and Gelatinization on Rice Pasta Quality

ABSTRACT

Celiac disease is a permanent intolerance to gluten. So, patients need to change their eating habits. Currently, this creates a high demand for high-quality gluten-free products, such as gluten-free pasta. The objective of this work is to evaluate the effect of compositions such as hydrocolloids, emulsifier, and proteins on the rheological and textural properties of pasta based on rice at different gelatinization ratios. The effect of hydrocolloids and proteins on gluten-free formulations having 60, 80 and 100% gelatinized rice doughs were determined with rheological and color experiments. Carboxymethyl cellulose (CMC), xanthan gum (XG), guar gum (GG), carrageenan gum (CG), locust bean gum (LBG), casein (CSN), egg-white (EW) and glycerin monostearate (GM) were used. Hydrocolloid (2% w/w) or hydrocolloid+protein (in different amount, total 2% w/w) for doughs were added. The study on the rheological behavior of doughs was performed by Rheometer, Dynamic Mechanical Analyzer (DMA) and Texture Analyzer. The elasticity and resistance to the deformation of dough were determined by creep-recovery and dynamic viscoelastic

measurements, and the results were modeled by Burger equation. It was found that XG and CMC exhibited the lowest creep compliance values among the added hydrocolloids. Incorporation of casein was the elastic behavior of the rice dough. It was determined that the recovery result was better when CMC and XG were added to 100% JP dough and the dough mixture containing 80% JP and CMC showed the highest recovery value. The results of Texture Profile Analysis (TPA) applied to pasta samples after cooking showed that stickiness values decreased and hardness values increased when XG, KZN and GMS were added together to 80% and 100% JP dough.

Keywords: Rice, Gluten-free pasta, Rheology, Hydrocolloid, Protein

GİRİŞ

Makarnanın temel yapısını, irmik ve unda bulunan gluten oluşturmaktadır. Gluten içeren tahıllar arasında; yapısında depo proteini (prolamin) bulunan; buğday (gliadin), çavdar (sekalin), arpa (hordein) ve yulaf (avenin) yer almaktadır [1]. İnce bağırsak alerjisi çeşidi olan Çölyak hastalığına (gluten intoleransı veya buğday alerjisi) sahip kişilerin gluten içerikli gıdaları yemesi yasaktır. Çünkü çölyak hastaları gluten içeren gıda tükettiklerinde, bağırsaklı sistemleri ince bağırsağa zarar verir. Böylece, ince bağırsak zarında bulunan ve villi olarak adlandırılan, küçük parmak benzeri çıkıntılar kaybolur. Besinler, villi sayesinde kan dolaşımına emilirler. Villi olmazsa, bu emilim gerçekleşmeyeceğinden önemli besinlerin absorplanması olmaz [2]. Bundan dolayı, çölyak hastalığı absorpsiyon bozukluğu olarak ifade edilmektedir. Vücudun bağırsaklı sisteminde hasar olur ve çölyak hastalığı otoimmün bozukluk olarak kabul edilir. Çölyak hastalığı, ayrıca çölyak psiloz, tropikal olmayan psiloz ve gluten-duyarlı enteropati olarak bilinmektedir.

Gluten, hamura viskoelastik yapıyı veren bir proteindir [3, 4]. Gluten; glutenin ve gliadin olmak üzere iki çeşit protein içerir. Bu proteinler, su emiliminin çok önemli olduğu temel işlevleri yerine getirir. Gluteninin, gluten proteininin elastik yapısına, gliadinin de viskoz yapısına katkı sağladığı kabul edilir. İrmik içine su eklendiğinde ve hamur mekanik olarak karıştırıldığında, glutenin ve gliadin, hamurun yapısında bir tür ağ oluşturan, nişasta tanelerini yakalayan ve pişirme sırasında makarnanın polentaya dönüşmesini önleyen bir protein bileşiği olan gluteni oluşturur [5-8]. İrmikte bulunan gluten değerinin yüksekliği makarnanın kalitesini arttırmakta ve makarnanın pişme özelliklerini direkt etkilemektedir [9]. Makarnanın kalitesini ifade ederken, pişme direnci, sertliği, yapışkanlığı ve pişme suyu içerisine bıraktığı organik maddelerin salınımı gibi özellikler esas alınarak karakterize edilebilmektedir [10]. Gluten, makarna ürünlerine kuvvetli matriks sağladığından, makarnanın pişirilmesinde sırasında nişastanın fazla miktarda çözülmesini engelleyerek pişme kaybını azaltmaktadır. Aynı zamanda su tutma kapasitesi, hamura ve pişmiş makarnaya viskoelastik yapı vermesinden dolayı önemlidir. Son yıllarda glutensiz gıdalar üzerine daha çok çalışma yapılmakta olup, glutensiz ürünlerin yapısını, tekstürünü, uygulanabilirliğini ve raf ömrünü geliştirmek için, glutene alternatif olarak pirinç ve mısır unları [11, 12], pseudo tahıllardan unlar [13, 14], farklı nişastalar [15], hidrokolloidler (gamlar), süt ürünleri, farklı proteinler [2, 16], prebiyotikler ve bunların kombinasyonları kullanılmıştır [17].

Glutensiz gıda ürünlerinde en sık şekilde buğdayın yerini alan hububat çeşidi pirinçtir [18, 19]. Pirinç (*Oryza sativa*); yumuşak tadı, beyaz rengi, sindirilebilirliği ve hipoalerjenik özellikleri nedeniyle artan popülerliğe sahiptir [20, 21]. Pirinçte bulunan protein orizindir. Orizinin temel birimleri, molekül içi- ve moleküller arası-disülfid bağlarının her ikisinin de bağlanmasıyla oluşur [22]. Gluten işlevselliğinin yoksunluğu, pirinç ununun suyla karıştırılmasından elde edilen hamurda yapışkanlığa neden olmaktadır [23]. Pirinç makarnasının dokusal özelliklerini iyileştirmek için iki alternatif bulunmaktadır; kurutma sırasında pirinç ununun jelatinleşmesidir veya ekstrüde makarnanın yüzeyinin buharlaştırılmasıdır [24]. Ön jelatinleşme, fonksiyonel özelliklerin iyileştirilmesine ve ürüne şekil ve doku verilmesine yardımcı olurlar. Literatürde bazı hidrokolloidlerin hamurdaki glutenin yerini alabileceği de bildirilmiştir [19]. Süt proteinleri ve hidrokolloidler, glutenin viskoelastik özelliklerini taklit etmek için kullanılabilir ve raf ömrünü iyileştirirler [25]. Ön jelatinleştirilmiş pirinç unundan makarna yapılabilen ve bu süreç sırasında özel ekipmanlar gerekmektedir. Ancak, üretim işlemi normal makarna yapımından çokta farklı değildir. Uygun formülasyonlu hamur karışımını hazırlamak için, glutenin yerini alarak viskoelastik yapıyı tutabilecek nişastalar, hidrokolloidler, besinsel lifler, süt proteinleri, farklı tahıl ürünleri, monogliseridler gibi farklı katkı maddelerinin doğru miktarda eklenmesi gerekmektedir [26, 27]. Hidrokolloidler, nişastaların reolojik ve jelatinizasyon özelliklerini etkilemekte olup, ürünün kararlılığını arttırmak, yapısını modifiye etmek ve işlenmesini kolaylaştırmak için kullanılmıştır [25, 28-33]. Örneğin, hidroksimetil selüloz gibi gamlar ve hidrokolloidler buğday gluteni tarafından sağlanan su absorblama ve gaz tutma özelliklerini geliştirmek için kullanılmıştır [34, 35]. Ayrıca, glutensiz makarna formülasyonunda, hidrokolloidlerin hamurda lubrikant olarak ve karıştırma sırasında (özellikle nişasta granülleri) da diğer formülasyon bileşenlerinin zarar görmesini engelleyerek koruduğu gözlenmiştir [36-38]. Modifiye nişasta, XG ve KBGler kullanıldığında makarnanın duyusal ve dokusal özelliklerinin arttığı ve buğday bazlı üretilen makarna özelliklerine benzer davranış gösterdiği bulunmuştur [15]. Çünkü XG ve KBG gibi nişasta içermeyen polisakkaritler ya da hidrokolloidler önemli viskoelastik özelliklere sahip olup, makarnanın elastik yapısını oluşturmakta ve glutenin özelliklerini taklit etmek için kullanılmaktadır. XG, GG ve κ-KG'nin hamurun yapısal ve reolojik özellikleri üzerine etkilerinin belirlendiği bir çalışmada ise, genel olarak gamların ilave edilmesiyle su absorpsiyonu, hamur gelişme süresi, yoğurma tolerans indeksi, dayanıklılık, uzama kabiliyeti, jelatinizasyon sıcaklığı, viskozite ve hamurun mikro yapısı gibi özellikler artmıştır [39]. Raina

vd. [40] yaptığı çalışmada da pirinç unundan yapılan glutensiz makarnaya GG eklenmesinin makarnada sertliği arttırdığını bulmuşlardır. Diğer taraftan, makarna yapısının geliştirilmesi ve besinsel değerinin artırılması için protein eklemesi de yapılmaktadır. Örneğin, sadece yumurta proteininin eklenmesi jelleşme, köpürme ve emülsifiye edici özellikleriyle pişme kaybını azaltmış, elastik ve sert makarna yapısı oluşturarak pişme kalitesine pozitif etki sağlamıştır [41, 42]. Ayrıca, protein ile hidrokoloidlerin hidrofilik komponentleri etkileşim halinde olarak, makarnanın yapısının geliştirilmesine destek vermiştir [40]. Kazein, sütte bulunan ve birçok gıdada (örn. Erişte, çikolata, şekerleme, mayonez, dondurma) bağımsız olarak bağlayıcı bir ajan olarak kullanılan bir proteindir. Jelatinleştirilmiş nişastaların bağlayıcı kuvvetini arttıran yağlı asit mono- ve digliseritler gibi emülsiyonlaştırıcılar da kullanılmaktadır. Emülsiyonlaştırıcı (emülgatör) mono- ve digliseritler hem polar hem de apolar bağ içermeleri nedeniyle, suda ve yağda çözünen yüzey aktif maddelerdir. Pirinç ürünlerinin işlenmesini ve/veya kalitesini geliştirmek için kullanılan katkı maddelerinden biri, emülsiyonlaştırıcıdır. Emülsiyonlaştırıcıların yağlı yapısı, onların ekstrüzyon işleminde bir yağlama maddesi gibi hareket etmelerini sağlamakta, yıpranma ve aşınması azalmakta, böylece üretim kolaylaşmaktadır. Ayrıca makarna üretiminde bazı emülsiyonlaştırıcılar, daha sert yapı, daha az yapışkan yüzey ve daha iyi nişasta tutunum özelliği sağlamaktadır. Pirinç makarnasında yapılan çalışmada, az miktarda kullanılan GMS'nin amiloz ile oluşturduğu yapının, pişirme kaybında azalmayı ve pişmiş maknada ağırlık artışını desteklediği bulunmuştur [24].

Makarna yapısının istenilen formda olması için, kullanılan içerikler kadar etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. Bu sürecin takibinde reolojik çalışmalar yapmakta olup, üretimde her aşamanın değerlendirilebilmesinde destek sağlamaktadır. Reoloji, ürünlerin işlenebilirliğini, işleme koşullarını ve kalitesini etkilediği için çeşitli gıdaların üretiminde büyük önem taşımaktadır. Gıda malzemelerinin viskoelastisitesini incelemek için dinamik salınım ölçümleri, sürünme testi, stres gevşemesi gibi farklı yöntemler kullanılmıştır [43]. Yani, makarna hamurunun reolojik karakterizasyonu, içinde kullanılan malzemelerin seçiminde, ürününün optimize edilmesi, dizaynı ve geliştirilmesinde faydalı olmaktadır. Örneğin, pirinç hamuruna, YA (%0.25) ve KZN (%0.25) ilavesiyle, yapının incelenmesi sürecinde reolojik çalışmalardan faydalanıldığı belirtilmiştir [9]. Çalışma, glutensiz makarna üretim yöntemlerinin geliştirilmesi amacıyla planlanmıştır. Bu süreçte hamurun yapısında viskoelastik özelliğin kazanımını sağlamak ve ürünün pişirme sırasında dağılmasını önlemek temel amaçlardandır. Bu nedenle, pirinç bazlı karışımlara proteinler, gamlar ve emülgatör eklenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Pirinç irmikleri Beslen Makarna Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Gaziantep, Türkiye) tarafından sağlanmıştır. Çalışmalarda kullanılan ksantan gam (XG), keçiboynuzu

gamı (KBG), guar gam (GG), karagenan gam (KG), karboksimetil selüloz (KMS) gamı, kazein (KZN) ve yumurta akı (YA) proteinleri ile gliserin monostearat (GMS) emülgatörü Sigma ve Merck firmalarından temin edilmiştir.

Metot

Pirinç İrmigi

Nem ve Protein İçeriği

Yaklaşık 2 g pişmemiş pirinç irmiği öğütülerek 2 saat 105°C'lik etüvde kurutulularak nem içeriği hesaplanmıştır [44]. Pirinç irmiğinin protein içeriği ise standart Kjehldahl metoduyla bulunmuştur [45]. Kuru madde miktarı üzerinden yüzde protein miktarı hesaplanmıştır.

Jelatinizasyon

İrmik örnekleri %40 neme ulaşmaya kadar hamur mikserinde (Model 5KSM150PS, KitchenAid, Brüksel, Belçika) üzerine sıcak su püskürtülerek karıştırılmıştır. %40 nemlendirilen örnekler; (i) etüv (Nüve, Nel Elektronik A.Ş., Ankara, Türkiye) içerisinde, 80°C etüv sıcaklığında ve beherlere su konularak nem sağlanması suretiyle, (ii) etüv içerisinde sürekli buhar (80°C) üretici cihaz (rapid vaporizatör, SUTAŞ Makine San. ve Tic. Ltd. Şti.) kullanılarak, (iii) mikrodalga fırın (MD 584, Arçelik A.Ş., İstanbul, Türkiye) içerisinde 360 W güç seçilerek ve beherlere su konularak nem sağlanması suretiyle ve (iv) otoklav (Taşınabilir, Dixons Surgical Instruments, Londra, Birleşik Krallık) kullanılarak 110°C'de jelatinizasyon işlemleri yapılmıştır.

Jelatinize Pirinç İrmığının Termal Analizi

Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DTK) ölçümleri için JP ve P irmik örnekleri öğütülüp, 0.25 mm elekten geçirildikten sonra kullanılmıştır. Örneklerin nem miktarına Kızılötesi Kurutucuda (Sartorius Thermo-Control YTC, Göttingen, Almanya) bakılmıştır. Öğütülmüş numunelerden yaklaşık 10 mg DTK kaplarına tartılmış ve 1:3 oranında saf su eklenmiştir. Kaplar kapatıldıktan sonra 4°C buzdolabında bir gece bekletilmiştir. Perkin Elmer DTK 6 (Perkin Elmer Inc., Wellesley, ABD) indiyum ile kalibre ettikten sonra ölçümler yapılmıştır. Boş kap şahit olarak kullanılmıştır. Numuneler, 5°C/dk'lık ısı artırımıyla 20°C'den 140°C'ye kadar ısıtılmıştır. Isının homojen bir şekilde yayılması için azot gazı (40 ml/dk) kullanılmıştır. T_o, T_p ve T_e sıcaklıkları yazılım programıyla belirlenmiştir. Erime aralıkları (ΔT_r = T_e - T_o) hesaplanmıştır. %Jelatinizasyon derecesi Denklem 1 ile hesaplanmıştır [46]:

$$\% \text{Jelatinizasyon derecesi} = (1 - (\Delta H_t / \Delta H_s)) * 100 \quad (1)$$

T_e Bitiş sıcaklığı; T_o Başlangıç sıcaklığı; T_p Tepe sıcaklığı; T_r Erime aralığı; ΔH_s İşlenmemiş irmiğin jelatinizasyon entalpisi (J/g); ΔH_t Farklı jelatinizasyon zamanlarında irmiğin entalpisi (J/g)

Jelatinize İrmik, Gam, Protein ve Emülgatör Karışımlarının Hazırlanması

Tablo 1'de hazırlanan hamur karışımlarına eklenen gam, protein ve emülgatörün miktarları gösterilmiştir. Gam-protein karışımlarının etkisi için ise %1 gam + %1 protein (g/g) olacak oranda örneklere eklenmiştir.

Çalışmalarda XG, KBG, GG, KG ve KMS gamları ve protein olarak ise KZN ve YA kullanılmıştır. Protein ve gamlar su içerisine eklenmiştir, 50°C sabit sıcaklıkta 5 dakika sürekli karıştırılarak JP irmiklerine eklenip, hamur örnekleri hazırlanmıştır. Çalışmalar sonucunda seçilen karışımlara %1 (g/g) GMS eklenmiştir.

Tablo 1. Yüzde 60, 80 ve 100 JPLerin gam, protein ve emülgatörler ile karışım oranları (%)

Jelatinizasyon Derecesi (%)	Gam				Protein		Emülgatör		
	GG	KBG	KG	KMS	XG	KZN	YA	GMS	
60	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	
	-	2	-	-	-	-	-	-	
	-	-	2	-	-	-	-	-	
	-	-	-	2	-	-	-	-	
	-	-	-	-	2	-	-	-	
	-	-	-	-	-	2	-	-	
	-	-	-	-	-	-	2	-	
	1	-	-	-	-	1	1	-	
	-	1	-	-	-	1	-	-	
	-	-	1	-	-	1	-	-	
	-	-	-	1	-	1	-	-	
	-	-	-	-	1	-	1	-	
	-	-	-	-	-	1	1	1	
1	-	-	-	-	-	1	1		
80	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	2	-	-	-	-	-	-	
	-	-	2	-	-	-	-	-	
	-	-	-	2	-	-	-	-	
	-	-	-	-	2	-	-	-	
	-	-	-	-	-	2	-	-	
	-	1	-	-	-	1	-	-	
	-	-	1	-	-	1	-	-	
	-	-	-	1	-	1	-	-	
	-	-	-	-	1	1	-	-	
	-	-	-	1	-	1	-	1	
	-	-	-	-	1	1	-	1	
	100	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	2	-	-	-	-	-	-
-		-	2	-	-	-	-	-	
-		-	-	2	-	-	-	-	
-		-	-	-	2	-	-	-	
-		-	-	-	-	2	-	-	
-		1	-	-	-	1	-	-	
-		-	1	-	-	1	-	-	
-		-	-	1	-	1	-	-	
-		-	-	-	1	1	-	-	
-		-	-	1	-	1	-	1	
-		-	-	-	1	1	-	1	

JP: Jelatinize Pirinç, XG: ksantan gamı, KBG: keçiyoynuzu gamı, GG: guar gamı, KG: karagenan gamı, KMS: karboksimetil selüloz gamı, KZN: kazein, YA: yumurta akı, GMS: gliserin monostearat

Hamur Karışımları Hazırlama

Ölçümler için JP ve jelatinize edilmemiş pirinç (P) irmikleri kullanılmıştır. Tüm numuneler öğütülerek 425 mikronluk eleklerden geçirilmiştir. Planlanan karışımlara, %40 (g su / g toplam madde) su eklenmiştir. Karışımlar

2 dakika elde yoğrulduktan sonra laboratuvar tipi (Marcato, İtalya) erişte makinesinden geçirilerek (7 birim aralıkla başlanıp, 2 birime kadar ikişer kez hamur yoğurma kısmından geçirilmiştir) yaklaşık 2-3 mm kalınlığında hamur tabakaları reometre, DMA, tekstür ve renk ölçümleri için hazırlanmıştır.

Jelatinize Pirinç Hamurlarının Analizleri

Renk Ölçümleri

Hamur örneklerinin renk değerleri HunterLAB ColorFlex (Model A60- 1010-615, Hunter Associates Lab. Inc. Reston VA, ABD) spektrokolorimetre ile ölçülmüştür ve sonuçlar CIE 1976 L*a*b* renk biriminde gösterilmiştir. Hunter Lab renk skalasına göre L = 0 (siyah), L = 100 (beyaz), L*Parlaklık; -a (yeşillik), +a (kırmızılık), a* Kırmızılık; -b (mavilik), +b (sarılık), b*Sarılık, Sarılık İndeksi (SI) değerleri ölçülmüş ve toplam renk farklılığı (ΔE^*) ise hesaplanmıştır.

Reometre Ölçümleri

Sürünme-geri kazanım ölçümleri TCP/peltier ısıtmalı ve sıcaklık kontrollü (DC10) reometre (RheoStress1-Haake GmbH, Karlsruhe, Almanya) ve 35 mm çapında paralel-plaka sensör kullanılarak yapılmıştır. Sürünme-geri kazanım testlerinde hamur örnekleri 25°C sabit sıcaklıkta, 2 mm paralel plakalar aralığında, nem kaybını engellemek amacıyla havaya açık kısımları yağla kaplanarak 4 dakika dengeye gelmesi için bekletilmiştir. Sürünme testinde 750 Pa'lık ani bir gerilim uygulanmıştır ve sürünme deformasyonu için 4 dakika sabit tutulmuştur. Geri kazanım kısmında ise, gerilim 0 Pa'ya azaltılarak hamur 4 dakika süresince geri kazanıma bırakılmıştır.

Dinamik Mekanik Analiz Ölçümleri

Viskoelastik testler statik ve dinamik metotlarla DMA (Pyris-Diamond, PerkinElmer, ABD) ile yapılmıştır. Yaklaşık 6 mm çapında ve 2-3 mm kalınlığında kesilen hamur örnekleri kurumayı önlemek amacıyla ince filmle kaplanarak, paralel plaka sıkıştırma test aparatının alt kısmına yerleştirilmiştir. Testler 25°C'de ikişer kez tekrarlanarak ortalama değerler gösterilmiştir. Hazırlanan hamur numuneleri paralel plakalar arasına yerleştirilmiştir. Salınım testi için 50 mN ve 0.1, 0.2, 0.5, 1 ve 2 Hz frekanslar uygulanarak dinamik testler yapılmıştır. Test sırasında elastik-depolama (E'), viskoz-kayıp (E''), kompleks (E*) modülleri ve faz açısı ($\tan\delta$) değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar modül ve faz açısı değerlerinin frekansa karşı değerleriyle gösterilmiştir.

Tekstür Ölçümleri

Sürünme-geri kazanım ölçümleri, tekstür cihazıyla (TA-XT2i Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, Birleşik Krallık) yapılmıştır. Yaklaşık 6 mm çapında ve 2-3 mm kalınlığında kesilen hamur örnekleri kurumayı önlemek amacıyla ince filmle kaplanmıştır ve tekstür cihazının alt kısmına yerleştirilmiştir. Sürünme testinde 25 mm silindir (P/25 alüminyum) uç ile 2 N'luk ani bir kuvvet uygulanmıştır ve sürünme deformasyonu için 4 dakika sabit tutulmuştur. Testler 25°C'de ikişer kez tekrarlanarak ortalama değerler gösterilmiştir.

Makarna Üretimi

Reolojik ölçümler sonucunda deformasyonu az olan hamur örnekleri, tek vidalı ekstruder (PolyDrive, Haake GmbH, Karlsruhe, Almanya) ile vakum uygulanarak makarna üretiminde kullanılmıştır.

Makarna Analizleri

Pişirme Kaybı

Pişirme kaybı, pişirme sırasında makarnada suyuna geçen toplam katı madde miktarıdır. Makarna pişirildikten sonra kalan pişirme suyundan alınan örnek 105°C etüvde 2 saat kurutulurken, % pişirme kaybı hesaplanmıştır.

Tekstür Profil Analizi (TPA)

Tekstür profil analizleri, reolojik ölçümler sonucunda seçilen karışımların ekstruderde üretilerek kurutulan örneklerin pişme özelliklerinin belirlenmesi için uygulanmıştır. Örneklerde HDP/PFS ucu ile çift basamaklı sıkıştırma analizi yapılmıştır. Prob hızı, test öncesi 3 mm/s, test sırasında ve sonrasında ise 1 mm/s olarak uygulanmıştır. Elde edilen kuvvet-zaman grafiklerinden sertlik, kohezyon, esneklik, yapışkanlık, çignenebilirlik ve geri kazanım değerleri bulunmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Glutensiz makarna karışımları, pirinç irmikleri üzerine yapılan çalışmaları içermektedir. Tablo 2'de pirinç irmiklerinin başlangıç kalite değerleri verilmiştir.

Tablo 2. Pirinç irmik örneğinin başlangıç kalite değerleri

Parametre	Değer
Nem (%)	13.0
Protein (%)	7.0
Karbonhidrat (%)	79
Yağ (%)	0.6
Renk	
L*	86.6
a*	-0.6
b*	10.5
SI	19.6

Termal Analiz

Nişasta jelatinizasyonu ve erimesi gıda malzemeleri için hem doksusal hem de yapısal özellikler açısından önemlidir. Makarnanın pişme ve ekstrüzyonunun optimizasyonu için nişasta jelatinizasyonunun kinetiği bilinmelidir [47]. Nişasta, irmiğin temel bileşenlerinden birisi olup; pişmiş makarnada sertlik kısmen de olsa jelatinize olmuş nişasta özelliklerinden etkilenmektedir [48]. Jelatinizasyon sıcaklığı, nişasta tipi ve nişastanın amorf kısmının camsı hale geçiş özelliklerine bağlıdır [49]. Tablo 3'te farklı metotlarla jelatinize edilmiş pirinç irmiğinin ortalama DTK jelatinizasyon değerleri gösterilmiştir.

Tablo 3. Jelatinize edilmiş pirinç irmiğinin termal özellikleri

Metot	Zaman	T _o (°C)	T _p (°C)	T _e (°C)	ΔT _r (°C)	ΔH (J/g)	Jelatinizasyon (%)
İşlenmemiş	-	63.83	70.01	76.16	12.33	8.15	-
Etüv-80°C	1 saat	64.09	70.42	75.91	11.82	7.13	10.88
Etüv Buhar-80°C	1 saat	71.54	75.35	82.73	11.19	5.90	26.25
	2 saat	71.92	76.43	83.64	11.72	5.51	31.13
	3 saat	72.96	76.67	83.02	10.06	4.21	47.38
	5 saat	74.37	77.83	84.80	10.43	3.97	50.38
Otoklav-110°C, %40 nem	1 saat	-	-	-	-	0	100
Mikrodalga %40 nem	5 dk.	65.89	71.99	78.86	12.97	6.48	19

Kullanılan farklı metotlar incelendiğinde tepe sıcaklıkları ve jelatinizasyon sıcaklığı aralığında bazı farklılıklar görülmektedir. Kısmi jelatinizasyon, kullanılacak irmiklerin hamur hazırlama esnasında su tutma kapasitelerinin artmasını sağlamak ve hamur yapışkanlığını azaltmak amacıyla yapılır. Ayrıca jelatinizasyon, ekstrüzyon sonrası çıkan ürünün hızlı kurumasını engellemektedir. Jelatinizasyon farklı metotlar kullanılarak yapılabilmektedir. İşlenmemiş tahıl ürünleri sıcak suda veya basınçlı kaplarda ısıtılarak jelatinize edilirler. İrmik olarak işlenmiş tahıl ürünlerinin ise, önceden nemlendirilerek kapalı kaplarda sıcak buharın etkisiyle, mikrodalga ve ekstruder kullanılarak jelatinize edilmeleri mümkündür. Deneme çalışmalarında irmiklerin kısmi jelatinizasyonu için otoklav metodunun daha uygun olduğu bulunmuştur. Otoklavda jelatinize yöntemi zaman ve enerji kullanımını azaltmasından dolayı tercih edilmiştir.

Reolojik Ölçümler ve Renk Analizi

Jelatinize Pirinç Karışımları

Hamur karışımlarına uygulanan gerilim doğrusal viskoelastik bölgede seçilerek belirlenmiştir. DMA ölçümlerinde elde edilen sürünme-geri kazanım eğrileri glutensiz hamur karışımları elastik ve viskoz özelliğe sahip tipik bir viskoelastik davranışı göstermiştir [50]. Buğday hamuru ile yapılan ölçümlerde benzer sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarda da görülmüştür [51, 52]. Ölçümlere öncelikle katkısız pirinç örnekleriyle başlanarak %100, 80 ve 60 jelatinize hamurların viskoelastik davranışları belirlenmiştir. %60 jelatinize derecesinin altında, pirinç örneklerinin hamur tutma özelliğinin olmaması nedeniyle, çalışmalara seçilen bu üç jelatinize derecesi ile devam edilmiştir. DMA ölçümleri sonucunda bulunan gerilim değerleri, denklem (2) kullanılarak sürünüm kompians değerleri olarak düzenlenip Şekil 1'de gösterilmiştir. Kompians değerleri 4 elemanlı Burgers denklemi ile modellenerek, bulunan parametreler Tablo 4'te verilmiştir. Sabit gerilim altında malzemelerin sürünme davranışı Denklem 2 ile incelenmiştir:

$$J = f(t) = J_0 + J_1(1 - \exp(-t/\lambda_{ret})) + (t / \mu_0) \quad (2)$$

J Sürünme kompiansı; J₀ Ani kompians; J₁ Gecikmiş elastik kompians; λ_{ret} Kelvin geciktirme zamanı

μ₀ Serbest deşpotun Newtonian viskozitesi; t Zaman (s)

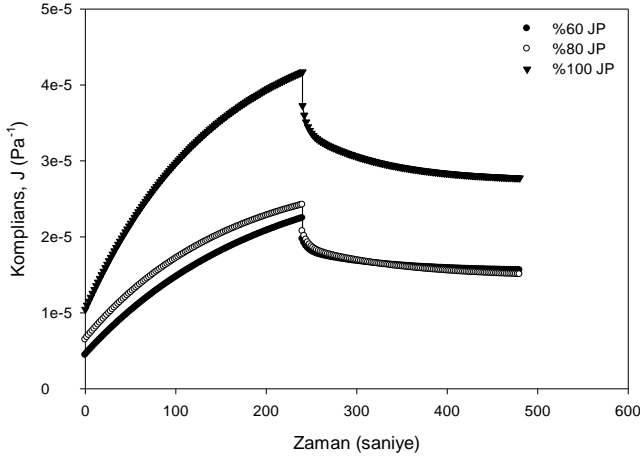
Sürünme ve geri kazanım test sonuçlarından malzemenin deformasyon miktarı veya önceki yapısını ne kadar koruduğu (enerji geri kazanımı) Denklem 3 ile bulunabilmektedir.

$$\% \text{ Geri kazanım} = [(J_M - J_R)/J_M]100 \quad (3)$$

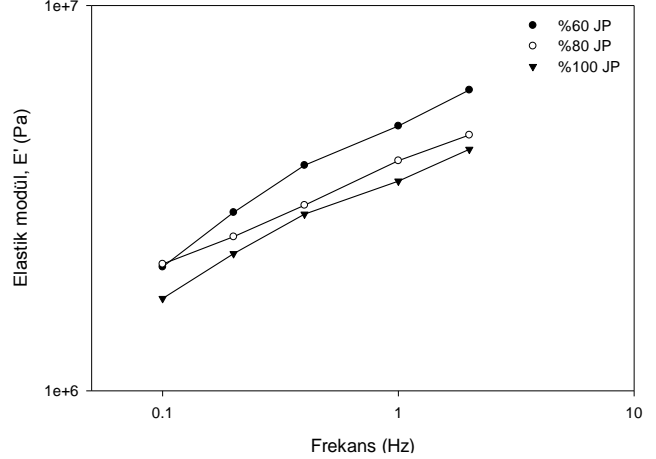
J_M Maksimum sürünme kompians değeri; J_R Minimum geri kazanım kompians değeri

Şekil 1'de farklı jelatinize derecelerine sahip katkısız pirinç hamurlarının sürünüm-geri kazanım kompians değerlerinin zamanla değişimi görülmüştür. Jelatinizasyon derecesinin artması ile hamurlar daha viskoz yapıda, esnek ve kolay deforme olabilmektedir. %60 ve 80 JPden yapılan hamurlar daha elastik bir davranışa sahiptir. Tablo 4'te ani kompians (J₀) değerleri incelendiğinde %60 JPde düşük bir kompians değeri, %80 JPde ise, bu değer daha yüksek görülmüştür. Ancak, %80 JPnin viskozite ve geri kazanım değerlerine bakıldığında daha iyi bir elastik davranış gösterdiği bulunmuştur. Geciktirme zamanı (λ) bunu doğrulamıştır [50]. Lineer elastik davranış gösteren malzemelerde λ değeri sıfıra yaklaşmıştır ve %80 JP hamurunun λ değeri diğer hamur örneklerinden düşüktür. Geciktirme zamanının artması, malzeme karışımlarında bulunan viskoz özellik veren kısımların artması ile açıklanabilmektedir. Hamur içerisinde viskoz davranışı arttıran (nişasta) kısımların fazlalığı, geciktirme zamanını uzatmaktadır. %100 JPden yapılan hamur süngerimsi bir yapıya sahip olduğundan daha fazla deforme olmaktadır. Şekil 1'de, %100 JPnin maksimum sürünme kompians değerinin (sürünme eğrisi tepe noktası) diğer hamur örneklerinden daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuç, %100 JP hamurunun daha yumuşak ve kolay deforme olduğunun göstergesidir.

Şekil 2'de DMA dinamik salınım ölçümlerinden elde edilen elastik modül (E') değerlerinin frekansla değişimi verilmektedir. %60 JPnin elastik modül değeri diğer JPlerden yüksektir. Hamur karışımlarının DMA sonuçlarından bulunan viskoz modül (E'') değerleri çalışılan frekanslarda elastik modül değerlerinden düşüktür. Benzer gözlemler birçok dinamik reolojik çalışmalarında rapor edilmiştir [53, 54].



Şekil 1. Yüzde 60, 80 ve 100 JPlerin zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)

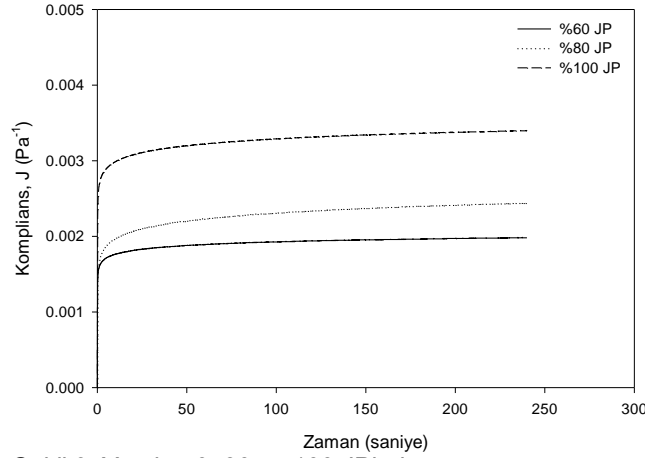


Şekil 2. Yüzde 60, 80 ve 100 JPlerin elastik modül değerlerinin frekansla değişimi (25°C)

Yüzde 60 JPnin sürünme komplians değeri diğer %80 ve %100 değerleriyle karşılaştırıldığında, elastik modül değerinin yüksek olması tekstür analiz ile yapılan sürünme komplians değerleriyle de doğrulanmaktadır (Şekil 3). Enerji sarfiyatını azaltmak ve uygun formülasyonlu hamur karışımını hazırlamak için eklenen hidrokolloid, süt proteini ve monogliserid etkisini daha iyi görebilmek için, elastik modül değeri yüksek olan %60 JP üzerine yoğunlaştırılmıştır [26, 27].

Tablo 4'te jelatinizasyon derecesinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisinde %80 JP değeri en yüksek geri kazanım göstermiştir.

Tablo 5'te jelatinizasyonun pirinç irmiklerinin renk değeri üzerine etkisi gösterilmiştir. %100 JPde L* (beyaz) değeri azalmakta ve b* (sarı) değeri artmaktadır.



Şekil 3. Yüzde 60, 80 ve 100 JPlerin zamana göre sürünme komplians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 4. Jelatinizasyon derecesinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Jelatinize pirinç	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%60 JP	3.15	6.74	41.59	1.88	34.80	0.999
%80 JP	5.29	6.99	37.04	1.91	37.19	0.998
%100 JP	8.89	15.82	50.95	1.38	34.17	0.996

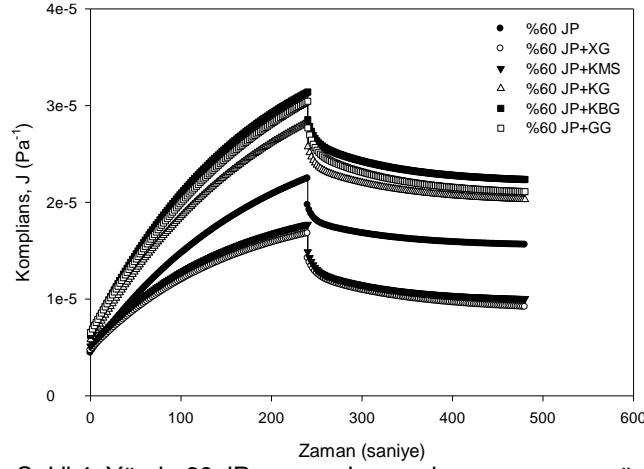
Tablo 5. Jelatinizasyon derecesinin renk değerleri üzerine etkisi

Jelatinize pirinç	L*	a*	b*	Si
Pirinç	85.67	-0.67	12.24	22.80
%60 JP	75.03	-0.88	12.38	25.32
%80 JP	71.63	-0.11	14.16	30.57
%100 JP	69.52	0.72	17.25	38.13

Yüzde 60 Jelatinize Pirinç

Yüzde 60 JP irmiğine %2 oranında gamlar ve proteinler ayrı ayrı eklenerek sürünme-geri kazanım davranışı

ölçülmüştür. Sürünme-geri kazanım kompians grafiklerine katkısız %60 JPnin sonucu eklenerek ilave edilen gamların ve proteinlerin etkileri karşılaştırılmıştır. Şekil 4 gamların etkisini göstermektedir.



Şekil 4. Yüzde 60 JP ve gam karışımlarının zamana göre kompians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 6'da 4 elemanlı Burgers model parametreleri verilmiştir. Sonuçlara göre, XG ve KMS eklendiğinde ani sürünme kompians değerleri azalmış ve hamur karışımı daha elastik bir yapı kazanmıştır. Viskozite ve λ değerleri de bu sonuçları doğrulamıştır. Buğday unundan yapılan hamurlara ağ yapısı veren ve hamura direnç sağlayan glutenin yerine, XG ve KMS, glutensiz pirinç hamuruna bu ağ yapısını kovalent olmayan bağlarla sağlamakta ve moleküller arası birleşimle polimerik bir özellik vermektedir. XGde bulunan ve molekülün yaklaşık %60'lık kısmını oluşturan yan zincirler, glutensiz hamura eklendiğinde, çapraz bağ ve karmaşık bir yapı kazandırabilmektedir [25]. Tablo 6'da verildiği üzere, geri kazanım yüzdesi bu iki gam eklendiğinde daha yüksek olmuştur. XG ve KMSnin,

nişasta karışımlarında kullanıldığında viskoziteyi artırdığı bulunmuştur [55]. KMSnin negatif yük taşımamasının sonucu olarak, su protonları (H^+) ve amiloz zincirleri bağlantı oluşturup karışımı kararlı yapıda tutmakta ve böylece KMS eklenen hamur karışımında viskozite artmıştır [56]. Eklenen gamlar arasında KG en yüksek ani ve maksimum kompians değerine sahiptir. KBG ve GG karışımları eklenildiğinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. KG, KBG ve GG, %60 JP hamurunun viskoelastik yapısını daha çok viskoz yöne kaydırmıştır. Bu sonuç, elastik özelliği yüksek olan %60 JPye daha az elastik özellikte bir gamın eklenmesiyle sistemin elastik davranışında meydana gelen azalmayla açıklanabilir. Düşük sıcaklıklarda nişasta ve KG ile hazırlanan jellerde de benzer sonuçlar görülmüştür [57].

Tablo 6. Gamların %60 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%60 JP	3.15	6.74	41.59	1.88	34.80	0.999
%60 JP+XG	2.75	4.80	37.38	2.48	45.30	0.999
%60 JP+KMS	3.19	6.29	29.05	2.38	43.25	0.989
%60 JP+KG	5.81	6.65	51.40	1.44	29.30	0.998
%60 JP+KBG	5.60	11.20	60.96	1.59	28.23	0.999
%60 JP+GG	5.53	8.51	48.10	1.43	30.72	0.995

Burgers model parametreleri, % geri kazanım ve kompians grafikleri incelendiğinde, eklenen gamların %60 JP hamuruna etkisi XG>KMS>GG>KBG>KG

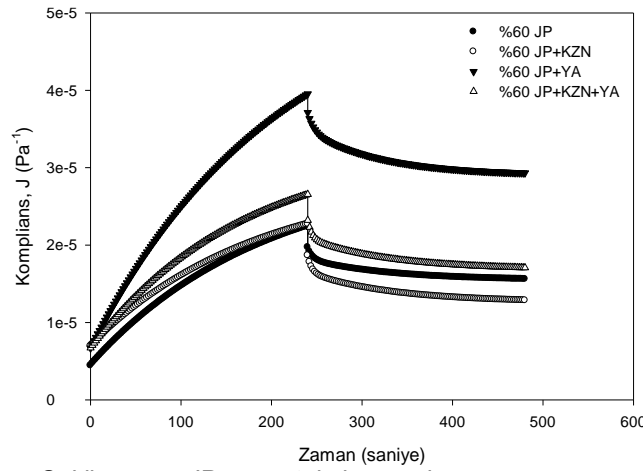
düzeninde olmuştur. XG, KMS ve KGlerin %60 JP hamur karışımlarının renk değeri üzerine etkisi olumlu yönde olmuştur ve L* değerleri artmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Gamların %60 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	SI
%60 JP	75.03	-0.88	12.38	25.32
%60 JP+XG	77.42	-0.46	12.92	26.20
%60 JP+KMS	80.19	-0.50	13.28	26.12
%60 JP+KG	76.71	-0.78	13.33	26.80
%60 JP+KBG	74.25	-0.59	13.51	28.00
%60 JP+GG	71.74	0.57	17.36	37.31

Tahıl ürünlerinde yapıyı koruyan ve elastik özelliği veren kompozisyon gluten proteindir. Nişasta ise, daha çok viskoz özelliğe karşılık gelmektedir. Glutensiz bir undan hamur yapılması kolay değildir. Öncelikle, nişasta jelatinize edilerek su tutma kapasitesi artırılmalı ve moleküller uzun zincirli bir polimer haline getirilmelidir. Ayrıca, glutenin yerini tutabilecek, bir ağ yapısı oluşturacak ve elastik özelliği arttıracak bir protein eklenmesi gerekmektedir. Farklı kaynaklı nişasta-protein karışımını bir arada tutacak, sistemi birbirine bağlayacak ve kararlı bir yapıda tutacak gamlara ihtiyaç duyulmaktadır. KZN, peynire bir ağ yapısı ve viskoelastik özellik kazandıran süt proteindir [58]. YA ise, birçok alanda kıvam verici ve bağlayıcı olarak kullanılan bir proteindir. Şekil 5 ve Tablo 8'de protein olarak %2 (g/g) oranında eklenen KZN ve YAnın, %60 JP hamuru üzerine etkisi komplians grafiği ve Burgers

model parametreleri ile verilmiştir. YA kullanıldığında, hamur yumuşak ve deforme edilebilir bir davranış göstermiştir. YA hamurunun viskoelastik özelliğini, viskoz davranış yönünde azaltmıştır. Viskozite değeri oldukça düşmüş ve hamurun % geri kazanım değeri azalmıştır. Jel yapılarıyla ilgili benzer çalışmalarda peynir altı suyu proteini yerine eklenen YAnın yapıyı zayıflattığı bilinmektedir [59]. Hamura KZN eklendiğinde, viskozite değeri çok az artış göstermesine rağmen, % geri kazanımda önemli bir artış olmuştur. KZNin etkisi, hamura esnek ve elastik bir özellik vermesi ile açıklanabilmektedir [60]. KZN ve YA (her biri %1 g/g) karışım olarak kullanıldığında, YA beklenildiği üzere viskozite ve % geri kazanım değerini azda olsa düşürmektedir. Yüzde 60 JP hamur sonuçları ile karşılaştırıldığında ise, YA ile kullanıldığında KZNin elastik etkisi biraz azalmıştır.



Şekil 5. %60 JP ve protein karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 8. Proteinlerin %60 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%60 JP	3.15	6.74	41.59	1.88	34.80	0.999
%60 JP+KZN	5.86	5.32	33.53	1.98	42.95	0.999
%60 JP+YA	6.69	11.24	67.42	1.08	26.28	0.999
%60 JP+KZN+YA	5.82	8.11	48.38	1.82	38.52	0.999

Tablo 9'da verilen renk değerleri incelendiğinde, KZNin L* değerini biraz arttırdığı ve YAnın ise azalttığı görülmüştür. YA kompozisyonunda azda olsa karbonhidratların özellikle glukozun bulunduğu

bilinmektedir [61]. L* değerinin azalması ve b* değerinin sarılığını koyulaştıracak yönde artması, glukozun karışım hazırlanırken oksidasyonundan kaynaklanmıştır.

Tablo 9. Proteinlerin %60 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	SI
%60 JP	75.03	-0.88	12.38	25.32
%60 JP+KZN	76.19	-0.84	12.88	26.02
%60 JP+YA	74.24	-0.81	14.06	28.84
%60 JP+KZN+YA	73.67	-0.97	13.01	26.79

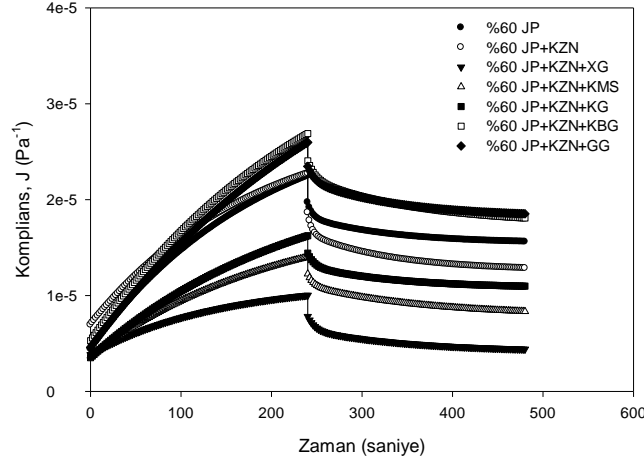
Şekil 6 ve Tablo 10'da KZN ve gam karışımları (her biri %1 g/g) beraber %60 JP hamuruna eklendiğinde viskoelastik özelliklerde meydana gelen değişimler verilmiştir. Şekil 4'te sadece gamlar kullanıldığında alınan ölçüm sonuçlarına benzer bir diziliş, Şekil 6'da da elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, KZNin etkisi ile viskozite

ve geri kazanım değerlerinin arttığı bulunmuştur. KZN ve KG beraber eklendiğinde, %60 JP hamurundan daha iyi elastik yapı gözlenmiştir. Pozitif yüklü KZN molekülleri ile negatif yüklü KG daha kararlı bir yapı meydana getirmiştir [62]. Anyonik gamlar (KG ve KMS), KZN yüzeyindeki pozitif yüklerle bağ oluşturup karışımın

viskozitesini arttırmış, yüksüz gamların (XG, GG ve KBG) ise bu mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır [63, 64].

En iyi sonuç, KZN ve XG, JP hamuruna eklendiğinde alınmıştır. XG-niştasta etkileşiminin fazla olması ve XGnin kıvam arttırıcı özelliğinin yüksek olması, XG-KZN etkileşiminden daha önemli bulunmuştur. Viskozite değeri büyük bir artış göstermiş ve % geri kazanım

önemli oranda artmıştır. Karışımında kullanılan XG önemli bir kıvam arttırıcıdır, KZN ise, karışımı bir arada tutan ve elastik özelliği iyi duruma getiren bir protein olması nedeniyle, glutensiz bir tahıl ürünü formülasyonunda beraber kullanılması son ürün özellikleri açısından olumlu bulunmuştur. Gam ve proteinlerin beraber kullanıldıklarında renk değerleri üzerine önemli bir etkileri olmamıştır (Tablo 11).



Şekil 6. %60 JP, KZN ve gam karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 10. KZN ve gam karışımlarının %60 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%60 JP	3.15	6.74	41.59	1.88	34.80	0.999
%60 JP+KZN	5.86	5.32	33.53	1.98	42.95	0.999
%60 JP+KZN+XG	3.17	3.02	35.67	5.94	54.79	0.998
%60 JP+KZN+KMS	3.77	2.05	20.53	2.85	38.74	0.998
%60 JP+KZN+KG	2.96	3.82	43.91	2.45	34.13	0.999
%60 JP+KZN+KBG	4.67	7.54	63.34	1.63	30.93	0.998
%60 JP+KZN+GG	4.59	5.28	69.37	1.46	27.28	0.999

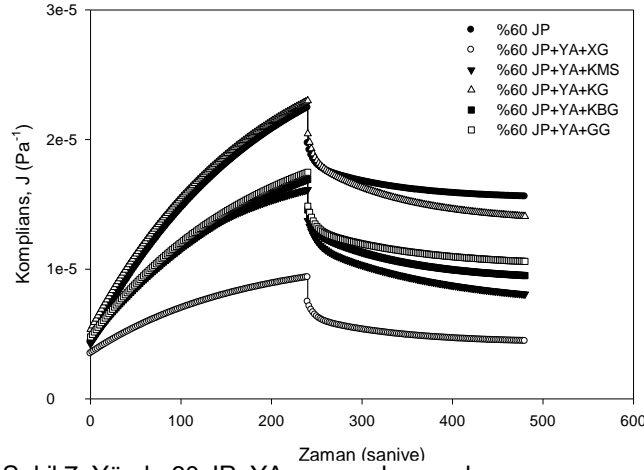
Tablo 11. KZN ve gam karışımlarının %60 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	SI
%60 JP	75.03	-0.88	12.38	25.32
%60 JP+KZN	76.19	-0.84	12.88	26.02
%60 JP+KZN+XG	78.37	-0.58	13.04	26.06
%60 JP+KZN+KMS	76.52	-0.48	13.18	26.89
%60 JP+KZN+KG	76.24	-0.48	13.87	28.25
%60 JP+KZN+KBG	74.46	-0.43	12.98	27.09
%60 JP+KZN+GG	76.16	-0.72	13.04	26.47

Çalışmalarda kullanılan YA ve gamların hamur karışımlarına olan etkileri Şekil 7'de ve Burgers model sonuçları Tablo 12'de gösterilmiştir. YAnın etkisi hemen hemen kullanılan bütün gamlarda önemli olmuştur. YA bir dolgu maddesi olarak gıda formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [65]. Çalışmalarda, YAnın gam ve niştasta karışımlarında kullanılmasıyla, sisteme bir elastik yapı kazandırdığı görülmüştür. Yumurta

karışımli bir ürün elde edilmesi sonucunda, ürünün pişirilmesi sırasında dolgu olarak bulunan YA proteinlerinin denatürasyonu ile ürünün dağılmadan yapısını koruyacağı beklenmektedir.

YA ve gam karışımlarının L* değerleri, YA'nın etkisi ile azalma göstermiştir (Tablo 13).



Şekil 7. Yüzde 60 JP, YA ve gam karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 12. YA ve gam karışımlarının %60 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%60 JP	3.15	6.74	41.59	1.88	34.80	0.999
%60 JP+YA	6.69	11.24	67.42	1.08	26.28	0.999
%60 JP+YA+XG	3.14	2.27	39.27	5.77	54.29	0.999
%60 JP+YA+KMS	3.25	6.52	44.54	3.63	49.19	0.999
%60 JP+YA+KG	4.62	6.75	49.29	1.98	39.48	0.999
%60 JP+YA+KBG	4.69	3.87	55.65	2.73	45.00	0.998
%60 JP+YA+GG	4.77	4.01	55.50	2.68	41.51	0.994

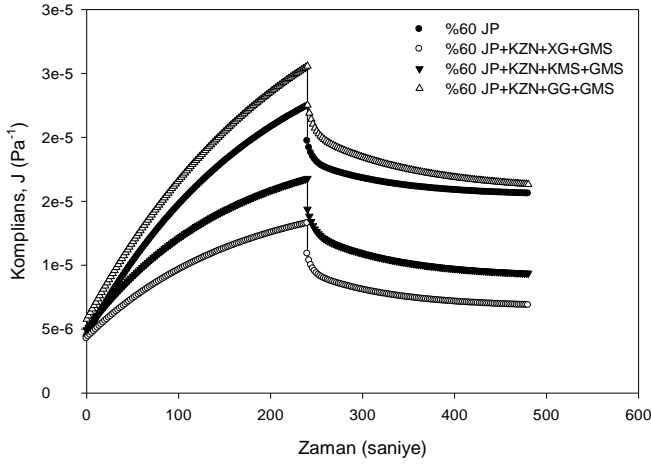
Tablo 13. YA ve gam karışımlarının %60 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	Sİ
%60 JP	75.03	-0.88	12.38	25.32
%60 JP+YA	74.24	-0.81	14.06	28.84
%60 JP+YA+XG	76.09	-0.57	13.67	27.84
%60 JP+YA+KMS	73.79	-0.77	13.95	28.79
%60 JP+YA+KG	73.63	-0.75	14.20	29.33
%60 JP+YA+KBG	73.38	-0.46	14.82	30.89
%60 JP+YA+GG	72.76	-0.70	13.66	28.58

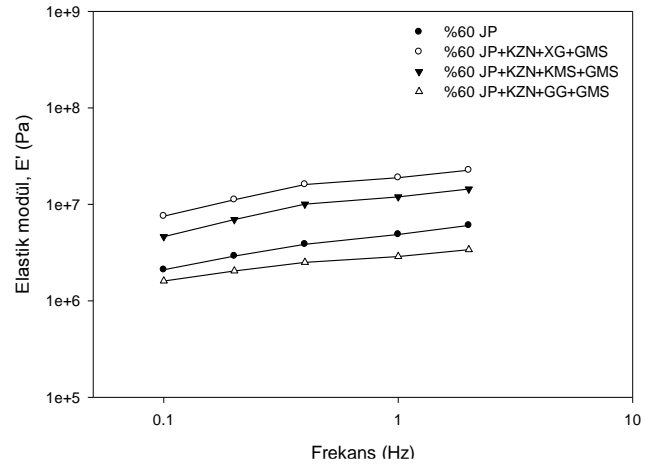
Glutensiz makarna üretiminde önemli sorunlardan biri, pişirme sırasında makarnanın dağılması ve pişirme kaybının fazla olmasıdır. Amiloz, pişirme suyuna en fazla geçen ve pişirme kaybına neden olan kısımdır. Pişirme kaybını engellemek ve daha yumuşak bir ürün elde etmek amacı ile karışımların son formülasyonlara GMS eklenmiştir (Şekil 8-10). GMS ile amiloz bir kompleks oluşturarak, amilozun su almasını geciktirmekte, ayrıca pişirme süresini uzatmaktadır [66]. GMS, yağ asitlerinin gliserin esterlerinin bir karışımı olup, hidrofilik ve hidrofobik özellikte olduğundan hem suda hem de yağda kısmen çözünmektedir. Molekülün polar kısmı sulu fazda ve apolar kısmı yağ fazında olacak şekilde, ara yüzeyde bulunmaktadır. Bu açıdan monogliseritler, ara yüzey gerilimini azaltıcı ve emülsiyonlarını kararlı hale getirici olarak hareket etmektedirler. Burada da KZN, KMS, GMS ve KZN, GG, GMS karışımlarındaki viskozitede pek fazla bir değişim gözlenmezken KZN, XG, GMS karışımında farklı olarak

viskozitesinde azalma görülmüştür. Viskoz davranışı KZN, XG, GMS ve KZN, KMS, GMS ile olan karışımlarda gecikme zamanlarındaki artışa doğru orantılı olarak artmıştır. Buna karşın, KZN, GG, GMSli karışımda bir değişiklik gözlenmemiştir. En yüksek geri kazanım sonucu, KZN, XG ve GMS JP hamurunda bulunmuştur (Tablo 14). GMSnin eklenmesi, XG-KZN etkileşimindeki geri kazanım sonucunu az da olsa düşürmüştür. Ancak, KZN, KMS, GMS ve KZN, GG, GMS değerlerinden yinede yüksek olarak bulunmuştur. Bu da XG ve KZNin, hamurun elastik özelliğini artırıcı etki gösterdiğini ve GMSnin eklenmesiyle pek fazla bu özelliğin değiştirilemediği sonucuna varılmıştır. Gam, proteinler ve yağ asitleri karışımları kullanıldıklarında renk değerleri üzerine önemli bir etkileri olmamıştır.

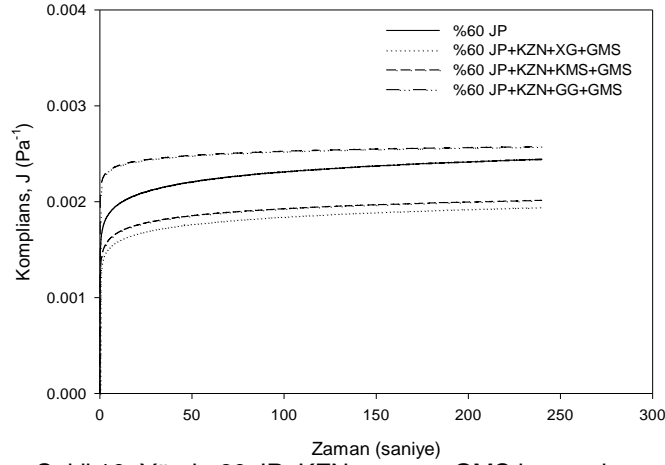
Faz açısı ($\tan\delta$) değeri (E''/E') 1'den küçüktür (sonuçlar gösterilmedi).



Şekil 8. Yüzde 60 JP, KZN, gam ve GSM karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)



Şekil 9. Yüzde 60 JP, KZN, gam ve GSM karışımlarının elastik modül değerlerinin frekansla değişimi (25°C)



Şekil 10. Yüzde 60 JP, KZN, gam ve GSM karışımlarının sürünme komplians değerlerinin zamanla değişimi (25°C)

Tablo 14. KZN, gam ve GSM karışımlarının %60 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%60 JP	3.15	6.74	41.59	1.88	34.80	0.99
%60 JP+KZN+XG+GMS	4.26	2.66	39.60	3.54	51.22	0.99
%60 JP+KZN+KMS+GMS	4.95	3.96	44.41	2.85	47.40	0.99
%60 JP+KZN+GG+GMS	5.77	6.60	66.44	1.76	38.50	0.99

Tablo 15. KZN, gam ve GSM karışımlarının %60 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	Sİ
%60 JP	75.03	-0.88	12.38	25.32
%60 JP+XG+KZN+GMS	80.66	-0.44	12.02	23.79
%60 JP+KMS+KZN+GMS	79.83	-0.44	13.21	26.14
%60 JP+GG+KZN+GMS	77.75	-0.41	13.50	27.25

Yüzde 80 ve %100 Jelatinize Pirinç

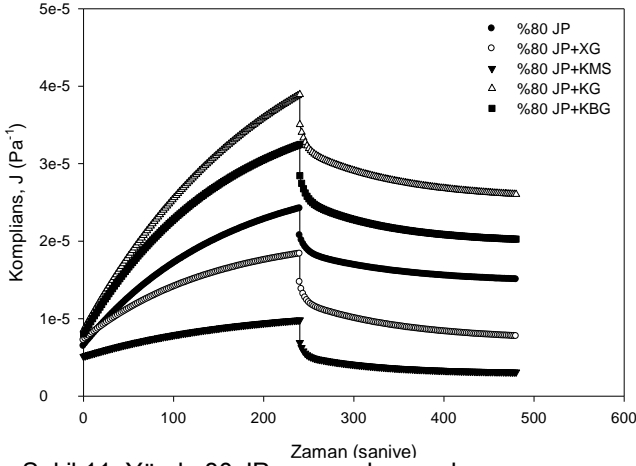
Gamların ve proteinlerin %80 ve %100 JPlerin viskoelastik özellikleri üzerine etkileri %60 JP sonuçlarına benzer bir davranıştır. Ölçümlerde, gam olarak XG, KMS ve KG, protein olarak KZN kullanılmıştır. %60 JP için yapılan çalışmalar tekrar

edilerek sonuçlar; DMA statik ölçümlerinden komplians, DMA dinamik viskoelastik ölçümlerinden elastik modül ve tekstür analiz statik ölçümlerinden ise sürünme komplians değerleri ile grafiksel olarak gösterilmiştir. Burgers model parametreleri ve renk değerleri tablo olarak verilmiştir.

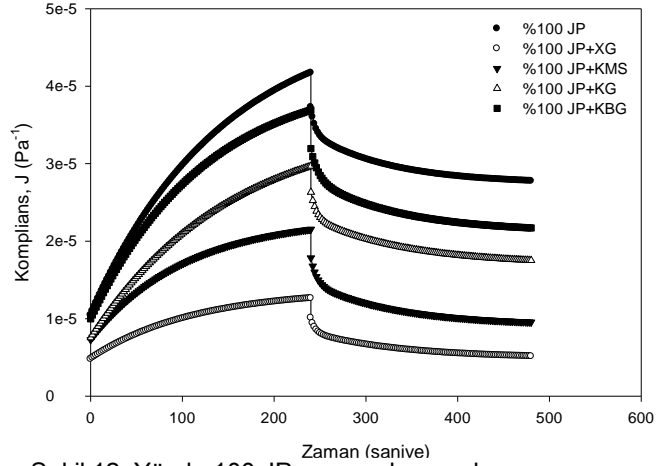
Şekil 11-12'de gamların, Şekil 13-14'te KZN-gam karışımlarının ve Şekil 15-20'de KZN-gam-GMS karışımlarının %80 ve %100 JPlerin viskoelastik davranışları üzerine etkileri gösterilmiştir. 4 parametrelili Burgers model sonuçları, sırası ile Tablo 16-17'de verilmiştir.

Yüzde 60 JP sonuçları ile karşılaştırıldığında gamların %80 ve %100 JP üzerine etkileri daha önemli olmuştur. Jelatinizasyon derecesinin artması ile daha yumuşak, sıkıştırılabilir, kolay deforme olan ve geri kazanım yüzdeleri düşük olan örneklerin, XG ve KMS

eklendiğinde geri kazanım değerleri önemli oranda artmıştır. Jelatinizasyon sonucu süngerimsi bir yapı kazanan örneklerden hamur hazırlandığında, karışım içerisinde bulunan boşluklar gamlar tarafından doldurularak yapı bir polimer özelliği göstermiştir. Tüm grafikler incelendiğinde, KZNin hamur karışımını bir arada tutma özelliği verdiğini ve gamların ise yapıda dolgu görevi gördüğünü açıklamak mümkündür. %60 JP hamur karışımları hazırlanırken duysal olarak yapı incelendiğinde, bu süngerimsi yapı görülmemiştir ve karışımın daha sert bir özelliğe sahip olduğu bulunmuştur.



Şekil 11. Yüzde 80 JP ve gam karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)



Şekil 12. Yüzde 100 JP ve gam karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 16 ve 17'de bulunan viskozite değerlerine göre KMSnin etkisi çok daha belirgin görülmüştür. Jelatinizasyon derecesinin artmasıyla, yapıda bulunan alt ünitelerin yüklü KMS ile birleşmesi yapıya daha sıkı bir özellik kazandırarak akışkanlığı azaltmış ve böylece, yapının elastik davranışı ile geri kazanım yüzdesi artmıştır. Bu durum %60 JPde görülmemiştir. Karışıma

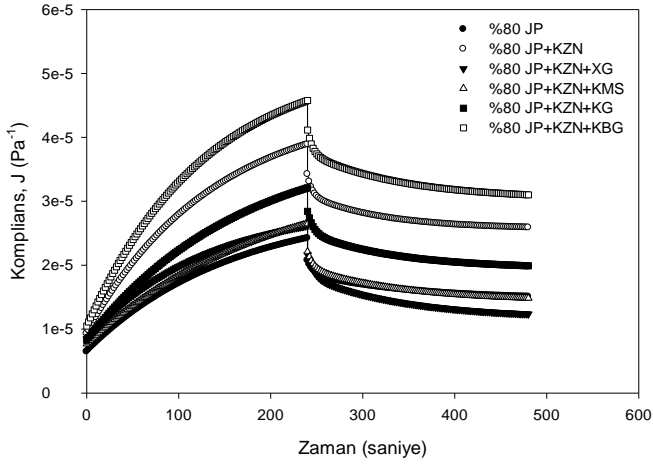
KZN eklendiğinde KMSnin etkisinin azalma eğiliminde olduğu bulunmuştur. Pozitif yüklü KZNin negatif yüklü KMS ile daha fazla etkileşimi, karışımın viskozitesini ve geri kazanım yüzdesini önemli ölçüde arttırmıştır. XGnin davranışı ise, yüksüz olması ve iyi bir kıvam verici özelliği nedeniyle beklenen ölçüde gerçekleşmiştir.

Tablo 16. Gamların %80 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

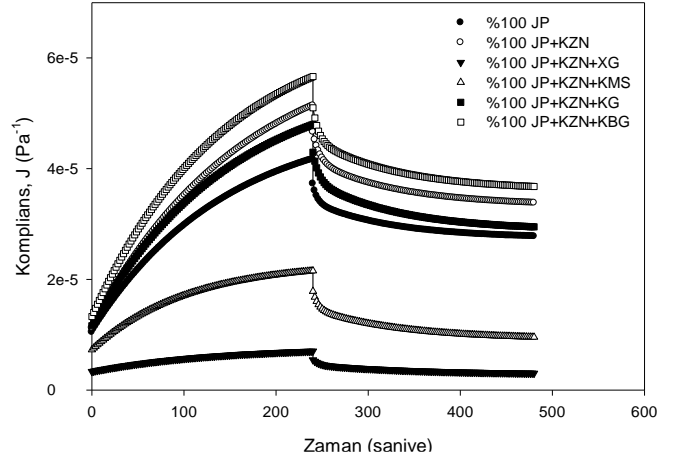
Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%80 JP	5.29	6.99	37.04	1.91	37.19	0.998
%80 JP+XG	5.12	5.61	21.03	3.05	57.56	0.992
%80 JP+KMS	4.37	1.84	17.12	6.21	66.78	0.995
%80 JP+KG	8.54	10.73	62.30	1.20	35.49	0.997
%80 JP+KMG	8.03	9.96	56.98	1.64	37.49	0.998

Tablo 17. Gamların %100 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%100 JP	8.89	15.82	50.95	1.38	34.17	0.996
%100 JP+XG	3.31	4.98	28.70	5.38	58.02	0.988
%100 JP+KMS	7.28	9.22	58.86	4.52	58.98	0.993
%100 JP+KG	7.54	10.18	60.04	1.94	40.86	0.995
%100 JP+KMG	9.98	13.10	54.94	1.61	42.50	0.998



Şekil 13. Yüzde 80 JP, KZN ve gam karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)



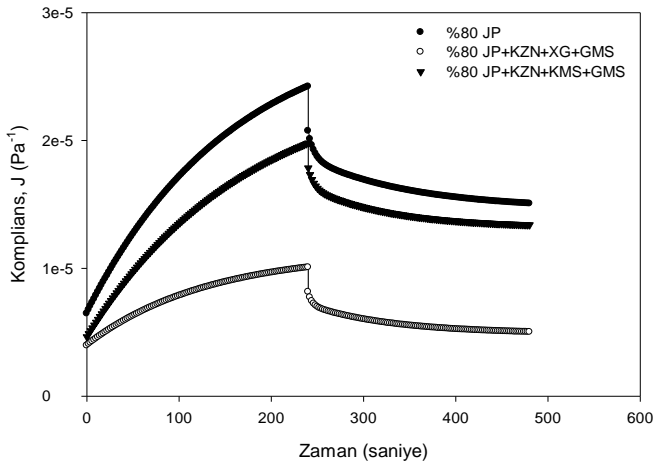
Şekil 14. Yüzde 100 JP, KZN ve gam karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)

Tablo 18. KZN ve gam karışımlarının %80 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

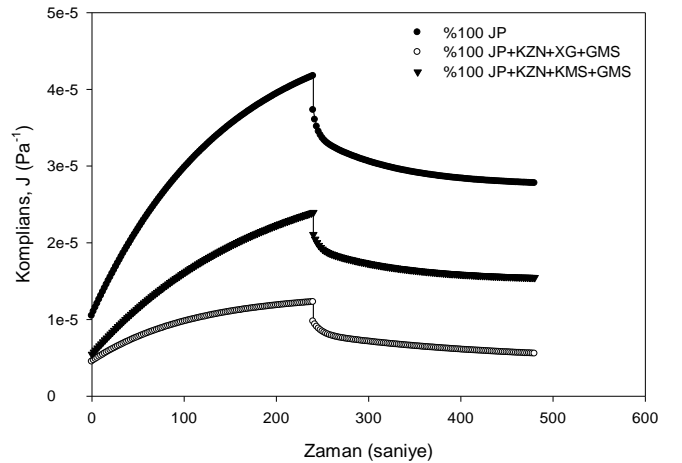
Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%80 JP	5.29	6.99	37.04	1.91	37.19	0.998
%80 JP+KZN	5.87	16.19	39.60	1.40	36.86	0.994
%80 JP+KZN+XG	5.57	9.90	28.53	2.17	54.82	0.992
%80 JP+KZN+KMS	6.91	6.73	48.66	1.80	44.78	0.999
%80 JP+KZN+KG	6.87	9.04	39.30	1.41	38.73	0.999
%80 JP+KZN+KBG	7.94	19.02	45.09	1.23	33.90	0.999

Tablo 19. KZN ve gam karışımlarının %100 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

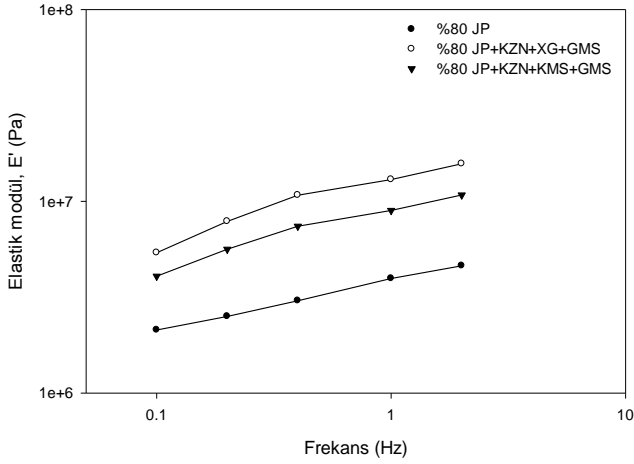
Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%100 JP	8.89	15.82	50.95	1.38	34.17	0.996
%100 JP+KZN	11.22	16.31	45.36	0.96	35.48	0.999
%100 JP+KZN+XG	3.35	1.70	51.90	11.65	54.89	0.985
%100 JP+KZN+KMS	4.86	9.37	30.38	3.17	58.98	0.993
%100 JP+KZN+KG	11.61	17.91	62.64	1.27	38.24	0.995
%100 JP+KZN+KBG	13.27	18.50	55.30	0.90	37.65	0.998



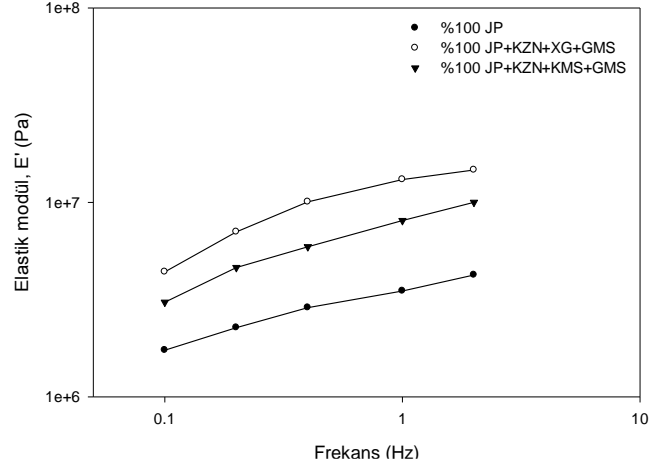
Şekil 15. Yüzde 80 JP, KZN, gam ve GMS karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)



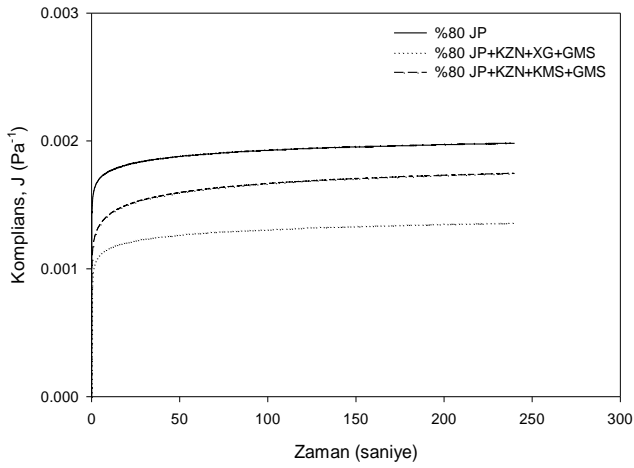
Şekil 16. Yüzde 100 JP, KZN, gam ve GMS karışımlarının zamana göre komplians değerleri değişimi (25°C)



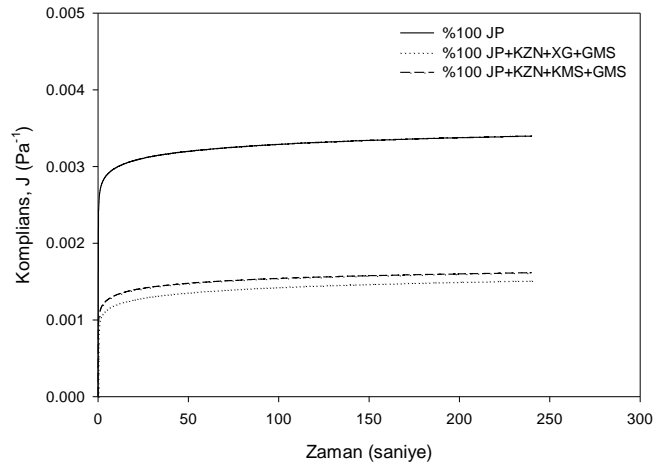
Şekil 17. Yüzde 80 JP, KZN, gam ve GMS karışımlarının elastik modül değerlerinin frekansla değişimi (25°C)



Şekil 18. Yüzde 100 JP, KZN, gam ve GMS karışımlarının elastik modül değerlerinin frekansla değişimi (25°C)



Şekil 19. Yüzde 80 JP, KZN, gam ve GMS karışımlarının sürünme komplians değerlerinin zamanla değişimi (25°C)



Şekil 20. Yüzde 100 JP, KZN, gam ve GMS karışımlarının sürünme komplians değerlerinin zamanla değişimi (25°C)

Tan δ ($= E''/E'$), 0 ile 1 arasında değer alır. Küçük tan δ değerleri hamurların daha sert ve katı olduğunu gösterirken, 1'e doğru yaklaşırken daha nemli ve gevşek olan yapılar karışımıza çıkar. Burada da %100 JP değeri

1'e daha yakın bir değer gösterir. Ancak yapı itibariyle sertliği en fazla olan yapı %80 JP olup XG, KZN ve GMS'nin eklenmesiyle yapı ideal halini almıştır (Tablo 20-21).

Tablo 20. KZN, gam ve GMS karışımlarının %80 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%80 JP	5.29	6.99	37.04	1.91	37.19	0.998
%80 JP+KZN+XG+GMS	2.95	3.25	26.03	5.99	51.76	0.994
%80 JP+KZN+KMS+GMS	3.43	4.63	24.69	1.94	32.07	0.998

Tablo 21. KZN, gam ve GMS karışımlarının %100 JP örneklerinin sürünme-geri kazanım parametreleri üzerine etkisi

Karışım	$J_0 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	$J_1 \times 10^6$ (Pa ⁻¹)	λ (s)	$\eta_0 \times 10^{-7}$ (Pa.s)	Geri kazanım (%)	R ²
%100 JP	8.89	15.82	50.95	1.38	34.17	0.996
%100 JP+KZN+XG+GMS	3.82	4.03	33.58	5.02	56.76	0.997
%100 JP+KZN+KMS+GMS	5.46	7.08	64.20	2.01	34.75	0.999

Tablo 22 ve 23'te KZN, gam ve GMS karışımlarının, %80 ve %100 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi gösterilmiştir. Gam, protein ve emülgatörün

beraber kullanıldıklarında renk değerleri üzerine önemli bir etkileri olmamıştır.

Tablo 22. KZN, gam ve GMS karışımlarının %80 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	SI
%80 JP	71.63	-0.11	14.16	30.57
%80 JP+XG	74.81	0.36	15.93	33.41
%80 JP+KMS	74.25	-0.28	14.58	30.17
%80 JP+KG	76.97	0.08	14.68	30.15
%80 JP+KZN	74.91	-0.19	15.07	31.20
%80 JP+KZN+XG+GMS	74.77	-0.26	14.62	30.33
%80 JP+KZN+KMS+GMS	72.81	0.29	15.42	33.06

Tablo 23. KZN, gam ve GMS karışımlarının %100 JP örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

Karışım	L*	a*	b*	SI
%100 JP	71.63	-0.11	14.16	30.57
%100 JP+XG	71.72	0.90	16.83	36.74
%100 JP+KMS	69.60	0.06	15.93	34.84
%100 JP+KG	69.52	0.60	16.59	36.75
%100 JP+KZN	69.45	0.02	15.77	34.56
%100 JP+KZN+XG+GMS	71.21	0.21	17.31	37.04
%100 JP+KZN+KMS+GMS	70.94	0.04	16.72	35.86

Glutensiz Ürünlerin Tekstür Profil Analizi (TPA)

Makarnanın pişme kalitesini belirlemede en önemli kıstas dokusal özelliklerdir. Pişmiş makarna yenilirken yapışkan olmamalı ve ısırdığı zaman ağızda hafif sertlik hissini vermelidir. Duyusal testler, dokusal özellikleri belirlemede etkili olsa da hem çok zaman alması hem de maliyetli olmasından dolayı mekanik testler tercih edilir. TPA eğrisinden, sertlik ve yapışkanlık belirlenmiştir. Pişmiş makarnada, sertlik ve yapışkanlık en önemli dokusal parametrelerdir. Yapışkanlık, yüzey özelliklerine, sertlikse yapısal özelliklere bağlıdır. Başlangıçta her spagetti tipi içinde yapışkanlık değerleri fazla olmuştur. Su difüzyonu dıştan içeriye doğru olduğundan nişastanın yüzeye çıkması pişme sürecinin başlarında daha kolay olmuştur. Protein miktarı ve kalitesi spagettinin pişme kalitesini etkileyen en önemli iki faktördür. Bunu şu şekilde açıklayabiliriz; öncelikle ince bir protein tabakası spagetti parçalarının yüzeyini kaplamıştır. Sonra, pişme bölgesinde (nişasta jelatinizasyonu) iç yapı, protein ağıyla kaplanmış nişastadan oluşmuştur. Ürünlerin 12 dakika pişirme süresinin sonunda tekstür analiz cihazı ile dokusal

özellikleri çift basamaklı sıkıştırma testi metodu kullanılarak bulunmuştur (Tablo 24). Jelatinizasyon derecesinin artması ile doğru orantılı olarak ürünlerin sertlik değerlerinin arttığı ve XG kullanıldığında yapışkanlık değerlerinin azaldığı görülmüştür. KMS katkılı ürünlerde görülen yüksek yapışkanlık bu gaminin özelliğinden kaynaklanmıştır.

YA katkılı olarak üretilen ürün ise, yapışkanlık olarak yüksek ve sertlik olarak diğer ürünler içerisinde daha yumuşak bir sonuç vermiştir. Tablo 25'te ürünlerin 12 dakikalık pişirme süresi sonucunda suya geçen katı madde miktarı verilmiştir. Sert buğday irmiğinden yapılan çalışmalarda elde edilen pişirme kaybı ile karşılaştırıldığında, glutensiz ürünlerin pişirme kaybı daha fazladır [67]. TPA özellikleri diğer karışımlar ile karşılaştırıldığında, %100 JPnin KZN, XG ve GMS ile olan karışımından elde edilen makarnada, yapışkanlığın azaldığı ve sertlik değerinin arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, XG ve GMSnin karışımıyla elde edilen pirinç makarnasında, sinerjik etki gösterdiği önceden yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir [68].

Tablo 24. Yüzde 60, 80 ve 100 JP, protein, gam ve GMS karışimli ürünlerin TPA parametreleri

Ürün	Sertlik (N)	Yapışkanlık (N)	Esneklik	Çiğneme	Geri kazanım
% 60 JP+YA+XG+GMS	18.52	1.76	0.90	14.90	0.67
% 60 JP+KZN+XG+GMS	21.28	1.18	0.85	17.78	0.63
% 60 JP+KZN+KMS+GMS	20.55	1.23	0.94	15.33	0.65
% 80 JP+KZN+XG+GMS	23.39	0.69	0.95	15.95	0.63
% 80 JP+KZN+KMS+GMS	22.97	1.07	0.93	15.86	0.58
%100 JP+KZN+XG+GMS	26.34	0.58	0.88	18.41	0.65
%100 JP+KZN+KMS+GMS	24.96	1.36	0.94	17.93	0.62

Tablo 25. Yüzde 60, 80 ve 100 JP, protein, gam ve GMS karışımı ürünlerin pişirme sırasında suya geçen madde miktarı

Ürün	Pişirme kaybı (g kuru madde/100 g makarna)
%60 JP+YA+XG+GMS	8.42
%60 JP+KZN+XG+GMS	9.56
%60 JP+KZN+KMS+GMS	9.73
%80 JP+KZN+XG+GMS	9.52
%80 JP+KZN+KMS+GMS	10.86
%100 JP+KZN+XG+GMS	10.08
%100 JP+KZN+KMS+GMS	10.64

Glutensiz Ürünlerin Renk Değerleri

Tablo 26'da tek vidalı ekstruderde üretilen glutensiz pirinç spagettilerinin renk değerleri verilmiştir. XG ve KMSli pirinçlerin beyazlık değerleri jelatinize değerleri

artıkça azalmaktayken, kırmızılık ve sarılık değerleri artış göstermektedir. Renk değerlerindeki toplam renk farklılığında da gamların etkisinden daha çok jelatinize yüzdelerinin etkisi olup, bu oran artıkça renk farklılığı da artmıştır.

Tablo 26. Yüzde 60, 80 ve 100 JP, protein, gam ve GMS karışımı ürünlerin renk değerleri

Ürün	L*	a*	b*	ΔE*
%60 JP+YA+XG+GMS	77.73	-0.23	13.29	19.44
%60 JP+KZN+XG+GMS	80.66	-0.44	12.02	16.36
%60 JP+KZN+KMS+GMS	79.83	-0.44	13.21	17.77
%80 JP+KZN+XG+GMS	74.77	-0.26	14.62	22.60
%80 JP+KZN+KMS+GMS	72.81	0.29	15.42	24.68
%100 JP+KZN+XG+GMS	71.21	0.21	17.31	27.08
%100 JP+KZN+KMS+GMS	70.94	0.04	16.72	26.95

SONUÇ

Pirinçin mekanik olarak malzeme davranışlarının jelatinizasyonla ve protein-gam-GMS karışımları eklenmesiyle değişimi çalışılmıştır. Yapılan ölçümler değerlendirildiğinde bulunan sonuçlara göre; pirinçin nem alma özelliği jelatinizasyonla artmıştır. %80 ve %100 JP hamurlarına KMS ve XG eklendiğinde geri kazanım değerlerinin daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Jelatinize olmuş yapılarda, protein olarak KZNin YA proteininden daha iyi su bağladığını ve kendi arasında daha iyi disülfid bağı yaptığını, böylece pişme sırasında daha kısa süre gerektiği duyuşsal olarak belirlenmiştir. KZN eklendiğinde, hamur karışımının rengi, YAya göre daha açık olmuştur ve kırmızılık, sarılık değerleri azalmıştır. Gam olarak XG ve KMS kullanıldığında üretilmek istenilen makarnaya daha yakın bir yapı ortaya çıkmıştır. Jelatinizasyon işlemi ve hamur karışımına, protein, nişasta, gam (XG ve KMS) ve GMS eklenmesi ürünün elastik davranışını, yapışkanlık ve pişme kaybı özelliklerini olumlu olarak etkilemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Hall, N.J., Rubin, G., Charnock, A. (2009). Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacology Therapeutics*, 30(4), 315-330.
- [2] Mirhosseini, H., Rashid, N.F.A., Amid, B.T., Cheong, K.W., Kazemi, M. Zulkurnain, M. (2015). Effect of partial replacement of corn flour with durian seed flour and pumpkin flour on cooking yield, texture properties, and sensory attributes of

- gluten free pasta. *Lwt-Food Science and Technology*, 63(1), 184-190.
- [3] Attenburrow, G., Barnes, D.J., Davies, A.P., Ingman, S.J. (1990). Rheological properties of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 12(1-14).
- [4] Hibberd, G.E., Parker, N.S., (1975). Measurement of the fundamental rheological properties of wheat-flour doughs. *Cereal Chemistry*, 52, 1-23.
- [5] Mills, E.N.C., Burgess, S.R., Tahtam, A.S., Shewry, P.R., Chan, H.W.S., Morgan, M.R.A. (1990). Characterization of a panel of monoclonal anti-gliadin antibodies. *Journal of Cereal Science*, 11, 89-101.
- [6] Matsuo, R.R., Irvine, G.N. (1970). Effect of gluten on the cooking properties of spaghetti. *Cereal Chemistry*, 47, 173-180.
- [7] Ciaffi, M., Tozzi, L., Lafiandra, D. (1996). Relationship between flour protein composition determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography and dough rheological parameters. *Cereal Chemistry*, 73, 346-351.
- [8] Wall, J.S. (1979). Recent advances in biochemistry of cereals. Academic Press, London.
- [9] Sozer, N. (2009). Rheological properties of rice pasta dough supplemented with proteins and gums. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 849-855.
- [10] Mariotti, M., Iametti, S., Cappa, C., Rasmussen, P., Lucisano, M. (2011). Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: Evaluation of the uncooked products. *Journal of Cereal Science*, 53(3), 319-327.
- [11] Larrosa, V., Lorenzo, G., Zaritzky, N.E., Califano, A. (2012). Effect of the addition of proteins and hydrocolloids on the water mobility in gluten-free pasta formulations. *Water Journal*, 4, 1-17.

- [12] Arendt, E.K., Morrissey, A., Moore, M. M., Dal Bello, F. (2008). Gluten-free cereal products and beverages. Ireland Academic Press.
- [13] Chillo, S., Laverse, J., Falcone, P. M., Del Nobile, M. A. (2008). Quality of spaghetti in base amaranthus wholemeal flour added with quinoa, broad bean and chick pea. *Journal of Food Engineering*, 84(1), 101-107.
- [14] Fiorda, F.A., Soares, M.S., da Silva, F.A., Grosman, M.V.E., Souto, L.R.F. (2013). Microstructure, texture and colour of gluten-free pasta made with amaranth flour, cassava starch and cassava bagasse. *Lwt-Food Science and Technology*, 54(1), 132-138.
- [15] Huang, J.C., Knight, S., Goad, C. (2001). Model prediction for sensory attributes of nongluten pasta. *Journal of Food Quality*, 24(6), 495-511.
- [16] Marti, A., Barbiroli, A., Marengo, M., Fongaro, L., lametti, S., Pagani, M.A. (2014). Structuring and texturing gluten-free pasta: egg albumen or whey proteins? *European Food Research and Technology*, 238(2), 217-224.
- [17] Cureton, P., Fasano, A. (2009). The increasing incidence of celiac disease and the range of gluten-free products in the market place. *Gluten Free Food Science and Technology*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- [18] Eliasson, A., Larsson, K. (1993). In *Cereals in breadmaking*. Newyork: Marcel Dekker.
- [19] Sivaramakrishnan, H.P., Senge, B., Chattopadhyay, P.K. (2004). Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food Engineering*, 62(1), 37-45.
- [20] Rosell, C.M., Collar, C., Haros, M. (2007). Assessment of hydrocolloid effects on the thermo-mechanical properties of wheat using the Mixolab. *Food Hydrocolloids*, 21(3), 452-462.
- [21] Marco, C., Rosell, C.M. (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1205-1213.
- [22] Lyon, B.G., Champagne, E.T., Vinyard, B.T., Windham, W.R., Barton, F.E., Webb, B.D., McClung, A.M., Moldenhauer, K.A., Linscombe, S., McKenzie, K.S., Kohlwey, D.E. (1999). Effects of degree of milling, drying condition, and final moisture content on sensory texture of cooked rice. *Cereal Chemistry*, 76(1), 56-62.
- [23] Heo, S., Jeon, S., Lee, S. (2014). Utilization of *Lentinus edodes* mushroom β -glucan to enhance the functional properties of gluten-free rice noodles. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 627-631.
- [24] Lai, H.M. (2002). Effects of rice properties and emulsifiers on the quality of rice pasta. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(2), 203-216.
- [25] Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1033-1047.
- [26] Cunin, C. (1999). Xanthan gum-a food stabiliser of choice. *Innovations in Food Technology*, 5, 13-15.
- [27] Larrosa, V., Lorenzo, G., Zaritzky, N., Califano, A. (2016). Improvement of the texture and quality of cooked gluten-free pasta. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 96-103.
- [28] Chaisawang, M., Suphantharika, M. (2005). Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological properties of cationic tapioca starch. *Carbohydrate Polymers*, 61(3), 288-295.
- [29] Kim, C., Yoo, B. (2006). Rheological properties of rice starch-xanthan gum mixtures. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 120-128.
- [30] Mandala, I.G., Savvas, T.P., Kostaropoulos, A.E. (2004). Xanthan and locust bean gum influence on the rheology and structure of a white model-sauce. *Journal of Food Engineering*, 64(3), 335-342.
- [31] Nussinovitch, A., (1997). *Hydrocolloid Applications*. ed. G.T.i.t.F.a.O. Industries. London: Blackie Academic & Professional.
- [32] Kulicke, W.M., Eidam, D., Kath, F., Kix, M., Kull, A.H. (1996). *Hydrocolloids and rheology: Regulation of visco-elastic characteristics of waxy rice starch in mixtures with galactomannans*. *Starch-Starke*, 48(3), 105-114.
- [33] Rosell, C.M., Rojas, J.A., de Barber, C.B. (2001). Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*, 15(1), 75-81.
- [34] Ylimaki, G., Hawrysh, Z.J., Hardin, R.T., Thomson, A.B.R. (1991). Response-Surface methodology in the development of rice flour yeast breads - sensory evaluation. *Journal of Food Science*, 56(3), 751.
- [35] Cato, L., Rafael, L.G.B., Gan, J., Small, D.M. (2002). *The use of rice flour and hydrocolloid gums for gluten-free breads*, in *Proceedings of The 51st Australian Cereal Chemistry Conference*, 304-308p.
- [36] Alamprese, C., Casiraghi, E., Pagani, M. (2007). Development of gluten-free fresh egg pasta analogues containing buckwheat. *European Food Research and Technology*, 225 (2), 205-213.
- [37] Alamprese, C., Casiraghi, E., Rossi, M. (2009). Modeling of fresh egg pasta characteristics for egg content and albumen to yolk ratio. *Journal of Food Engineering*, 93, 302-307.
- [38] Yu, L.J., Ngadi, M.O. (2004). Textural and other quality properties of instant fried noodles as affected by some ingredients. *Cereal Chemistry*, 81(6), 772-776.
- [39] Lee, J.M., Lee, M.K., Lee, S.K., Cho, N.J., Cha, W.J., Park, J.K. (2000). Effect of gums on the characteristics of the dough in making frozen dough. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 32, 604-609.
- [40] Raina, C.S., Singh, S., Bawa, A.S., Saxena, D.C. (2005). Textural characteristics of pasta made from rice flour supplemented with proteins and hydrocolloids. *Journal of Texture Studies*, 36(4), 402-420.
- [41] Matsuo, R.R., Bradley, J.W., Irvine, G.N. (1972). Effect of protein content on the cooking quality of spaghetti. *Cereal Chemistry*, 49, 707-777.
- [42] Plancken van der, I., Loey van, A., Hendrickx, M.E. (2005). Combined effect of high pressure and

- temperature on selected properties of egg white proteins. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 11-20.
- [43] Chuang, G.C., Yeh, A. (2006). Rheological characteristics and texture attributes of glutinous rice cakes (mochi). *Journal of Food Engineering*, 74, 314–323.
- [44] AOAC, *Official Methods of Analysis: Official Method for Moisture. Method No. 925.10. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.* 1995.
- [45] Malcolmson, L.J., Matsuo, R.R. (1993). Effects of Cooking Water Composition on Stickiness and Cooking Loss of Spaghetti. *Cereal Chemistry*, 70(3), 272-275.
- [46] Ndife, M., Sumnu, G., Bayındırlı, L. (1998). Differential scanning calorimetry determination of gelatinization rates in different starches due to microwave heating. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 484-488.
- [47] Spigno, G., De Faveri, D.M. (2004). Gelatinization kinetics of rice starch studied by non-isothermal calorimetric technique: influence of extraction method, water concentration and heating rate. *Journal of Food Engineering*, 62(4), 337-344.
- [48] Dexter, J.E., Matsuo, R.R. (1979). Effect of starch on pasta dough rheology and spaghetti cooking quality. *Cereal Chemistry*, 56(3), 190-195.
- [49] Eerlingen, R.C., Delcour, J.A. (1995). Formation, Analysis, Structure and Properties of Type-III Enzyme Resistant Starch. *Journal of Cereal Science*, 22(2), 129-138.
- [50] Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering* (2nd edition). Freeman Press, East Lansing, MI, USA.
- [51] Edwards, N.M., Dexter, J.E., Scanlon, M.G., Cenkowski, S. (1999). Relationship of creep-recovery and dynamic oscillatory measurements to durum wheat physical dough properties. *Cereal Chemistry*, 76(5), 638-645.
- [52] Wang, F.C., Sun, X.S. (2002). Creep-recovery of wheat flour doughs and relationship to other physical dough tests and breadmaking performance. *Cereal Chemistry* 79(4), 567-571.
- [53] Dobraszczyk, B.J., Morgenstern, M. (2003). Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 229-245.
- [54] Weipert, D. (1990). The Benefits of Basic Rheometry in Studying Dough Rheology. *Cereal Chemistry*, 67, 311-317.
- [55] Mandala, I.G., Bayas, E. (2004). Xanthan effect on swelling, solubility and viscosity of wheat starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, 18(2), 191-201.
- [56] Keller, J.D. (1982). Sodium Carboxymethylcellulose (CMC). In *Food Hydrocolloids*, ed. M. G. Vol. 3. CRC Press, Inc: Florida. 43-104p.
- [57] Chaudemanche, C., Budtova, T. (2008). Mixtures of pregelatinised maize starch and -carrageenan: Compatibility, rheology and gelation. *Carbohydrate Polymers*, 72, 579–589.
- [58] Jack, F.R., Paterson, A. (1992). Texture of hard cheeses. *Trends in Food Science & Technology*, 3, 160-164.
- [59] Yang, H., Irudayaraj, J., Otgonchimeg, S., Walsh, M. (2004). Rheological study of starch and dairy ingredient-based food systems. *Food Chemistry*, 86(4), 571-578.
- [60] Chan, P.S., Chen, J., Ettelaie, R., Law, Z., Aleviopoulos, S., Day, E., Smith, S. (2007). Study of the shear and extensional rheology of casein, waxy maize starch and their mixtures. *Food Hydrocolloids*, 21, 716-725.
- [61] Stadelman, W.J., Olson, V.M., Shemwell, G.A., Posch, S. (1988). *Egg and Poultry Meat Processing*: Ellis Harword Ltd. Chiester, England.
- [62] Spagnuolo, P.A., Dagleish, D.G., Goff, H.D., Morris, E.R. (2005). Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 19, 371-377.
- [63] Everett, D.W., McLeod, R.E. (2005). Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 15(11), 1175-1183.
- [64] Hemar, Y., Tamehana, M., Munro, P.A., Singh, H. (2001). Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6), 565-574.
- [65] Mavrakis, C., Kiosseoglou, V. (2008). The structural characteristics and mechanical properties of biopolymer/mastic gum micro-sized particles composites. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 854-861.
- [66] Kaur, L., Singh, J., Singh, N. (2005). Effect of glycerol monostearate on the physico-chemical, thermal, rheological and noodle making properties of corn and potato starches. *Food Hydrocolloids*, 19(5), 839-849.
- [67] Dexter, J.E., Matsuo, R.R., Morgan, B.C. (1983). Spaghetti stickiness: Some factors influencing stickiness and relationship to other quality factors. *Journal of Food Science and Technology International*, 48, 1545-1551, 1559.
- [68] Udachan, I.S., Sahoo, A.K. (2017). Effect of hydrocolloids in the development of gluten free brown rice pasta. *International Journal of ChemTech Research*, 10(6), 407-415.

Sünme (Rope) Problemi Olan Ekmeklerden İzole Edilen *Bacillus* Türlerinin Enterotoksin Üretme Potansiyeli

Fundagül Erem¹ , Muharrem Certel²  ✉, Barçın Karakaş Budak² 

¹Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 67900, Çaycuma, Zonguldak

²Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 07059, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 02.08.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 27.02.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): certel@akdeniz.edu.tr (M. Certel)

☎ 0 242 310 24 27 📠 0 242 227 45 64

ÖZ

Bu çalışmada, daha önceki bir çalışmamızda sünme (rope) hastalığı oluşmuş ekmeğin içlerinden izole edilen *Bacillus* türleri, hemolitik (Hbl) ve hemolitik olmayan (Nhe) enterotoksin üretimleri açısından incelenmiştir. İncelenen toplam 39 izolatın sadece birinin hem Hbl hem de Nhe enterotoksinlerini, 22 izolatın sadece Hbl, 2 izolatın ise sadece Nhe enterotoksinini üretme kapasitesinin olduğu, kalan 14 izolatın ise her iki enterotoksini de üretmedikleri tespit edilmiştir. Enterotoksin analizleri için pozitif kontrol suşu olarak, her iki enterotoksini de ürettiği bilinen *Bacillus cereus* 2248 kullanılmıştır. Toksin analizleri, standart suşlar olan *Bacillus subtilis* PY22, *B. subtilis* RSK 244 ve *B. subtilis* RSK 246 için de yapılmış, aralarından sadece *B. subtilis* RSK 246'nın Nhe enterotoksinini üretme potansiyelinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca emetik toksin ürettiği bilinen *Bacillus cereus* 2455/2 suşu da Nhe enterotoksini açısından pozitif sonuç vermiştir. Sonuçlar, ekmeklerde sünme (rope) hastalığından sorumlu olan *Bacillus* türlerinin enterotoksin üretebileceğini gösterir niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Sünmüş ekmeğin, *Bacillus*, Enterotoksin

Enterotoxin Production Potential of *Bacillus* Species Isolated from Ropy Bread

ABSTRACT

In this study, *Bacillus* species isolated from ropy bread crumb in our previous study were investigated for the production of hemolytic (Hbl) and non-hemolytic (Nhe) enterotoxins. Of the 39 isolates, only one produced both Hbl and Nhe enterotoxins, 22 produced only Hbl, 2 produced only Nhe and the remaining 14 isolates were found to produce none of the two enterotoxins. *Bacillus cereus* 2248, which is known to produce both Hbl and Nhe, was used as the positive control strain for the enterotoxin assays. Toxin assays were also performed for the standard strains *Bacillus subtilis* PY22, *B. subtilis* RSK 244 and *B. subtilis* RSK 246. It was determined that amongst these strains only *B. subtilis* RSK 246 has the potential of producing the Nhe enterotoxin. Furthermore, the test results of *Bacillus cereus* 2455/2, which is known as an emetic strain, have shown that the strain was potentially positive in terms of Nhe enterotoxin. The results showed that *Bacillus* strains that are responsible for rope disease in bread could produce enterotoxins.

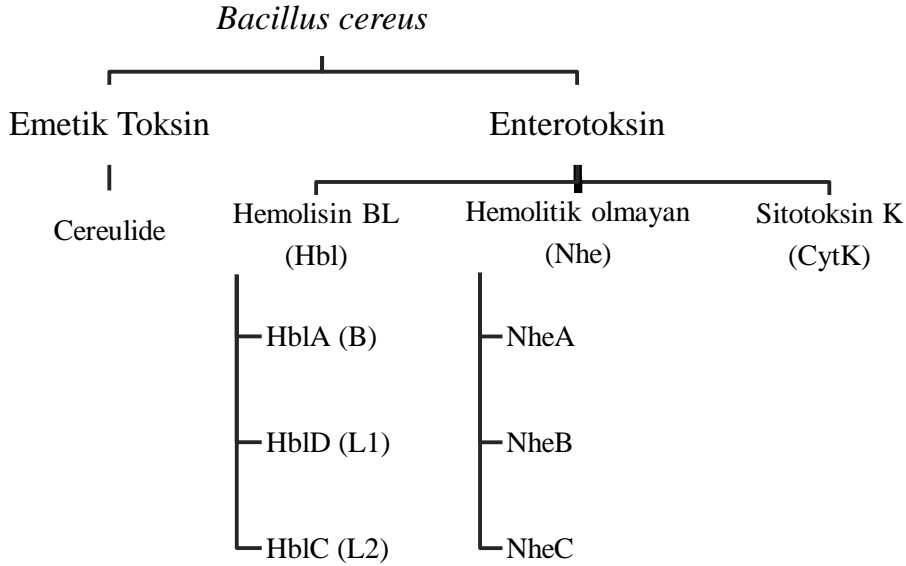
Keywords: Ropy bread, *Bacillus*, Enterotoxin

GİRİŞ

Bacillus cinsi bünyesinde, çoğunlukla güvenilir olduğu kabul edilen (GRAS) türler olmasına rağmen aralarında patojen olan türler de bulunmaktadır ve bunlar genetik olarak da benzerlik arz etmektedir. *Bacillus anthracis* memelilerde antraksa, insektisidal özelliği sebebiyle yaygın olarak kullanılan *Bacillus thuringiensis* ise gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. Ürettiği toksinler aracılığı ile gıda zehirlenmesine neden olan *Bacillus cereus*, ayrıca endoftalmite (gözün iç dokularının iltihaplanması), endokardit (kalp iç zarının iltihaplanması), menenjit (beyin zarının iltihaplanması), periodontit (diş dokularının iltihaplanması), osteomyelit (kemik iliğinin iltihaplanması), yara enfeksiyonları ve septisemi (kan zehirlenmesi) gibi lokal ve sistemik enfeksiyonlara da neden olmaktadır [1]. Bunların yanı sıra, daha az bilinmekle birlikte, birçok endüstriyel uygulamada yaygın olarak kullanılan *B. licheniformis*,

B. subtilis, *B. mojavensis*, *B. pumilus* ve *B. fusiformis* gibi türlerin de toksin üretebildiği ve gıda zehirlenmelerine neden olabildiği belirlenmiştir [2-4]. *Bacillus cereus* tarafından üretilen toksinler, diyarel (ishale sebep olan) ve emetik (kusmaya sebep olan) sendrom olarak ifade edilen iki farklı tipte gıda zehirlenmesine neden olmaktadır. *Bacillus cereus* toksinlerinin sınıflandırılması Şekil 1'de verilmiştir.

Diyarel sendrom, bakterinin ince bağırsakta ürettiği, ısıya karşı dayanıklı olmayan enterotoksin aracılığı ile oluşmakta, epitel hücrelere etki ederek bağırsakta aşırı miktarda sıvı salgılanmasına ve bunun sonucu olarak da diyareye neden olmaktadır [5]. Bakterinin kendi gelişim evresi açısından bakıldığında ise enterotoksin, vejetatif büyüme esnasında, temel olarak da logaritmik fazın sonlarında üretilmektedir [6].



Şekil 1. *Bacillus cereus* toksinlerinin sınıflandırılması

Hücre membranında delikler açılmasına neden olarak diyarel hastalıklara sebep olan en önemli üç enterotoksinin hemolisin BL [hemolitik (Hbl)], Nhe (hemolitik olmayan) ve CytK (sitotoksin K) olduğu belirtilmektedir [7]. Hbl, 3 farklı alt bileşenden (B, L₁, L₂) oluşmaktadır. Bunlardan HblB bağlayıcı (binding), HblL₁ ve HblL₂ parçalayıcı (lytic) bileşen olarak bilinmektedir. Protein yapısındaki bu üç farklı bileşen, birbirinden bağımsız olarak salgılanmaktadır ve toksinin maksimum biyolojik aktivite gösterebilmesi için üç bileşen de gerekmektedir. Nhe de Hbl gibi birbirlerinden bağımsız olarak salgılanan üç alt bileşenden (A, B, C) oluşmaktadır ve neredeyse bütün *B. cereus* suşları tarafından üretilmektedir. NheB, enterotoksin kompleksinin bağlayıcı bileşenidir. Maksimum toksik aktivitenin oluşabilmesi için NheA, NheB ve NheC'nin molar oranlarının 10:10:1 olması gerekmektedir, NheC'nin oranının artması Nhe'nin toksik aktivitesinde azalmaya yol açmaktadır [7, 8]. Nhe, diyarel toksin olarak bilinmesine rağmen yakın zamanda Cai ve ark. [9] tarafından yapılan bir çalışmada Nhe'nin diyarel

sendroma herhangi bir katkısının olmadığı belirtilmiştir. CytK ise tek bileşenli, hücre zarında β-fıçısı (β-barrel) yapısında por oluşturan, hemolitik bir toksindir [7, 8] ve bazen hemolisin IV olarak isimlendirilmektedir [9].

Enterotoksin T (bceT) ve Enterotoksin FM isimli, tek bileşenli iki enterotoksinin daha varlığı öne sürülmüştür. Bunlardan bceT geni ilk olarak Agata ve ark. [10] tarafından tanımlanmış ve gıda kaynaklı diyareye neden olabileceği bildirilmiştir. Ancak daha sonra bu gen ile çalışan diğer araştırmacılar Choma ve Granum [11], bceT geninin ya bilinenden farklı bir enterotoksik aktivitesi olduğunu ya da hiç olmadığını savunmuş; Hansen ve ark. [12] ise Agata ve ark.'nın [10] belirlediği gen diziliminin yalnızca bir kısmının kendi belirledikleri ile homoloji gösterdiğini, bceT için tespit edilen enterotoksik aktivitenin ya füzyon genden ya da ligasyon sırasında gerçekleşen hatadan dolayı *B. anthracis*'in açık okuma alanı ile homoloji gösteren fragmandan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Enterotoksin FM1 geni ise Asano ve ark. [13] tarafından *B. cereus* FM1 ve

B. thuringiensis'den klonlanmıştır. Ancak bu gene ait dizilimin *B. subtilis*'in hücre duvarındaki hidrolazın dizilimi ile homoloji gösterdiği belirlendiğinden muhtemelen enterotoksin olmadığı vurgulanmıştır [5].

B. cereus'un neden olduğu gıda zehirlenmesi türlerinden olan emetik sendrom ise "sereulid" adı verilen, küçük, ısı ve aside karşı dayanıklı, sulu çözeltilerde çözünmeyen, halkalı yapıdaki dodekadepsipeptid aracılığı ile oluşmaktadır [14, 15]. Vejetatif büyüme esnasında gıdada üretilen toksin, kararlı yapısı nedeniyle gıdanın tüketilmesinden sonra mide asidi ve intestinal proteolitik enzimlerden de etkilenmemekte ve on iki parmak bağırsağında 5-HT₃ reseptörüne bağlanarak bulantı ve kusmaya neden olmaktadır [16]. Sereulid'in vakuol oluşumuna neden olduğu ve vakuolün de mitokondrial şişmeye yol açtığı, ayrıca solunumun kontrolünü yavaşlattığı bildirilmiştir [1, 17].

Ekmelerde sünme, özellikle nemli ve sıcak iklime sahip bölgelerde görülen, *Bacillus* kaynaklı bir hastalıktır. Pişirme sıcaklığında spor oluşturarak canlı kalan *Bacillus* türlerinin daha sonra vejetatif hale geçmesi ve ekmekte istenmeyen değişikliklere neden olması sonucunda oluşmaktadır [18-22]. Bu çalışmada, endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılan *Bacillus* türlerinin de toksin üretebileceği gerçeğinden hareketle, daha önceki bir çalışmamızda [23] sünmüş ekmelerin içinden izole edilmiş olan *Bacillus* türlerinin enterotoksin üretip üretmediğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Sünme etmeni *Bacillus* türlerine ait spor sayısının 1 g ekmekte yaklaşık 10⁶-10⁹ seviyesine ulaşması durumunda (her ne kadar görünüş ve kokusu itibarı ile sünmüş ekmeğin tüketilmesi söz konusu olmasa da) bulantı, kusma, ishal, baş ağrısı gibi belirtilerle, gıda zehirlenme vakaları görülebileceği bilinmektedir [24]. İzole edilmiş olan bu türlerden, gıda endüstrisi başta olmak üzere çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılabilen peptidaz ve amilaz gibi enzimler başta olmak üzere çeşitli metabolit madde üretiminde yararlanılması planlandığından, bu *Bacillus* türlerinin enterotoksin üretimi açısından test edilmelerinin faydalı olacağı düşünülmüştür. Bu sayede ayrıca sünme etmeni *Bacillus* türlerinin toksik etkisine Hbl ve Nhe enterotoksinlerinin katkısı olup olmadığı da tespit edilmiş olacaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırma kapsamında kullanılan *Bacillus* suşları, Erem ve ark. [23] tarafından sünme (rope) hastalığı oluşmuş ekmeklerden izole edilip klasik testler ve API test kitleri ile tanımlanmıştır. Söz konusu çalışmada yapılan tanımlama sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol suşları olarak kullanılan *Bacillus cereus* 2248 (enterotoksijenik suş) ve *Bacillus cereus* 2455/2 (emetik suş) Helsinki Üniversitesi HAMBİ Kültür Koleksiyonu'ndan (<http://www.helsinki.fi/hambi/>), *Bacillus subtilis* RSK 244 ve *Bacillus subtilis* RSK 246 suşları Refik Saydam Hifzısıhha Merkezi Başkanlığı'ndan temin edilmiş; *Bacillus subtilis* PY22

suşu ise daha önce bir tez çalışmasında [25] kullanılmış olup araştırmacılar tarafından sağlanmıştır.

Yöntem

Hücre Kültürlerinin Hazırlanması

Mevcut bakteriler 50 mL nutrient broth (NB) içeren engelli erlenlerde 37°C'de 200 devir/dakika çalkalama ile 18 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonunda bakterilerin optik yoğunluğu 600 nm dalga boyunda ölçülmüş ve içerisinde 50 mL brain heart infusion broth (BHIB) bulunan engelli erlenlere, her bir bakterinin başlangıç optik yoğunluğu (OD) 0.1 olacak şekilde, hesaplanan hacimlerde inokülasyon yapılmıştır. Çalkalamalı inkübatörde (New Brunswick Scientific, Excella E24, ABD) 37°C'de 200 devir/dakika çalkalama ile 18 saat inkübasyonun ardından bakteri hücrelerini ayırmak için hücre kültürü santrifüjlenmiş (10000 × g, 10 dakika, 4°C) ve supernatant ayrılarak analizlerde kullanılmıştır. *Bacillus* diyarel enterotoksini cama yapışabildiğinden yapılan analizlerde polipropilen (PP) veya polikarbonat (PC) malzemeler kullanılmıştır.

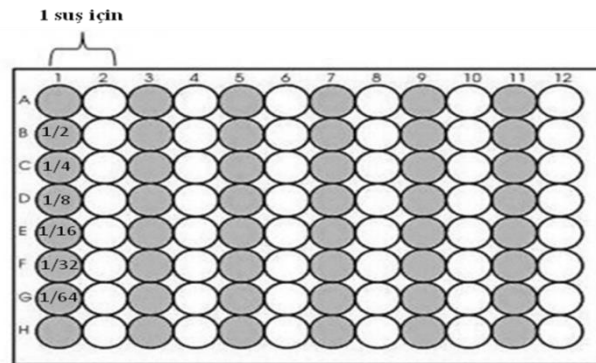
BCET-RPLA İle Enterotoksin Tespiti

BCET-RPLA (*Bacillus cereus* enterotoxin-reversed phase latex agglutination) kiti (Oxoid, İngiltere) ile gerçekleştirilen, *Bacillus cereus* diyarel enterotoksin (hemolitik toksin) testi için V tabanlı 96 kuyucuklu mikroparka, her bir suş için ise mikroparkada 2 sütun kullanılmıştır. Mikroparkanın şematik gösterimi Şekil 2'de verilmiştir.

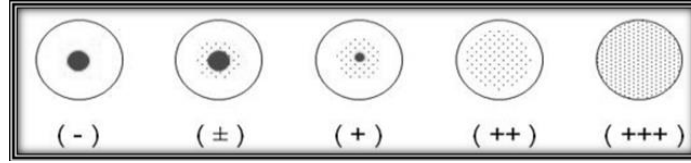
Öncelikle A satırı hariç olmak üzere, kullanılacak olan tüm kuyucuklara kitle birlikte gelen seyreltme çözeltilisinden (sığır serum albümini içeren tuzlu fosfat tamponu) 25 µL koyulmuştur. Ardından A ve B satırlarındaki tüm kuyucuklara 25 µL test örneği (supernatant) ilave edilmiş, plaka hafif sallanarak seyreltme çözeltilisi ile test örneğinin karışması sağlanmıştır. Daha sonra B satırından başlanarak her bir kuyucuktan 25 µL örnek alınmış ve aynı sütun boyunca kendinden sonraki satırdaki kuyucuğa aktararak test örneğinin seyreltilmesi sağlanmıştır. Seyreltme işlemine H satırına kadar devam edilmiştir. Bu durumda; A satırındaki tüm kuyucuklarda sadece test örneği, H satırındaki tüm kuyucuklarda sadece seyreltme çözeltilisi, ara satırlarda ise farklı oranlarda seyreltilmiş test örneğinin olması sağlanmıştır. Daha sonra her bir suş için ilk sütundaki kuyucuklara duyarlı lateks (sensitized latex), ikinci sütundaki kuyucuklara ise kontrol lateks (latex control) çözeltilisinden ilave edilmiştir. Plakanın kapağı kapatılarak siyah zemin üzerinde, oda sıcaklığında, 20-24 saat bekletilmiş ve süre sonunda kuyucuklarda çökme olup olmadığı incelenmiştir [26]. Çökme durumuna göre sonuç değerlendirilmesi Şekil 3'e göre yapılmıştır. Analizlerde *Bacillus cereus* 2248 (Agata ve ark. [10] bu suşu B-4ac olarak kodlamışlardır) enterotoksin açısından referans suş olarak kullanılmış, ayrıca kitle birlikte gelen pozitif kontrolden de (liyofilize edilmiş *Bacillus cereus* enterotoksini) bu amaçla yararlanılmıştır.

Tablo 1. Sünmüş ekmekten elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları [23]

İzolatlar	Biyokimyasal testler	API CH	API tanımlama düzeyi
N1	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. licheniformis</i>	İyi tanımlama
N2	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis/amyloliquefaciens</i>	Çok iyi tanımlama
N3	<i>B. subtilis</i>	<i>B. pumilus</i>	İyi tanımlama
N4	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N5	<i>B. megaterium</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N6	<i>B. subtilis</i>	<i>B. pumilus</i>	İyi tanımlama
N7	<i>B. megaterium</i>	<i>B. megaterium</i>	Kabul edilemez profil / <i>B. megaterium</i> olasılığı
N8	<i>B. megaterium</i>	<i>B. licheniformis</i>	İyi tanımlama
N9	<i>B. coagulans</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N10	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. licheniformis</i>	Mükemmel tanımlama
N11	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N12	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N13	<i>B. coagulans</i>	<i>B. licheniformis</i>	İyi tanımlama
N14	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N15	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N16	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N17	<i>B. megaterium</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N18	<i>B. megaterium</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N19	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. licheniformis</i>	Çok iyi tanımlama
N20	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>	Mükemmel tanımlama
N21	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
N22	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K1	<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Cins bazında iyi tanımlama
K2	Tanımlanamadı	<i>B. licheniformis</i>	Çok iyi tanımlama
K3	Tanımlanamadı	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K4	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K5	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K6	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis/amyloliquefaciens</i>	Çok iyi tanımlama
K7	<i>B. licheniformis</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Cins bazında iyi tanımlama
K8	<i>B. megaterium</i>	<i>B. megaterium</i>	Kabul edilemez profil / <i>B. megaterium</i> olasılığı
K9	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. licheniformis</i>	İyi tanımlama
K10	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. licheniformis</i>	Çok iyi tanımlama
K11	<i>B. megaterium</i>	<i>B. megaterium</i>	Kabul edilemez profil / <i>B. megaterium</i> olasılığı
K12	<i>B. megaterium</i>	<i>B. megaterium</i>	Kabul edilemez profil / <i>B. megaterium</i> olasılığı
K13	<i>B. megaterium</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K14	<i>B. megaterium</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K15	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis/amyloliquefaciens</i>	Çok iyi tanımlama
K16	<i>B. subtilis</i>	<i>B. thuringiensis</i>	Kabul edilemez profil / <i>B. thuringiensis</i> olasılığı
K17	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. licheniformis</i>	İyi tanımlama
K18	<i>B. subtilis</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil
K19	<i>B. megaterium</i>	Tanımlanamadı	Kabul edilemez profil



Şekil 2. BCET-RPLA kiti için mikrolaka

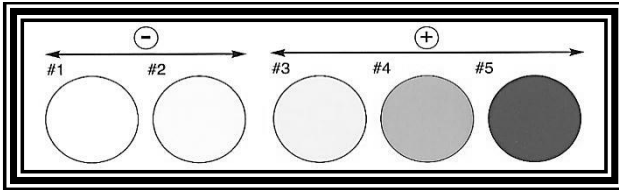


Şekil 3. BCET-RPLA kiti sonuç değerlendirme şeması (Çökeltiler pembe renkli gözlenmektedir)

BDEVIA İle Enterotoksin Tespiti

BDEVIA (*Bacillus* diarrhoeal enterotoxin visual immunoassay) kiti (3M Tecra, ABD) ile gerçekleştirilen, *Bacillus cereus* diyarel enterotoksin (hemolitik olmayan toksin) testi için kitle birlikte gelen antikor kaplı kuyucuklar kullanılmıştır.

Tablaya yerleştirilen kuyucuklara öncelikle yıkama çözeltisinden doldurularak 20-25°C'de 10 dak beklenmiştir. Süre sonunda yıkama çözeltisi boşaltılmış ve kuyucuklara 200 µL örnek çözeltisi ile pozitif kontrol (PC) ve negatif kontrol (NC) koyularak 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon bitiminde mikropilaka yıkayıcı (BioTek ELx800, ABD) kullanılarak yıkama çözeltisi ile kuyucuklar 4 kez yıkanmıştır. Ardından kuyucuklara eşlenik çözelti (conjugate) eklenip 20-25°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda kuyucuklar mikropilaka yıkayıcı ile 5 kez yıkanmış, 200 µL substrat çözeltisi eklenerek 20-25°C'de 30 dak süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda rengin dağılması için plaka yavaşça sallanmış ve Şekil 4.'deki renk kartı kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Testin geçerli olması için PC'nin rengi en az #4 kadar koyu, NC'nin rengi ise en fazla #2 kadar koyu olmalıdır. PC'nin rengi en az #4 kadar koyu ise tepkimeyi sonlandırmak için kuyucuklara 20 µL durdurma (stop) çözeltisi eklenmiş ve mikropilaka okuyucu (BioTek µQuant Monochromatic Spectrophotometer, ABD) ile PC'nin maksimum absorbans verdiği belirlenen 420 nm dalga boyunda 30 dak. içinde okuma yapılmıştır [27]. Absorbansı 0.2'den daha büyük olan örnekler test açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4. BDEVIA kitinin sonuç değerlendirme renk kartı (Renk geçişi saydamdan koyu yeşile doğrudur.)

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, daha önceki bir çalışmada izole edilmiş olan *Bacillus* izolatlarının toksin üretip üretmediklerinin belirlenmesinin nedeni, bu izolatların gıda endüstrisi başta olmak üzere çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılabilirliğinin araştırılmasına olanak sağlayabilmektir. Bu izolatlar aracılığı ile üretilen maddelerin (enzim vs.) endüstriyel uygulamalarda kullanılabilirliği ancak GRAS statüde izolatlardan yararlanılması ile mümkün olmaktadır. Bu amaçla toksin üretme kapasitesinde olan izolatların, endüstriyel

uygulamalarda kullanılabilecek maddelerin üretiminden önce elenmesi sağlanmıştır.

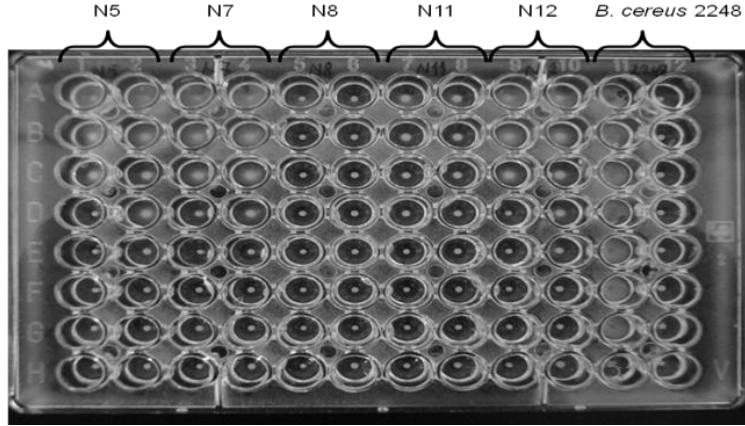
BCET-RPLA kiti Hbl alt birimlerinden L₂'yi, BDEVIA kiti ise Nhe alt birimlerinden NheA'yı tespit edebilmektedir. Her iki enterotoksin de üç alt birimden oluşmakta ve maksimum biyolojik aktivite için her üç alt birimin birden bulunması gerekmektedir [5, 7]. Testlerle L₂ ve NheA'nın tespit edilmemesi durumunda toksinlerin üretilmediği sonucuna varılabilmektedir. Ancak söz konusu alt birimlerin varlıklarının belirlenmesi, kesin olarak aktif toksinin üretilebileceği anlamına gelmemektedir [5]. Dolayısıyla bu çalışmada kesin olarak bu toksinleri üretmeyecek olan izolatların seçilmesi hedeflenmiş ve alt birimlerin tespit edilmediği izolatlarla, farklı çalışmalara devam edilebileceği öngörülmüştür.

BCET-RPLA kiti sonuçları, mikro plakada çökme olup olmadığı gözlenerek değerlendirilmektedir. İzolatın Hbl enterotoksini açısından pozitif olarak değerlendirilebilmesi için, normal koşullarda, duyarlı lateks içeren 1. sütündeki kuyucuklarda çökme olması, ancak kontrol lateksi içeren 2. sütündeki kuyucuklarda çökme olmaması gerekmektedir. Nitekim pozitif kontrol suş olarak kullanılan enterotoksik suş *B. cereus* 2248 ve saf toksin için çökme durumu aynen bu şekilde sonuçlanmıştır. İzolatın negatif olarak değerlendirilebilmesi için ise her iki sütündeki kuyucuklarda da çökme olmaması gerekmektedir. Bu çalışmada negatif izolatların değerlendirilmesinde sorun yaşanmamış, her iki sütünde çökme gözlenmeyen izolatlar Hbl enterotoksini üretmesi bakımından negatif olarak kabul edilmiştir. Ancak bunların dışındaki izolatlarda hem 1. hem de 2. sütündeki kuyucuklarda çökme olduğundan, bu izolatların değerlendirilmesinde sıkıntılar yaşanmıştır. Toksin kitinin kullanma kılavuzunda bazen kontrol lateksde spesifik olmayan çökmeler gözlenebileceği, bu durumda; duyarlı lateksdeki çökmenin, kontrol latekse göre daha ileri seyreltme düzeylerinde olması şartıyla sonucun pozitif olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir [20]. Fakat bunun tam tersi olarak, genellikle, kontrol lateksdeki çökmenin duyarlı lateksdekine göre daha ileri seyreltme düzeylerinde olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla bu izolatlar için elde edilen sonuçlar ne pozitiflik ne de negatiflik kurallarıyla tam olarak uyum sağlamıştır. Bu izolatların hiçbirindeki çökme, enterotoksin açısından pozitif kontrol suşu olan *B. cereus* 2248 veya saf toksinin çökme durumu ile benzerlik arz etmemesine rağmen, sonuçlar negatif olarak da değerlendirilemediği için, risk almamak adına bu izolatların tamamının Hbl enterotoksini açısından "muhtemel pozitif" olarak kabul edilmesine karar verilmiştir. Çökme durumunun farklı şekilde gerçekleşmesinin *B. cereus* dışındaki izolatların toksin yapısının farklılığından kaynaklanabileceği

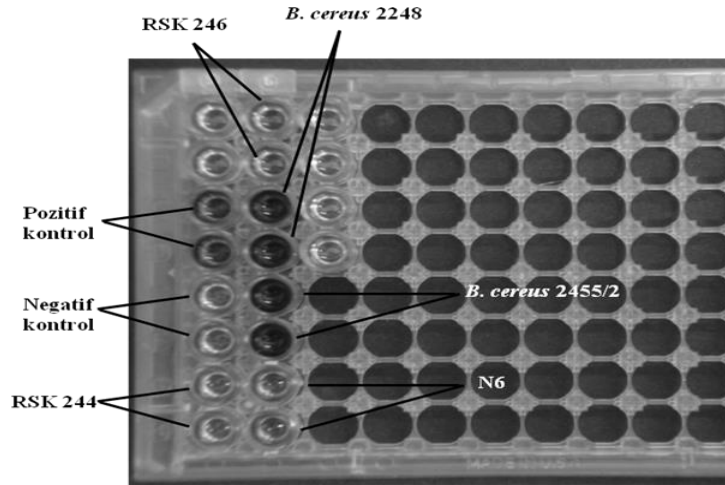
düşünülmektedir. Çökme durumunun nasıl olduğunun anlaşılması için bazı izolatlar için BCET-RPLA sonuçları Şekil 5'de gösterilmiştir.

Nhe enterotoksininin tespiti (BDEVIA) Hbl enterotoksinine göre daha rahat yapılmış, renk kartı ile yapılan değerlendirmenin, absorpsiyon ölçümü ile de desteklenmesi sonuçların yorumlanmasını kolaylaştırmıştır. Bazı izolatlar için test sonuçları Şekil 6'da gösterilmiştir. Emetik suş olan *B. cereus* 2455/2'nin

Nhe enterotoksinini açısından da pozitif olduğu Şekil 6'da görülmektedir. Bu sonuç, emetik toksin üreten *B. cereus* suşlarının nhe genini taşıdıklarını ve genellikle Nhe enterotoksinini de ürettiklerini belirleyen diğer araştırma sonuçları [15, 28, 29] ile uyum sağlamaktadır. Dolayısıyla emetik toksin üreten suşlar da diyareye neden olabilmektedir. Ayrıca standart suş olarak kullanılan *Bacillus subtilis* RSK 246'nın da Nhe enterotoksinini üretebildiği belirlenmiştir.



Şekil 5. Bazı *Bacillus* izolatları için BCET-RPLA sonuçları (Çökteller pembe renklidir)



Şekil 6. Bazı *Bacillus* izolatları için BDEVIA sonuçları (Pozitif suşlar için renk değişimleri yeşilin tonları şeklindedir)

Yukarıda yapılan açıklamalar doğrultusunda, sünmüş ekmeklerden izole edilen izolatlar ile kontrol suşları için BCET-RPLA ve BDEVIA kitleri kullanılarak yapılan enterotoksin analizi sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. Sünmüş ekmeklerden izole edilmiş olan izolatlardan sadece bir tanesinin (N6) hem Hbl hem de Nhe enterotoksinlerini, 22 tanesinin sadece Hbl, 2 tanesinin de (N10, N13) sadece Nhe enterotoksinini üretebilme kapasitesinde oldukları tespit edilmiştir.

Daha önce yapmış olduğumuz çalışmada [23] sünmüş ekmeklerden elde edilen izolatların tanımlama

sonuçlarının gösterildiği Tablo 1 ile karşılaştırma yapıldığında sadece Hbl enterotoksinini ürettiği tespit edilen izolatların çoğunlukla *B. subtilis* ve *B. megaterium* olarak tanımlandığı, sadece Nhe enterotoksinini üreten izolatlardan N13 kodlu izolatın biyokimyasal testlerle *B. coagulans*, API test kitleri ile *B. licheniformis* olarak; N10'un ise her iki yöntemle *B. licheniformis* olarak tanımlandığı görülmektedir. Her iki enterotoksinini birden üreten N6 kodlu izolat ise klasik testlerle *B. subtilis*, API test kiti ile *B. pumilus* olarak tanımlanmıştır.

Tablo 2. *Bacillus* izolatlarının enterotoksin analizi sonuçları

İzolat	BCET-RPLA (Hbl) ^a	BDEVIA (Nhe)	İzolat	BCET-RPLA (Hbl) ^a	BDEVIA (Nhe)
N1	-	-	K3	-	-
N2	1:2	-	K4	1:4	-
N3	-	-	K5	1:4	-
N4	1:4	-	K6	-	-
N5	1:4	-	K7	-	-
N6	1:1	+	K8	1:4	-
N7	1:4	-	K9	-	-
N8	-	-	K10	-	-
N9	-	-	K11	1:2	-
N10	-	+	K12	1:4	-
N11	1:2	-	K13	1:4	-
N12	1:4	-	K14	1:2	-
N13	-	+	K16	1:4	-
N14	1:4	-	K17	-	-
N15	1:2	-	K18	1:4	-
N16	-	-	K19	1:8	-
N17	1:2	-	BK07	-	-
N19	-	-	<i>Bacillus subtilis</i> PY 22	-	-
N21	1:2	-	<i>Bacillus subtilis</i> RSK 244	-	-
N22	1:4	-	<i>Bacillus subtilis</i> RSK 246	-	+
K1	-	-	<i>Bacillus cereus</i> 2248	1:64	+
K2	1:4	-	<i>Bacillus cereus</i> 2455/2	-	+

^a: Çökme gözlenen en son kuyucuktaki seyreltme oranı verilmiştir. +: Muhtemel pozitif, -: Negatif

Beattie ve Williams [30] yaptıkları bir çalışmada bakteri supernatantlarını BDEVIA ve BCET-RPLA kitleri ile test etmiş; *B. thuringiensis*, *B. circulans*, *B. licheniformis*, *B. lentus* ve *B. laterosporus/cereus*'un Nhe; *B. circulans*, *B. laterosporus/cereus*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. mycooides* ve *B. thuringiensis*'in Hbl enterotoksinini ürettiklerini belirlemiş, üretilen toksinlerin *B. cereus* toksinlerine benzer yapıda olduğunu savunmuşlardır. Phelps ve McKillip [31] *B. amyloliquefaciens*, *B. circulans*, *B. lentimorbis*, *B. pasteurii* ve *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* gibi türlerin, Rowan ve ark. [32] ise *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. circulans* ve *B. megaterium*'un toksin üretme kapasitelerinin olduğunu belirlemişlerdir.

B. cereus ile aynı sınıfta yer alan *B. thuringiensis* ile yapılan çalışmalarda organik sebzelerden izole edilen türlerin Hbl ve Nhe enterotoksinlerini üretebildiği [33], biyopestisit, gıda ve gıda kaynaklı salgınlardan elde edilen izolatların orta düzey enterotoksin üreticisi olduğu [34] tespit edilmiştir. İki adet *B. cereus* suşu ile ticari mikrobiyal pestisitlerden izole edilen altı adet *B. thuringiensis* suşunun NheA üretme ve ikiye katlanma sürelerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada, 2 adet *B. thuringiensis* var. *kurstaki* izolatının diğer iki *B. thuringiensis* ve *B. cereus* izolatlarından daha fazla toksin üretebildiği ve ikiye katlanma sürelerinin *B. cereus*'a çok yakın olduğu, ancak diğer iki *B. thuringiensis* suşunun ikiye katlanma süresinin ise *B. cereus*'a göre daha uzun olduğu belirlenmiştir [35].

B. cereus dışındaki türlerin enterotoksin üretmelerine yönelik negatif bulguların olduğu çalışmalar da bulunmaktadır. Mbozo ve ark. [36] bir tür fermente gıda olan Ntoba Mbodi üretimi için tapyoka yapraklarının fermentasyonunda rol oynayan *Bacillus* türlerinin çeşitliliğini ve güvenilirliğini araştırdıkları bir çalışmada

baskın türün (%72.2) *B. pumilus* grubu (*B. safensis*, *B. pumilus*, *B. pumilus sensu lato*) olduğunu, diğer türlerin ise *B. cereus sensu lato*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. siamensis*, ve *B. licheniformis* olduğunu tespit etmiş, *B. cereus* dışındaki hiçbir türün toksin geni taşımadığını belirlemişlerdir. Benzer şekilde, *B. amyloliquefaciens* [37], *B. subtilis* P223 [38], *B. subtilis* P229'un [39] enterotoksin üretmedikleri ve *B. toyonensis* BCT-7112'in [40] ise enterotoksin üretmediği veya *B. cereus*'a oranla çok az ürettiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.

SONUÇ

Özellikle *B. subtilis* ve *B. licheniformis* gibi *Bacillus* türleri GRAS olarak bilindiklerinden birçok endüstriyel uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Toksin üretimi açısından *Bacillus cereus* üzerinde önemle durulurken, diğer türlerin de toksin üretebileceği üzerine çalışmalar yaklaşık son 15-20 yıldır yapılmaktadır. Gıda endüstrisi başta olmak üzere tüm endüstriyel uygulamalarda kullanılacak olan, özellikle de yeni izole edilmiş olan, *Bacillus* türlerinin toksin üretimi açısından kontrol edilmesi gerekmektedir. Yapılacak olan çalışmalarda toksin üretmeyen suşlar kullanılmalı ya da suşun toksini üretmediği kültür koşullarının tespit edilmesi gerekmektedir. Toksinini elimine etmek açısından diğer bir yöntem ise moleküler biyoloji ve genetik teknikleri ile toksini üretmeyen rekombinant suşun elde edilmesidir.

Literatürdeki çalışmalarda, sünmüş ekmeğin tüketilmesi durumunda gıda zehirlenmesi vakalarının görülebileceğinden bahsedilmektedir. Ancak çalışmalarda, zehirlenmenin vücuda fazla miktarda bakteri sporu alındığı zaman ortaya çıkabileceğinden söz edilmiş olmasına rağmen, bu zehirlenmenin, söz

konusu sünme (rope) etmeni bakterilerin toksin üretiminden kaynaklandığını belirten literatür bilgisine rastlanmamıştır. Bu çalışma ile ekmeklerde sünme hastalığından sorumlu *Bacillus* türlerinin Hbl ve Nhe enterotoksinlerini üretme potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir. Ancak enterotoksin üretimi açısından “muhtemel pozitif” olarak tespit edilen türlerle ilgili daha ileri analizlerin yapılarak, bu türlerin enterotoksin geni taşıyıp taşımadıklarının ya da enterotoksin üretilip üretilmediklerinin net olarak belirlenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Koordinasyon Birimi tarafından 2010.03.0121.020 proje numarasıyla desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Schoeni, J.L., Wong, A.C.L. (2005). *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *Journal of Food Protection*, 68(3), 636-648.
- [2] Salkinoja-Salonen, M.S., Vuorio, R., Andersson, M.A., Kämpfer, P., Andersson, M.C., Honkanen-Buzalski, T., Scoging, A.C. (1999). Toxigenic strains of *Bacillus licheniformis* related to food poisoning. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4637-4645.
- [3] Suominen, I., Andersson, M.A., Andersson, M.C., Hallaksela, A., Kämpfer, P., Rainey, F.A., Salkinoja-Salonen, M. (2001). Toxic *Bacillus pumilus* from indoor air, recycled paper pulp, Norway spruce, food poisoning outbreaks and clinical samples. *Systematic and Applied Microbiology*, 24, 267-276.
- [4] From, C., Pukall, R., Schumann, P., Hormazábal, V., Granum, P.E. (2005). Toxin-producing ability among *Bacillus* spp. outside the *Bacillus cereus* group. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3), 1178-1183.
- [5] Lindbäck, T., Granum, P.E. (2006). Detection and purification of *Bacillus cereus* enterotoxins. In Food Borne Pathogens: Methods and Protocols Edited by C.C. Adley, Humana Press, Totowa, 15-26p.
- [6] Granum, P.E., Brynestad, S., O'sullivan, K., Nissen, H. (1993). Enterotoxin from *Bacillus cereus*: production and biochemical characterization. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 47, 63-70.
- [7] Senesi, S., Ghelardi, E. (2010). Production, secretion and biological activity of *Bacillus cereus* enterotoxins. *Toxins*, 2, 1690-1703.
- [8] Mckillip, J.L. (2000). Prevalence and expression of enterotoxins in *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp., a literature review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 77, 393-399.
- [9] Cai, Y., Huang, T., Xu, Y., Zhou, G., Zou, P., Zeng, G., Liu, X. (2017). Genetic and genomic diversity of NheABC locus from *Bacillus* strains. *Archives of Microbiology*, 199, 775-785.
- [10] Agata, N., Ohta, M., Arakawa, Y., Mori, M. (1995). The bceT gene of *Bacillus cereus* encodes an enterotoxic protein. *Microbiology*, 141, 938-988.
- [11] Choma, C., Granum, P.E. (2002). The enterotoxin T (BcET) from *Bacillus cereus* can probably not contribute to food poisoning. *FEMS Microbiology Letters*, 217(1), 115-119.
- [12] Hansen, B.M., Høiby, P.E., Jensen, G.B., Hendriksen, N.B. (2003). The *Bacillus cereus* bceT enterotoxin sequence reappraised. *FEMS Microbiology Letters*, 223, 21-24.
- [13] Asano, S.I., Nukumizu, Y., Bando, H., Iizuka, T., Yamamoto, T. (1997). Cloning of novel enterotoxin genes from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 1054-1057.
- [14] Ehling-Schulz, M., Fricker, M., Scherer, S. (2004). Identification of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains by a novel molecular assay. *FEMS Microbiology Letters*, 232, 189-195.
- [15] Kim, J.B., Kim, J.M., Kim, S.Y., Kim, J.H., Park, Y.B., Choi, N.J., Oh, D.H. (2010). Comparison of enterotoxin production and phenotypic characteristics between emetic and enterotoxic *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection*, 73(7), 1219-1224.
- [16] Granum, P.E., Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Letters*, 157, 223-228.
- [17] Mikkola, R., Saris, N.E.L., Grigoriev, P.A., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S. (1999). Ionophoretic properties and mitochondrial effects of cereulide. *European Journal of Biochemistry*, 263, 112-117.
- [18] Collins, N.E., Kirschner, L.A.M., von Holy, A. (1991). Characterization of *Bacillus* isolates from ropey bread, bakery equipment and raw materials. *South African Journal of Science*, 87, 62-66.
- [19] Kirschner, L.A.M., von Holy, A. (1989). Rope spoilage of bread. *South African Journal of Science*, 85, 425-427.
- [20] Thompson, J.M., Dodd, C.E.R., Waites, W.M. (1993). Spoilage of bread by *Bacillus*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 32(1-3), 55-66.
- [21] Thompson, J.M., Waites, W.M., Dodd, C.E.R. (1998). Detection of rope spoilage in bread caused by *Bacillus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 85, 481-486.
- [22] Volavsek, P.J.A., Kirschner, L.A.M., von Holy, A. (1992). Accelerated methods to predict the rope-inducing potential of bread raw materials. *South African Journal of Science*, 88, 99-102.
- [23] Erem, F., Certel, M., Karakaş, B. (2009). Identification of *Bacillus* species isolated from ropey breads both with classical methods and API identification kits. *Journal of The Faculty of Agriculture Akdeniz University*, 22(2), 201-210.
- [24] Smith, J.P., Dafias, D.P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., El-Khoury, A. (2004). Shelf life and safety concerns of bakery products – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 19-55.
- [25] Karakaş, B. (2009). *Bacillus subtilis*'den α -amilaz geninin klonlanması ve *Pichia pastoris* mayasında ekspresyonu. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 140 ss.

- [26] Anonymous. (2011). BCET-RPLA Enterotoxin Kit Manufacturer's Instruction.
- [27] Anonymous. (2011). BDEVIA Enterotoxin Kit Manufacturer's Instruction.
- [28] Ehling-Schulz, M. (2005). Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology*, 151, 183-197.
- [29] Ehling-Schulz, M., Guinebretiere, M.H., Monthán, A., Berge, O., Fricker, M., Svensson, B. (2006). Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiology Letters*, 260, 232-240.
- [30] Beattie, S.H., Williams, A.G. (1999). Detection of toxigenic strains of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. with an improved cytotoxicity assay. *Letters in Applied Microbiology*, 28, 221-225.
- [31] Phelps, R.J., Mckillip, J.L. (2002). Enterotoxin production in natural isolates of *Bacillaceae* outside the *Bacillus cereus* group. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 3147-3151.
- [32] Rowan, N.J., Deans, K., Anderson, J.G., Gemmell, C.G., Hunter, I.S., Chaithong, T. (2001). Putative virulence factor expression by clinical and food isolates of *Bacillus* spp. after growth in reconstituted infant milk formulae. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 3873-3881.
- [33] Kim, J.B., Choi, O.K., Kwon, S.M., Cho, S.H., Park, B.J., Jin, N.Y., Yu, Y.M., Oh, D.H. (2017). Prevalence and toxin characteristics of *Bacillus thuringiensis* isolated from organic vegetables. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1449-1456.
- [34] Jöhler, S., Kalbhenn, E.M., Heini, N., Brodmann, P., Gautsch, S., Bağcıoğlu, M., Contzen, M., Stephan, R., Ehling-Schulz, M. (2018). Enterotoxin production of *Bacillus thuringiensis* isolates from biopesticides, foods, and outbreaks. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-11.
- [35] Choi, H.J., Kang, S.J., Hong, K.W. (2017). Comparison of NheA toxin production and doubling time between *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Applied Biological Chemistry*, 60(5), 545-551.
- [36] Mbozo, A.B.V., Kobawila, S.C., Anyogu, A., Awamaria, B., Louembe, D., Sutherlenad, J.P., Ouoba, L.I.I. (2017). Investigation of the diversity and safety of the predominant *Bacillus pumilus* sensu lato and other *Bacillus* species involved in the alkaline fermentation of cassava leaves for the production of Ntoba Mbodi. *Food Control*, 82, 154-162.
- [37] Lee, A., Cheng, K.C., Liu, J.R. (2017). Isolation and characterization of a *Bacillus amyloliquefaciens* strain with zearalenone removal ability and its probiotic potential. *Plos One*, 12(8), e182220.
- [38] Jeon, H.L., Lee, N.K., Yang, S.J., Kim, W.S., Paik, H.D. (2017). Probiotic characterization of *Bacillus subtilis* P223 isolated from kimchi. *Food Science and Biotechnology*, 26(6), 1641-1648.
- [39] Jeon, H.L., Yang, S.J., Son, S.H., Kim, W.S., Lee, N.K., Paik, H.D. (2018). Evaluation of probiotic *Bacillus subtilis* P229 isolated from cheonggukjang and its application in soybean fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 97, 94-99.
- [40] Abdulmawjood, A., Herrmann, J., Riede, S., Jimenez, G., Becker, A., Breves, G. (2019). Evaluation of enterotoxin gene expression and enterotoxin production capacity of the probiotic strain *Bacillus toyonensis* BCT-7112. *Plos One*, 14(4), e0214536.

Hazır Yemek Sektöründe Çalışan Gıda Mühendislerinin Sorunları

Mehmet Akif Şen  

Giresun Üniversitesi, Turizm Fakültesi Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Keşap, Giresun

Geliş Tarihi (Received): 15.02.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 13.05.2019

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): akif.sen@giresun.edu.tr (M.A. Şen)*

☎ 0 454 310 18 75 📠 0 454 310 18 80

ÖZ

Sanayinin gelişmesi, nüfusun artması, kadınların çalışma hayatına daha fazla katılmaları, gıda servis etkinliğinin hızla gelişmesi gibi sebepler nedeniyle Türkiye’de hazır yemek sektörü hızlı bir gelişme göstermektedir. Güncel verilere göre Türkiye nüfusunun %27,5’i hazır yemek hizmetinden yararlanmaktadır. İlgili yasalar gereği, gıda mühendisleri bu sektörde İstihdamı Zorunlu Personel (İZP) olarak çalıştırılmaktadır. Bu araştırmanın amacı, hazır yemek sektöründe istihdam edilen gıda mühendislerinin yaşadıkları problemleri tespit etmek ve bunlara çözüm önerileri sunmaktır. Bu amaçla 728 gıda mühendisinden anket toplanmış, elde edilen bulgulara göre katılımcıların %76,10’u sektörden memnun olmadığını belirtmiştir. Bununla beraber katılımcılar, merdiven altı üretim, haksız rekabet, İZP ücretinin eksik ödenmesi ve potansiyellerini yansıtamama gibi sorunların yaşandığını ifade etmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Gıda mühendisi, Hazır yemek sektörü, İstihdamı zorunlu personel

Problems of Food Engineers Employed in Catering Industry in Turkey

ABSTRACT

Development of the industry, increase in population, rising the number of woman in business life, rapid development of food service efficiency have caused a dramatic development of catering industry or convenience food sector in Turkey. Current data shows that 27,5% of the Turkish population consume convenience foods produced by the catering industry. According to the related legislation, food engineers are employed in this sector as mandatory personnel. The aim of this research is to determine the challenges of the food engineers employed in the catering industry and to offer suggestions for the problems they face during their employment. In the present study, a total of 728 valid questionnaires were obtained, and the findings indicated that 76,10% of participants were unsatisfied from the conditions of the sector. Results also indicated that unlicensed production, unfair competition, under- or missing payment and inability to reflect their potentials in their working environment were found to be other problems that participants stated.

Keywords: Food engineer, Catering, Obligatory employment

GİRİŞ

Yemek üretimi ve tüketimi insanların daha çok evlerde yaptığı bir işlemdir. Sanayinin gelişmesi, nüfusun artması, kadınların çalışma hayatında yerini almaları, gıda servis etkinliğinin hızla gelişmesi gibi sebepler dışarıda yemek yiyen insan sayısını hızla arttırmıştır.

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de hazır yemek endüstrisi çok hızlı bir gelişme göstermiştir. Bunun sebepleri;

- Kadınların çalışma hayatına girmesi,
- Aile gelir düzeyinin yükselmesi,
- Eğlence ve tatile ayrılan zamanın artması,

- Çalışma sürelerindeki değişimler,
- Tüketim alışkanlıklarındaki değişimlerdir [1].

Hazır yemek hizmeti, insanların bir arada zaman geçirdiği kamu kuruluşları, yatılı okullar, üniversiteler, öğrenci yurtları, fabrikalar, oteller, askeri kışlalar, hastaneler, çocuk ve yaşlıların barındığı yerlerde toplu olarak pişirilen ve birlikte yenilen yemek işlemdir.

Özellikle sanayi tesislerinin zamanla yarışır olması, işverenlerin, personelinin yeme içme ihtiyacını kendi tesisinde karşılama zorunluluğunu ortaya çıkartmıştır. Bu zorunluluk Hazır Yemek Endüstrisi'nin doğmasına ve hızla gelişmesine sebep olmuştur.

Gerçek anlamda toplu yemek hizmeti veren işletmelerin ortaya çıkması 1960'lı yıllarda olmuştur. Başlangıç yıllarında sektörde hizmet veren işletmelere 'tabldotçu' adı verilirken, bilinen ilk tabldot kuruluşu 1959'da İstanbul Şişli Terakki Lisesi mutfağında hayata geçirilmiştir [1]. Daha sonra sektör gelişerek büyüme göstermiştir. 2016 yılı sonu itibarıyla Tarım ve Orman Bakanlığı'na kayıtlı yemek üretim tesisi sayısı 4800 civarındadır. Hazır yemek firmalarının 2016 yılı cirosu 6.5 Milyar dolardır ve 1 günde hizmet verilen müşteri sayısı 22 milyon kişidir. Türkiye'de tarıma dayalı gıda sanayinin ürettiği ürünlerin %35-40'ını kullanan bir sektördür. 400.000 kişiyi istihdam eden bu sektör dolaylı yoldan 1.600.000 kişiye ekmek kapısı açmaktadır [2,3].

Hazır yemek, tabldot yemek ve meze üreten işyerleri, bağlı oldukları İl Tarım ve Orman Müdürlüklerine İşletme Kayıt Belgesi başvuru ve beyannamesi ile müracaat etmekte ve "Depo, gıda satış ve diğer perakende faaliyet gösteren işletmeler" olarak kayıt altına alınmaktadırlar. Bu işyerleri 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı ve Gıda ve Yem Kanunu'nda belirtildiği üzere gıda mühendisi, ziraat mühendisi (gıda ve süt bölümü), kimya mühendisi, kimyager, diyetisten, ev ekonomisi yüksekokulu, beslenme bölümü, veteriner hekim gibi lisans eğitimi almış meslek mensuplarını "İstihdamı Zorunlu Personel" (İZP) olarak çalıştırmak zorundadır [4]. Alınan eğitim ve müşteri tercihleri sebebiyle sektör gıda mühendislerini daha fazla tercih etmektedir [2].

Mutfak disiplini ve personel tutum ve davranışlarının iyileştirilebilmesi için hijyen eğitimleri İZP tarafından yerine getirilmelidir. Üretimin her aşaması riske açık olup, uzman bir ekip lideri tarafından işletmenin kendine özgü iş akışına göre hazırlanan kalite kontrol sistemi ile gıda güvenilirliği şartları sağlanmalıdır. Tabldot yemek üretiminde, yemekler tüketime sunulmadan önce hammadde alımı, depoda muhafaza, ön hazırlık, pişirme, soğutma, servis gibi birçok aşamada insan sağlığı için tehdit oluşturabilecek fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik tehlikeleri kontrol etmek, izlenebilirliğini sağlamak ve personelin hizmet kalitesini arttırmaya yönelik eğitimlerin yürütülmesinde "İstihdamı Zorunlu Personel" büyük rol oynamaktadır.

Hazır yemek endüstrisi alt yapısı, gıda hijyeni uygulamaları, personel eğitim durumu gibi konular ile ilgili sektör yetkilileri ile görüşmeler ve literatür

araştırmaları sonucunda, hazır yemek üretim ve dağıtımını yapan işletmelere yönelik demografik dağılım, personel hijyen uygulamaları, gıda hijyeni ve işletmenin hijyenik tasarım anlayışı kapsamında yürütülen çalışmalar oldukça yetersizdir [5].

Toplu yemek üretimi yapan firmalar çok farklı sorunlar yaşamaktadır. Bu sorunlar: modern tesis kurulamaması, kayıt dışı üretim, haksız rekabet, nitelikli personel sayısının azlığı, devlet denetimlerinin yetersizliği, gıda ve iş güvenliğinin etkin şekilde uygulanamaması, atık ve artıklar için etkili bir geri dönüşüm sistemlerinin bulunmaması, tam kapasite çalışamaması, üretimlerin standart yapılamaması ve yetersiz devlet desteği şeklindedir [6].

Sektörde insan sağlığı konusunda sıkıntı yaşanmaması amacıyla güvenilir gıda üretilmesi ve teknik yeterlilik anlamında gıda mühendislerinin etkin olması düşünülmektedir. Fakat yazılı ve görsel basında çıkan haberler ve bireysel görüşmelerde yapılan tespitlere göre mesleklerini yeterince icra edemediklerini ve sektöre faydalı olamadığını belirten mühendislerin olduğu görülmüştür. Türkiye nüfusunun 2016 TÜİK verilerine göre yaklaşık 80 milyon olduğu düşünüldüğünde günlük 22 milyon yani %27.5'ine her gün sıcak yemek hizmeti sunan Hazır Yemek Endüstrisinde çalışan gıda mühendislerinin sorunlarını tespit etmek ve çözüm yolları bulabilmek amacıyla bu araştırma yapılmıştır [7].

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırma, Gıda Mühendisleri Odası'na üye olan ve Türkiye genelindeki 5996 sayılı kanunda belirtilen şartlara haiz hazır yemek işletmelerinde çalışan Gıda Mühendislerini kapsamaktadır. 2017 yılının Şubat, Mart ve Nisan aylarında yapılmış olan bu çalışmaya 728 gıda mühendisi katılmıştır.

Yöntem

Gıda Mühendisleri Odası tarafından gönderilen link üzerinden yapılan araştırmada katılımcılara hazır yemek sektörü alanında uzman akademisyenler tarafından incelenip son hali verilen sorular sorulmuştur. Soruların 17 tanesi tek bir cevabı işaretlenebilen şıklı sorular olup geri kalan 5 tanesi ise açık uçlu sorulardır. Sonuçlar Microsoft Excel® tablolarına yerleştirilerek analiz edilmiştir. Her mühendisin bir defa cevap verebileceği şekilde sistem kurulmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Yaş Grubuna İlişkin Sayı ve Yüzdeler

Anketimize katılan gıda mühendislerinin yaş aralıklarına ilişkin bulgular Tablo 1'de, cinsiyet bilgileri ise Tablo 2'de verilmiştir. Anketimize katılanların %36.54'ü 25-30 yaş aralığında olup %8.79'u ise 40 yaş ve üzeridir (Tablo 1). %69.23 kadın, %30.77'si ise erkek mühendislerden oluşmaktadır (Tablo 2).

Tablo 1. Yaş grubuna ilişkin bulgular

Yaş Aralığı	n	Yüzde
20–25 yaş	174	23.90
25–30 yaş	266	36.54
30–35 yaş	150	20.60
35–40 yaş	74	10.16
40 ve üzeri	64	8.79
Toplam	728	100

Tablo 2. Cinsiyet durumuna ilişkin bulgular

Cinsiyet	n	Yüzde
Kadın	504	69.23
Erkek	224	30.77
Toplam	728	100

Tablo 3. Gıda mühendisi olarak çalışılan süreye ilişkin bulgular

Süre	n	Yüzde
5 yıldan az	376	51.65
5 – 15 yıl	252	34.62
5 – 25 yıl	84	11.54
25 yıldan fazla	16	2.20
Toplam	728	100

Tablo 3'e göre anketimize katılanların %51.65'i 5 yıldan daha az, %2.2'si ise 25 yıldan daha fazla süredir gıda mühendisliği yaptığını belirtmektedir. Yemek sektöründe 5 yıldan az çalışan mühendislerin oranı %70.33 (Tablo 4) olmakla birlikte %89.01'i (Tablo 5) 5 yıldan daha az süredir şu anda çalıştığı firmada çalışmaktadır. Firmaların kapasiteleri, verilen aralıkların minimum değerini kabul ettiğimizde, 1000 kişi ve altı olan grubu ortalama 500 kişi olarak dikkate aldığımızda anketimize katılanların ürettikleri günlük yemek sayısı en az 2 milyon 348 bin kişiliktir. Bu oran hazır yemek sektörünü %10.67'lik kısmına denk gelmektedir (Tablo 6).

Tablo 4. Sektörde çalışılan süreye ilişkin bulgular

Süre	n	Yüzde
5 yıldan az	512	70.33
5–15 yıl	190	26.10
15–25 yıl	26	3.57
Toplam	728	100

Tablo 5. Mevcut çalışılan firmada geçen süreye ilişkin bulgular

Süre	n	Yüzde
1 yıldan az	310	42.58
1–3 yıl	244	33.52
3-5 yıl	94	12.91
5–10 yıl	68	9.34
10 yıldan fazla	12	1.65
Toplam	728	100

Sektörle Alakalı Alınan Eğitimlere İlişkin Bulgular

Yemek sektöründe çalışan gıda mühendislerinin %71.70'i üniversiteden sonra sektörle alakalı herhangi bir eğitim almadığını belirtmektedir (Tablo 7). Eğitim alanların %78.16'sı eğitime kendi çabaları ile katılmışlardır (Tablo 8). Eğitim aldığını belirten 206 kişi

(%28.30)'nin %76.20'si aldıkları eğitimi yetersiz bulmaktadır (Tablo 9). Açık uçlu olarak sorulan bir soruda alınan eğitimlerin listelenmesi istenmiştir. En çok aşağıdaki eğitimlerin alındığı belirtilmiştir.

- ISO eğitimleri (ISO 22000, HACCP, ISO 22001, OHSAS 18001, ISO 14001, ISO 9001)
- Sektörle alakalı (Satın Alma Eğitimi, Depolama, Mutfak Yönetimi, Menü Planlama, Kar-zarar ve Maliyet Hesapları, Mutfak Hijyeni, Yemek Üretimi, Yerel Mutfak Eğitimleri, Catering Hizmetleri Yöneticiliği)
- Diğer eğitimler (Motivasyonu, Ekibin Çalışması, İş Kanunu, Personel Yönetimi, Halkla İlişkiler, Müşteri Memnuniyet, Hijyen, İlk Yardım, Yangın, İş Güvenliği, Yabancı Dil, Bilgisayar)

Tablo 6. Mevcut çalışılan firmanın ürettiği (3 öğün toplamı) yemek sayısına ilişkin bulgular

Kapasite	n	Yüzde
1000 kişi ve altı	220	30.22
1000–3000 kişi	272	37.36
3000–6000 kişi	110	15.11
6000–10000 kişi	46	6.32
10000–20000 kişi	24	3.30
20000 ve üzeri	56	7.69
Toplam	728	100

Tablo 7. Mezun olduktan sonra sektörle ilgili eğitim alma durumuna ilişkin bulgular

Eğitim	n	Yüzde
Evet aldım	206	28.30
Hayır almadım	522	71.70
Toplam	728	100

Tablo 8. Alınan bu eğitimin kim tarafından finanse edildiğine ilişkin bulgular

Eğitim	n	Yüzde
Şahsi çabam	161	78.16
Firmam tarafından	45	21.84
Toplam	206	100

Tablo 9. Alınan bu eğitimlerin yeterli olup olmadığına ilişkin bulgular

Eğitim	n	Yüzde
Evet yeterli	49	23.79
Hayır değil	157	76.20
Toplam	206	100

Gıda Mühendisinin Firmadaki Durumuna İlişkin Sayı ve Yüzdeler

Gıda Mühendislerinin %75'i çalıştıkları firmalarda verimli olabilmeleri için gerekli şartların oluşturulmadığını düşünmektedir (Tablo 13). Kanunlarla belirtilmiş olmasına rağmen İstihdamı Zorunlu Personel (İZP) olarak çalışan mühendislerin %94.14 gibi büyük bir oranı İZP taban ücretinin altında maaş almaktadır (Tablo 11). Bunların %31.65'i maaşlarının bankaya taban ücreti olarak tam yattığını fakat işverenin, paranın banka hesabına geçmesinin ardından kendilerinden geriye istediklerini ve teslim etmek durumunda kaldıklarını belirtmiştir.%68.35 ise zaten taban ücretinin altında

bankaya paralarının yattığını belirtmektedirler (Tablo 12). Tablo 10'da İZP 380 kişi, Tablo 11'de 631 olmasının sebebi; Tablo 10'da İZP olup diğer görevleri de yerine getirmelerinden kaynaklanmaktadır. Yani şirketlerde örneğin üretim müdürü İZP sözleşmesi de imzalayabilmektedir. Açık uçlu olarak sorulan bir soruda katılımcılar verimli olmama sebeplerini şu şekilde sıralamışlardır.

- Sektörde yalnızca kar düşünülmektedir, iyi üretim uygulamaları hakkındaki taleplerimiz yerine getirilmiyor.
- Sadece kanuni zorunluluktan dolayı gıda mühendisi istihdam edilmektedir.
- İşveren tarafından gıda mühendisine ihtiyaç duyulmamakta, işyerinde ustanın daha fazla etkinliği olduğu düşünülmektedir.
- İşverenin, mühendisleri yürüyen diploma olarak gördüğü belirtilmektedir.

Tablo 10. Firmadaki görev tanımlarına ait bulgular

Görev	n	Yüzde
Üretim Müdürü	160	21.98
Vardiya Amiri	12	1.65
Kalite Müdürü	56	7.69
İSG Uzmanı	10	1.37
Satış, Operasyon, Pazarlama Yetkilisi	26	3.57
İstihdamı Zorunlu Personel (İZP)	380	52.20
Diğer	84	11.54
Toplam	728	100

Tablo 11. İZP (İstihdamı Zorunlu Personel) olup taban ücret altında maaş alma durumuna ait bulgular

Maaş	n	Yüzde
Taban ücretin altında alıyorum	594	94.14
Taban ücreti veya üzerinde alıyorum	37	5.86
Toplam	631	100

Tablo 12. Maaşın ne şekilde alındığına dair bulgular (İZP taban ücreti altında alanlar cevaplasın)

Maaş hangi şekilde alınıyor	n	Yüzde
Farkı geriye iade ediyorum	188	31.65
Bankaya taban ücret altında yatırıyor	406	68.35
Toplam	594	100

Tablo 13. Firmanızda gıda mühendisinin verimli olması için şartlar oluşturuluyor mu?

Şartlar oluşturuluyor	n	Yüzde
Evet	182	25.00
Hayır	546	75.00
Toplam	728	100

Verimli olmak için yaptıkları öneriler ise şöyledir.

- Tarım ve Orman Bakanlığı, SGK ve Gıda Mühendisleri Odası ortak denetim yapmalı ve hem işverenlere hem de mühendislere yönelik etkin eğitimler düzenlemelidir.
- Gıda mühendisleri aynı zamanda birer yönetici olarak yetiştirilmelidir.

- Mesleğini kötüye kullanan mühendisler cezalandırılmalıdır.
- Mühendis mesleğini sevmelidir.
- Mesleğimize saygı duyulmalı, kararlarımız sorgulanmamalı, talimatlarımız uygulanmalı, maaş motivasyonu olmalıdır.
- Bu verim ve etkinliği firmadan ya da sektörden değil kendinizden bekleyin.

Gıda Mühendisliği Eğitimiyle İlişkili Sayı ve Yüzdeler

Gıda mühendisliği lisans programları müfredatlarında ankete katılanların %68.27'si yemek sektörüyle alakalı derslerin olmadığını belirtmişlerdir (Tablo 14). Dersleri aldıklarını belirten 231 kişinin (%31.73) %77.92'si (180 kişi) bu derslerin verimliliğinden memnun olmadıklarını işaretlemişlerdir (Tablo 15). Ayrıca staj döneminde hocalarının yemek sektöründe staj yapmanın telkiniyle karşılaşan öğrenci sayısı 480 kişi (%65.93) şeklinde olmuştur (Tablo 16).

Tablo 14. Lisans eğitiminde yemek sektörü ile ilgili ders alınıp alınmadığıyla alakalı bulgular

Dersler alınıyor	n	Yüzde
Evet	231	31.73
Hayır	497	68.27
Toplam	728	100

Tablo 15. Alınan derslerin yeterli olup olmadığına ait bulgular

Dersler yeterli	n	Yüzde
Evet	51	22.08
Hayır	180	77.92
Toplam	231	100

Tablo 16. Yemek sektöründe staj tavsiyesiyle alakalı bulgular

Staj yapabilirsiniz	n	Yüzde
Evet	248	34.07
Hayır	480	65.93
Toplam	728	100

Sektörde Memnuniyet ile İlgili Sayı ve Yüzdeler

Tablo 17 incelendiğinde ankete katılanların %76.10'u sektörde çalışmaktan memnun olmadığını belirtmektedir.

Tablo 17. Yemek sektöründe çalışmaktan memnun olup olunmadığına dair bulgular

Sektörde çalışmaktan	n	Yüzde
Memnunum	174	23.90
Memnun değilim	554	76.10
Toplam	728	100

Sektörde veya Firmanızda Gıda Mühendislerinin Sorunları Sizce Nelerdir?

Sektörde veya mevcut çalışılan firmada Gıda Mühendislerinin sorunlarının ne olduğuna dair açık uçlu soru sorulmuştur. Bu soruya katılımcıların verdiği

cevaplar incelenmiş ve etrafında en çok birleşilen ilk 10 madde şu şekilde olmuştur.

- Mühendis görevi yaptırılmaması (kasada çalıştırmak, yemek dağıtımı, fiş toplama, turnike kontrolü, imalatta çalıştırma vb.) fakat sorun olduğunda ilk fırçalanan kişi olması.
- Kamu denetimlerinin yetersiz olması.
- Sektörde personel eksikliğinin çok fazla olması ve işverence mühendisin bütün açıkları tamamlaması talebi.
- İZP olarak çalıştırılıp düşük maaş verilmesi.
- TMMOB Gıda Mühendisleri Odası'nın mühendislerin haklarını yeterince koruyamadığının düşünülmesi.
- Mesleğin işveren tarafından tam anlaşılabilmesi, sadece zorunlu ve gereksiz personel olarak görülmesi.
- İşverenin ve personelin eğitimsiz olması.
- Lisans eğitimi esnasında müfredatta yemek sektörü ile ilgili yeterli dersin bulunmaması ve hocalar tarafından bu firmalarda staj yapılmaması ve mezuniyet sonrası çalışmama telkininde bulunulması.
- Yemek sektörünün ufuk ve fikir bakımından yeniliklere açık olmayan rutin ilerlemeyi tercih eden bir sektör olması.
- İşverenin, maliyet azaltma politikası sonucu meydana gelen müşteri problemlerinin mühendisin hatası yüzünden meydana geldiğini düşünmesi.

Yemek Sektörünün Sorunları Nelerdir?

Mühendisler, kendi sorunlarının araştırılıp çözüm yollarının önerileceği bu çalışmada sektörün sorunlarını da aşağıdaki maddeler halinde belirtmişlerdir.

- Denetimler oldukça yetersiz ve toleranslıdır.
- Sektöre taşeron olarak bakılmakta ve küçümsenmektedir.
- Müşteriler yemeğin kalitesini en fazla fiyatı ile değerlendirmektedirler.
- Kaliteli bir yemeğin belirleyici ikinci bir kriteri lezzet olarak algılanmaktadır.
- Piyasa rekabet koşullarından dolayı kar marjı düşüktür ve bu yüzden yatırım yapılamamaktadır.
- Bazı İZP'ler tam zamanlı çalışmayıp yalnızca diplomalarını kullandırmaktadır ve bu da maaş çıtasının düşmesine sebep olmaktadır.
- Kapasitesi çok küçük olan işletme ile (Örn: 500 kişi/gün) büyük olan işletme (Örn: 30.000 kişi/gün) aynı şartları sağlamak zorundadır. İki firma da İZP çalıştırıp en az 3750 TL vermelidir. Bu ücret 2017 yılı Nisan dönemine ait taban ücrettir.

SONUÇ

Yemek firmalarında gıda mühendisleri; genel müdür, satın alma, üretim, kalite, satış, pazarlama, proje müdürlüğü gibi pozisyonlarda görev almaktadır. Bu kadar farklı görevin yüklenildiği ve sektörün özellikle tercih ettiği bir disiplin olan bu mesleğin, mühendisler, işverenler ve müşteriler için önemi yadsınamaz.

Çalışan gıda mühendislerinin %76'sının çeşitli sebeplerle memnun kalmadığı bu sektörün Türkiye'nin %27.5'ini her gün doyurduğu gerçeğinden hareketle gıda güvenliği anlamında ortaya çıkabilecek tehlikeler çok ciddi sorunlara yol açabilir. Bundan dolayı sektörün iyileştirilmesi mutlaka gereklidir. Sektörün iyileştirilmesi sürecinde bu firmalarda çalışan mühendislerin problemlerinin çözülmesi ve şartlarının iyileştirilmesi gerekmektedir. İnsan sağlığını direk etkileyecek bir meslek icra edilmesinden dolayı motivasyonları yüksek tutulmalıdır. Çalışmada mühendislerin ortaya sürdükleri problemlerin çözümü için önerilerimiz şu şekildedir;

- Gıda mühendisliği lisans eğitimi sırasında hazır yemek sektörü ile alakalı dersler müfredata koyulmalıdır. Örneğin; süt, tahıl, et laboratuvarı olduğu gibi yemek uygulama mutfağı da olmalıdır. Menü planlama, maliyet kontrolü, satış, pazarlama, sunum gibi konularda eğitim verilmelidir.
- Gıda mühendisinin mezun olduktan sonra sadece laboratuvarında analiz yapmayacağı gerçeğinden hareketle Gıda Mühendisliği Bölümlerinin staj konusunda bu sektöre de özellikle öğrenci yollamaları ve öğrencileri bu sektörden uzak tutmamaları gerekmektedir.
- Gıda Mühendisleri Odası'nın bütün sektörlerde yapması gerektiği gibi bu sektörde de deneyimli mühendislerle yeni mezunları bir araya getirip çalışma grupları oluşturması gerekmektedir.
- Yemek Sanayi ile ilgili olarak STK'ların da katkı vereceği Gıda Mühendisleri Odası öncülüğünde bir çalıştay yapılmalı ve belirli periyotlarda tekrarlanmalıdır. Bu çalıştaylarla özellikle mühendislere ve işverenlere eğitimler planlanmalıdır. İşverenlere gıda mühendisinin kendi işletmesi için vazgeçilmez olduğu vurgulanmalıdır.
- Tarım ve Orman Bakanlığı'nın denetimleri sıklaştırması, etkili ve verimli denetimler yapması sağlanmalıdır.
- İZP bu sektörde yemek üretim kapasitesine göre çalıştırılmalıdır. Bu şekilde işverenlerin hakkının korunacağı gibi mühendis de az ücret ile rencide edilmemesi sağlanmış olacaktır.
- Özellikle İZP olarak çalışan mühendisin maaşının Gıda Mühendisleri Odası'nın banka hesabına yatırılması oradan da mühendisin hesabına aktarılması elden geri ödemeyi engelleyecektir. Bu öneri İZP olarak çalışan bütün disiplinler için geçerli olmalıdır. Böylece bankaya eksik ücret yatma problemlerinin önüne geçilebilecektir.
- Özellikle gıda zehirlenmesi gibi durumlarda İZP, işveren ve usta aynı sorumluluğu paylaşmalıdır. Bunun için Gıda Mühendisleri Odası çalışma yapmalıdır.
- Mühendislerin bilinçli olması gerekmektedir. Ücret ve deneyimin zamanla kazanılacağı mühendisler tarafından bilinmelidir.
- Gıda Mühendisleri Odası'nın mühendislere destek olması gereklidir. Fakat burada unutulmaması gereken husus mühendislerin problemlerini odaya spesifik olarak aktarmaları ve odaya da destek olmaları gerektiğidir.

- Gıda mühendislerinin herhangi bir firmada tam zamanlı çalışıp hazır yemek sektöründe faaliyet gösteren kapasitesi daha düşük başka bir firmayla da İZP sözleşmesi imzalamamalıdır gerekmektedir. Bu şekilde hem bütün yemek firmalarının gerekli proses kontrolleri yapılmış olur hem de piyasada düşük İZP ücreti problemi ortadan kaldırılmış olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Demirci, M. (2014). Beslenme. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Hat Baskı Sanatları, Topkapı, İstanbul.
- [2] Çeliktaş, Y. (2017). Yemek Sanayicileri Dernekleri federasyonuna Göre Türkiye’de Hazır Yemek Sektörünün Durumu, Röportaj.
- [3] Özçakmak, S., Gül, O. (2016). The profile of good hygiene practice of catering service sector in Samsun. *Türk Tarım Gıda ve Bilim Teknolojisi Dergisi*, 4(11), 1031-1038.
- [4] <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/06/20100613-12.htm>.
- [5] Sucu, N., Durmuş, S., Şen, M.A. (2008). Yemek sektörüne Genel Bakış.
- [6] http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/08dd52f2fe32a1d_ek.pdf?tipi=5&turu=H&sube=0.
- [7] Kaya, S.Y., İlhan, S. (2018). Toplu yemek (hazır yemek) sektöründe yaşanan problemler ve çözüm önerileri. *Güncel Turizm Araştırmaları Dergisi*, 2(1), 553-581.
- [8] <http://www.tuik.gov.tr>.

Developments and Regulations About Functional Foods in Turkey: A Literature Review

Deniz Sezgin  

Ankara University, Faculty of Communication, Cebeci, Ankara, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 27.08.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 18.03.2020✉ *Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): dsezgin@media.ankara.edu.tr (D. Sezgin)*

☎ +90 312 31 97 714/250 📠 +90 312 36 22 717

ABSTRACT

The aim of this study is to define the functional food market in Turkey and to present the official regulations concerning the labeling, promoting and advertising of functional foods. This present study is based on literature studies reported previously. Functional food market is a new sector in Turkey. So far, significant progress has been made in terms of legislation regarding this sector but it has not been finished yet. Defining the relationship between functional foods and public health, the ways in which consumers are informed and the impact of media are the major fields of argument in Turkey. Functional foods are in the growing phase in Turkey. In developing countries like Turkey, when correct and appropriate information is not provided, consumers are likely to try to compensate for their unhealthy dietary habits by consuming "functional foods" and try to cure their diseases with these products. A functional food discourse without any ethical concern could cause nutritional science to be overlooked. While the functional food market is creating opportunities and creating potential positive impacts on human health, new communication technologies are also presenting possible new threats.

Keywords: Functional foods, Turkey, Health, Legal infrastructure

Türkiye’de Fonksiyonel Gıdalarla İlgili Gelişmeler ve Yasal Düzenlemeler: Bir Literatür Taraması

ÖZ

Bu çalışmanın amacı Türkiye’de fonksiyonel gıda pazarını tanımlamak ve gıdaların etiketlenmesi, tanıtılması ve reklamına ilişkin resmi düzenlemeleri sunmaktır. Bu çalışma literatür taramasına dayanmaktadır. Fonksiyonel gıda, Türkiye’de yeni bir sektördür. İlgili mevzuatın hazırlanmasında önemli ilerleme kaydedilmiştir, ancak henüz sonuçlandırılmamıştır. Fonksiyonel gıdalar ve halk sağlığı arasındaki ilişkinin, tüketicilerin bilgi alma şekillerinin ve medyanın etkisinin tanımlanması, ülkedeki başlıca tartışma alanlarıdır. Fonksiyonel gıdalar Türkiye’de büyüme aşamasındadır. Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde, doğru bilgi verilmediğinde, tüketicilerin sağlıksız beslenme alışkanlıklarını “fonksiyonel gıdalar” tüketerek telafi etmeye ve bu ürünlerle hastalıkları iyileştirmeye çalışmaları olasıdır. Etik kaygılardan mahrum bir fonksiyonel gıda söylemi, beslenme biliminin göz ardı edilmesine neden olabilir. Fonksiyonel gıda pazarı fırsatlar yaratırken ve sağlık üzerine potansiyel pozitif etkiler oluştururken, yeni iletişim teknolojileri de olası yeni tehditler ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fonksiyonel gıdalar, Türkiye, Sağlık, Yasal altyapı

INTRODUCTION

Factors such as technological developments, more accessible information sources, increase in consumers' knowledge level, changes in international commerce and improvement in life standards have contributed positively to individuals' lives in the past 50 years. On the other hand, inactivity due to modern life circumstances and malnourishment and/or poor nutrition resulted in many health problems. Increase in health problems, high treatment costs, workforce losses as well as people's expectations of a longer and better life brought health issues to the top of the agenda and caused people to be more sensitive towards health issues. Seeking for ways to be healthier, people's interest in dietary habits also rose and healthy nourishment started to be seen as the way to be healthy and protect health [1, 2].

The main focus of nutritional science in the beginning of twentieth century consisted of key elements such as supporting the physical development of the body [3, 4]. Changes in daily life practices also caused a change in people's expectation from food products. Nowadays, consumers demand food products with characteristics that will enrich their life and protect their health while catering to their basic nourishment needs. Consumer demand for diets containing healthy and essential ingredients have expanded the functional food market [5]. Constant increase in healthy diet awareness caused people to gravitate towards functional foods and supplemental foods. Therefore, functional foods, nutraceuticals and natural health products are being consumed increasingly more [6, 7].

The aim of this study is to define the functional food market in Turkey, present legislations, regulations, promotion and advertisement arrangements shortly, providing an actual perspective about functional foods in Turkey. Within a compilation framework, developments, current status and legal infrastructure in Turkey is reviewed and various suggestions that would serve as beneficial in the future are given.

Functional food concept refers to the food which, besides the nutritious values, possesses one or more effective components that serve to protect health, to heal and/or to reduce risk of illness, and whose aforementioned effects are proven scientifically and clinically [8-11]. In other words, foods that provide physiological benefits and/or can reduce chronic disease risk along with their nutritional values are called functional foods.

Functional foods can be unprocessed natural foods as well as foods that are enriched with a functional component or foods that are modified by genetic engineering and they can be consumed in daily diet. Names like health nutrients, medical nutrients, regulatory nutrients, special diet nutrients and pharmaceutical nutrients are also used instead of the term "functional food". The term functional food emphasizes that the food is related to health [9, 10].

Addressing the concerns about preventing chronic disease in an ageing population, research on functional foods has begun in Japan in the early 1980s. The term Functional Foods was introduced in order to update the terminology associated with fortified foods, to allow for new alleged health claims. Due to the expansion of the range of added ingredients and consequently their claimed health benefits, functional foods gained popularity in 1990s [11].

Gradually increasing scientific studies infer that food components (plant based ones are called phytochemicals and animal based ones are called zoochemicals) have beneficial effects on health and contribute to preventing illnesses such as cardiovascular diseases, cancer and osteoporosis. Functional foods can be foods that are consumed in their natural state in daily diet (tomato-lycopene) or foods whose components are changed (yoghurt-protein-bioactive peptide) or foods that are enriched in order to gain greater positive effects (egg that contains omega-3, iodized salt) [8, 9, 12].

In this study, the literature about the functional foods in Turkey was examined and a review concerning the subject is presented. Within the scope of the study, relevant literature, laws, announcements and regulations were evaluated. Limitations of this study consists of the facts that formal information about functional food in Turkey is almost non-existent, some food products are not regarded as functional foods in any kind of classification and statistics despite the fact that they are actually functional foods in terms of their content and quality, and some functional foods not being included in production and consumption data because they are produced at home.

In this study, it has come to attention that, with the significant impact of the media, demand towards many long-lost foods that have cultural and traditional value such as yoghurt, kefir, tarhana (tarhana or trahana is dried food ingredient based on a fermented mixture of grain and yoghurt or fermented milk found in the cuisines of Southeast Europe and Middle East. Dry tarhana has a texture of course, uneven crumbs, and it is usually made into a thick soup with water, stock or milk) and vinegar have increased and home-production with traditional methods has gained momentum. This situation infers that, apart from functional foods that are produced by the food industry in Turkey, even though the community does not know the concept, there are foods being produced with homemade methods due to the belief that they are beneficial to human health.

LEGAL INFRASTRUCTURE IN TURKEY

Definition/naming and historical background studies related to functional foods in Turkey follow developments in the world, particularly in the European Union. It is known that definition efforts came up because of the production of such products for mass market. Developments in the market still continues with the definition, naming and regulatory efforts [13-16].

With need arising from the onset of the market-oriented functional food production and functional food being under the scope of food industry, conceptualization studies concerning these products and legislation efforts in order to regulate the relevant industry and markets also started [6].

According to the European Union (EU) Functional Food Commission; for a food to be considered as functional food, along with its basic nutrient characteristics, it must be effective in improving human health and/or preventing diseases [17, 18]. Nowadays, because functional foods are thought to reduce negative effects of unhealthy life style and dietary habits and delay aging, they are consumed by many people and have become increasingly popular [19-22].

While there is not a common agreement upon conceptualization, characteristics of functional foods are defined by looking at the common points of different definitions [14, 17, 23-25]:

- It should contribute to individual's nourishment; help protecting and improving health.
- Its nutritious and beneficial characteristics should have scientific grounds within the perspective of medical and nutritional science.
- Optimal consumption amount of the food or component should be determined in compliance with medical and nutritional literature.
- The relevant food should be proven to be safe to consume.
- The food components' physicochemical, quantitative and qualitative characteristics should be determined.
- If the food gained functional characteristics after being processed, nutritious characteristics should not be lost.
- The food must be a nutrient that is consumed frequently, not one that is sparsely consumed.
- The food must be in its naturally consumed shape.
- The food or component should not be a substance that is used as drug.

Legal regulations realized in Turkey are similar to the ones in the EU. With market-oriented production of foods or food components beneficial to health and their involvement in food industry, conceptual definition and legal infrastructure required for market regulations started to be prepared. Market requirements as well as responsibilities that came with EU membership process speeded up the preparation of legal infrastructure.

Below, current legislation related to functional foods in Turkey is explained shortly and sorted chronologically.

Year 2002 The Turkish Food Codex Regulation on Food Labeling and Informing Consumers [26]

Turkish Food Codex Announcement Concerning Foods Intended for Particular Nutritional Uses defines foods intended for particular nutritional uses as "it refers to foods that, depending on their special composition or

production processes, can openly be distinguished from foods intended for normal consumption, suitable to the stated particular nutritional intentions and that are marketed by remarking this suitability". The purpose of this announcement, which is a joint study of Ministry of Food, Agriculture and Livestock and Ministry of Health, is to determine rules and groups related to packaging, labeling, advertising of foods intended for particular nutritional uses. This codex is updated in 2019.

Year 2004 Law Regarding Food Production, Consumption and Inspection Numbered 5179 [27]

Being the first legal text containing the term "functional food", Law Regarding Food Production, Consumption and Inspection Numbered 5179 is important. It defines foods in this group with the term "functional food" as well as the term "special food". This law divides "food or food compositions that are beneficial to health" into three groups. These groups are functional/special statement foods, foods intended for particular nutritional uses and diet foods with medicinal purposes and their definitions were given same as in the undermentioned law.

Year 2006 Announcement About Amendment of Rules of Labeling Turkish Food Codex Food Substances in Terms of General Labeling and Nutrition Announcement [28]

Announcement About Amendment of Rules of Labeling Turkish Food Codex Food Substances in Terms of General Labeling and Nutrition Announcement which was prepared in order to determine rules related to promotion and advertisement of food products and labeling of food products which are presented to the end customer in terms of general labeling and nutrition defines foods intended for particular nutritional uses as "including baby formula and juvenile food, food products that are prepared or formulated in order to tend to the needs that arise from particular physiological circumstances and/or diseases, depending on their own special composition or production steps that can be distinguished from other food products, suitable to the nutritious needs in its statement and offered to consumption emphasizing this suitability". In the announcement there are also health statements allowed on the products such as "low cholesterol/low fat/low saturated fat acid/ low sodium helps with cardiovascular health, sugar free products help with dental health, calcium helps to strengthen bone structure and fiber/prebiotic and prebiotic bacteria help regulating the digestive tract".

Year 2006 Turkish Food Codex Components That Can Be Added to the Food Used for Particular Nutritional Uses Announcement [29]

Purpose of Turkish Food Codex Components That Can Be Added to the Food Used for Particular Nutritional Uses Announcement is to determine vitamin, mineral, amino acid and other components in nutritious components that can be added to food used for particular nutritional uses.

Year 2010 Veterinary Services, Plant Health, Food and Animal Food Law Numbered 5996 [30]

Final law related to the matter was published in 4 January 2012. Veterinary Services, Plant Health, Food and Animal Food Law Numbered 5996 regulates food used for particular nutritional uses that are formulated, processed or prepared in order to tend to the needs of gluten intolerant individuals in order to grant these products' proper and hygienic production, preparation, processing, conservation, transportation and marketing.

When legal regulations related to functional foods are reviewed, it is seen that the term "functional food" is included in the legislative texts; rules about packaging, labeling and advertising are determined. An amendment has been made in the article related to advertising and health statement prohibition that distinguished functional foods from similar products and health statements that can be used in advertisements and product labels are allowed for ten separate components which were subject to limitations that were dictated in the bylaw. Because of the fact that functional food is a new sector

in the world markets as well as in Turkey, problems that occur in many countries also occur in Turkey [31]. Significant progress has been made about preparing the related legislation about the matter but it is still to be finalized.

EXPANSION OF FUNCTIONAL FOOD MARKET IN TURKEY

Functional food consumption in Turkey (one of the biggest countries in Europe, with its population around 80 million) is considerably low compared to the leading countries in Europe. Nevertheless, increase in the sales volume suggests that this is a growing market and a potentially profitable one. It is observed that the demand for the packaged functional food is increasing and this demand is mainly driven by the rising urban population in the big cities [3, 32]. Although still quite limited when compared to Europe, it is seen that functional food consumption had an impressive growth during recent years with 52 per cent. The functional food sales in Turkey between 2012 and 2017 are shown in Figure 1. [3].

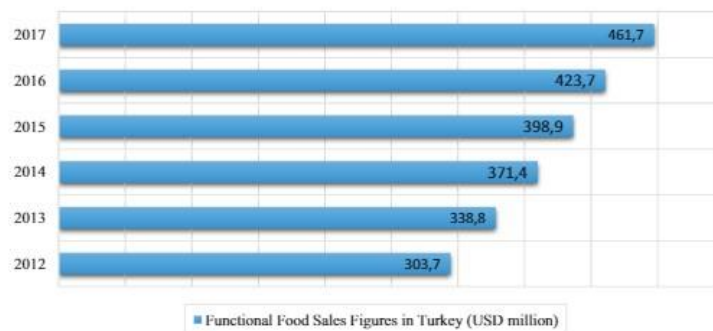


Figure 1. Functional food sales in Turkey 2012-2017 [3]

Because functional foods are a developing sector in Turkey, no official data are present about how the market changed from past to the current state. There is no separate category as functional food in official records and there are no statistical data under this title. While they are not stated as functional foods conceptually, "foods or food components that are beneficial to health" are in the daily diet since ancient times in Central Asia and Anatolia. Kefir and yoghurt which are among the oldest functional foods are consumed in Turkey for a long time. While they are not known as functional foods, foods that has been consumed since ancient times such as yoghurt, kefir and pickle gained public interest recently, which indicates that a different awareness is present about healthy diet and healthy foods [33-36].

From this perspective it is convenient to inspect the momentum that yoghurt -a historical and traditional food in Turkey which has been consumed for long- has gained within the healthism agenda and interpret the demand increase towards functional foods within this framework. Traditionally yoghurt had only been produced at homes; later, for a period, this practice was relatively abandoned with the development of the

industry. Homemade production once again gained momentum in the past few years because of kefir and yoghurt (while the exact date is unknown, it is known that yoghurt was consumed by nomad Turkish tribes for first time in the ancient times. It is estimated that yoghurt was developed when the Milk conserved in animal skins by nomad Turkish tribes naturally went sour and coagulated. Yoghurt was introduced first to Middle East and Anatolia, and then to Europe in the 16th Century [36]) being shown as beneficial to health by the media. The information about against which health problems yoghurt would be beneficial or which diseases it would prevent as well as its socially known taste and benefits increased the public interest towards yoghurt in recent years (Figure 2). Along with this, the information about homemade yoghurt being beneficial to health that was given by healthcare professionals directed people to make yoghurt for their health. Also kits containing milk and yoghurt culture which make the homemade production easier were put on the market. It would be convenient to point out that, since homemade production is not included in the yoghurt consumption data in Turkey, more yoghurt is being produced and consumed than it is shown in the available statistics.

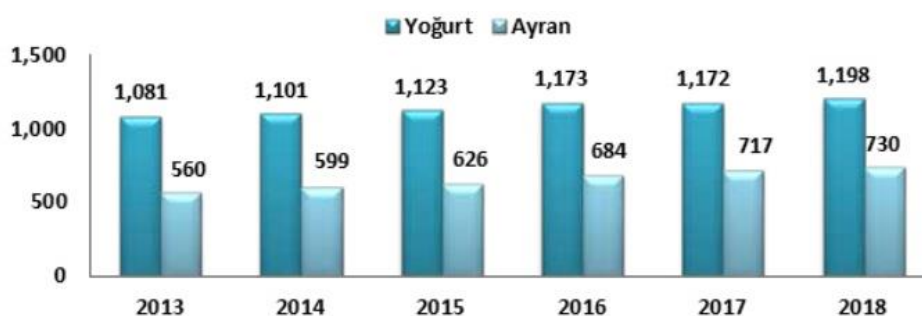


Figure 2. Change of yoghurt production (Tons) [35, 37]

FUNCTIONAL FOOD AND MEDIA

Programs with health context being presented in media in the last 15 years, celebrities as well as healthcare professionals sharing content related to health caused society to gain an interest in cautious nutrition. While there is yet to be a knowledge and awareness about functional foods in Turkey, an activity in this sector started to develop with the expectation of health benefits.

It is obvious that because of interest in health, with the effect of traditional and new media and social networks in Turkey, advertisement, promotion and sharing related to functional foods will increase and this will cause the production to increase. It might be claimed that in situations where correct information is not given, consumers transfer their insufficient and/or unbalanced dietary habits to these products and try to treat their current diseases by consuming these products. It should be remarked that this situation might bring negative health effects [37, 38]. Because of this, it is crucial that every content in media provides correct information and awareness. It is known that in the current world where health, healthy lifestyle and healthy diet claims - healthism in short- are immensely intense, some producers that seek to gain more sales and profit have exaggerative and exploitive approaches [1, 39].

Sometimes information and news presented in various networks may turn into "bio fantasy" media stories. People believing in miracles and appeal to extreme treatment methods date back to very old times. Common publication of such health presentations in media may cause people to both lose their health and their hope to be treated. In addition, belief in miracles and extreme treatments can cause people who can turn the situation into their benefit to occur, turn these people into heroes, and thus, reinforce the expectation of miracles. It is a known fact that the programs that are designed in order to increase view rating instead of giving correct health information are commercially more successful. Therefore, exaggerated claims and presentations in the media might cause every product to be seen as a miracle. Miracle elixirs, miracle treatments take their place in media, especially in television everyday with different formulations. From health discourse information perspective, media should state that the way to benefit from positive effects of food is a high varied and well balanced diet [2, 39].

Another issue to emphasize is that the health information in media and news, programs, web sites, blogs or series must be prepared ethically in order to avoid the impression that they can solve any kind of health problem instantly. A functional food discourse that is apart from ethical concerns could cause balanced and enough nourishment knowledge to be overlooked. New communication technologies, internet and various tools of the new media enabled a new potential to emerge, which is named as patient empowerment [40-44]. Patient empowerment subject is a common subject in both government policies and healthcare services literature. Another important concept along with patient empowerment is health literacy. To increase people's health literacy level will be beneficial in individual, social and economic level [45].

CONCLUSION AND SUGGESTIONS

While functional food legislation in Turkey is still to be completed, it is important to frame it contextually in order to overcome difficulties for sector and market shareholders. Executed regulations were prepared in accordance with EU legislations. In addition to this, it is necessary to be prepared against any problem that may occur in practice and implement stronger regulations especially in product promotions. Knowledge deficiency of consumers and retailers regarding the classification and definition of functional foods is the primary factor that prevents the development of the market. Significant number of product lines and variety, inappropriate labeling lacking necessary information, advertisements being focused on a limited range of products are the main reasons of this lack of knowledge for consumers and retailers. Serious legal regulations should be implemented about label contents in order to increase the trust of consumers in product contents. It must be remembered that wrong or manipulative information about products can spread quicker. In order to remove asymmetrical information, producers must correctly inform retailers to whom they are the closer party. It is important that consumers are aware which food products are really healthy. In recent years, in line with the increasing health awareness of consumers, companies in the food industry have begun to emphasize health-protecting and improving effects on the packaging of their products. However, mentioning a specific benefit on the packaging of a food product is linked to certain conditions since 2006 with regulations made by the EU [4, 5]. In Turkey, expressions that can be printed on the packaging are regulated by the

Turkish Pharmaceuticals and Medical Devices Agency Health Products' Health Claims Regulation which was published in Official Gazette No. 28670 on June 7, 2013. It is vital that all labeling and promotion material abide by the international and national regulations.

Functional foods being in the growing phase of product life curve in Turkey and being an advantageous market shows that the market will have an attractive quality for a long time. It is obvious that this process will be beneficial to customers and increase product variety. However, market's attractive side will also attract businesses that offer bad products and untruthful claims. This process may have negative effects for consumers. In these times where healthy lifestyle is important, prevention of negativity in the development process of market means creating a healthy market as well as protecting health of consumers. Under this context, market inspections along with raising awareness in consumers via health communication studies are significantly important.

Trend of growth in the functional food market in Turkey suggests that the promotion activities for these products will increase in the near future. Although the messages given to increase the perceived reliability of functional food products are important in promotion activities that the food sector players will carry out, they are not sufficient on their own. Messages encouraging consumers to consume healthy foods should also be given, and the positioning strategy should be established within this framework [4].

With the foresight that there would be an increase in modified functional foods, it will be convenient to see that reliability investigations are done before consumption recommendation of these foods. As it is for many foods, excessive consumption could be harmful. Botanical supplements that are labeled with "natural" statement are not always safe or bear no side effects. When common usage of functional foods that have physiological activity is considered, their benefits and risks on societies and individuals should also be inspected and evaluated carefully.

Because the consumption levels in Turkey is considerably low when compared to other European countries, and such products do not take part in the mass market, sales and promotion efforts need to be targeted to a specific, niche segment. Conducting extensive customer-focused studies before a product is presented to the Turkish market will also be beneficial for the healthy expansion of the market. The number of studies in this area is limited, and contradictory results have been demonstrated. There is a need for further work by scientists from different areas such as communication, advertising, marketing and product development [46-48]. With this kind of detailed and collaborative studies, the functional food field can develop significantly in the positive direction and contribute to the health of people. Consumers' knowledge background of functional foods must also be increased by educational activities. Communication strategies are also very important in the promotion of

functional foods by informing the population to understand and increase knowledge in this area, especially regarding the health claims.

ETHICAL STANDARDS DISCLOSURE

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving research study participants were approved by the name of the ethics committee. Verbal informed consent was obtained from all subjects. Verbal consent was witnessed and formally recorded.

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to thank the Turkish Ministry of Health, Turkish Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Turkish Undersecretariat of Customs and Commerce, Turkish Pharmaceuticals and Medical Devices Institution.

FINANCIAL SUPPORT

There is no financial support in this study, no support from any organization for the submitted work.


REFERENCES

- [1] Sezgin, D. (2016). Health transformation: health paradigm and media. *Society and Physician*, March-April(2), 101-109.
- [2] Sezgin, D. (2011). *Medicalized life and individualized health*, Istanbul, Ayrinti.
- [3] Gok, I., Ulu EK. (2018). Functional foods in Turkey: marketing, consumer awareness and regulatory aspects, *Nutrition & Food Science*. DOI: 10.1108/NFS-07-2018-0198.
- [4] Arslan, Y. (2020). The effect of trust in functional foods on willingness to buy: the moderating role of general health interest. *Business and Economics Research Journal*, 11(1), 279-291.
- [5] Ozkan, P., Yucel, E., Yucel E. (2018). The relationship between consumer innovativeness and attitudes toward functional food: an application on university students. *International Journal of Economic and Administrative Studies*, (17. UIK Speacial Issue), 265-280.
- [6] Ozcicek Dolekoglu, C., Sahin, A., Giray, F.H. (2015). Factors that affect functional food consumption in women: example of mediterranean provinces, *Agriculture Sciences Magazine*, 21, 572-584.
- [7] Bozkurt-Bekoglu, F., Ergen, A., Inci, B. (2016). The impact of attitude, consumer innovativeness and interpersonal influence on functional food consumption, *International Business Research*, 9(4), 79-87.
- [8] Basaran, A.A. (2008). Nutraceuticals, *Journal of Medical Science*, 28, 146-149.
- [9] Baser, K.H.C. (2003). Industrial plants as sources of dietary supplements of plant origin, ed. M. Maffei. In *Dietary Supplements of Plant Origin A nutrition and Health Approach*, Taylor and Francis, London. 31-42p.

- [10] Hacıoğlu, G., Kurt, G., (2012). Consumers' awareness, acceptance and attitudes towards functional foods: a research in Izmir city, *Business and Economics Research Journal*, 3(1), 161-171.
- [11] McConnon, A., Cade, J., Pearman, A. (2001). Stakeholder interactions and the development of functional foods, *Public Health Nutrition*, 5(3), 469-477.
- [12] Beer-Borst, S., Costanza, M.C., Morabia, A. (2008). Experimental approach to measuring functional food consumption for risk factor surveillance, *Public Health Nutrition*, 12(1), 29-35.
- [13] Childs, N.M. (1997). Foods that help prevent disease: Consumer attitudes and public policy implications. *Journal of Consumer Marketing*, 14(6), 433-447.
- [14] Erbas, M. (2006). Functional Foods as a New Group of Food, in *Turkish 9th Food Congress*, Bolu, Turkey.
- [15] Turkish Public Health Institution, Very Stakeholder Health Responsibility Development Program 2013-2023, (2014). Food Reliability and Developing Healthy Nutrition, Anil, Ankara.
- [16] Kok Tas, T., Sezer, D. (2012). Consumption research of functional foods in Turkey, Product Variety and Legal Regulations, in *Turkey 11th Food Congress*, Hatay.
- [17] Bech-Larsen, T., Scholderer, J. (2007). Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects, *Trends in Food Science & Technology*, 18(4), 231-234.
- [18] Vural, A. (2004). Functional foods and their effects on health. *Food and Animal Food Science Technology*, 6, 51-58.
- [19] Devcich, D.A., Pedersen, I.K., Petrie, K.J. (2007). You eat what you are: Modern health worries and the acceptance of natural and synthetic additives in functional foods, *Appetite*, (48), 333-337.
- [20] Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe, *Journal of Food Engineering*, 58(2-3), 181-188.
- [21] Niva, M. (2007). 'All foods affect health': Understandings of functional foods and healthy eating among health-oriented Finns, *Appetite*, 43(3), 384-393.
- [22] Siegrist, M., Stampfli, N., Kastenholz, H. (2008). Consumers' willingness to buy functional foods. The influence of carrier, benefit and trust, *Appetite*, 51, 526-529.
- [23] Urala, N., Lähteenmäki, L. (2003). Reasons behind consumers' functional food choices, *Nutrition & Food Science*, 33(4): 148-158.
- [24] Urala, N., Lähteenmäki, L. (2004). Attitudes behind consumers' willingness to use functional foods. *Food Quality and Preference*, 15(7-8), 793-803.
- [25] Hilliam, M. (1996). Functional foods: The Western consumer viewpoint, *Nutrition Reviews*, 54(11), 189-194.
- [26] The Turkish Food Codex (2002). Regulation on Food Labeling and Informing Consumers, Ministry of Agriculture and Forestry, Ankara, Turkey.
- [27] Law Regarding Food Production Consumption and Inspection, in 5179, The Grand National Assembly of Turkey Legislation, (2004).
- [28] Announcement About Amendment of Rules of Labeling Turkish Food Codex Food Substances in Terms of General Labeling and Nutrition Announcement. (2006).
- [29] Turkish Food Codex (2006). Components That Can Be Added to the Food Used for Particular Nutritional Uses Announcement. Ministry of Agriculture and Forestry, Ankara, Turkey.
- [30] Turkish Law on Veterinary Services, Plant Health, Food and Animal Food. Law Number, in 5996. (2010).
- [31] Gezginc, Y., Gok, S. (2016). With the Adana province example, awareness of consumers towards functional foods. *Ataturk University Journal of the Agricultural Faculty*, 47(2): 101-106.
- [32] Euromonitor International (2018). Fortified/Functional packaged food in Turkey. <https://www.euromonitor.com/fortified-functional-packaged-food-in-turkey/report> (accessed 5 January 2019).
- [33] Turkish Ministry of Development Tenth Development Plan (2014). 2014-2018 Specialization Commission on Food Products and Safety. Ankara.
- [34] Aras, I. (2015). *Milk and dairy products sector report*, Mevlana Development Agency, Konya, Turkey.
- [35] Turkish Ministry of Food-Agriculture-Livestock, (2018). Milk and Milk Products Sector Foreign Markets Study.
- [36] Sireli, U.T. Onaran, B., (2013). The Secret of Long Life: Yoghurt. *Suthatti*, 16, 16.
- [37] Turkish Statistic Institute and Turkish National Milk, (2018). Turkish Statistical Institute and Turkish National Milk Council Data.
- [38] Gilbert, L.C. (2000). The functional food trend: What's next and what Americans think about eggs. *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 507-512.
- [39] Lawrence, M., Rayner, M. (1998). Functional foods and health claims: a public health policy perspective. *Public Health Nutrition*, 1(2), 75-82.
- [40] Isleten, M., Yuceer, Y.K., Yilmaz, E., Mendes, M. (2007). Consumer attitudes and factors affecting buying decision for functional foods. *Gıda*, 32(1), 25-32.
- [41] Greenhalgh, T., Wessely, S. (2004). "Health for me": A sociocultural analysis of healthism in the middle classes. *British Medical Bulletin*, 69(1), 197-213.
- [42] Urala, N., Lähteenmäki, L. (2006). Hedonic ratings and perceived healthiness in experimental functional food choices *Appetite*, 47(3), 302-314.
- [43] Yabancı, N., Simsek, I. (2007). Probiotic product consumption status of college Students. *TSK Protective Doctorship Journal*, 6(6), 449-454.
- [44] Coskun, T. (2005). Effects of functional foods on our health child, *Health and Diseases Magazine*, 48, 89-94.
- [45] Sezgin, D. (2013). Understanding health literacy. *Galatasaray University Iletisim*, Special Issue, 73-92.

- [46] Oncebe, S., Demircan, V. (2019). Factors influencing consumers' consumption for functional foods. *Akademik Gıda*, 17(4), 497-507.
- [47] Buyukkaragoz, A., Bas, M., Saglam, D., Cengiz, S.E. (2014). Consumers' awareness, acceptance and attitudes towards functional foods in Turkey. *International Journal of Consumer Studies*, 38, 628-635.
- [48] Dogan, I.S., Yildiz, O., Eydurán, E., Kose, S. (2011). A study on determination of functional food consumption habits and awareness of consumers in Turkey. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(2), 246-257.
-
-

Çeşit, Olgunluk ve Yoğurma Şartlarının Zeytinyağının Sterol Profili Üzerine Etkisi

Sedef Aydın¹ , Gülcan Özkan¹  ✉, Aslı Yorulmaz² 

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

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

Geliş Tarihi (Received): 12.03.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 20.07.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): gulcanozkan@sdu.edu.tr (G. Özkan)

☎ 0 246 211 16 34 📠 0 246 211 15 38

ÖZ

Zeytinyağı, besinsel ve diyetetik özelliklerinden dolayı Akdeniz diyetinde önemli bir yere sahiptir. Zeytinyağı kalitesi ve bileşimi çeşit, coğrafi alan, iklim, çevresel faktörler, olgunlaşma, ekstraksiyon ve yağ depolaması gibi birçok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Yüksek yağ verimine sahip ve sterol bileşenleri bakımından zengin natürel sızma zeytinyağı üretimi gıda sanayiinde önemli bir yere sahiptir. Zeytinyağı üretimi aşamasında yoğurma koşulları, kalite parametreleri üzerinde oldukça etkilidir. Bu derlemede zeytin çeşidi, coğrafi alan, olgunluk derecesi ve farklı yoğurma koşullarının zeytinyağının sterol profili üzerine etkisine yer verilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu olgunlaşma süresince toplam sterol miktarı, Δ -5-avenasterol, kampesterol bileşen miktarlarının genelde arttığı, toplam sterol ve β -sitosterol miktarının ise azaldığı tespit edilmiştir. Yoğurma parametrelerinin etkisi incelendiğinde ise yüksek sıcaklık ve süre uygulamalarının zeytinyağının sterol profilini olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çeşit, Olgunluk, Sterol, Yoğurma, Zeytinyağı

Effect of Variety, Maturity and Malaxation Conditions on Sterol Profile of Olive Oil

ABSTRACT

Olive oil occupies an important place in the Mediterranean diet due to its nutritional and dietetic qualities. The quality and composition of olive oil may depend on many factors such as olive variety, geographical area, climate, environmental factors, maturation, oil extraction and storage conditions. Extra-virgin olive oil has an important place in the vegetable oil industry due to its high oil yield and sterol profile. Malaxation conditions are influential on the quality parameters of olive oil. In this review, the effects of cultivar, maturity index, location and different malaxation conditions on sterol profile of olive oil are summarized. Literature studies showed that the amount of total sterols, Δ -5-avenasterol and campesterol generally increase while β -sitosterol and total sterols usually decrease throughout maturation period. Considering malaxation parameters, on the other side, high temperature and time adversely influence the sterol profile of olive oil.

Keywords: Variety, Maturity, Sterol, Malaxation, Olive oil

GİRİŞ

Zeytinyağı, sadece zeytin ağacı (*Olea europaea* L.) meyvelerinden, mekanik veya fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen, berrak, yeşilden sarıya

değişebilen renkte, kendine özgü tat ve kokuda olan natürel bir yağdır [1]. Uygulanan fiziksel işlemler, zeytinyağının doğal niteliklerinde herhangi bir değişim meydana getirmez. Zeytinyağı, doğal haliyle yani

rafineye tabi tutulmadan tüketilmesiyle diğer tohum yağlarından ayrılır [2].

Zeytinyağının yaklaşık %98'i majör bileşenler olan trigliseritler, yağ asitleri ve fosfatitlerden meydana gelirken, kalan kısmını ise minör bileşenler olan steroller, fenolik maddeler, serbest yağ asitleri, hidrokarbonlar, alifatik ve triterpenik alkoller ile uçucu bileşenler oluşturmaktadır [3].

Zeytinyağının sabunlaşmayan kısmının büyük bölümünü oluşturan steroller, sağlık üzerine olumlu etkilerinin yanında zeytinyağına karakteristik özellik kazandırması bakımından oldukça önemli bileşenlerdir. Aynı zamanda zeytinyağının sterol bileşimi, zeytinyağına diğer tohum yağlarının karıştırılmasıyla yapılan tağışışleri belirlemede de kullanılan önemli bir saflık kriteridir. Uluslararası Zeytinyağı Konseyi (UZK) ve Türk Gıda Kodeksi tarafından zeytinyağı toplam sterol miktarının en az 1000 ppm olması gerektiği bildirilmiştir. Fitosterollerin sağlık açısından en önemli etkisi ise bağırsaktaki kolesterol emilimini engelleyerek, plazma ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol seviyelerinin azalmasına neden olmasıdır [4, 5]. Buna ek olarak, β -sitosterolün *in-vivo* karsinogenezi baskılayabildiği kanıtlanmıştır [6].

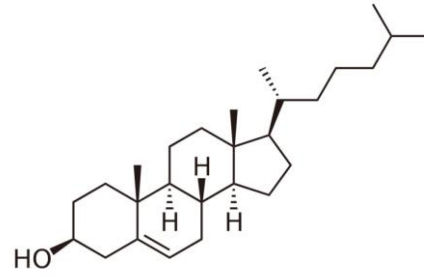
Zeytinyağındaki sterol miktarı ve bileşimi; meyve çeşidi, hasat zamanı, coğrafi alan, iklim, çevresel faktörler, uygulanan ekstraksiyon ve rafineye işlemi ve depolama koşulları gibi birçok faktöre bağılı olarak değişmektedir [7-11].

Yüksek verime sahip ve sterol bileşenleri bakımından zengin natürel sızma zeytinyağı üretimi gıda sanayiinde önemli bir yere sahiptir. Sızma zeytinyağı üretiminde işleme koşullarının da zeytinyağı kalitesi ve sterol profili üzerine etkili olduğu bilinmektedir. İşleme koşullarından yoğurma sıcaklığı ve süresi sterol bileşimi üzerinde etkilidir [12-14]. Bu bilgiler kapsamında yapılan bu derlemede zeytin çeşidi, lokasyon, olgunluk ve yoğurma şartlarının zeytinyağının sterol profili üzerine etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

ZEYTİNYAĞI STEROLLERİNİN KİMYASAL YAPISI VE ÖNEMİ

Zeytinyağının sabunlaşmayan kısmının önemli bir bölümünü oluşturan steroller, minör bileşenlerden biridir. Beslenme, sağlık, eczacılık ve gıda endüstrisi için önemli bileşenler olup, kozmetikte emülgatör ve eczacılıkta hormon üretiminin öncü maddesi olarak kullanılırlar [15]. Fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından birbirlerine benzer olan steroller; tatsız ve kokusuz, genellikle sıcaklığa duyarlı, kolay kristalize olan, suda çözünmemelerine karşın eter, kloroform gibi yağ çözücülerinde iyi çözünen bileşenlerdir. Diğer taraftan molekül yapılarının benzer olması nedeniyle, çoğunlukla karışım halinde kristalize olurlar. Yağ asitleri ile esterleşme tepkimesi verebilme özellikleri, onların asetat esterlerine dönüştürülmesiyle oluşan tuzların özelliklerinden yola çıkarak, ayrı ayrı belirlenmelerini sağlamaktadır [15-17].

Kimyasal yapı olarak polisiklik alkoller grubundan olan steroller, kısaca 'steran halkası' denilen siklopentanopenantren halkasına sahiptir (Şekil 1.). Bütün sterollerde bu steran halkası ortak, fakat yan zincirler farklıdır. Steroller, sekonder alkol olmaları sebebiyle, doğada hem serbest halde, hem de yağ asitleri ile esterleşmiş olarak bağılı formda bulunurlar [18, 19]. Doğada bulunan steroller, sentezlendikleri kaynaklara göre, hayvansal organizmada sentezlenenler (zoosteroller), bitkisel organizmada sentezlenenler (fitosteroller) ve küf kaynaklı olanlar (mikosteroller) olmak üzere üç sınıfta gruplandırılırlar [16].



Şekil 1. Steran Halkası [20]

Sınıflandırmada bitki sterollerini olarak da adlandırılan fitosteroller, meyvelerde, sebzelerde ve bitkisel gıdalarda mevcuttur ve bitki hücre membranlarının temel bileşenleridir [21, 22]. Fitosterollerdeki çift bağların doğal hidrojenasyonu ile oluşan ve dolayısıyla steran halkasında çift bağı bulundurmayan fitosteroller ise doğada oldukça az miktarlarda bulunurlar. Yalnızca bazı tahıl çeşitlerinin dokularında yüksek oranda mevcuttur. Fitosterollerden yaygın olarak bulunanlar ise sitosterol ve kampestanoldür [20, 21, 23].

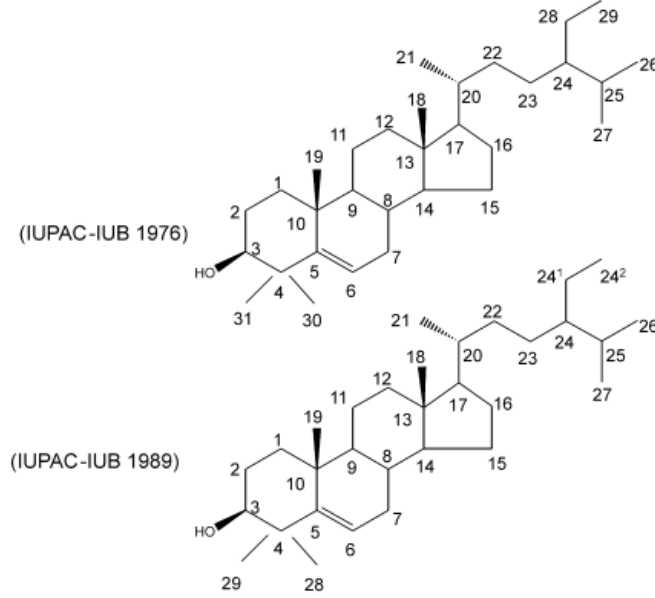
Bitkisel steroller, serum kolesterol düzeyini düşürmesi sebebiyle koroner kalp rahatsızlığının önlenmesinde önemli etkileri olan bileşenlerdendir [6, 24-26]. Buna bağılı olarak fitosterollerin günlük alımı ne kadar çok olursa, kolesterol emilimi ve serum kolesterol seviyesi de o oranda düşük olur [6]. Bu bağlamda bitkisel sterol içeriğinin artırıldığı, yeni fonksiyonel gıdaları üretmek için çalışmalar devam etmektedir. Zeytinyağında temel bileşen olarak kabul edilen β -sitosterol, yağların sindirimi sırasında kolesterolün bağırsaklarda emilimini engelleyerek kolesterol düzeyinin kontrolünde büyük bir öneme sahiptir [3, 6]. Buna ek olarak, β -sitosterolün *in-vivo* karsinogenezi baskılayabildiği kanıtlanmıştır. Prostat kanser hücreleri üzerine, kolesterol ve β -sitosterolün etkilerinin kıyaslandığı bir çalışmada [6], β -sitosterol %24 civarında hücrenin büyümesini engellemiş ve kanser hücrelerinin ölme oranını 4 kat oranında artırmıştır.

Bitkisel steroller, yağda %0.5-1.5 oranında bulunur. Bu biyoaktif bileşenler, yağın saflık derecesi hakkında da güvenilir bilgi vermesi ve diğer tohum yağlarıyla tağışışinin belirlenmesi bakımından kalite kriteri olarak oldukça önemlidir [10].

Fitosteroller triterpen familyasındandır. Triterpenler 100 farklı fitosterol ve 4000'den fazla diğer tip triterpenler içermektedir. Triterpenler bitki hücre zarının önemli yapısal bileşenleridir [16].

Fitosterollerin bilimsel olarak adlandırılmasında başlıca 2 sistem mevcuttur (Şekil 2). Bunlar IUPAC-IUB 1976 ve IUPAC-IUB 1989'daki sistemlerdir [20]. IUPAC-IUB 1976 ve IUPAC-IUB 1989 adlandırılmalarına göre,

fitosteroller karbon atomuna bağlı metil grubuna göre sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırma metoduna göre; hiç metil grubu içermeyenler "4 α -desmetil steroller", 4. karbondan bir metil grubu içerenler "4 α -(mono) metil steroller", 4. karbondan 2 metil grubu içerenler "4,4-dimetil steroller (triterpen alkoller)" olarak adlandırılırlar [2, 20].



Şekil 2. IUPAC-IUB 1976 ve IUPAC-IUB 1989 adlandırma sistemlerine göre sterollerin formülasyonu

Bu sterol gruplarının arasındaki fark steroid çekirdeğindeki 4. karbon atomunda bulunan metil grubu varlığından ya da sayısından ileri gelmektedir. 4 α -desmetil steroller genellikle sabunlaşmayan kısmın %50'sinden fazlasını oluştururken, 4 α -metil steroller ve 4, 4-dimetil steroller ise %10-30'luk bölümü oluşturur. Kalan %10-25'lik kısım da skualen, tokoferol ve hidrokarbonlardan meydana gelir [15]. 4,4-dimetilsteroller ve 4 α -monometilsteroller, 4-desmetil fitosterollerin son ürün olduğu biyosentetik yolda metabolik ara ürünlerdir, ancak, çoğu bitki dokusunda düşük seviyelerde mevcuttur. Sikloartenol ve sikloartenol 4-desmetilsterollere, gramisterol ise 4- α -monometilsterollere örnektir [20].

Yaygın steroller olarak da isimlendirilen 4 α -desmetil steroller zeytinyağında en fazla bulunan sterollerdir. Bu grupta zeytinyağında en yüksek oranda bulunanlar; β -sitosterol, Δ -5-avenasterol ve kampesteroldür. Stigmasterol, kolesterol, 24-metilenkolesterol, Δ -7-kampesterol, Δ -5,23-stigmastadienol, sitostanol, Δ -5,24-stigmastadienol, Δ -7-stigmastenol ve Δ -7-avenasterol de düşük düzeyde mevcuttur [2, 25, 26].

4 α -Desmetil steroller; 5. ve 6. karbonlar arasında bir çift bağa sahiptir ve bu sebeple Δ -5 fitosterol olarak adlandırılırlar. Buna ek olarak, bazı desmetil sterollerde çift bağ, 5 ve 6. karbonların yerine 7 ve 8. karbonların arasında yer alır ve bu nedenle de Δ -7 fitosteroller

olarak adlandırılırlar. Δ -5 ve Δ -7 desmetil sterollerin her ikisi de ikinci bir çift bağ içeriyorsa, bu bağ alkil yan zincirde, 22 ve 23. karbonlar arasında ya da 24 ve 28. karbonlar arasında yer alır. 29 karbonlu desmetil sterollerden stigmasterol, 5 ve 6. karbonlar arasında ve 22 ve 23. karbonlar arasında çift bağ içerir ve Δ -5,22E olarak isimlendirilir [20]. Şekil 3'te yaygın olan, 4 α -desmetil sterollerin kimyasal yapıları verilmiştir.

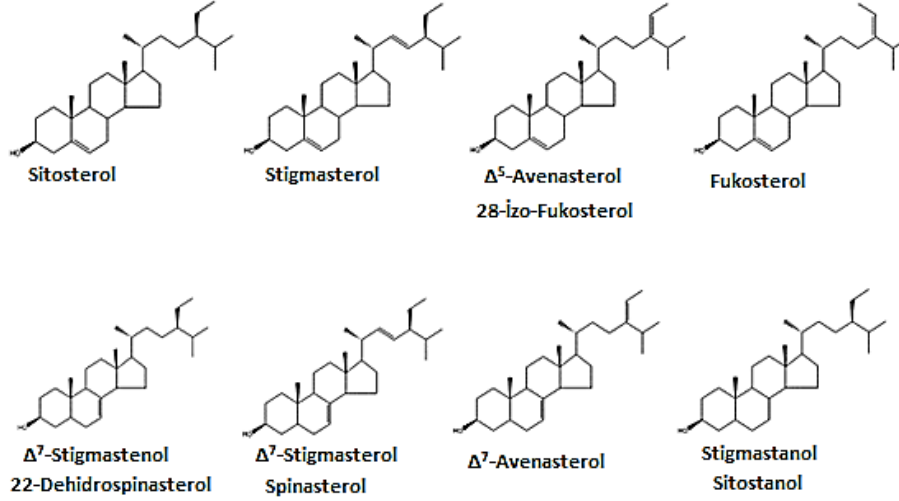
Diğer bir sterol grubu olan 4 α - (mono) metil steroller ise doğada yaygın bulunan sterollerin biyosentezinde ara ürünler olup, zeytinyağlarında eser miktarda bulunurlar. 4 α - metil sterollerin özellikle ester formunda bulunanlarını belirlemek zordur. Bazı araştırmacılar, bu tür sterollerin 100 g yağda 20 mg ve 68 mg düzeyinde bulduklarını tespit etmişlerdir. Başlıcaları obtusifoliol, gramisterol ve sitrostadienol'dür [2, 25].

Sınıflandırmada 3. grubu oluşturan 4,4- dimetil steroller (triterpen alkoller) ise, birçok bitkisel kaynakta genellikle minör bileşenler olarak yer almaktadır [25]. Temel triterpen alkollerden olan 4, 4-dimetil steroller, serbest ya da esterleşmiş formda bulunurlar. Başlıcaları β -amirin, butirospermol, sikloartenol ve 24-metilensikloartenoldür. Rafinasyon işlemi triterpen alkollerin yapısında önemli değişikliklere sebep olmaktadır. Triterpen dialkollerin başlıcaları ise eritrodil ve uvaoldur. Bunların zeytinyağındaki toplam miktarları 1-20 mg/100 g'dır [2].

ZEYTİN ÇEŞİDİNİN VE BÖLGESEL KARAKTERİZASYONUNUN STEROLLER ÜZERİNE ETKİSİ

Zeytinyağı çeşidinin ve bölgesel karakterizasyonunun sterol bileşenleri üzerine etkili olduğu bilinmektedir

[9,10]. Tunus, Portekiz, İspanyol, Türk çeşidi zeytinyağlarının sterol bileşimleri üzerine coğrafi köken ve çeşidin etkili olduğu bazı çalışmalarda elde edilen sterol çeşitleri ve bunların oranları Tablo 1'de özetlenmiştir



Şekil 3. Yaygın olan 4 α -desmetil steroller [20]

Tablo 1. Zeytinyağı sterol bileşimleri

Sterol Bileşenleri	Sterol Oranları (%)	Kaynaklar
Kolesterol	0.15-0.43	[27, 28, 30, 31, 32]
Brassikasterol	0.03-0.06	[30, 32]
24-Metilen Kolesterol	0.06-0.45	[26, 28, 30, 31, 32]
Kampesterol	2.28 -4.97	[26, 27, 28, 29, 30, 31, 32]
Kampestanol	0.09-0.19	[28, 32]
Stigmasterol	0.58-1.22	[26, 27, 28, 30, 31, 32]
Klerosterol	0.55-1.17	[27, 28, 30, 32, 33]
Sitostanol	0.61-1.24	[28, 30, 32]
β -sitosterol	72.08-90	[26, 27, 28, 29, 30, 31, 32]
Δ -5 avenasterol	4.82-20	[27, 28, 29, 31, 32]
Δ -5,24 stigmastadienol	0.1-0.92	[26, 28, 32]
Δ -7 Stigmastanol	0.20-0.42	[28, 32, 33]
Δ -7 Avenasterol	0.48-1.02	[27, 28, 31, 32]
Toplam β -sitosterol	92.96-95.08	[28, 29, 30, 32]
Eritrodiol+Uvaol Toplamı	0.72-3.62	[28, 29, 32]
Toplam Sterol	979.24-3015.57 ppm	[27, 28, 29, 30, 32]

Tablo 1 incelendiğinde yapılan çalışma sonuçlarına göre, toplam sterol içeriğinin 979.24-3015.57 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Toplam sterol miktarının ise, yaklaşık %72.08-90.00'ünü β -sitosterol, %4.82-20.00'sini Δ -5 avenasterol, %2.28 -4.97'sini ise kampesterol oluşturmaktadır.

Yukarıda tabloda özetlenen sterol bileşenleri üzerine zeytinyağı çeşidinin ve bölgesel karakterizasyonunun etkisinin incelendiği çalışma sonuçları aşağıda detaylı olarak sunulmuştur:

Itoh ve ark. [26], İspanyol çeşitlerinden elde edilen sızma ve rafine zeytinyağı ile pirina yağından oluşan 9 zeytinyağı örneğinin sabunlaşmayan madde (triterpen alkoller, 4-metilsteroller, steroller ve triterpen dialkoller) miktarlarının belirlendiği araştırma sonucu 44 farklı

bileşen tanımlamışlardır. Natürel sızma zeytinyağının sabunlaşmayan fraksiyonunun %89.3 oranında β -sitosterol, %5.6 oranında 28-isofukosterol ve %3 oranında kampesterol bileşeninden meydana geldiği tespit edilmiştir. Diğer minör bileşenlerin ise %1'in altında olduğu bildirilmiştir.

Üç farklı zeytin çeşidinden (Cvs. Cobrançosa, Madural ve Verdeal Transmontana) elde edilen yağların sterol bileşimi üzerine olgunlaşma derecesinin etkisinin belirlendiği bir diğer çalışmada [41], çeşitlerin farklı özelliklerine dayalı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda, 7 sterol bileşeni (kolesterol, kampesterol, stigmasterol, klerosterol, β -sitosterol, Δ -5 avenasterol, Δ -7 avenasterol) tespit edilmiştir. Analiz edilen örneklerin tamamı Avrupa Birliği (AB) mevzuatı

tarafından belirlenen 1000 ppm'in çok üzerinde toplam sterol içeriğine sahiptir [27].

Oueslati ve ark. [28], Tunus'un güneyinde Tataouine bölgesinde yetiştirilen 4 ayrı zeytin çeşidinden (Chemlali Tataouine, Fakhari Douirat, and Zarrazi Douirat) elde edilen zeytinyağlarının sterol bileşimini incelemişlerdir. Örneklere ait toplam sterol içeriğini 1040.92- 1717.02 ppm arasında, eritrodiol+uvaol toplamını %1.50-2.40 aralığında tespit etmişlerdir. β -sitosterol, Δ -5-avenasterol ve toplam β -sitosterol içeriklerinin ise sırasıyla %72.08-82.75, %9.55-19.54 ve %94.15-94.38 aralığında değişen oranlarda yer aldığını saptamışlardır. Araştırmacılar tarafından, sterol bileşimlerinde meydana gelen farkların coğrafi çeşitlilikten ileri geldiği bildirilmiştir.

Onsekiz ayrı yerli zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının fitosterol içeriklerinin incelendiği çalışmada, araştırma materyali olarak kullanılan Memecik, Uslu, Gemlik, Edremit, Çelebi, Gülümbe, Domat, Antalya yağlık, Saurani, Halhalı, Sarı Haşebi, Kalamata, Sarı Ulak, Nizip yağlık, Kilis yağlık ve Erkence zeytin çeşitleri, 3 farklı üretim yılında ve farklı bölgelerden toplanmıştır. Zeytinyağının sabunlaşmayan kısmının temel bileşeni olan β -sitosterol, en yüksek oranda Memecik çeşidi zeytinyağlarında (%89.25), en düşük oranda ise Saurani çeşidi zeytinyağlarında tespit edilmiştir. Δ -5-avenasterol yüzdesi en yüksek Saurani çeşidinde, en düşük Sarı Ulak çeşidinde bulunmuştur. Sterol içeriği bakımından Edremit çeşidine ait yağlar yüksek, Kalamata çeşidine ait yağlar düşük oranda elde edilmiştir. Toplam sterol içeriği ise 979.24-3015.57 ppm aralığında tespit edilmiştir. Eritrodiol ve uvaol oranları toplam steroller içinde %1.11-4.42 arasında değişim göstermiştir. Elde edilen değerler genellikle Türk Gıda Kodeksi' ne uygunluk göstermiştir. Ancak, güney bölgelerimize ait bazı zeytinyağlarında Δ -7-stigmasterol içeriğinin kodekste belirlenen %0.5'lik üst sınır değerinden yüksek olduğu bildirilmiştir [29].

Memecik zeytin çeşidi zeytinyağlarının sterol bileşiminin belirlendiği bir başka çalışmada, materyal olarak 5 zeytin örneği Aydın ilinden, 4 zeytin örneği de İzmir ilinden toplanmıştır. Araştırma bulguları, zeytinyağı örneklerinin sterol bileşiminin (kampesterol hariç) Türk Gıda Kodeksi' ne uygun olduğunu göstermektedir. Sterol bileşenlerinden β -sitosterol, Δ -5-avenasterol ve kampesterol, sırasıyla %80.76-83.00, %11.02-12.78, %4.01-4.97 aralığında tespit edilmiştir. Kampesterol içerikleri TGK'de belirtilen üst sınırın (en fazla % 4) üzerindedir. Toplam β -sitosterol oranı ve toplam sterol miktarı ise sırasıyla, %94.01-95.08, 1157-1676 ppm aralıklarında bulunmuştur [30].

Essiari ve ark. [31], iki farklı iklim bölgesinde yetiştirilmiş 4 çeşitten (Picholine marocaine, Arbequina, Haouzia ve Menara) elde edilen zeytinyağlarının kalitesi üzerine yetiştirme alanının etkisinin belirledikleri çalışmalarında, zeytinyağlarının olgunluk indeksi ve fizikokimyasal özelliklerini (yağ içeriği, serbest asitlik, peroksit değeri, yağ asitleri ve steroller) incelemiştir. IOC standardında belirlenen sterol limitleriyle karşılaştırıldığında, sonuçların 'Arbequina' yağlarında

kampesterol içeriğinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Majör bileşen β -sitosterol ise %79.12-86.58 aralığında bulunmuştur.

Hatay'da yetiştirilen Halhalı, Sarı Haşebi ve Gemlik zeytin çeşitlerinden iki fazlı mekanik yöntemle (kırmazme, yoğurma ve santrifüj) elde edilen zeytinyağı örneklerinde sterol ve yağ asidi kompozisyonları ile diğer kalite kriterlerinin (serbest yağ asitleri, peroksit sayısı, toplam klorofil ve toplam karotenoid) belirlendiği bir başka çalışmada sterol ve yağ asidi kompozisyonlarının çeşitlere göre önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Toplam sterol içerikleri 1025-1686 mg/kg arasında değiştiği ve toplam sterol içeriği en yüksek olan çeşidin Gemlik, en düşük olan çeşidin ise Sarı Haşebi olduğu tespit edilmiştir. Toplam β -sitosterol (β -sitosterol, Δ -5-avenasterol, Δ -5-24-stigmastadienol, klorosterol, sitostanol) içerikleri %92.96-94.63 olarak saptanmıştır. Başlıca sterol bileşenleri β -sitosterol %83.08-88.21, Δ -5-avenasterol %4.82-6.97, kampesterol %2.28-3.43 olarak bulunmuştur. Zeytinyağlarında eritrodiol +uvaol içerikleri %1.68-2.71 arasında belirlenmiş olup, bu değerlerin Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen sınırlar arasında yer aldığı bildirilmiştir [32].

ZEYTİN OLGUNLUK DERESESİNİN STEROLLER ÜZERİNE ETKİSİ

Zeytin olgunluk derecesi, zeytinyağı bileşimini ve kalite parametrelerini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Zeytin meyvesinde 25 haftalık bir hücre büyümesi aşamasından sonra meyvenin yeterli iriliğe ulaşmasıyla olgunlaşma süreci başlamaktadır. Aylarca devam eden bu süreçte, meyvede meydana gelen fiziksel değişimler, meyvenin irileşmesi, renginin yeşilden sarıya ardından kırmızımsı menekşeye son olarak da koyu mor renge dönmesi olarak görülmektedir [2]. Zeytinyağı fizikokimyasal bileşimi ve kalitesine, olgunlaşma boyunca meyvenin fizyolojik durumunda meydana gelen değişimler doğrudan etki ederken, çevresel faktörler de dolaylı olarak etki etmektedir [33]. Zeytinyağı sterol bileşimlerinin zeytin olgunluk derecesine bağlı değişimlerini inceleyen çalışma sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Zeytin olgunluk derecesinin zeytinyağı sterol bileşimi üzerine etkisini inceleyen çalışma sonuçları ise aşağıda detaylı olarak özetlenmiştir.

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada [34], 4 farklı hasat döneminde (1996-1999) Cornicabra çeşidi sızma zeytinyağlarının sterol bileşimi üzerine olgunlaşma derecesinin etkisi incelenmiştir. Olgunluk ilerledikçe toplam sterol ve β -sitosterol miktarları azalırken, Δ -5-avenasterol miktarının arttığı tespit edilmiştir. Kampesterol içeriği ise düzenli bir artış ya da azalış göstermemiştir.

Finotti ve ark. [35] tarafından yapılan çalışmada, Buza ve Lastovka zeytin çeşitlerinin 1998 yılı hasat sezonunda 3 farklı olgunlaşma döneminde sabunlaşmayan madde bileşimi incelenmiştir. Olgunluk derecesi arttıkça kampesterol, stigmasterol ve β -sitosterol miktarının arttığı bildirilmiştir.

Tablo 2. Zeytinyağı sterol bileşimlerinin olgunluğa bağlı değişimleri

Olgunlukla Artış Gösteren Bileşenler [Kaynak]	Olgunlukla Azalış Gösteren Bileşenler [Kaynak]	Olgunluktan Etkilenmeyen Bileşenler [Kaynak]
Kolesterol [42]	-	Kolesterol [36]
Kampesterol [35, 36, 37, 38, 40, 41]	-	Kampesterol [34]
Stigmasterol [35, 36, 37, 40, 41]	-	-
-	Sitosatanol [6]	-
β -sitosterol [35, 40]	β - sitosterol [6, 34, 37, 38]	-
Δ -5 avenasterol [6, 34, 37, 38, 42]	-	Δ -5 avenasterol [27]
Δ -7 Avenasterol [6, 40]	-	-
-	Eritrodiol+Uvaol Toplamı [41]	-
Toplam Sterol [38]	Toplam Sterol [27, 34, 36, 37, 41, 42]	-

Picual ve Hojiblanca (Endülüs menşeli) zeytin çeşitlerine ait zeytinyağlarının sterollerini üzerine olgunlaşma derecesinin etkisinin incelendiği bir çalışmada [36] toplam steroller Picual çeşidinde olgunlaşma periyodu boyunca önemli ölçüde azalmıştır (%37.6), fakat Hojiblanca'da sadece %10'luk bir azalış tespit edilmiştir. Bunlara bağlı olarak Hojiblanca çeşidinin olgunlaşma parametresinden daha az etkilendiği sonucuna varılmıştır. Olgunluk derecesi ilerledikçe β -sitosterol her iki çeşit için de önemli bir azalış gösterirken, Δ -5-avenasterol ise artış göstermiştir. Bu durumun da β -sitosterol bileşeninin desaturaz enzimi aracılığıyla Δ -5-avenasterol bileşenine dönüşmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Casas ve ark. [37] tarafından yapılan çalışmada Extremadura bölgesinde 3 farklı olgunluk döneminde hasat edilen Carrasqueña, Cacereña, Cornezuelo, Corniche, Morisca, Picual ve Verdial de Badajoz olmak üzere 7 farklı çeşitten elde edilen zeytinyağlarının sterol içerikleriyle, eritrodiol + uvaol toplamları incelenmiştir. 24-metilen kolesterol her 3 olgunlukta da olgunlaşma derecesi bakımından istatistiki olarak farklı gruplarda yer almıştır. Olgunlaşma derecesi arttıkça, kampesterol, stigmasterol ve Δ -5-avenasterol artarken, toplam sterol ve β -sitosterol azalmıştır. Olgunluk düzeyinin eritrodiol + uvaol toplamında hafif bir artışa sebep olduğu ancak önemli miktarda bir değişime uğramadığı belirlenmiştir.

Üç farklı zeytin çeşidinden (Cvs. Cobrançosa, Madural ve Verdeal Transmontana) elde edilen yağların sterol bileşimi üzerine olgunlaşma derecesinin etkisinin belirlendiği bir diğer çalışmada [27], çeşitlerin farklı özelliklerine dayalı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda, 7 sterol bileşeni (kolesterol, kampesterol, stigmasterol, klerosterol, β -sitosterol, Δ -5-avenasterol, Δ -7-avenasterol) tespit edilmiştir. Analiz edilen örneklerin tamamı AB (Avrupa Birliği) mevzuatı tarafından belirlenen 1000 ppm'in çok üzerinde toplam sterol içeriğine sahiptir. Toplam sterol miktarı hemen hemen tüm örneklerde olgunlaşmayla beraber azalma eğilimi göstermiştir. Δ -5-avenasterol değerleri hiçbir çeşit için olgunlaşmayla belirgin bir eğilim göstermemiştir.

Olgunlaşma ve coğrafi kökenin Tunus'ta üç farklı bölgeden toplanan (Sfax, Sidi-Bouزيد, Enfidha) Chemlali çeşidi zeytinyağlarının sterollerini üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada [38] Sidi-Bouزيد ve Sfax bölgeleri için, olgunlaşmayla birlikte toplam sterol ve Δ -5-avenasterol içeriği artarken, β -sitosterol oranı

azalmıştır. Enfidha bölgesi için toplam sterol ve β -sitosterol miktarı olgunlaşmadan etkilenmemiştir. Kampesterol miktarı ise, her 3 bölgede olgunlaşmayla artmıştır. Bu çalışma ile sterol içeriğinin, coğrafi farklılıklardan etkilendiği belirlenmiştir.

Olgunlaşma ile ilgili yapılan bir başka çalışmada [39] ise; zeytinin oluşumundan olgunluğu tamamlanmaya kadar geçen süre boyunca (21. hafta-38. hafta) her hafta hasat edilen Meski zeytinlerinin olgunlaşma boyunca 4-desmetilsterol ve fitostanol içeriklerinin kalitatif ve kantitatif karakterizasyonu gerçekleştirilerek, bu yüksek değerli bileşenlerin maksimum seviyeye ulaştığı hasat dönemi belirlenmiştir. Toplam yağ içeriği meyve, olgunlaşmasını tamamlayana kadar artmış, Δ -5 steroller Δ -7 sterollerinden daha yüksek oranlarda bulunmuştur. Olgunlaşma süreci boyunca, 4-desmetilsteroller ve fitostanollerin en yüksek orana ulaştıkları 26. hafta aynı zamanda optimum hasat zamanı olarak kabul edilmiştir. 2007-2008 sezonunda iki hafta aralıklı üç farklı olgunluk derecesinde (benekli, mor ve siyah dönem) Avusturalya'da hasat edilen Frantoio, Barnea ve Picual çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının sterol içeriğini ve profilini etkileyen koşulların (meyve boyutu, sulama, yağurma süresi ve sıcaklığı, hasat zamanı, çeşit) değerlendirilmesini amaçlayan bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Toplam sterol yüzdesi; Frantoio için 1490, Barnea için 1700 ve Picual için 1500 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşma derecesiyle β -sitosterol ve sitostanol miktarlarının azaldığını, Δ -5-avenasterol ve Δ -7-avenasterol miktarlarının ise arttığını bildirmişlerdir [6].

Bir başka araştırmada, Güney Yunanistan'ın farklı bölgelerinden farklı hasat dönemlerinde toplanılan Koroneiki çeşidi zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarının sterol bileşimi analiz edilmiştir. Kampesterol, stigmasterol, Δ -7-stigmasterol ve β -sitosterol değerleri olgunluk derecesinin artmasıyla artış göstermişlerdir [40].

Carrasqueña ve Morisca çeşitlerine ait zeytinyağlarının sterol bileşiminin belirlendiği çalışmada, 3 farklı hasat dönemi uygulanmıştır. Olgunlaşmayla β -sitosterol, stigmasterol ve kampesterol miktarları artarken, Δ -5-avenasterol azalmıştır. Eritrodiol+uvaol toplamı ise, olgunluk indeksinin artmasıyla azalmıştır [41].

Yorulmaz ve ark. [42], olgunlaşma derecesinin, yaygın olan yerli çeşitlerimizden Memecik ve Edremit çeşidi

zeytinyağlarının sterol bileşimi üzerine etkisini belirlemiştir. Olgunlaşmadan en çok etkilenen bileşenlerin her iki çeşit için de; kampesterol, β -sitosterol, Δ -5 avenasterol ve toplam sterol içerikleri olduğunu belirlemiştir. Toplam sterol içeriğinin olgunlaşmayla Memecik zeytinyağlarında (1747.47-1479.28 ppm) azaldığını, Edremit çeşidi zeytinyağlarında ise (2169.55- 2278.21 ppm) önemsenmeyecek derecede bir artış gösterdiğini bulmuşlardır. β -Sitosterol ve Δ -5 avenasterolün de, toplam sterol miktarıyla benzer sonuçlar göstererek olgunlaşmayla Memecik çeşidi zeytinyağlarında arttığı, Edremit çeşidi zeytinyağlarında ise dalgalanmalar göstererek arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca Memecik çeşidi zeytinyağlarında olgunlaşmayla, kampesterol, stigmasterol, klerosterol, β -sitosterol, sitostanol, Δ -5,24-stigmastadienol, toplam sterol miktarının azalırken, kolesterol ve Δ -5-avenasterolün arttığı belirlenmiştir.

ZEYTİNYAĞI ÜRETİMİNDE YOĞURMA ŞARTLARININ STEROLLER ÜZERİNE ETKİSİ

Yağ kalitesi üzerine etkili diğer bir faktör olan zeytinyağı ekstraksiyonu, gıda sanayii açısından son derece önemli bir işlemdir. Ekstraksiyon süresince, zeytinyağı bileşimi ve kalite özelliklerine etki eden önemli aşama zeytin ezmelerinin farklı sıcaklık ve sürelerde işlendiği yoğurma (malaksasyon) aşamasıdır. Ancak zeytinyağına istenilen özelliklerin kazandırılması için üretim aşamalarında etkili olan yoğurma parametrelerinin bilinmesi ve kontrol edilmesi gerekmektedir [8]. Zeytinyağı ekstraksiyonu sırasında uygulanan farklı yoğurma sıcaklık ve süre uygulamaları yağın kimyasal bileşimi ve kalitesinde değişikliğe sebep olmaktadır.

Di Giovacchino ve ark. [43] tarafından yapılan çalışmada, zeytinyağı ekstraksiyonu için yapılan teknolojik işlemlerin zeytinyağı kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Yoğurma aşamasında zaman ve sıcaklık değişiminin sızma zeytinyağlarının sterollerini üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir. Kaliteli bir zeytinyağı eldesi için ise yoğurma süresinin 45-90 dakika arasında olması gerektiği belirtilmiştir.

Koutsaftakis ve ark. [12], ekstraksiyon sistemi, hasat yılı ve yoğurma sıcaklığının Koroneiki çeşidi zeytinyağlarının sterol bileşimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. 1995-1996 ve 1996-1997 hasat sezonunun 3 farklı olgunluk döneminde hasat edilen zeytinlerden, iki fazlı ve üç fazlı santrifüj sistemleri ve presleme kullanılarak zeytinyağı elde edilmiştir. Çalışmada yoğurma sırasında uygulanan sıcaklıktan en çok etkilenen bileşenler stigmasterol, Δ -5 avenasterol ve β -sitosterol, triterpen dialkollerden de uvaol olmuştur. 45°C'deki yoğurma sırasında, stigmasterol ve β -sitosterol içeriği yüksek bulunurken, Δ 5-avenasterol içeriği düşük bulunmuştur. Kampesterol/stigmasterol oranı ise 30°C sıcaklık uygulamalarında daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

İspanya'da yağ üretimi için en çok yetiştirilen iki çeşit olan Arbequina ve Picual çeşitlerine ait zeytinyağlarının

uvaol ve eritrodiol içeriklerine yoğurma şartlarının ve kırma koşullarının etkisi laboratuvar ölçekli koşullar altında belirlenmiştir [44]. Bu amaçla, ekstraksiyon için üç farklı elek çapı (4, 5 ve 6 mm), farklı yoğurma sıcaklıkları (20°C ve 30°C) ve farklı yoğurma süreleri (20 ve 40 dk.) denenmiştir. Yoğurma sıcaklığı ve süresinin artması, eritrodiol içeriğinde uzun yoğurma sürelerinde artış göstermiştir. Picual yağları için, daha yüksek oranda uvaol içerikleri yoğurma süresinin uzatılmasıyla elde edilmiştir. Bu bulguların sızma zeytinyağı bileşiminin zeytin hamuru hazırlama (yoğurma ve kırma) koşullarının düzenlenmesiyle geliştirilebileceğini bildirmişlerdir. Tüm örneklerde eritrodiol+uvaol değerleri resmi standartlarda natürel sızma zeytinyağı için belirtilen %4.5 sınırının altında olup, standarda uygunluk göstermiştir.

Guillame ve ark. [6] tarafından yapılan çalışmada 2007-2008 sezonunda üç farklı olgunluk derecesinde (benekli, mor ve siyah dönem) Avusturalya'da hasat edilen Frantoio, Barnea ve Picual çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının sterol içeriğini ve profilini etkileyen koşulların (meyve boyutu, sulama, yoğurma süresi ve sıcaklığı, hasat zamanı, çeşit) değerlendirilmesini amaçlamışlardır. Yoğurma sürelerinin 30, 15 ve 60 dakika, yoğurma sıcaklıklarının 15, 25 ve 35°C olduğu çalışmada, eritrodiol+uvaol toplamı, stigmasterol ve toplam sterol miktarı sıcaklıkla artmıştır. Süreden en çok etkilenen eritrodiol+uvaol toplamı olmuştur ve süreyle orantılı olarak artmıştır. Stigmasterol ve Δ 7-stigmasterol içerikleri ise süreden daha az oranda etkilenmiş olup, eritrodiol ve uvaol toplamıyla benzer eğilim göstermiştir.

Abu Alruz ve ark. [14] tarafından yapılan çalışmada Filistin'in farklı bölgelerinden hasat edilmiş 4 farklı çeşide (Nabali, Modified Nabali, Manzanillo, K18) ait zeytinyağlarının Δ -7-stigmastanol içeriğine etki eden faktörler (böcek zararı, coğrafi yapı, işleme öncesi meyve depolanması, coğrafi alan, zeytin tohumları, işleme sıcaklığı, zeytin yaprakları, toprak türü, hasat zamanı, zeytin çeşidi ve zeytinyağı depolanması) incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, yoğurma sıcaklığı arttıkça Δ -7-stigmastanol oranı belli dereceye kadar doğrusal bir artış göstermiştir. Araştırma sonuçları, Δ -7-stigmastanol oranının çeşitten de etkilendiğini ortaya koymuştur.

SONUÇ

Çalışmada çeşit, olgunluk derecesi ve ekstraksiyon parametrelerinin zeytinyağının sterol profili üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar derlenmiştir. Olgunluğun ilerlemesiyle zeytinyağlarında kampesterol, stigmasterol, Δ -5-avenasterol artarken, toplam sterol, β -sitosterol ve kolesterol miktarlarının azaldığı görülmektedir. Bununla birlikte coğrafi kökenin de sterol profili üzerinde etkili olduğu ve farklı bölgelere ait aynı çeşit zeytin meyvelerinden elde edilen zeytinyağlarının sterol bileşimlerinin değişiklik gösterdiği rapor edilmektedir.

Yoğurma işleminin etkisi incelendiğinde ise yoğurma sırasında uygulanan sıcaklıktan en çok etkilenen

bileşenlerin β -sitosterol, Δ -5-avenasterol, kampesterol, stigmasterol ve eritrodilol+uvaol olduğu, ayrıca uzun yoğurma süresinin eritrodilol+uvaol toplamını artırma eğilimi gösterirken, sterollerin miktarını olumsuz etkilediği bildirilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Aşık Uğurlu, H., Özkan, G. (2011). Physical, chemical and antioxidant properties of olive oil extracted from memecik cultivar. *Akademik Gıda*, 9(2), 13-18.
- [2] Boskou, D., Tsimidou, M., Blekas, D. (2006). Olive Oil Chemistry and Technology. Department of Chemistry Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki-Greece, 252p, 41-92.
- [3] Kayahan, M., Tekin, A. (2006). Zeytinyağı Üretim Teknolojisi. TBMM Gıda Mühendisleri Odası, Filiz Matbaacılık San. ve Tic. Ltd.Şti., 198s, Ankara.
- [4] Assmann, G., Wahrburg, U. (2007). Zeytinyağının Azınlık Bileşenlerinin Sağlık Üzerine Etkileri. <http://www.food-info.net/tr/products/olive/olive06.htm>.
- [5] Tetik, N., Erbaş M., Turhan İ. (2007). Fonksiyonel gıda bileşeni olarak fitosteroller. *Gıda Dergisi*, 32(6), 317-324.
- [6] Guillaume, C., Ravetti, L., Johnson, J. (2010). Sterols in Australian Olive Oils. The Effects of Technological and Biological Factors. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC), Publication No: 10/173. RIRDC Project No: PRJ-000385.
- [7] Kiritsakis, A., Christie, W.W. (2000). Analysis of Edible Oils. In: Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, Harwood, J. And R. Aparicio (Eds.). Aspen Publishers, Gaithersburg, MD., ISBN: 0-8342-1633-7, 285-353.
- [8] Stefanoudaki, E., Koutsafakis A., Harwood J.L., 2011. Influence of malaxation conditions on characteristic qualities of olive oil. *Food Chemistry*, 127(4), 1481-1486.
- [9] Canabate-Diaz, B., Carretero, A.S., Fernandez-Gutierrez, A., Vega, A.B., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., Martos, J.D. (2007). Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chemistry*, 102(3), 593-598
- [10] Ben Temime, S., Manai, H., Methenni, K., Baccouri, B., Abaza, L., Daoud, D., Casas, J.S., Bueno, E.O., Zorrouk, M. (2008). Sterolic composition of Chetoui virgin olive oil. Influence of geographical origin. *Food Chemistry*, 110(2), 368-374.
- [11] Pehlivan, B., Yılmaz, E. (2010). Comparison of oils originating from olive fruit by different production systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(8), 865-875.
- [12] Koutsafakis, A., Kotsifaki, F., Stefanoudaki, E. (1999). Effect of extraction system, stage of ripeness and kneading temperature on the sterol composition of virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(12), 1477-1481.
- [13] Yorulmaz, A., Tekin, A., Kayahan, M. (2004). Effect of Pressing Pressure and Time on the Sterol Composition, Oxidative Stability, and Free Fatty Acid Level of Olive Oil. 5th International Symposium on Olive Oil Growing, 27 Eylül -2 Ekim, 177, İzmir.
- [14] Abu Alruz, K., Afaneh, I.A., Quasem, J.M., Hmidat, M.A., Abbady, J., Mazahreh, A.S. (2011). Factors effecting Δ -7 stigmastanol in palestinian olive oil. *Journal of Applied Sciences*, 11(5), 797-805.
- [15] Abidi, S.L. (2001). Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. *Journal of Chromatography A*, 935(1-2), 173-201.
- [16] Kayahan, M. (2003). Yağ Kimyası. ODTÜ Yayıncılık, 220s, Ankara.
- [17] Saldamlı, İ. (2007). Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 463-492, Ankara.
- [18] Phillips, K.M., Ruggio, D.M., Toivo, J.I., Swank, M.A., Simpkins, A.H. (2002). Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Composition and Analysis*, 15(2), 123-142.
- [19] Tnahh, T.T., Vergnes, M.F., Kaloustian, J., El-Moselhy, T.F., Amiot-Carlin, M.J. Portugal, H. (2006). Effect of storage and heating on phytosterol concentrations in vegetable oils determined by GC/MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2), 220-225.
- [20] Moreau, R.A., Whitaker, B.D., Hicks, K.B. (2002). Phytosterols, phytostanols and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis and health promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 41(6), 457-500.
- [21] Dağlıoğlu, O., Gümüş, T. (2007). Phytosterols: Existence in Foods and Cholesterol Lowering Effects. 5th International Congress on Food Technology, Thessaloniki, Greece, 9-13.
- [22] Cantrill, R., Kawamura, Y. (2008). Phytosterols, Phytostanols and Their Esters. 69th JECFA1. (CTA) 13(13).
- [23] Normén, L., Ellegård, L., Brants, H., Dutta, P., Andersson, H. (2007). A Phytosterol database: Fatty foods consumed in Sweden and the Netherlands. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), 193-201.
- [24] Toivo, J., Piironen, V., Kalo, P., Varo, P. (1998). Gas chromatographic determination of major sterols in edible oils and fats using solid-phase extraction in sample preparation. *Chromatographia*, 48(11-12), 745-750.
- [25] Piironen, V., Lindsay, D.G., Miettinen, T.A., Toivo, J., Lampi, A.M. (2000). Review plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 939-966.
- [26] Itoh, T., Yoshida, K., Yatsu, T., Tamura, T., Matsumoto, T. (1981). Triterpen alcohols and sterols of Spanish olive oil. *Journal Of the American Oil Chemists' Society*, 58(4), 545-550.
- [27] Matos, L.C., Cunha, S.C., Amaral, J.S., Pereira, J.A., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Oliveira, B.P.P. (2007). Chemometric characterization of three varietals olive oils (Cvs. Cobrancosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. *Food Chemistry*, 102(1), 406-414.

- [28] Oueslati, I., Manai, H., Haddada, F.M., Daoud, D., Sanchez, J., Osorio, E., Zarrouk, M. (2009). Sterol, triterpenic dialcohol, and triacylglycerol compounds of extra virgin olive oils from some Tunisian varieties grown in the region of tataouine. *Food Science and Technology International*, 15(1), 5-13.
- [29] Yorulmaz, A. (2009). Türk Zeytinyağlarının Fenolik, Sterol ve Trigliserit Yapılarının Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [30] Yorulmaz, A., Yavuz, H., Tekin, A., Özcan, M. (2012). Türk Zeytinyağlarının Fitosterol İçerikleri, Yabited 1. Bitkisel Yağ Kongresi, 12-14 Nisan 2012, Adana.
- [31] Essiari, M., Zouhair, R., Chimi, H. (2014). Contribution to the study of the typical characteristics of the virgin olive oils produced in the region of Sais (Morocco). *Official Journal of the International Olive Council*, 119, 8-21.
- [32] Konuşkan, B.D. (2017). Hatay zeytinyağlarının yağ asidi ve sterol kompozisyonları. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 170-175.
- [33] U.Z.K. (1991). Zeytinyağı Kalitesinin İyileştirilmesi. Uluslararası Zeytinyağı Konseyi Koleksiyon Teknik El Kitapları, Juan Bravo, 10.28006, Madrid.
- [34] Salvador, M.D., Aranda, F., Fregapane, G. (2001). Influence of fruit ripening on 'cornicabra' virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*, 73(1), 45-53.
- [35] Finotti, E., Beye, C., Nardo, N., Quaglia, G.B., Milin, C., Giacometti, J. (2001). Physico-chemical characteristics of olives and olive oil from two mono-cultivars during various ripening phases. *Nahrung/Food*, 45(5), 350-352.
- [36] Gutiérrez, F.R., Jimenez, B., Ruíz, A., Albi, M.A. (1999). Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 121-127.
- [37] Casas, J.S., Bueno, E.O., Garcia, A.M.M., Cano, M.M. (2004). Sterol and erythrodiol+uvaol content of virgin olive oils from cultivars of Extremadura (Spain). *Food Chemistry*, 87(2), 225-230.
- [38] Lazzez, A., Perri, E., Caravita, M.A., Khlif, M., Cossentini, M. (2008). Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the chemlali variety. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56(3), 982-988.
- [39] Sakouhi, F., Absalon, C., Harrabi, S., Vitry, C., Sebei, K., Boukhchina, S., Fouquet, E., Kallel, H. (2009). Dynamic accumulation of 4-desmethylsterols and phytosterols during ripening of Tunisian meski olives (*Olea europea* L.). *Food Chemistry*, 112(4), 897-902.
- [40] Varzakas, T.H., Zakyntinos, G., Arapoglou, D. (2010). Fruit ripening in relationship to oil quality and some quality characteristics of the Greek olive cultivar koroneiki. *Italian Journal of Food Science*, 22(4), 401.
- [41] Mendoza, F.M., Miguel Gordillo, C., Expósito, J.M., Casas, J.S., Cano, M.M., Vertedor, D.M., Baltasar, N.V. (2013). Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food Chemistry*, 141(3), 2575-2581.
- [42] Yorulmaz, A., Erinc, H., Tekin, A. (2013). Changes in olive and olive oil characteristics during maturation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(5), 647-658.
- [43] Di Giovacchino, L., Sestili, S., Di Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing in virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 587-601.
- [44] Allouche, Y., Jiménez, A., Uceda, M., Aguilera, M.P., Gaforio, J.J., Beltrán, G. (2010). Influence of olive paste preparation conditions on virgin olive oil triterpenic compounds at laboratory-scale. *Food Chemistry*, 119(2), 765-769.

Bitkisel Yağlarda 3-Monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD) ve Glisidil Esterleri Oluşumu ve Azaltılması

Kübra Emektar , Meryem Nur Kantekin Erdoğan , Aziz Tekin  ✉

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

Geliş Tarihi (Received): 19.03.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 30.03.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): tekin@ankara.edu.tr (A. Tekin)

📞 0 312 203 33 13 📠 0 312 317 87 11

ÖZ

3-Monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD) ve glisidol, serbest veya esterleşmiş formlarda bulunabilen ısı işlem kaynaklı gıda bulaşanlarıdır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) 3-MCPD'yi Grup 2B (insanlar için olası karsinogen) glisidolü ise Grup 2A (insanlar için muhtemel karsinogen) olarak sınıflandırmıştır. Toksikitesinden dolayı serbest 3-MCPD için maksimum tolere edilebilir günlük alım (TDI) miktarı JECFA tarafından 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Ayrıca Avrupa Komisyonu'nun 2018 yılında yaptığı son düzenleme ile bitkisel yağlarda glisidil esterleri limit değeri 1 mg/kg olarak belirlenmiştir. Mono ve digliseritler ile klor iyonu gibi prekürsörlerin rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve glisidil ester bulaşanlarının oluşumundan sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında bitkisel yağların rafinasyonu sırasında uygulanan sıcaklık ve sürenin de bu bulaşanların oluşumunu önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Bu derlemede, ilgili güncel literatür ışığında bitkisel yağlarda 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumuna sebep olan faktörler ve bu bulaşanların azaltılmasında kullanılan yöntemler incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 3-MCPD, Glisidil ester, Bitkisel yağ

3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and Glycidyl Esters Formed in Vegetable Oils

ABSTRACT

3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and glycidol, which can exist in both free or bound forms, are process contaminants that can form during heat processes. The International Agency for Research on Cancer (IARC) classified free 3-MCPD and glycidol under Group 2B (possible carcinogenic to humans) and Group 2A (probably carcinogenic to humans), respectively. Due to its toxicity JECFA recommended a maximum tolerable daily intake (TDI) of 2 µg/kg body weight for free 3-MCPD. Furthermore, the maximum level of glycidyl esters in refined vegetable oil was determined as 1 mg/kg in the regulation of European Commission in 2018. Precursors such as mono-diglycerides and chlorine are responsible for the formation of 3-MCPD and glycidol. Additionally, it has been found that the formation of these contaminants can be significantly influenced by temperature and time applied during the refining processes of vegetable oils. In this review, factors affecting 3-MCPD and glycidyl ester formation and the mitigation strategies of these contaminants are discussed.

Keywords: 3-MCPD, Glycidyl ester, Vegetable oil

GİRİŞ

Gıdaların birçoğu üretim aşamasında farklı ısı işlemlere tabi tutulmaktadır. Söz konusu işlem koşullarına bağlı

olarak termal kaynaklı bulaşanlar oluşabilmektedir. Bunların bazıları gıdanın görünümü ve duyu kalitesini iyileştirirken, bazıları da gıdayı olumsuz yönde etkileyebilmekte ya da toksik etki gösterebilmektedir [1].

3-MCPD ve glisidil esterleri ısı işleme kaynaklı gıda bulaşanlardır [2, 3]. Genellikle yağ asitleriyle esterleşmiş formda bulunan bu bileşikler, az miktarda da serbest formda bulunabilmektedir [4]. 3-MCPD'nin serbest formu ilk kez 1978 yılında, bağlı formu (yağ asitleriyle esterleşmiş hali) ise 1980 yılında [5, 6] tespit edilmiştir. Bahsi geçen her iki form da soya sosunda bulunan asit-hidrolyze bitkisel proteinlerde belirlenmiştir. Aralık 2007'de ise bebek mamalarında 3-MCPD esterlerinin yüksek miktarları rapor edilmiş ve insan sütündeki varlığı saptanmıştır [7, 8]. EFSA tarafından yürütülen araştırmada soya sosu, cips, çerez, kraker, bisküvi, kek, çeşitli pastane ürünleri, tütsülenmiş et ve balık ürünleri, bebek mamaları, rafine bitkisel yağlar, margarinler ve hayvansal yağlarda 3-MCPD ve glisidole rastlanmıştır [9].

3-MCPD ve glisidol ile ilgili toksikolojik çalışmalar son yıllarda ivme kazanmıştır. Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (IARC) 3-MCPD'yi Grup 2B (insanlarda olası karsinojen), glisidolü ise Grup 2A (insanlarda muhtemel karsinojen) olarak sınıflandırmıştır [10, 11]. Avrupa Komisyonu tarafından (2006) soya sosu ve asit hidrolyze soya proteini için maksimum serbest 3-MCPD limiti 20 µg/kg olarak belirlenmiştir [12]. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Tebliği'nde soya sosu ve asit hidrolyze soya proteini için aynı limit değerler yer almaktadır [13]. JECFA (Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzmanlar Komitesi), serbest 3-MCPD için maksimum tolere edilebilir günlük alım (TDI) miktarını 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak açıklamıştır [14]. Ülkemizde de Avrupa Komisyonu'nun (2018) yaptığı son düzenleme ile bitkisel yağlarda glisidil esterleri için limit değer 1 mg/kg olarak belirlenmiştir [12].

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, 3-MCPD'nin karsinojenik etkisi tespit edilmiştir. Yapılan kısa süreli çalışmalarda kanda, böbreklerde ve spermde çeşitli toksikolojik etkilere, uzun süreli çalışmalarda ise farelerde tümöre neden olduğu gözlemlenmiştir. Glisidol ise hücrelerde karsinojenik etkinin yanı sıra genotoksik etkilere de sebep olmaktadır [15-19]. Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR), 3-MCPD ve glisidil esterlerine bebek mamalarında da rastlandığını ve bebeklerin bu bulaşanlara karşı daha hassas olduğunu bildirmiştir. BfR, oluşabilecek risklere karşı rafine yağların üretiminde alternatif tekniklerin geliştirilmesini önermektedir [20].

3-MCPD ve glisidil esterleri daha çok monogliserit (MG) ve digliseritler (DG) tarafından oluşturulmaktadır [1]. MG ve DG asidik koşullarda glisidil esterleri ve açiloksonyum iyonları oluşturabilmektedir. Açiloksonyum iyonları ile klorun nükleofilik reaksiyonu 3-MCPD esterlerinin oluşumuna sebep olabilmektedir. 3-MCPD esteri oluşumunu etkileyen temel etmenlerin klor iyonları, açilgliseroller, sıcaklık ve süre olduğu rapor edilmiştir

[21]. Glisidil esterlerinin ise asidik koşullarda ve yüksek sıcaklıklarda MG ve DG'den oluştuğu saptanmıştır [22]. Rafine yağların rafine edilmemiş yağlara kıyasla daha yüksek miktarda 3-MCPD ve glisidil esteri içerdikleri tespit edilmiştir. Günümüzde 3 MCPD ve glisidil esterlerinin yağların rafinasyonu sırasında meydana geldiği birçok araştırmacı tarafından gösterilmiş ve özellikle yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen deodorizasyon işleminin bu oluşumda kritik öneme sahip olduğu bildirilmiştir [18, 23-25].

3-MCPD ve glisidil esterlerini içeren rafine bitkisel yağlar doğrudan tüketilmekte ya da çeşitli gıdaların üretiminde kullanılabilir. Bahsi geçen bulaşanları içeren gıdaların ve yağların tüketilmesinin sağlığa zararlı olduğu uluslararası otoritelere bildirilmiştir. Bu nedenle, rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumunun engellenmesi, var olanların ise uzaklaştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu derlemede, 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu ve bu esterlerin azaltılmasında kullanılan yöntemler üzerinde durulmuştur.

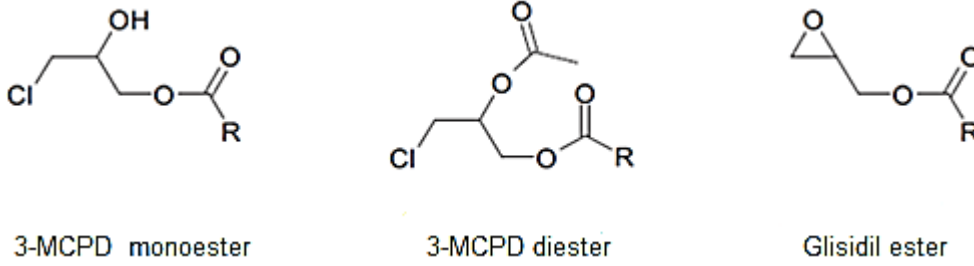
RAFİNE BİTKİSEL YAĞLARDA 3-MCPD VE GLİSİDİL ESTERLERİNİN OLUŞUMU

3-MCPD esterlerinin klor varlığında gıdaların işlenmesi sonucu birincil tepkime reaksiyonları ile oluştuğu rapor edilmiştir. Bu reaksiyon yüksek yağ ve tuz içeren gıdaların ısı işleme maruz kalmasıyla gerçekleşmektedir [26, 27]. Gliserol ve gliseritlerde 3-MCPD ester oluşumu tuz konsantrasyonunun artmasıyla artmakta ve yaklaşık %15 su içeriği ile maksimum seviyeye ulaşmaktadır [9]. Su varlığında ve yüksek sıcaklıklarda trigliserit (TG), DG ve MG'ye hidrolyz olmaktadır. 3-MCPD esterleri açilgliserol molekülündeki açıl ya da hidroksil gruplarının klor iyonu ile yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır [28]. Ortamda su bulunmadığında ise açıl gruplarının ön hidrolyzi gerçekleşmemekte, ancak gliserol molekülünün hidroksil grubu ile klorun direkt yer değişimi söz konusu olmaktadır [9]. 3-MCPD ester oluşumu yüksek sıcaklığa bağlı olarak artmaktadır [28, 29].

Şekil 1 ve 2'de serbest ve bağlı (esterleşmiş) 3-MCPD ve glisidolün kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 1. Serbest 3-MCPD ve glisidolün kimyasal yapıları [9]



Şekil 2. 3-MCPD ve glisidil esterlerinin kimyasal yapıları [9]

3-MCPD ve glisidol yağlarda yağ asitleri ile esterleşmiş formlarda bulunabilir. Bu esterleşme genellikle bitkisel yağların yüksek sıcaklıkta işlenmesiyle oluşmaktadır. Esterleşme yağın çeşidine bağlı olmakla birlikte yaygın olarak laurik, miristik, palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asit ile gerçekleşmektedir [9]. 3-MCPD ve glisidil esterlerinin yemeklik yağlardaki varlığı ilk defa 2006 yılında rapor edilmiştir [25].

Bitkisel ham yağlarının birçoğu ekstraksiyon sonrasında insan tüketimine ve endüstriyel gıda üretimine uygun değildir. Yağ ile ekstrakte edilen ve ham yağda bulunan minör bileşenler ürünün duyu, beslenme ve teknolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Ham yağın rafinasyonu ile bu bileşenler uzaklaştırılmakta ve yağlar insan tüketimine ve gıda endüstrisinin kullanımına uygun hale gelmektedir [30].

Rafinasyon işlemi degumming (yapışkan maddelerin alınması), nötralizasyon (serbest asitlerin giderilmesi), ağartma (renk giderme) ve deodorizasyon (koku giderme) olmak üzere temelde dört basamaktan oluşur. Rafinasyonun son basamağı olan deodorizasyon işlemi hidrokarbonlar, PAH'lar (polisiklik aromatik hidrokarbon), pestisitler, serbest asitler ve uçucu bileşenleri uzaklaştırmak üzere yağ çeşidine bağlı olarak yüksek sıcaklıklarda uygulanan bir buhar distilasyonu işlemidir [18]. Yemeklik bitkisel yağlarda (özellikle palm yağı) deodorizasyon işlemi süresince yüksek sıcaklıklara maruz kalınması sonucu, 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşmaktadır [22, 31, 32]. Ayrıca deodorizasyon sırasında TG'ler serbest yağ asitleri, DG ve MG'ye hidroliz olmak ve bu maddeler 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunu artırmaktadır [33]. ILSI (Uluslararası Fen Bilimleri Enstitüsü) 3-MCPD ester oluşumuna etki eden temel faktörleri klor iyonları, gliserol, TG, MG, DG ile birlikte sıcaklık ve süre olarak sıralamıştır. Özellikle MG ve DG'nin yağ içerisindeki oranı arttıkça ester oluşumunda da lineer bir artış olduğu bildirilmiştir [34].

Shimizu ve ark. [35] 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumunu tetikleyen prekürsörlerin etkisini ayrı ayrı tespit etmek amacıyla, 240°C'de klor iyonlarının varlığında ve yokluğunda tri-, di- ve monooleini sıcaklık testine tabi tutmuştur. Ortamda klor iyonu bulunmadığında di- ve monooleinden glisidil esterleri oluştuğu görülmüştür. 3-MCPD esterlerinin oluşumu ise klor iyonu varlığında di- ve monoolein tarafından gerçekleşmiştir. Bunun yanında trioleinin deodorizasyon sıcaklığı boyunca stabil kaldığı ve çok az miktarda ester oluşumuna sebep olduğu gözlenmiştir. Bulgular, di- ve

monooleinin 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumunda etkin prekürsörler olduğunu göstermiştir.

Craft ve ark. [36] tarafından yüksek sıcaklıklarda (280°C'ye kadar) DG'nin glisidil ester oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir. Oluşumun 230-240°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda daha yüksek olduğu saptanmış ve bu değerlerin rafinasyon işlemi için üst limit olarak düşünülmesi gerektiği belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada, rafine yağlarda DG seviyelerinin %3-4'ü aşmasıyla, glisidil ester oluşumunun hızlandığı saptanmıştır. Söz konusu oluşumun 200°C'nin altında minimum düzeyde olduğu, ancak özellikle 220-230°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bileşen konsantrasyonunda önemli artışlar gözlemlendiği rapor edilmiştir. Bazı bitkisel yağlarda tespit edilen 3-MCPD ester değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 incelendiğinde, rafinasyonda uygulanan yüksek sıcaklık nedeniyle rafine edilmiş yağların ham yağlara kıyasla daha fazla 3-MCPD ester içerdiği görülmektedir.

Franke ve ark. [24] rafinasyon işleminin 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerine etkisini incelemek amacıyla, palm ve kanola yağına kimyasal rafinasyon uygulamıştır. Çalışma sonunda, ağartma işleminden sonra palm yağında 3-MCPD ester miktarının 6.1 mg/kg'dan 2.5 mg/kg'a düştüğü, ancak deodorizasyon sonrasında bu değer 4.6 mg/kg'a yükseldiği gözlenmiştir. Ham kanola yağının deodorizasyonundan sonra 3-MCPD ester seviyesinin arttığı ancak palm yağı ile kıyaslandığında bu artışın daha düşük (1 mg/kg) olduğu belirlenmiştir.

İklim, toprak, bitkilerin büyüme koşulları, genotipleri, hasat teknikleri ve proses koşulları gibi etkenler 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşum seviyesini etkilemektedir [41]. Dünya çapında geniş bir kullanım alanına sahip olduğu için palm yağı üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Palm yağı bir meyve yağıdır ve tohum yağlarına kıyasla daha fazla su içermektedir. Bu nedenle, hidroliz reaksiyonlarına karşı daha hassastır. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan yüksek orandaki MG ve DG ise 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumuna sebep olmaktadır [33]. Palm yağında organoklorlu bileşiklerin varlığı 3-MCPD esterlerinin oluşumu için potansiyel klor kaynağı olarak gösterilmektedir [42]. Palm ağacı yetişirken toprak ve sudan gelen klor iyonlarını absorbe etmekte ve bu durum 3-MCPD oluşumuna zemin hazırlamaktadır [41]. Ayrıca palm yağında 3-MCPD esterlerinin oluşumu, yağın rafinasyonu sırasında yüksek sıcaklıklara maruz kalması ile doğrudan ilişkilidir [24, 37].

Tablo 1. Farklı bitkisel yağlarda tespit edilen 3-MCPD ester miktarları

Yağ Çeşidi	3-MCPD ester (mg/kg)	Kaynak
Rafine		
Zeytinyağı	1.380-1.630	[37]
Ayçiçek yağı	0.504-1.044	[38]
Fıstık yağı	0.450-1.187	[38]
Aspir yağı	1.400	[39]
Hindistan cevizi yağı	0.600	[39]
Kanola yağı	0.226-1.069	[38]
Susam yağı	0.651-1.344	[38]
Soya yağı	0.224-1.090	[38]
Mısır yağı	0.219-1.826	[38]
Palm yağı	1.294-1.646	[38]
Margarin	0.789-1.602	[38]
Palm çekirdeği yağı	0.200-0.900	[40]
Ham		
Ayçiçek yağı	<0.025-0.098	[38]
Fıstık yağı	<0.025-0.083	[38]
Kanola yağı	<0.025-0.438	[38]
Susam yağı	<0.025-0.356	[38]
Soya yağı	<0.025-0.109	[38]

Bitkisel yağların TG oranları %96-99 aralığında iken, DG oranları %1-2 civarında olabilmektedir. Ancak palm yağında DG oranının %4 ile %12 arasında değiştiği ve ortalama %6.5 olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle palm yağı diğer yağlara kıyasla rafinasyon sırasında daha fazla miktarda 3-MCPD ve glisidil esteri oluşturabilmektedir [43].

Hrcirik ve van Duijn [31], palm yağının fiziksel ve kimyasal rafinasyonunda kısmen düşük deodorizasyon sıcaklıklarında bile (230°C) yüksek seviyelerde glisidil ester (~2 mg/kg) oluşabileceğini gözlemlemiştir. Ester miktarı deodorizasyon süresi ve sıcaklığının artması ile artış göstermiştir.

RAFİNE BİTKİSEL YAĞLARDA 3-MCPD VE GLİSİDİL ESTER MİKTARLARININ AZALTILMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve glisidil ester miktarlarını azaltmada, söz konusu bulaşanların oluşum mekanizmalarının ve olası prekürsörlerinin bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Konu hakkında yapılan çalışmalarda azaltma stratejileri: rafinasyon işlemine girmeden önce bulaşanların olası prekürsörlerinin elimine edilmesi, rafinasyondaki degumming, ağartma, nötralizasyon ve deodorizasyon basamaklarında işlem koşullarının kontrol altına alınması ve rafinasyon sonrası farklı uygulamalarla mevcut bulaşanların minimize edilmesi olarak özetlenebilir.

Rafinasyon Öncesi Alınabilecek Önlemler

Klorun Uzaklaştırılması

3-MCPD ester oluşumuna neden olan prekürsörlerin hammaddede varlığı iklim, toprak, gübreleme, hasat işlemleri ve saklama koşullarından doğrudan etkilenmektedir [18]. Hammaddedeki klorlu bileşenler 3-MCPD esterlerinin oluşumunda rol alan en önemli prekürsörlerdendir [44]. Bu oluşumu azaltmak için klor

içeren bileşenler rafinasyon öncesinde ham yağdan uzaklaştırılmalıdır. Ham yağlarda klorlu bileşenleri azaltmak için yağlar çeşitli çözücülerle yıkanabilmektedir. Craft ve ark. [45] tarafından yapılan çalışmada, ham palm yağı deodorizasyon işleminden önce etanol:su (1:1) ile yıkanmış ve 3-MCPD ester miktarının yaklaşık %30 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte en iyi etki palm meyvesi pulpunun yağ ekstraksiyonu öncesi yıkanması ile elde edilmiştir. Yıkama işlemine tabi tutulmamış deodorize palm yağına kıyasla ester miktarında %95 oranında azalma gözlenmiştir.

Yine farklı bir çalışmada klor iyonlarını uzaklaştırmak için ham palm yağı su ve/veya etanol ile yıkanarak 3-MCPD ester miktarı %20-30 oranında azaltılmıştır [18]. Sonuç olarak, ham bitkisel yağların polar çözücülerle (kloruz su veya etanol:su) yıkanması suda çözünen kloru uzaklaştırmaya ve 3-MCPD ester oluşumunu azaltmaya yardımcı olmaktadır [41].

Nagy ve ark. [46] 3-MCPD esterlerini azaltmak için herhangi bir çözücü kullanmadan belirli organoklorlu bileşenlerin tuzak ajanları (MG'ler) kullanılarak yağdan uzaklaştırılmasını hedefleyen bir çalışma yürütmüştür. İşlem, ham bitkisel yağların tuzak ajanlar ile karıştırılması, homojenizasyonu ve daha sonra tuzak ajanların kristallendirilerek yağdan ayrılması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ham ayçiçek, soya ve mısır yağları kullanılmıştır. Monostearin gibi yüksek erime noktası ve yüksek polariteye sahip tuzak ajanların yüksek erime noktası ve düşük polariteye sahip (palmsterain) ya da yüksek polarite düşük erime noktasına sahip (monoolein/monolinolein) tuzak ajanlara kıyasla daha etkili olduğu gözlenmiştir. Organoklorlu bileşenlerin tuzak ajanlar tarafından yakalanması ile ısıtma işlemine tabi tutulan yağların çeşidine bağlı olarak MCPD ester miktarlarında %60-90 oranında azalma gözlenmiştir.

Gliseritler

Palm yağı diğer bitkisel yağlara kıyasla daha fazla DG (ortalama %6.5) içermektedir. Bu durum, palm yağının 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumuna neden daha hassas olduğu sorusunu açıklamaktadır. Yüksek oranda su içeren yağlı hammaddelerde lipaz aktivitesi de yüksek olmakta ve TG'nin hızlı hidrolizi ile yüksek miktarda DG meydana gelebilmektedir. Palm yağı rafinasyon işlemine ne kadar az DG ile girerse, 3-MCPD ve glisidil ester oluşumunda da o oranda azalma sağlanabilmektedir. Bunu başarmak için temel şart, ham maddenin dikkatli seçilmesi (özellikle palm meyvesi) ve paketlenmesidir. Ayrıca hızlı hasat ve sterilizasyon işlemlerine de önem verilmelidir [43].

Rafinasyon Sırasında 3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin Azaltılması

Degumming, Ağartma ve Nötralizasyon

Ramli ve ark. [47] tarafından yapılan çalışmada, degumming işleminde su (%2) ve farklı konsantrasyonlarda fosforik asit (%0.02-0.1) kullanılırken, ağartma işleminde ise %1 oranında 6 farklı (nötral ve asit ile aktifleştirilmiş) ağartma toprağı kullanılmıştır. Sonuç olarak, ham palm yağında 3-MCPD esterleri tespit edilemezken, fosforik asitle yapışkan maddeleri giderilmiş (%0.1) ve asit ile aktifleştirilmiş toprakla ağartılmış rafine yağlarda 3-MCPD esterlerinin yüksek seviyede (3.89 mg/kg) olduğu gözlenmiştir. Buna karşın su ile yapışkan maddeleri giderilmiş ve nötral ağartma toprağı ile ağartılmış yağlarda esterlerin daha düşük seviyede (0.25 mg/kg) olduğu görülmüştür. Bulgular değerlendirildiğinde, degumming işlemi sırasında asit kullanımının 3-MCPD ester prekürsörlerinin oluşumunu aktive ettiği ve daha yüksek miktarda ester oluşumuna sebep olduğunu sonucuna varılmıştır.

Asidik topraklar proton vererek organik bileşiklerin protonlaşmasına neden olabilirler ve birçok organik reaksiyonu katalizleyebilirler [48]. Klor varlığında gliseritlerin protonasyonu görülmekte ve bu durum 3-MCPD esterlerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Ağartma işleminde nötral pH'ya yakın ağartma toprağı kullanımının, 3-MCPD ester oluşumunu azalttığı düşünülmektedir [43, 47].

Hew ve ark. [49] rafine palm yağında bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerini azaltmak amacıyla fiziksel rafinasyonun degumming ve ağartma basamaklarını yeniden düzenlemiştir. Yapışkan maddelerin giderilmesinde %1 oranında fosforik asit kullanımından sonra %1 oranında deiyonize su ile işleme devam edilmiştir. Prosese dahil edilen bu işlemin yağın kalitesinden ödün vermeden ester içeriğini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca %0.5, 1.0 ve 1.5 olmak üzere farklı dozlarda ağartma toprağı kullanımının ester oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, ağartma toprağının asitlik seviyesinin esterleri gidermede anahtar rol oynadığını, minimum ester oluşumu için ağartma topraklarının optimum dozda (%1) kullanılması gerektiğini ve ağartmada yüksek asitli

ağartma toprağından kaçınılması gerektiğini göstermiştir. 3-MCPD ve glisidil esterlerinin azaltılmasında en etkili sonuç, doğal ve nötral ağartma toprağına kıyasla hafif asidik ağartma toprağının (pH≈5) kullanılması ile elde edilmiştir.

Nötralizasyon işleminden sonra sabunların giderilmesi amacıyla bir veya daha fazla su ile yıkama işleminin uygulanması, 3-MCPD ester içeriğinin azalmasını sağlamaktadır. Yıkama işlemi ile klorlu bileşiklerin azaldığı belirtilmiştir. İlave olarak, serbest asitlik kostik yoluyla nötralize edildiğinden, deodorizasyon işlemi fiziksel rafinasyonda uygulanan sıcaklıklardan daha düşük sıcaklıklarda uygulanabilmektedir ve bu durum ester oluşumunun azalmasını sağlamaktadır [44].

Deodorizasyon

3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunda en kritik aşama rafinasyon işleminin deodorizasyon basamağıdır. Çünkü ester oluşumu sıcaklığın artması ile artmakta ve 240°C üzerinde maksimum seviyeye ulaşmaktadır [43]. Glisidil ester oluşumu doğrudan yüksek sıcaklıkla ilişkili olduğu için, bu bileşiklerin oluşumunu azaltmak 3-MCPD esterlerini azaltmaktan daha kolaydır. Glisidil esterleri termal işlemler neticesinde kısmi gliseritlerin (MG, DG) varlığında oluşmaktadır ve bu esterlerin oluşumu için klorlu bileşiklerin varlığına ihtiyaç yoktur [18, 36, 41, 50]. Bu nedenle düşük sıcaklıklarda deodorizasyon işlemi uygulamak (230°C altında) glisidil ester oluşumunu azaltabilmektedir [41, 51].

Özdikicierler ve ark. [52] tarafından yapılan çalışmada, buhar distilasyon parametreleri (sıcaklık, basınç ve su akış hızı) optimize edilerek, ham zeytinyağı ve pirina yağında 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumunun azaltılması hedeflenmiştir. Çalışmada, zeytinyağı eldesinde herhangi bir sıcaklık uygulaması bulunmadığından, buhar distilasyonu öncesinde zeytinyağında 3-MCPD ve glisidil esterlerine rastlanmamıştır. Ancak pirinadan yağ ekstrakte edilmeden önce yüksek sıcaklıkta uygulanan kurutma işleminin (300-400°C) pirina yağında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumuna sebep olduğu gözlenmiştir. İlave sıcaklık ve buhar distilasyonu uygulamaları sonunda pirina yağındaki 3-MCPD ester miktarının 10.9 mg/kg'a kadar yükseldiği tespit edilmiştir. Bu durum pirina yağının 3-MCPD ve glisidil esterleri oluşumuna çok yakın olduğunu ve sıcaklığın her iki bulaşanın oluşumunu tetiklediğini göstermektedir. Zeytinyağı ve pirina yağındaki 3-MCPD ve glisidil ester miktarlarının minimum düzeye indirilmesi amacıyla buhar distilasyon koşulları optimize edilmiş ve zeytinyağı için buhar distilasyon sıcaklığı: 230°C; su akış hızı: 1.2 mL/dk.; basınç: 4 mbar, pirina yağı için ise buhar distilasyon sıcaklığı: 230°C; su akış hızı: 1 mL/dk.; basınç 2 mbar olarak bulunmuştur.

Son zamanlarda geleneksel deodorizasyon işlemine alternatif olarak düşük sıcaklıkta uzun süreli deodorizasyon ve yüksek sıcaklıkta kısa süreli deodorizasyonun kombinasyonu olan ikili deodorizasyon yöntemleri önerilmektedir. İlk adımda 200°C'de 120 dk., ikinci adımda 250°C'de 5 dk. uygulanan deodorizasyon

işleminin 3-MCPD ve glisidil esterleri miktarını azalttığı gözlenmiştir [43]. Aynı kaynaktan deodorizasyon işlem sıcaklığının düşürülmesi için kullanılabilir bir diğer seçenek olarak moleküler distilasyon yöntemi gösterilmektedir [43]. Moleküler distilasyon, sıcaklığa duyarlı ve normal kaynama noktasının altındaki sıcaklıklarda parçalanabilen bileşenler için kullanılan bir sistemdir. Uçucu bileşenlerin zarar görmeden daha düşük sıcaklıklarda yağdan uzaklaştırılmasına olanak sağlamaktadır [53, 54]. Pudol ve ark. [53] yaptıkları çalışmada, geleneksel deodorizasyon işleminde gözlenen yüksek 3-MCPD ve glisidil ester oluşumu nedeniyle, moleküler distilasyon tekniğini denemişlerdir. Bu teknik, öncelikle deodorizasyon işleminden önce serbest asitler ile birlikte MG ve DG'lerin uzaklaştırılması için bir ön işlem olarak uygulanmıştır. Bulgular, 3-MCPD esterlerinin moleküler distilasyon yöntemi uygulanan palm yağında oluşmadığını göstermiştir. Bunun yanında palm yağında çok düşük miktarda glisidil esterleri tespit edilmiştir. Moleküler distilasyonla elde edilen yağın kimyasal kalitesinin geleneksel yöntemle elde edilen yağınki ile benzer olduğu ancak tadı, kokusu ve özellikle renginin geleneksel yöntemle kıyasla negatif özellik gösterdiği saptanmıştır. Çözüm olarak, moleküler distilasyon sonrası yağa ılımlı bir deodorizasyon uygulanmış ve 180°C'de 120 dk. sonunda yağın tadı ve kokusunun iyileştiği gözlenmiştir.

Diğer taraftan, rafine yağlarda 3-MCPD ve glisidil esterlerinin moleküler distilasyon kullanılarak azaltılmasıyla ilgili 2015 yılında alınmış bir patent mevcuttur [55]. Araştırmada, 0.001-3 mbar basınç ve 200-280°C sıcaklık aralığında çalışılmıştır. Uygulanan yüksek vakum ve sıcaklıklarda söz konusu bulaşanların rafine yağlardan yüksek oranda uzaklaştırılabildiği tespit edilmiştir.

Matthäus ve ark. [18], deodorizasyonda sıyırıcı buhar oluşumunda su yerine farklı oranlarda formik asit çözeltisi (%5 ve 10) kullanarak ester oluşumlarındaki azalmayı incelemiştir. Formik asit kullanımı glisidil ester oluşumunu yaklaşık %35 oranında azaltmıştır. 3-MCPD esterlerindeki azalmanın ise sırasıyla %20 ve %40 olduğu tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda formik asit kullanımı, düşük ester içeriğiyle sonuçlanmıştır.

3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin İşlenmiş Yağlardan Uzaklaştırılması

Bornscheuer ve Hesseler'in [56] yaptıkları çalışmada, 3-MCPD'nin uzaklaştırılması için 3-MCPD esterlerinin gliserole degradasyonu ile enzimatik bir yol izlenmiştir. 3-MCPD yağ asidi esterleri öncelikle lipaz ile serbest 3-MCPD'ye hidroliz edilmiş, daha sonra oluşan serbest 3-MCPD HHD (halohidrin dehalojenaz) ile epoksit ve ardından EH (epoksit hidrolaz) kullanımıyla gliserole hidroliz olmuştur. Bu iki enzim ilavesi ile 3-MCPD toksik olmayan gliserole dönüştürülmüş ve reaksiyon sonunda ortamdaki 3-MCPD çok önemli oranda uzaklaştırılmıştır.

Strijowski ve ark. [57] farklı adsorban maddelerin, rafine palm yağındaki polar maddeler ile 3-MCPD ve glisidil esterlerini azaltma yeteneklerini test etmiştir. Çalışmada 9 farklı ticari inorganik adsorban madde seçilmiştir.

Adsorbanlardan sadece birkaçı palm yağındaki polar bileşenlerin (MG, DG) azalmasını sağlamıştır. Özellikle AMS2 (amorf magnezyum silikat, >%70 magnezyum silikat) ve Z2'nin (sönmüş zeolit, <%1 su) bu bileşenlerin miktarlarını yaklaşık %25 oranında azalttığı gözlenmiştir. Buna karşın, SAS (sodyum alüminyum silikat) gibi diğer ticari adsorbanların polar bileşenler üzerinde ihmal edilebilir düzeyde etkileri olduğu gözlenmiştir. Ayrıca adsorban maddelerin 3-MCPD ve glisidil esterlerini azaltma potansiyelleri de araştırılmıştır. İki adsorbanın (sönmüş zeolit Z2 ve silikon kalsiyum silikat) palm yağındaki bulaşan miktarını başlangıça göre %40'a kadar azalttığı gözlenmiştir. Diğer adsorbanların ise ya ihmal edilebilir düzeyde etkisi (silikon oksit, sodyum alüminyum silikat) ya da artırıcı etkisi (sentetik kalsiyum silikat) olduğu tespit edilmiştir.

Matthäus ve ark. [58] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, RBD (rafine edilmiş, ağartılmış ve deodorize edilmiş) palm yağının buzdolabında bekletilmesiyle palm yağı örneklerinin glisidil ester miktarlarında azalma olduğunu belirlenmiştir. Farklı derecelerde gerçekleşen azalma hızı, aylık bazda 15°C'de 0.2 mg/kg, 10°C'de 0.3 mg/kg, 5°C'de 0.4 mg/kg, -20°C'de 0.1 mg/kg ve 20°C'de ise 0.0 mg/kg olarak bulunmuştur.

Li ve ark. [59] bütillendirilmiş hidroksi tolüen (BHT), bütillendirilmiş hidroksi anisol (BHA), tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ), propil gallat (PG), L-askorbil palmitat (AP) ve α -tokoferol'ün 3-MCPD ester oluşumunu azaltma etkilerini araştırmıştır. Bulgular, çalışmada kullanılan tüm antioksidanların 3-MCPD ester oluşumunu azaltmada etkili olduğunu göstermiştir. TBHQ'nun %40 ile en yüksek, α -tokoferol'ün ise %20 azaltma oranıyla en düşük etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. TBHQ, PG ve AP'nin pratikte 3-MCPD esterlerini azaltmada potansiyel inhibitör olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

SONUÇ

3-MCPD ve glisidil esterleri bitkisel yağlarda ve yağ içeren gıdalarda yüksek sıcaklık uygulamaları ile oluşan işlem bulaşanlarıdır. Potansiyel karsinogen etkilere sahip oldukları kanıtlanan bu bulaşanlar hakkında çok sayıda araştırma yapılmakta ve tüketime sunulan rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve glisidil esterlerinin varlığı rapor edilmeye devam etmektedir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, söz konusu bulaşanların oluşumunun engellenmesi ve var olanların da yağdan mümkün olduğunca uzaklaştırılması hedeflenmiştir. Bu bağlamda rafine işlemi öncesi: MG-DG miktarı düşük hammadde seçimi, uygun hasat ve depolama yöntemlerinin kullanılması, polar çözücülerle serbest klor iyonunun uzaklaştırılması; rafine işlemi sırasında: su ile degumming ve düşük asitli ya da nötral ağartma toprağı ile ağartma yapılması, nötralizasyon işlemi su ile çoklu yıkama yapılması ve yağ bileşimine uygun deodorizasyon sıcaklık ve sürelerinin seçilmesi; rafine işlem sonrası ise: enzim, adsorban ve antioksidan kullanımı gibi yöntemler önerilmiştir. Her ne kadar bulaşanların azaltılması ile ilgili olumlu gelişmeler yaşansa da, henüz endüstriyel düzeyde istenen sonuç

tam anlamıyla elde edilememiştir. Bu nedenle konuya ilişkin daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Freudenstein, A., Weking, J., Matthäus, B. (2013). Influence of precursors on the formation of 3-MCPD and glycidyl esters in a model oil under simulated deodorization conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(3), 286-294.
- [2] Li, C., Li, L., Jia, H., Wang, Y., Shen, M., Nie, S., Xie, M. (2016). Formation and reduction of 3-monochloropropane-1, 2-diol esters in peanut oil during physical refining. *Food Chemistry*, 199, 605-611.
- [3] EFSA (2013). Analysis of occurrence of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in food in Europe in the years 2009-2011 and preliminary exposure assessment. *EFSA Journal*, 11(9), 3381.
- [4] Svejková, B., Novotny, O., Divinova, V., Reblova, Z., Dolezal, M. (2004). Esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in foodstuffs. *Czech Journal of Food Sciences*, 22(5), 190-196.
- [5] Velíšek, J., Davidek, J., Hajšlová, J., Kubelka, V., Janiček, G., Mánková, B. (1978). Chlorohydrins in protein hydrolysates Chlorhydrinein. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 167(4), 241-244.
- [6] Davidek, J., Velíšek, J., Kubelka, V., Janiček, G., Šimicová, Z. (1980). Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 171(1), 14-17.
- [7] CVUA (2007). 3-MCPD Ester in raffinierten speisefetten und ölen – ein neu erkanntes weltweits problem. Available from: <http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?ID=717&subid=1> (Accessed:09.12.2018).
- [8] Zelinková, Z., Novotný, O., Schůrek, J., Velíšek, J., Hajšlová, J., Doležal, M. (2008). Occurrence of 3-MCPD fatty acid esters in human breast milk. *Food Additives and Contaminants*, 25(6), 669-676.
- [9] EFSA (2016). Risks for human health related to the presence of 3-and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. *EFSA Journal*, 14(5), 04426.
- [10] IARC (2013). Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 101, pp. 349-374.
- [11] IARC (2000). Some industrial chemicals, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans, Vol. 77, pp. 469-487.
- [12] EU Directive (2018). Commission Regulation (EC) No 2018/290 of 26 February 2018 Amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of glycidyl fatty acid esters in vegetable oils and fats, infant formula, follow-on formula and foods for special medical purposes intended for infants and young children. *Official Journal the European Union*, L 55:27-29.
- [13] TGK (2011). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, Resmi Gazete sayı: 28157 (3. Mükerrer).
- [14] EFSA (2018). Update of the risk assessment on 3-monochloropropanediol and its fatty acid esters. *EFSA Journal*, 16(1), 5083.
- [15] Li, H., Chen, D., Miao, H., Zhao, Y., Shen, J., Wu, Y. (2015). Direct determination of fatty acid esters of 3-chloro-1, 2-propanediol in edible vegetable oils by isotope dilution-ultra high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1410, 99-109.
- [16] Bakhiya, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K.E., Lampen, A. (2011). Toxicological assessment of 3-chloropropane-1, 2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(4), 509-521.
- [17] Buhrke, T., Weißhaar, R., Lampen, A. (2011). Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. *Archives of Toxicology*, 85(10), 1201-1208.
- [18] Matthäus, B., Pudel, F., Fehling, P., Vosmann, K., Freudenstein, A. (2011). Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in vegetable oils. *European journal of Lipid Science and Technology*, 113(3), 380-386.
- [19] Schilter, B., Scholz, G., Seefelder, W. (2011). Fatty acid esters of chloropropanols and related compounds in food: Toxicological aspects. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(3), 309-313.
- [20] BfR (2007). Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters. BfR Opinion No: 047/2007.
- [21] Bansal, G., Zhou, W., Barlow, P.J., Lo, H.L., Neo, F.L. (2010). Performance of palm olein in repeated deep frying and controlled heating processes. *Food Chemistry*, 121(2), 338-347.
- [22] Hamlet, C.G., Asuncion, L., Velíšek, J., Doležal, M., Zelinková, Z., Crews, C. (2011). Formation and occurrence of esters of 3-chloropropane-1, 2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(3), 279-303.
- [23] Šmidrkal, J., Tesařová, M., Hrádková, I., Berčíková, M., Adamčíková, A., Filip, V. (2016). Mechanism of formation of 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) esters under conditions of the vegetable oil refining. *Food Chemistry*, 211, 124-129.
- [24] Franke, K., Strijowski, U., Fleck, G., Pudel, F. (2009). Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1, 2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1751-1754.
- [25] Zelinková, Z., Svejková, B., Velíšek, J., Doležal, M. (2006). Fatty acid esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in edible oils. *Food Additives and Contaminants*, 23(12), 1290-1298.
- [26] Chung, H.Y., Chung, S.W., Chan, B.T.P., Ho, Y.Y., Xiao, Y. (2013). Dietary exposure of Hong Kong

- adults to fatty acid esters of 3-monochloropropane-1, 2-diol. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(9), 1508-1512.
- [27] Karabulut, M., Yemişçiöğlü, F. (2012). Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD. *Analiz'35*, Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı, İzmir Gıda Laboratuvar Müdürlüğü, 14(8)-10.
- [28] Svejtkovska, B., Dolezal, M., Velišek, J. (2006). Formation and decomposition of 3-chloropropane-1, 2-diol esters in models simulating processed foods. *Czech Journal of Food Sciences*, 24(4), 172.
- [29] Seefelder, W., Varga, N., Studer, A., Williamson, G., Scanlan, F.P., Stadler, R.H. (2008). Esters of 3-chloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD. *Food Additives and Contaminants*, 25(4), 391-400.
- [30] Kayahan, M. (2005). Yemeklik Yağ Rafinasyon Teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, Ankara, Türkiye.
- [31] Hrnčirik, K., van Duijn, G. (2011). An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(3), 374-379.
- [32] Rahn, A.K.K., Yaylayan, V.A. (2011). What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD ester formation? *European Journal of Lipid science and Technology*, 113(3), 323-329.
- [33] Shahidi, F., Zhong, Y. (2005). Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Edited by F. Shahidi, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, 2005, pp. 357-385.
- [34] ILSI (2009). 3-MCPD esters in food products, Summary report of a workshop held in Brussels, Belgium. Available from: <http://ilsi.eu/wpcontent/uploads/sites/3/2016/06/Fin-al-version-3-MCPD-esters.pdf> (Accessed: 20.10.2018).
- [35] Shimizu, M., Vosmann, K., Matthäus, B. (2012). Generation of 3-monochloro-1, 2-propanediol and related materials from tri-, di-, and monoolein at deodorization temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(11), 1268-1273.
- [36] Craft, B.D., Nagy, K., Seefelder, W., Dubois, M., Destailats, F. (2012b). Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part II: practical recommendations for effective mitigation. *Food Chemistry*, 132(1), 73-79.
- [37] Weißhaar, R. (2008). 3-MCPD-esters in edible fats and oils—a new and worldwide problem. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(8), 671-672.
- [38] Li, C., Nie, S.P., Zhou, Y.Q., Xie, M.Y. (2015). Exposure assessment of 3-monochloropropane-1, 2-diol esters from edible oils and fats in China. *Food and Chemical Toxicology*, 75, 8-13.
- [39] Weißhaar, R., Perz, R. (2010). Fatty acid esters of glycidol in refined fats and oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(2), 158-165.
- [40] Kuhlmann, J. (2011). Determination of bound 2, 3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(3), 335-344.
- [41] Codex Alimentarius Commission Committee on Food Additives and Contaminants (2018). Proposed draft code of practice for the reduction of 3-monochloropropane-1,2-diol esters (3-MCPDE) and glycidyl esters (GE) in refined oils and products made with refined oils, especially infant formula. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, 12-16 March 2018, Utrecht, The Netherlands. Available from: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/resources/circular-letters/en/?y=2018> (Accessed: 15.11.2018).
- [42] Nagy, K., Sandoz, L., Craft, B.D., Destailats, F. (2011). Mass-defect filtering of isotope signatures to reveal the source of chlorinated palm oil contaminants. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28(11), 1492-1500.
- [43] Matthäus, B., Pudiel, F. (2013). Mitigation of 3-MCPD and glycidyl esters within the production chain of vegetable oils especially palm oil. *Lipid Technology*, 25(7), 151-155.
- [44] FEDIOL (2015). MCPD esters and glycidyl esters: Review of mitigation measures. <http://www.fediol.be/> (Accessed: 10.10.2018).
- [45] Craft, B.D., Nagy, K., Sandoz, L., Destailats, F. (2012a). Factors impacting the formation of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters during palm (*Elaeis guineensis*) oil production. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(3), 354-361.
- [46] Nagy, K., Redeuil, K., Lahrichi, S., Nicolas, M. (2019). Removal of organochlorines from vegetable oils and its benefits in preventing formation of monochloropropanediol diesters. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(5), 712-721.
- [47] Ramli, M.R., Siew, W.L., Ibrahim, N.A., Hussein, R., Kuntom, A., Abd Razak, R.A., Nesaretnam, K. (2011). Effects of degumming and bleaching on 3-MCPD esters formation during physical refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(11), 1839-1844.
- [48] Frenkel, M. (1974). Surface acidity of montmorillonites. *Clays Clay Miner*, 22(5-6), 435-441.
- [49] Hew, K.S., Asis, A.J., Tan, T.B., Yusoff, M.M., Lai, O.M., Nehdi, I.A., Tan, C.P. (2020). Revising degumming and bleaching processes of palm oil refining for the mitigation of 3-monochloropropane-1, 2-diol esters (3-MCPDE) and glycidyl esters (GE) contents in refined palm oil. *Food Chemistry*, 307, 125545.
- [50] Destailats, F., Craft, B.D., Dubois, M., Nagy, K. (2012). Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism. *Food Chemistry*, 131(4), 1391-1398.
- [51] Homma, R., Shimizu, M., Moriwaki, J., Kase, M. (2011). Oil or fat composition, PCT Int. Appl. No. (2011) PCT/JP2010/072478, Pub. No.: WO/2011/074575.
- [52] Özdikicierler, O., Yemişçiöğlü, F., Gümüskesen, A.S. (2016). Effects of process parameters on 3-MCPD and glycidyl ester formation during steam distillation of olive oil and olive pomace oil.

- European Food Research and Technology*, 242(5), 805-813.
- [53] Pudiel, F., Benecke, P., Vosmann, K., Matthäus, B. (2016). 3-MCPD-and glycidyl esters can be mitigated in vegetable oils by use of short path distillation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(3), 396-405.
- [54] Vogel, A.I., Tatchell, A.R., Furnis, B.S., Hannaford, A.J., Smith, P.W.G. (1996). *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry* (5th Edition).
- [55] Patent (2015). Mitigation of 2-MCPD, 3-MCPD, esters thereof and glycidyl esters in vegetable oil, No: US20160227809 A1.
- [56] Bornscheuer, U.T., Hesseler, M. (2010). Enzymatic removal of 3-monochloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) and its esters from oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(5), 552-556.
- [57] Strijowski, U., Heinz, V., Franke, K. (2011). Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(3), 387-392.
- [58] Matthäus, B., Vosmann, K., Weitkamp, P., Grundmann, D., Kersting, H.J. (2016). Degradation of glycidyl esters in RBD palm oil as a function of storage conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(3), 418-424.
- [59] Li, C., Jia, H., Shen, M., Wang, Y., Nie, S., Chen, Y., Zhou, Y., Wang, Y., Xie, M. (2015). Antioxidants inhibit formation of 3-monochloropropane-1, 2-diol esters in model reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(44), 9850-9854.
-

Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

Akademik Gıda dergisi gıda bilimi ve teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin www.academicfoodjournal.com web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için ogursoy@yahoo.com e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve

tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makale yayınlanması için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Etik Beyanı

Dergi yayın politikası, makalelerin değerlendirilmesi ve etik hususlar ile ilgili detaylı bilgilere Etik Beyanı kısmından ulaşılabilir.

Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz,

Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekliyse Şekiller) *.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayımlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F. (2009). İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 9(1), 6-12.

Kitap

- [2] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşı, A., Kınık, Ö. (2004). Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Editörler tarafından belirtilen süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, www.academicfoodjournal.com. Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at ogursoy@yahoo.com.

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

Ethics Statement

Detailed information about journal publication policy, evaluation of manuscripts and ethical issues can be found in the Ethics Statement section.

Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international

system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as *.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

Article

[1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on

physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

Book

[2] Kilic, S. (2001). Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

Book Chapter

[3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

Proceedings of the Congress-Symposium

[4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O. (2004). Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office.

13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

Etik Beyanı

Akademik GIDA®, gıda bilimi ve teknolojisi alanında orijinal araştırma ve derleme makalelerinin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Dergi üç ayda bir Sidas Medya Ltd. Şti. (Çankaya, İzmir, Türkiye) tarafından yayınlanmaktadır. Derginin genel bilimsel kalitesini iyileştirmek için yayıncı tarafından aşağıdaki yönergeler belirlenmiştir.

Yayın Politikası

Akademik Gıda dergisine gönderilen tüm makaleler Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları için Davranış Kurallarında ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) belirtilen Genel Kılavuzlara uygun olarak değerlendirilmektedir. Bilimsel yazılar dergiye gönderilmeden önce derginin Yazım Kurallarının okunmasını önemle tavsiye ederiz. Yazarlar aynı zamanda Avrupa Bilim Editörleri Birliği'nin (EASE) ([European Association of Science Editors](#)) İngilizce olarak basılacak makaleler için "Bilimsel Makalelerin Yazarları ve Çevirmenleri İçin Rehber"e uymalıdır. Yazarlar, insan veya hayvan verilerini içeren araştırmaları için Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([International Committee of Medical Journal Editors](#)) önerilerini takip etmelidir.

Makalelerin Değerlendirilmesi

Dergiye gönderilen tüm makaleler, bilimsel içeriklerinin özgünlüğü ve kalitesi ölçütlerine göre değerlendirilir.

- Dergiye gönderilen tüm yazılar, ilk olarak yayın ofisindeki (teknik ve genel kalite değerlendirilmesi açısından) eleme işleminden geçer ve ardından teknik ve bilimsel editörler tarafından değerlendirilir.
- İlk değerlendirmeden sonra, editörler (i) dergi kapsamı dışında kalan bir konu hakkında hazırlanmış makaleleri (ii) teknik olarak eksik/yetersiz makaleleri, (iii) kısmi ve marjinal artan sonuçları içeren makaleleri veya (iv) kötü yazılmış makaleleri reddetme hakkına sahiptir.
- İlk inceleme sonucunda makalenin ileri değerlendirme için uygun olduğuna karar verilirse, dergide yayımlanmak üzere kaliteli makalelerin seçimini yapmak amacıyla, makaleler çift-körlü (hakemin ve yazar/yazarların birbirlerini görmedikleri) değerlendirme sistemi ile en az iki bağımsız hakemden oluşan bir değerlendirme sürecinde bilimsel incelemeye alınır.
- Hakemler tarafından talep edilirse, makalenin hakem görüşleri doğrultusunda yazarlar tarafından revize edilmiş versiyonu orijinal hakemler tarafından tekrar değerlendirilir. Değerlendirmelerin ardından

editörler hakem önerileri doğrultusunda makale hakkındaki nihai kararlarını verirler. Gerekirse editörler, hakemlerin istedikleri tüm şartların yerine getirilmesi için yazarlardan ilave revizyon isteyebilir.

- Kabul edilen makalelerin son versiyonu, yayın öncesi taslağın (galley proof) hazırlanması için teknik editörlere gönderilir. Yazarlardan, makalelerinin dizgisi hazırlanmış taslaklarını son kontrol için yayın öncesinde incelemeleri istenir.
- Tüm makaleler, nihai formlarında DOI numarası almış ve çevrimiçi olarak pdf dosyaları halinde yayımlanır. İlgili veritabanlarında bu şekilde indekslenir.

Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makalelerin yayınlanması için herhangi bir yayın ücreti talep edilmemektedir.

Gizlilik

Editörler, Akademik Gıda'ya gönderilen tüm makaleleri tam bir gizlilikle ele alır. Editörler, hakemler haricinde, COPE tavsiyelerine uyulmadığı takdirde, üçüncü şahıslara makale ile ilgili hiçbir bilgi vermezler. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen makaleler hakemler için de gizlidir ve bilimsel değerlendirme için aldıkları makalelerin herhangi bir bölümünü üçüncü şahıslarla paylaşmalarına veya dağıtımalarına izin verilmez. Suiistimal şüphesi olduğunda, hakemlerin derhal gizli bir şekilde yayın ofisine başvurmaları önerilir. Hakemler ayrıca, Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kuralları ile Dergi Yayıncıları için Davranış Kuralları'nı ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederek editöre gizli yorumlarında belirli bir eylem önerebilirler.

Akademik Gıda, çift-kör bir hakem inceleme süreci yürütür, yani çalışmanın eleştirel değerlendirmesini sağlamak için hakemlerin isimleri gizlidir. Hakemlerden, raporlarında adlarını veya irtibat bilgilerini açıklamamaları istenir. Hakem raporları yazarlara gönderilemeden önce bu açıdan kontrol edilir.

Yazarlık

Bir yazar, bir araştırmanın fikrine veya tasarımına, verilerin elde edilmesine, verilerin analizine veya yorumlanmasına büyük ölçüde katkıda bulunan, makalenin hazırlanmasında, yazılmasında veya gözden geçirilmesinde entelektüel içeriğe eleştirel katkı yapan bireydir. Katkıda bulunanlar diğer kişiler makalenin Teşekkür bölümünde belirtilmelidir ve çalışmanın yazarı olarak kabul edilemez. Tüm yazarların doğru ve tam isimleri ile ORCID kimlikleri dergiye gönderilen

makalenin başlık sayfasında yer almalıdır. Yazarların isimlerinin yanında çalıştıkları kurumlar ve yazışmalardan sorumlu yazarın geçerli bir adresi verilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazarın telefon ve faks numaraları ile e-posta adresi makalenin ilk sayfasında belirtilmelidir. Tüm yazarlar, gönderilen makalenin daha önce herhangi bir yerde yayınlanmadığını ve makale hakkında Akademik Gıda dergisi nihai bir karar vermeden önce makaleyi başka bir dergiye göndermeyeceklerini garanti etmelidir.

Destekleyen/Finans Sağlayan Kuruluşlar

Araştırmanın tüm finans kaynaklarına ilişkin detaylar, Teşekkür bölümünde belirtilmelidir. Yazarlar, resmi finansman kurum/larının tam isimlerini ve proje/hibe numaralarını belirtmelidir.

Yazarlarda Değişiklik

Makalenin Akademik Gıda'ya sunulmasından sonra yazar isimlerinde değişiklik ancak revizyon sırasında gerekli olan ek çalışmalar durumunda olabilir. Makalenin yayına kabul edilmesinden sonra herhangi bir değişikliğe izin verilmez. Yazarlıktaki değişiklik, hakem görüşlerine verilen cevaplar sırasında yazışmalarda belirtilmeli ve tüm yazarlar tarafından kabul edilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazar, yazarların sırası da dahil olmak üzere makalenin revize edilmiş versiyonundaki değişikliklerden sorumludur.

Çalışma Verilerinde Düzeltme

Yayınlanan verilerin doğruluğundan tüm yazarlar sorumlu olmalıdır. Verilerin düzeltilmesi için, yazışmalardan sorumlu yazardan yayın öncesi taslağı (galley proof) incelemesi ve makalenin yayınlanmasından 4 gün önce dikkatlice düzeltilmesi istenir.

Makalenin Geri Çekilmesi

Bir makalenin geri çekilmesi, gönderim veya yayın hatalarını düzeltmek için kullanılır. Yazarlar makaleyi geri çekebilir ve bu durumda Yayın Etiği Komitesi (COPE) Geri Çekme Kurallarına [(COPE) retraction guidelines] uymalıdır. Tekrarlanan veya benzerlik oranı yüksek bir yayın, verilerin hileli kullanımını, intihal veya etik dışı araştırma yapılması durumunda, makale editör tarafından geri çekilecek ve geri çekilen makale linklerine bağlantı korunacak ancak elektronik veri tabanına (makale sayfasına) bir geri çekme bildirimi eklenecektir.

Etik Hususlar

Çıkar çatışması:

- Yazar/lar başvuru sırasında herhangi bir çıkar çatışması varsa beyan etmelidir. Yazar/ların başvuru sırasında bilimsel değerlendirme için en az üç potansiyel hakem önermeleri istenir. Önerilen hakemler çalışma arkadaşları, ortak çalıştıkları kişiler veya çalıştıkları kurumların üyeleri olamazlar.
- Hakemler makaleyi değerlendirmelerini önleyen herhangi bir çıkar çatışması olması durumunda

Editörleri bilgilendirmesi ve bu konuda COPE kurallarına uyması tavsiye edilmektedir.

- Editörler Kurulu üyeleri veya kurul üyelerinin ortak çalıştıkları kişiler tarafından dergiye gönderilen makaleler için, değerlendirme sırasındaki önyargıları en aza indirmek amacıyla, değerlendirme süreci ilgili kurul üyelerini dışarıda tutacak şekilde değiştirilerek uygulanır.
- Düzeltmeler (revizyonlar) sırasında, editörler Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzu ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederler.

İnsan denekleri, hayvan veya bitki içeren araştırmalar

- Araştırmanın insan denekleri veya hayvanları içermesi durumunda, yazarların Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([the International Committee of Medical Journal Editors](#)) yönergelerini izlemeleri önerilir.
- İnsan denekleri içeren çalışmalarda, deneklerin çalışmaya katılmak için imzaladıkları onamlar yazarlar tarafından sağlanmalıdır. 18 yaşın altındaki deneklerin çalışmaya katılmaları için ebeveyn veya velileri tarafından izin verilmelidir.
- Test edilen tüm denekler için, makalenin, ilgili kurallara ve/veya uygun izinlere veya lisanslara uyumunu gösteren belgelerin sunulması gerekir.
- Hayvanlar üzerinde yapılacak her türlü araştırma kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalı ve etik kurul tarafından onaylanmalıdır.
- Bitki materyallerinin toplanması dahil, bitkiler üzerinde yapılan deneysel araştırmalar, kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalıdır.
- Saha çalışmaları yerel mevzuata uygun olarak yapılmalı ve uygun izinleri ve/veya lisansları belirten bir açıklama makalede yer almalıdır.

Yayın suistimali

- Akademik Gıda dergisi, Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip eder.
- Makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi, intihal, yayınlanmış makalenin yeniden yayınlanması, etik kuralların ihlali vb. şüpheli bir suistimal durumunda, araştırmacılar, hakemler veya okuyucular Yayın Ofisi (ogursoy@yahoo.com) ile iletişime geçmeye teşvik edilir.
- Makaledeki benzerlik oranı tek bir kaynaktan %10'dan fazla olmamak üzere en fazla %25 ile sınırlandırılmıştır. Bu koşula uymayan makaleler reddedilir. Bu şartların ihlal edilmesi durumunda, COPE ([COPE recommendations](#)) tavsiyeleri izlenecek ve ilgili tüm taraflara bildirilecektir.

Telif Hakkı

Akademik Gıda, yayınlanan bütün makalelere orijinal eserin uygun şekilde belirtilmesi ve ticari amaçlarla kullanılmaması şartıyla, herhangi bir ortamda kullanılmasına, dağıtılmasına ve çoğaltılmasına izin veren "Creative Commons Attribution 4.0 CC BY-NC" lisansını ([Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)) tüm yayınlanmış makalelere uygular. Yayınlanmadan önce, Telif Hakkı Devir Formu yazışmalardan sorumlu yazar tarafından imzalanmalı ve derginin yayın ofisine gönderilmelidir. Yayınlanan yazıların telif hakkı Sidas Medya Limited Şirketi'ne (Çankaya, İzmir) aittir. Yazarlar, yayınladıkları makaleleri serbestçe ve ticari olmayan amaçlarla, bütünlüğü korunduğu ve yazarları, alıntı detaylarını ve yayıncıları açıkça belirtildiği sürece kullanma hakkına

sahiptir. Bireysel kullanıcılar, yazarların fikri ve ahlaki haklarının, saygınlığının ve bütünlüğünün tehlikeye atılmaması şartıyla, Akademik Gıda'da yayınlanan yazılara erişebilir, indirebilir, kopyalayabilir, görüntüleyebilir ve uyarlayabilir. Kullanıcılar herhangi bir yeniden kullanımın, sahiplerin telif hakkı politikalarına uygun olmasını sağlamalıdır. Yayınlanan yazıların içeriği, ticari olmayan araştırma ve eğitim amaçlı kopyalanır, indirilir veya başka bir şekilde yeniden kullanılırsa, uygun şekilde bir atıf yapılmalı ve ilgili makaleye bir link [yazarlar, dergi unvanı, el yazması adı, cilt, yıl ve sayfa numaraları ve yayınlanan link] Derginin web sitesinde sürüm] sağlanmalıdır. Telif hakkı bildirimleri ve feragatnameler silinmemelidir.

Ethics and Publication Malpractice Statement

Akademik GIDA® is a peer-reviewed journal where original research and review articles are published quarterly by Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey) in the field of food science and technology. In order to improve the overall scientific quality of the journal, following guidelines have been established by the publisher.

Editorial Policy

General Guidelines stated in the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#) are followed by all papers submitted to Academic GIDA. Prior to submission, authors are highly recommended to read the [Journal's Instructions to Authors](#). Authors should also follow the [European Association of Science Editors \(EASE\) Guidelines for Authors and Translators of Scientific Articles to be Published in English](#). For any research involving human or animal data, the recommendations of the [International Committee of Medical Journal Editors](#) should be followed by the authors of the manuscripts.

Peer Review

All contributions are evaluated according to the criteria of originality and quality of their scientific content.

- All manuscripts pass through an initial screening process (technical and overall quality evaluation) in the editorial office followed by an internal review by the technical and scientific editors.
- After the first evaluation, editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.
- If the manuscript is considered suitable for further evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication.
- If requested, the revised version is evaluated by the reviewers, and editors make a decision about final acceptance based on their suggestions. If necessary, further revision can be asked for to fulfil all the requirements of the reviewers.
- The final version is then sent to the technical editor in order to produce a galley proof, and the authors receive this proof for final check before publishing.
- All manuscripts are posted online as pdf files in their final form, indexed in databases with the assigned DOI numbers.

Publication Fee

Akademik GIDA welcomes article submissions and does not charge any publication fee.

Confidentiality

Editors handle all papers submitted to Akademik GIDA in strict confidence. With the exception of reviewers, they do not disclose any information regarding submissions to third parties, unless in case of a suspected misconduct, where COPE recommendations are followed. Submissions are also confidential for reviewers and they are not allowed to share or distribute any part of the manuscripts which they receive for evaluation to third parties. For a case of suspected misconduct, reviewers are encouraged to contact the editorial office immediately in a confidential manner. Reviewers can also recommend a particular course of action in their confidential comments to the editor, following [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Akademik GIDA conducts a double-blind peer review process, i.e. the names of the reviewers are confidential to ensure the critical evaluation of the work. Reviewers are asked not to disclose their names or contact details in their comments for authors.

Authorship

An author is an individual who substantially contributed to the idea or design of a research, acquisition of data, analysis or interpretation of data, was involved in drafting, writing or revising the manuscript critically for important intellectual content. Other contributors should be mentioned in the Acknowledgements section of the manuscript and cannot be considered as authors of the study. Correct and full names of all authors and their [ORCID](#) IDs should be on the title page of the manuscript. Names of authors must be supplemented with their affiliations and a valid address of the corresponding author. The phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be stated in the first page of the manuscript. All authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.

Funding Sources

Details for all funding sources of the research should be stated in the Acknowledgements. Authors should provide

the full official funding agency name(s) and grant number(s).

Alteration in Authorship

Alteration in authorship after the submission of the manuscript to Akademik GIDA can be justified only by the additional work required during the revision. Any change is not allowed after the acceptance of the manuscript for publication. Alteration in authorship should be indicated in the responses to reviewers, and should be accepted by all authors. The corresponding author is primarily responsible for any alteration in the revised version of the manuscript, including the order of authors.

Correction of Data

All authors should be responsible for the accuracy of the published data. For the correction of data, the corresponding author receives the galley proof of the paper and is asked to correct it carefully within 4 days before publication.

Retraction of an Article

A retraction of an article is used to correct errors in submission or publication. Authors can retract the paper and should follow the Committee on Publication Ethics (COPE) [retraction guidelines](#). In case of a duplicate or overlapping publication, fraudulent use of data, plagiarism or unethical research, the paper will be retracted by the editor, and a retraction notice will be included into the electronic database while all links to the retracted article will be maintained.

Ethical Considerations

Conflict of interest:

- Authors should declare any conflict of interest in their submission form. Authors are requested to suggest at least three potential reviewers before submission, and these reviewers cannot be their colleagues, collaborators or members of their institutions.
- Reviewers should notify the editors on any conflict of interest which prevents them from reviewing the paper, and they are recommended to follow the [COPE guidelines](#).
- For the manuscripts submitted by the members of the Editorial Board or their collaborators, peer reviewing is modified to exclude them from the entire evaluation process in order to minimize any bias during the evaluation.
- During revision, the editors follow the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Research involving human subjects, animals or plants:

- If the research involves humans or animals, the authors are recommended to follow the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#).

- In studies involving human subjects, their informed consent to participate in the study should be supplied by the authors. For subjects under the age of 18, their parents or guardians should give the permission for their participation in the study. For all tested subjects, the manuscript must accompany with a statement detailing compliance with relevant guidelines and/or appropriate permissions or licenses.
- Any research on animals must comply with institutional, national or international guidelines and, where possible, should be approved by an ethics committee.
- Any experimental research on plants, including collection of plant materials, must comply with institutional, national, or international guidelines.
- Field studies should be conducted in compliance with local legislation, and a statement specifying the appropriate permissions and/or licences should be included in the manuscript.

Publication misconduct:

- The Journal follows the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).
- In a case of a suspected misconduct such as redundant or duplicate submission, plagiarism, text recycling, violation of ethical norms, etc., researchers, reviewers or readers are encouraged to contact the Editorial Office (ogursoy@yahoo.com).
- The overlapping in the manuscript is highly restricted to the maximum of 25% with no more than 10% from a single source; otherwise, the manuscript will be rejected. If these terms are violated, COPE recommendations will be followed and all parties involved will be notified.

Copyright

Akademik GIDA applies the [Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC license](#) to all published papers, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes. Before publication, the [Copyright Transfer Form](#) must be signed by the corresponding author and returned to the editorial office of the journal. Copyright of published papers is retained by the Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey). Authors have the right to use their published article freely and in noncommercial purposes, as long as its integrity is maintained and its original authors, citation details and publisher are clearly stated. Individual users may access, download, copy, display, and adapt the manuscripts published in Akademik GIDA, provided that the authors' intellectual and moral rights, reputation and integrity are not compromised. Users must ensure that any reuse complies with the copyright policies of the owners. If the content of the published manuscripts is copied, downloaded or otherwise reused for noncommercial research and educational purposes, a link to the appropriate bibliographic citation (authors, journal title, manuscript title, volume, year and page

numbers, and the link to the published version on the [Journal's website](#) should be provided. Copyright notices and disclaimers must not be deleted.

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06 E-mail: sidasmedya@gmail.com

SIDAS MEDYA