

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 45

SAYI / NUMBER : 4

YIL / YEAR : 2020

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör/ Editor-in Chief	Danışma Kurulu / Advisory Board
<p>ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i></p>	<p>Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoglou, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkır, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hittit University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> El Soda, <i>Morsi University of Alexandria, Egypt</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Evren, Mustafa; <i>Ondokuz Mayıs University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Gerçekaslan, K. Emre; <i>Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Güven, Esra Ç.; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Hoşoğlu, Müge I.; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Hüner, İrem D.; <i>Trakya University, Turkey</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Koçan, Deniz; <i>Aksaray University, Turkey</i> Konuşkan, Dilşat B.; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Kuleaşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muhtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> San, Ferda; <i>Cumburiyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i></p>
<p>Editörler / Editors ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i></p>	
<p>Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p>	
<p>Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org</p>	
<p>Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli</p>	
<p>Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 58. Sokak No: 20/1 Bahçelievler / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com</p>	
<p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 08 2020</p>	

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Sakin Şahin, T., Urgancı, N. N., Yıldırım, Z. *Lytic bacteriophages effective against Escherichia coli O157:H7, a foodborne pathogen / Gıda kaynaklı patojen Escherichia coli O157:H7'ye karşı etkili bakteriyofajlar* **635-645**

Barla-Demirkoz, A., Karakas, M., Bayramoglu, P. Uner, M. *Antioxidant capacity and flavor preserved hazelnut extract, maceration and SC-CO₂ extraction and comparison of extraction methods / Antioksidan aktivitesi ve aroması korunmuş fındık ekstraktı eldesi, maserasyon ve SC-CO₂ ekstraksiyonu ve ekstraksiyon yöntemlerinin kıyaslanması* **665-675**

Ayhan, Ş., Kahve, H. İ., Aydın, F., Ardiç, M. *Antibiotic resistance and hemolytic activity in enterococci isolated from tulum cheese sold in Aksaray province / Aksaray ilinde satışa sunulan tulum peynirlerinden izole edilen enterokokların antibiyotik dirençlilikleri ile hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi* **689-698**

Sahin, K. G., Ozcan-Sinir, G., Durmus, F., Copur, O. U. *The effect of pretreatments and vacuum drying on drying characteristics, total phenolic content and antioxidant capacity of artichoke (Cynara cardunculus var. scolymus L.) slices / Ön işlemlerin ve vakum kurutma yönteminin enginar (Cynara cardunculus var. scolymus L.) dilimlerinde kurutma karakteristikleri, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite üzerine etkisi* **699-709**

Söğüt, E., Seydim A. C. *The effect of glycerol on the formation of chitosan/polycaprolactone and chitosan/cycloolefin copolymer bilayer films / Gliserolün kitosan bazlı iki katmanlı filmler üzerine etkisi* **763-773**

Özöglü, Ö., Çolak Şaşmaz, R., Erginkaya, Z., Korukluoğlu, M. *Investigation of production and characteristics of homemade yogurt by using a commercial probiotic culture / Ticari probiyotik kültür kullanılan ev yapımı yoğurt üretiminin ve özelliklerinin araştırılması* **814-824**

Öztürk-Kerimoğlu, B., Serdaroglu, M. *Residual nitrite content of heat-treated sucuk as affected by chard powder incorporation and processing / Pazı tozu ilavesi ve üretim faktörlerinin ısı işlem görmüş fermente sucuklarda kalıntı nitrit miktarı üzerine etkisi* **825-835**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Pelvan, E. *Fındığın polifenolik maddelerinin adsorban özellikte kolon dolgu maddesi kullanılarak fraksiyonlarına ayrılması ve elde edilen fraksiyonların karakterizasyonu / Fractionation of hazelnut polyphenolic compounds by using adsorbent featured column packing material and characterization of obtained fractions* **613-622**

Sağlam, A., Masatcioğlu, M. T. *Avrupa Birliği ve Türkiye kaynaklı gıdalarda 2009–2018 yılları arasında RASFF bildirimleri / RASFF notification on foods originated from European Union and Turkey between 2009–2018* **623-634**

Tekgöl, Y., Çalışkan Koç, G. *Arapsaçı otunun (Foeniculum vulgare) kuruma kinetiğinin incelenmesi ve kuruma davranışının modellenmesi / Investigation of the drying kinetic and modelling of drying behavior of the fennel (Foeniculum vulgare)* ... **676-688**

Eser, S., Coşkun, H., Sarıca, E. *Kefir starteri kullanılarak üretilen tulum peynirlerinde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimler / The changes in ripening of tulum cheeses produced using kefir starter* **710-720**

Yazman, M. E., Köten, M., Atlı, A. *Piyasada satışa sunulan baldo çeşidi piriñlerin kalite özelliklerinin orijinal çeşitle karşılaştırılması / Comparison of the quality characteristics of the baldo varieties purchased from the market with the original seed baldo variety* **721-735**

Diñçer, C. *Adaçayı ekstraktlarının farklı yöntemler ile konsantrasyonunun matematiksel modellenmesi ve kalite özelliklerinin araştırılması / Mathematical modeling of concentration of sage extract by different methods and investigation of quality properties* **736-747**

Çevik, M., Çokgezme, Ö. F., Sabancı, S., İçier, F. *Ohmik destekli vakum altında evaporasyon sistemi ile konsantre edilen nar suyunun reolojik özelliklerindeki değişimin incelenmesi / Investigation of the changes in the reological properties of pomegranate juice with ohmic assisted vacuum evaporation system* **748-762**

Kaya, H. İ., Şimşek, Ö. *Tarhanadan izole edilen laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin karakterizasyonu / Characterization of bacteriocins produced by lactobacilli isolated from tarhana* **786-799**

Çakmakçı, S., Çelik, K., Ertem, H., Çalışkan, H. *Tereyağı olarak satılan yağlarda bazı hileler ve kalite özelliklerinin tespiti: Erzurum örneği / Determination of some adulterations and quality properties of fats sold as butter: Erzurum example* **800-813**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Yücel Şengün, İ., Kırmızıgül, A., Kılıç, G., Öztürk, B. *Gıda işletmelerinde COVID-19 salgınına yönelik alınması gereken önlemler ve etkin dezenfeksiyon uygulamaları / Precautions to be taken against COVID-19 pandemic in food establishments* ... **646-664**

Büyükyazı, A. M., Tavman, Ş. *Gıda endüstrisinde ekstrüzyon teknolojisinin kullanımı ve yapılan optimizasyon çalışmaları / Application of extrusion technology and optimization studies in the food industry* **774-785**

FINDIĞIN POLİFENOLİK MADDELERİNİN ADSORBAN ÖZELLİKTE KOLON DOLGU MADDESİ KULLANILARAK FRAKSİYONLARINA AYRILMASI VE ELDE EDİLEN FRAKSİYONLARIN KARAKTERİZASYONU

Ebru Pelvan*

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, P.K. 21, 41470 Gebze, Kocaeli, Türkiye

Geliş / Received: 23.12.2019; Kabul / Accepted: 22.05.2020; Online baskı / Published online: 22.06.2020

Pelvan, E. (2020). Fındığın polifenolik maddelerinin adsorban özellikte kolon dolgu maddesi kullanılarak fraksiyonlarına ayrılması ve elde edilen fraksiyonların karakterizasyonu. *GIDA* (2020) 45(4) 613-622 doi: 10.15237/gida.GD20011

Pelvan, E. (2020). Fractionation of hazelnut polyphenolic compounds by using adsorbent featured column packing material and characterization of obtained fractions. GIDA (2020) 45(4) 613-622 doi: 10.15237/gida.GD20011

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, fındığın içerdiği polifenolik maddelerin fraksiyonlarına ayrılması ve elde edilen fraksiyonların karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesidir. Bu amaçla, fındığın fenolik maddeleri %80 (v/v) asetona ekstrakte edilerek kolona verilmiştir. Düşük molekül ağırlıklı (LMW) polifenolik maddeler etanol, yüksek molekül ağırlıklı (HMW) polifenolik maddeler ise aseton kullanılarak fraksiyonlanmıştır. Ayrıca LMW fraksiyonu, UV'de (280 nm'de) verdiği pik noktalarına göre dört ayrı fraksiyona ayrılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, tüm analizlerde en yüksek değerlere sahip olan Fraksiyon V'in toplam fenolik madde ve kondense tanen miktarları sırasıyla, 77.9 mg galik asit eşdeğer (GAE)/g ekstre ve 227 mg kateşin eşdeğer (KE)/ g ekstre; antioksidan kapasite değerleri DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleri için sırasıyla 0.047 mg/mL IC₅₀ değeri, 1.442 mmol Trolox Eşdeğer (TE)/ g ekstre, 307 mg FeSO₄.7H₂O/g ekstre olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, LMW fraksiyonlarının ayrı fraksiyonlar olarak toplanmasına gerek olmadığı, HMW fraksiyonundan ayrılmasının yeterli olduğu tespit edilmiştir. HMW fraksiyonu, yüksek tanen içeriğiyle polifenolik maddeler açısından önemli bir kaynak olarak değerlendirilebilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan kapasite, fındık, fraksiyonlama, kondense tanenler, toplam fenolik madde

FRACTIONATION OF HAZELNUT POLYPHENOLIC COMPOUNDS BY USING ADSORBENT FEATURED COLUMN PACKING MATERIAL AND CHARACTERIZATION OF OBTAINED FRACTIONS

ABSTRACT

The aim of this study is fractionation of hazelnut polyphenols and their characterization. For this aim, phenolic compounds were extracted with 80 % (v/v) acetone and loaded to column. Low molecular weight (LMW) and high molecular weight fractions (HMW) were fractionated with ethanol and acetone, respectively. Furthermore, LMW fraction was fractionated into four parts according to peaks observed at UV (280nm). FractionV had the highest contents/activities; total phenolics and condensed tannins contents were 77.9 mg gallic acid equivalent (GAE)/g extract and 227 mg catechin equivalent (CE)/ g extract, respectively. Antioxidant activities of FractionV were 0.047 mg/mL IC₅₀ value, 1.442 mmol Trolox equivalent (TE)/g extract, 307 mg FeSO₄.7H₂O/g extract for DPPH, ABTS and FRAP assays, respectively. As a result, it is seen that further fractionation of LMW is not needed and separation of LMW from HMW fraction is enough. HMW fraction could be utilized as a potential source of polyphenols.

Keywords: Antioxidant activity, hazelnut, fractionation, condensed tannins, total phenolics content

* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ ebru.pelvan@tubitak.gov.tr

☎ (+90) 262 677 3262

☎ (+90) 262 641 2309

Ebru Pelvan; ORCID no: 0000-0002-3479-9514

GİRİŞ

Günümüzde beslenme modeli ile sağlık arasındaki yakın ilişki çeşitli bilimsel verilerle ortaya konmuş, yapılan çalışmalarla yaşam süresinin uzatılmasının yanı sıra sağlıklı yaşam ve yaşam kalitesinin yükseltilmesi hedeflenmiştir. Tüm dünyada sağlıklı gıda, fonksiyonel gıda, nütrosötikler (destekleyici besinler), medikal gıda, zenginleştirilmiş gıda, diyet gıda ve benzeri pek çok kavram gündeme gelmiş ve sağlığı koruyucu ve iyileştirici olarak nitelendirilen bu gıdaların üretimine hız verilmiştir (Alasalvar ve Pelvan, 2009). Bu kapsamda, tamamen doğal besinlerden elde edilen biyoaktif özellikteki maddelerin günlük yaşamda tükettiğimiz gıdalara eklenmesi ile ortaya çıkan ve sentetik özellik taşımayan fonksiyonel gıdalar pazarı hızla büyümektedir.

Fonksiyonel gıdalar pazarında piyasaya sürülen ürünlerin ve hammaddelerin çeşitliliği de her geçen gün artmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda sağlığa yararlı bitkilerin etken maddelerinin saflaştırılmasıyla gıda, ilaç ve kozmetik sanayinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Bitkilerde ikincil metabolitler olarak adlandırılan ve biyolojik aktivite gösteren bu fenolik maddeler pek çok farklı gruptan oluşmaktadır (Gini ve Jothi, 2018; Milevskaya vd., 2019). Fenolik maddelerin gösterdikleri kimyasal özelliklere göre ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri farklılık göstermektedir.

Fındık, flavan-3-ol, benzoik asit, flavonoller gibi fenolik maddeler açısından zengin bir kaynaktır (Taş ve Gökmen 2015; Ghirardello vd., 2016; Yuan vd., 2018; Lainas vd., 2016; Pelvan Pelitli vd., 2017; Armada vd., 2019; Taş vd., 2019). Fındığın bileşimindeki yağ, protein, karbonhidrat, diyet lif, vitaminler (vitamin E), mineraller, fitosteroller (özellikle β -sitosterol) ve antioksidan özellikteki fenolik maddelerin beslenme ve sağlıklı yaşam üzerinde önemli bir role sahip olduğu vurgulanmıştır (Yuan vd., 2018, Napolitano vd., 2018).

Kabuklu yemişlerin U.S. Food and Drug Administration (FDA- Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından kalp-dostu sağlıklı gıdalar olarak tanımlanmasının ardından kabuklu yemişlerin

karakterizasyonu, sağlık üzerine etkilerinin araştırılması kapsamındaki çalışmalar hız kazanmıştır (Alasalvar ve Bolling, 2015). Avrupa ve diğer batı ülkeleri değerlendirildiğinde fındık (*Corylus avellana* L.), kabuklu yemişler içerisinde en popüler beşinci kabuklu yemıştır (INC, 2019). Türkiye yıllık 287.500 ton üretimi ile toplam üretimin %63'ünü karşılamakta ve dünyada en büyük üretici konumundadır (INC, 2019). Türkiye'de 18 çeşit fındık yetiştirilmekte olup kalitelerine göre Giresun ve Levant olarak ayrılmaktadırlar. Tombul fındık bu türler arasında Giresun kalite olarak sınıflandırılmakta ve Türkiye fındık üretiminin %25-30'ini oluşturmaktadır (Pelvan vd., 2012; Taş ve Gökmen, 2015).

Fındık yan ürünlerinden (zarı, yeşil kabuğu gibi) elde edilen fraksiyonların antioksidan kapasiteleri ile ilgili yayınlar olmasına rağmen (Alasalvar vd., 2006; Shahidi vd., 2007; Barreira vd., 2008; Alasalvar vd., 2009; Pelvan vd., 2012) fındıktan elde edilen fraksiyonlar ile ilgili çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Fındıktan elde edilen ekstratlar ve bunların fraksiyonlarının nütrosötik, gıda takviyesi, ilaç ve kozmetik sektöründe kullanma potansiyeli oldukça yüksektir. Bu sebeple, bu çalışmanın amacı fındığın bileşimindeki polifenolik maddelerin adsorban kolon dolgu maddesi kullanılarak ayrılması ve elde edilen fraksiyonların karakterizasyonudur.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Birinci kalite Türk Tombul fındığı (*Corylus avellana* L.) Giresun'daki Fındık Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Güneş altında kurutulan (3 gün boyunca ~20-25 °C'de) kabuklu fındıklar kontrollü kabinlerde (5 °C sıcaklık ve %65-70 bağıl nemde) saklanmıştır. Analiz öncesi sert kabukları kırılan fındıklar zarları ile birlikte analiz edilmiştir. Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich (Poznan, PL)'den temin edilmiştir.

Yağı alınmış örneklerin hazırlanması

Fındıkların yağını alma işlemi Pelvan Pelitli vd. (2017)'nin belirttiği yöntemde küçük değişikliklerle gerçekleştirilmiştir. Özetle, fındıklar kahve değirmeninde (Bosch, Ljubljana, Slovenya) 3 dakika boyunca öğütülmüş ve sonrasında

Soxhlet düzeneğinde hegzan ile yağı uzaklaştırılmıştır (katı:sıvı oranı 1:10, w/v, 3 kez 15 dakikalık işlem, 65 °C).

Ham ekstrelerin hazırlanması

Yağı alınmış fındık örneğindeki fenolik maddeler, katı: sıvı oranı 1:10 (w/v) olacak şekilde 80:20 (v/v) aseton/su karışımı kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Bu işlem için çalkalamalı su banyosu (Julabo SW 22, Seelbach, Almanya) 70 °C'de 15 dakika boyunca kullanılmıştır. Ekstrakte edilen kısım soğuduktan sonra dikkatli bir şekilde süzülüş ve aynı işlem iki kez daha tekrarlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrası toplanan sıvı kısımdaki çözgen döner buharlaştırıcıda (model Büchi Rotavapor R-200, Büchi Labortechnik AG, Flawil, İsviçre) vakum altında 40 °C'de uçurulmuştur. Kalan sulu kısım ise dondurmalı kurutucu (Freezone 6, 77530, Labconco Co., Kansas City, MO, ABD) kullanılarak (72 saat boyunca -48 °C ve 0.046 mbar'dan başlayarak) kurutulmuştur. Elde edilen toz ham ekstre analiz edilene kadar -20 °C'de saklanmıştır.

Fenolik fraksiyonların hazırlanması

Toz ham ekstreyi fraksiyonlarına ayırmak için Pelvan Pelitli vd. (2017)'nin belirttiği yöntem küçük değişikliklerle kullanılmıştır. Özetle, %95 etanolde (v/v) çözünen ham ekstre Sephadex LH-20 gel ile doldurulmuş (5x40 cm) ve %95'lik etanol geçirilmiş kolona dikkatlice verilmiştir. Düşük molekül ağırlıklı fenolik bileşenleri uzaklaştırmak için 1 L etanol akışı verilmiştir. Elde edilen elüsyonlar fraksiyon toplayıcıda (RediFrac, Pharmacia Biotech AB, Uppsala, İsveç) 4 mL hacimlerde ayrı tüplere toplanmıştır. Her bir tüpün absorbansı 280 nm'de ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerine göre tüpler dört farklı fraksiyon olacak şekilde bir araya getirilmiştir. Sonrasında kolonda kalan yüksek molekül ağırlıklı fenolik bileşenleri (tanen fraksiyonu) uzaklaştırmak için 600 mL %50 aseton (v/v) akışı verilmiştir. Elde edilen toplamda 5 fraksiyon, döner buharlaştırıcıda (model Büchi Rotavapor R-200, Büchi Labortechnik AG, Flawil, İsviçre) vakum altında 40 °C'de çözgenlerinden uzaklaştırılmıştır.

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Fraksiyonların toplam fenolik madde miktarları, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak Pelvan vd. (2012)'nin belirttiği üzere analiz edilmiştir. Fraksiyonlar metanolde çözülmüş ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğer (GAE)/g ekstre olarak verilmiştir.

Kondense tanen miktarının belirlenmesi

Fraksiyonların kondense tanen miktarları, vanillin metodunun modifiye hali kullanılarak Price vd. (1978)'nin belirttiği üzere analiz edilmiştir. Fraksiyonlar metanolde çözülmüş ve sonuçlar mg kateşin eşdeğer (KE)/g ekstre olarak verilmiştir.

Antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme kapasitesi

Fraksiyonların antioksidan kapasiteleri, DPPH radikali kullanılarak Amarowicz vd. (2009)'nin belirttiği üzere analiz edilmiştir. Fraksiyonlar metanolde çözülmüş ve sonuçlar başlangıçtaki DPPH radikalinin %50'sini inaktive etmek için mL'de olması gereken ekstre miktarı olan IC₅₀ değeri olarak verilmiştir.

ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonik asit) radikal süpürme kapasitesi

Fraksiyonların antioksidan kapasiteleri, ABTS radikali kullanılarak Koroleva vd. (2014)'nin belirttiği üzere analiz edilmiştir. Fraksiyonlar metanolde çözülmüş ve sonuçlar Trolox eşdeğer (TE)/g ekstre olarak verilmiştir.

FRAP (Demir iyon indirgeyici antioksidan kapasitesi)

Fraksiyonların antioksidan kapasiteleri, FRAP yöntemi kullanılarak Benzie ve Strain (1999)'nin belirttiği üzere analiz edilmiştir. Fraksiyonlar metanolde çözülmüş ve sonuçlar mg FeSO₄.7H₂O/g ekstre olarak verilmiştir.

İstatistiksel analiz. Tüm analizler üç paralel olacak şekilde çalışılmış olup sonuçlar üç paralelin ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir. Şekil olarak verilen sonuçlarda standart sapma bar özelliği kullanılarak verilmiştir. Örnekler arasında istatistiksel açıdan farklılık olup olmadığının

tespiti SPSS 22 versiyon (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edilmiştir. Farklılıkların tespiti için ANOVA ve Student's t-test kullanılmıştır.

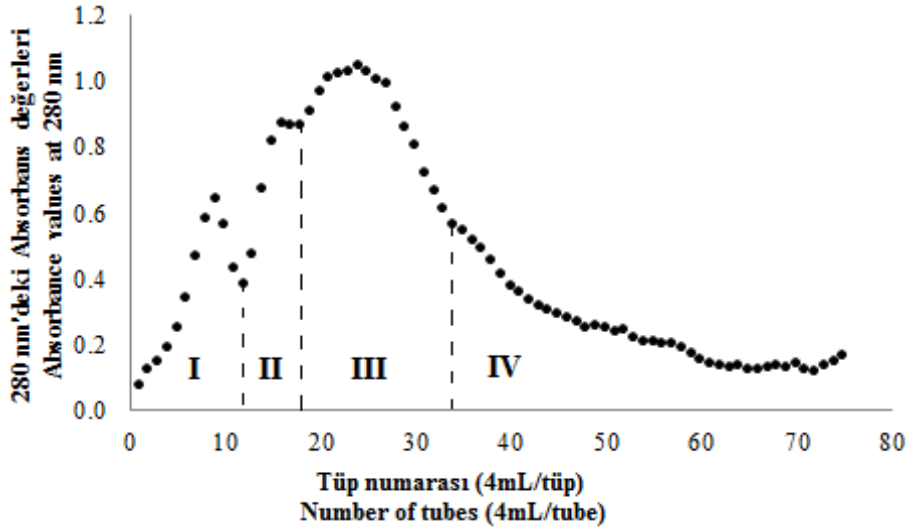
SONUÇ VE TARTIŞMA

Ham ekstrelerin hazırlanması ve fenolik fraksiyonların ayrılması

Fındıktan ham ekstrenin elde edilmesi için %80 aseton/su (v/v) çözeltisi kullanılmıştır. Literatürde de belirtildiği üzere fındıktaki toplam fenolik madde miktarının %60-65'ini oluşturan kondense tanenleri (Contini vd., 2008) ekstrakte etmekte en etkin çözelti olan %80 aseton/su çözeltisi hem yüksek molekül ağırlıklı hem de düşük molekül ağırlıklı fenolik maddelerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır [fındık yeşil kabuğundan ekstraksiyon (Alasalvar vd., 2006); kabuklu yemişlerden ekstraksiyon (Karamać vd., 2007); diğer bitkilerden toplam fenolik madde ekstraksiyonu (Naczek ve Shahidi, 2004; Alasalvar vd., 2009; Monagas vd., 2009)]. Elde edilen ekstrenin verimi 4.27 g/100 g fındık olarak hesaplanmıştır. Karamać vd. (2007)'nin %80 aseton kullanarak yaptıkları çalışmada ham ekstre verimini 8.48 g/100 g fındık, Pelvan Pelitli vd. (2017) ise 5.15 g/100 g fındık olarak belirtmiştir.

Shahidi vd. (2007)'nin %80 etanol kullanarak yaptıkları çalışmada ham ekstre verimini 2.26g/100 g fındık olarak vermiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların sebebi kullanılan fındığın cinsi, hasat yılındaki iklim koşulları ve kullanılan çözgenin farklı olması olabilir.

Elde edilen ham ekstrenin Sephadex LH-20 gel ile doldurulmuş kolona (5x40 cm) uygulanmasıyla elde edilen etanol elüsyonlarından toplanan 4 mL'lik hacimdeki her tüpün 280 nm'deki absorbans değeri okunmuştur. Elde edilen absorbans değerlerinden oluşturulan grafik yardımıyla ayrı tepe (pik) oluşturan her tüp grubu ayrı bir fraksiyon olarak toplanmıştır. Şekil 1'den görüleceği üzere toplamda dört (4) farklı fraksiyon elde edilmiştir. Etanol elüsyonu sonrası kolonda kalan yüksek molekül ağırlıklı fenolik bileşenleri (tanen fraksiyonu) uzaklaştırmak için kolona verilen aseton elüsyonu ise ayrı bir fraksiyon olarak toplanmıştır. Kolon kromatografi yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışmada toplamda beş (5) fraksiyon elde edilmiş olup verimleri Çizelge 1'de verilmektedir. En düşük verim 0.62 g/100 g fındık ile Fraksiyon I'de elde edilirken en yüksek verim ise 1.97 g/100 g fındık ile Fraksiyon V'te elde edilmiştir.



Şekil 1. Sephadex LH-20 dolgulı kolondan elde edilen etanol elüsyonlarının 280 nm'deki absorbans değerleri

Figure 1. Absorbance values of ethanolic elutions observed from Sephadex LH-20 packed column at 280 nm

Çizelge 1. Elde edilen fraksiyonların verimleri, toplam fenolik madde ve kondense tanen miktarları
Table 1. Contents of yield, total phenolics, and condensed tannins in fractions

Fraksiyon Fraction	Verim (g/100 g fındık) Yield (g/100 g hazelnut)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE /g ekstre) Total Phenolics (mg GAE/ g extract)	Kondense Tanen (mg KE/g ekstre) Condensed Tannins (mg CE/g extract)
Fraksiyon I	0.62 ± 0.03 ^a	3.7 ± 0.1 ^b	0.9 ± 0.2 ^a
Fraksiyon II	0.57 ± 0.04 ^a	2.4 ± 0.0 ^a	n.d.
Fraksiyon III	0.79 ± 0.06 ^b	11.2 ± 0.2 ^c	n.d.
Fraksiyon IV	0.55 ± 0.02 ^a	10.9 ± 0.1 ^c	2.8 ± 0.2 ^b
Fraksiyon V	1.97 ± 0.08 ^c	77.9 ± 1.2 ^d	227 ± 1.3 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir ($n = 3$).

Aynı sütunda verilen farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

Kısaltmalar: GAE, Gallik Asit Eşdeğer; KE, Kateşin Eşdeğer.

Data are expressed as means ± the standard deviation ($n = 3$).

Different letters given within a column, shows significant difference ($P < 0.05$).

Abbreviations: GAE, Gallic Acid Equivalent; CE, Catechin Equivalent.

Daha önce Pelvan Pelitli vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, düşük molekül ağırlıklı (LMW), ileri saflaştırılmış düşük molekül ağırlıklı (LMW-FP) ve yüksek molekül ağırlıklı (HMW) fraksiyonlarına ayrılan fındığın verimi sırasıyla 4.40, 0.54 ve 0.65 mg/100 g fındık olarak raporlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmada düşük molekül ağırlığına (LMW) sahip bileşikler tek bir fraksiyon olarak elde edilmişken, bu çalışmada öncekinden farklı olarak, LMW fraksiyonu UV'de verdiği absorpsiyon değerlerine göre ayrılarak toplamda dört ayrı fraksiyon olarak elde edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarları

Elde edilen fraksiyonların toplam fenolik madde miktarları Çizelge 1'de verilmektedir. En düşük fenolik madde miktarı 2.4 mg GAE/g ekstre ile Fraksiyon II ve en yüksek değer 77.9 mg GAE/g ekstre ile Fraksiyon V'te tespit edilmiştir. İstatistiksel açıdan fark tespit edilen ($P < 0.05$) numuneler toplam fenolik madde miktarına göre şu şekilde sıralanmaktadır: Fraksiyon V > Fraksiyon III > Fraksiyon IV > Fraksiyon I > Fraksiyon II.

Literatürde yer alan çalışmalar değerlendirildiğinde; Pelvan Pelitli vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada LMW olarak adlandırılan düşük molekül ağırlığına sahip bileşikler 8 mg GAE/g ekstre ile en düşük değere

sahipken HMW olarak adlandırılan yüksek molekül ağırlığına sahip bileşikler 219 mg GAE/g ekstre ile en yüksek değere sahiptirler. Şeker ve organik asitlerin uzaklaştırıldığı LMW-FP fraksiyonun toplam fenolik madde miktarı ise 47 mg GAE/g ekstre olarak verilmiştir. Pelvan vd. (2012)'nin farklı fındık türlerinde yaptığı çalışmada toplam fenolik madde miktarı 178 mg GAE/100 g fındık ile 727 mg GAE/100 g fındık arasında olduğu belirtilmiştir. Alasalvar vd. (2006)'nin fındık zarından %80 aseton (v/v) ve %80 metanol (v/v) kullanarak elde ettiği fraksiyonlardaki toplam fenolik madde miktarı şu şekildedir: Tanen fraksiyonu (Fr.II) için asetonla ekstraksiyonda 697 mg KE/g ekstre; metanolla ekstraksiyonda 746 mg KE/ g ekstre. Düşük molekül ağırlıklı fenolik maddeler fraksiyonu (Fr. I) 441 mg KE/g ekstre (asetonla ekstraksiyon) ve 442 mg KE/g ekstre (metanolla ekstraksiyon) ile en düşük değerlere sahip olmuştur. Amarowicz vd. (2005)'nin badem ile yaptıkları çalışmada, fenolik madde ham ekstresi, düşük molekül ağırlıklı fenolik maddeler fraksiyonu (Fr. I) ve tanen fraksiyonunun (Fr.II) toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 16.1 mg KE/ g ekstre, 7.14 mg KE/ g ekstre ve 80.4 mg KE/ g ekstre olarak verilmiştir.

Kondense tanen miktarları

Elde edilen fraksiyonların kondense tanen miktarları Çizelge 1'de verilmektedir. Fraksiyon II ve

Fraksiyon III'te kondense tanen tespit edilmezken Fraksiyon V 227 mg KE/g ekstre ile en yüksek değere sahiptir. Numuneler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

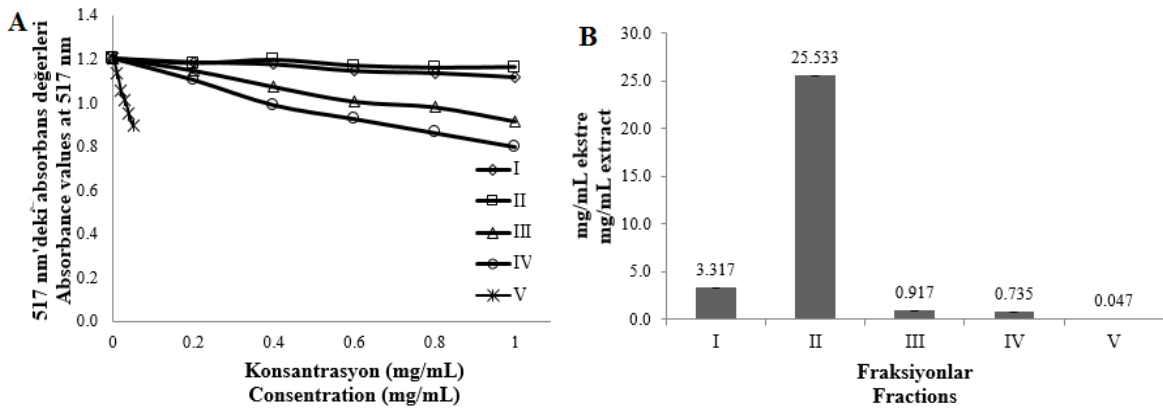
Aseton çözeltilerinin yüksek tanen içeren bitkilerdeki fenolik maddeleri ekstrakte etmede en etkin çözeltili olduğu vurgulanırken (Mueller-Harvey, 2001; Alasalvar vd., 2006; de la Rosa vd., 2011), metanolün ise daha çok düşük molekül ağırlıklı ve yüksek enzim içeriği olan matriksler için uygun olduğu belirtilmektedir (Arapitsas, 2012). Asetonun diğer çözügenlerden daha etkin olmasının sebebi; kondense tanenlerin yüksek molekül ağırlığına sahip olması ve asetonun polaritesinin de bu maddeler için uygun olmasıdır (Alasalvar vd., 2009).

Pelvan Pelitli vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada LMW olarak adlandırılan düşük molekül ağırlığına sahip bileşikler 5 mg KE/g ekstre ile en düşük değere sahipken HMW olarak adlandırılan yüksek molekül ağırlığına sahip bileşikler 1001 mg KE/g ekstre ile en yüksek değere sahiptir ve tamamının tanenlerden oluştuğu söylenebilir. Şeker ve organik asitlerin uzaklaştırıldığı LMW-FP fraksiyonun kondense tanen miktarı ise 24 mg KE/g ekstre olarak verilmiştir. Pelvan vd. (2012)'nin farklı fındık

türlerinde yaptığı çalışmada kondense tanen miktarları 941 mg KE/100 g fındık ile 1826 mg KE/100 g fındık arasında olduğu belirtilmiştir. Monagas vd. (2009)'nin fıstık, fındık ve badem ekstraktlarını karşılaştırdığı çalışmasında; fındığın ham ekstresi ve yüksek molekül ağırlığına sahip ekstresindeki kondense tanen miktarları badem ve fıstıginkilerden daha yüksek değerlere sahipken, düşük molekül ağırlıklı ekstresindeki değerler badem ve fıstık ile neredeyse benzer değerlerdedir. Kabuklu yemişlerde yapılan kondense tanen çalışmalarında fındık en yüksek kondense tanen miktarına sahipken sıralama şu şekilde verilmiştir: fındık, badem, kaju, kestane, pıkan cevizi ve antep fıstığı (Gu vd., 2004; USDA, 2011).

Antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi **DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme kapasitesi**

Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biri DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemidir (Locatelli vd., 2010). Yapılan çalışmada, Fraksiyon II 25.533 mg/mL ekstre IC_{50} değeri ile en düşük antioksidan kapasiteye sahipken Fraksiyon V 0.047 mg/mL ekstre ile en yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir (Şekil 2).



Şekil 2. DPPH yöntemine göre fraksiyonların antioksidan kapasiteleri (A, farklı konsantrasyondaki fraksiyonların 517 nm'deki absorban değerleri; B, fraksiyonların IC_{50} değerleri – DPPH radikalini %50 düşürmek için gerekli mg ekstre/mL)

Figure 2. Antioxidant capacities of fractions according to DPPH assay (A, Absorbance values of fractions with different concentrations at 517 nm; B, IC_{50} values (the amount of extract required to scavenge the initial DPPH radical by 50% and expressed as mg of fraction/mL of sample solution)

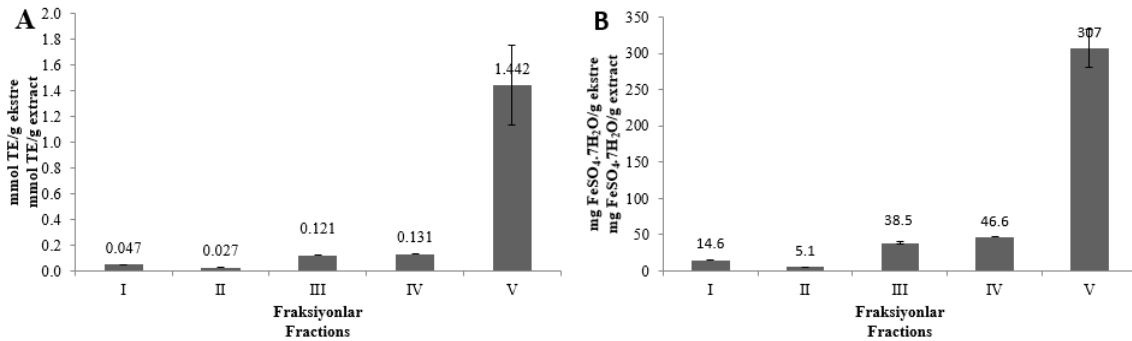
Alasalvar vd. (2006)'nin fındık ve fındığın yeşil kabuğunda iki farklı çözügen ile yaptığı çalışmada %80 aseton kullanarak ekstrakte ettiği fındığın ham ekstresinde IC₅₀ değerini 0.098 olarak bulmuştur. Alasalvar vd. (2009) tarafından yapılan başka bir çalışmada fındık zarı ham ekstresi ve fraksiyonlarının EC₅₀ değerleri sırasıyla ham ekstre 0.026, Fraksiyon I 0.027 ve Fraksiyon II 0.027 olarak belirtilmiştir. Delgado vd. (2010)'nin yaptığı çalışmada aseton ile elde edilen ekstraların en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirtmiş ve farklı kabuklu yemişlerin DPPH yöntemi ile analiz edilen antioksidan kapasitelerini şu şekilde sıralamıştır: ceviz > fındık > çam fıstığı > fıstık > badem. Monagas vd. (2009)'nin yaptığı çalışmada ise fıstık, fındık ve bademin zarlarından elde edilen ham ekstre, düşük molekül ağırlıklı fraksiyon ve yüksek molekül ağırlıklı fraksiyonlardan en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olanı her bir kabuklu yemiş için yüksek molekül ağırlıklı fraksiyondur ve birbirine yakın değerlere sahiptir. Ham ekstre ve düşük molekül

ağırlıklı fraksiyonlar değerlendirildiğinde fındık, fıstık ve bademe göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip çıkmıştır.

Pelvan Pelitli vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, elde edilen fraksiyonların DPPH yöntemine göre analiz edilen antioksidan kapasitelerinin sıralaması şu şekildedir: LMW < LMW-FP < HMW. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir.

ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonik asit) radikal süpürme kapasitesi

Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biri de ABTS radikal süpürme kapasitesi yöntemidir. Yapılan çalışmada, Fraksiyon II 0.027 mmol TE/ g ekstre ile en düşük antioksidan kapasiteye sahipken Fraksiyon V 1.442 mmol TE/ g ekstre ile en yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir (Şekil 3).



Şekil 3. Fraksiyonların antioksidan kapasiteleri (A, ABTS yöntemine göre; B, FRAP yöntemine göre)
Figure 3. Antioxidant capacities of fractions (A, according to ABTS assay; B, according to FRAP assay)

Shahidi vd. (2007)'nin %80 etanol (v/v) ile yaptığı çalışmada fındığın çekirdek kısmının diğer kısımlarına göre daha düşük antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirtmiştir (29.0 µmol TE/ g ekstre). Monagas vd. (2009)'nin fındık, fıstık ve bademden elde ettiği fraksiyonların antioksidan kapasitelerini ABTS yöntemi ile değerlendirdiği çalışmasında üründen bağımsız olarak sıralamayı şu şekilde vermiştir: HMW > ham ekstre > LMW.

Pelvan Pelitli vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, elde edilen fraksiyonların ABTS

yöntemine göre analiz edilen antioksidan kapasitelerinin sıralaması şu şekildedir: LMW < LMW-FP < HMW. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla ve diğer antioksidan kapasite analiz yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir.

FRAP (Demir iyon indirgeyici antioksidan kapasitesi)

Elde edilen fraksiyonların antioksidan kapasiteleri FRAP yöntemi ile de analiz edilmiştir (Şekil 3). Elde edilen sonuçlar diğer antioksidan kapasite

yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla benzer sıralamaya sahiptir.

Pelvan Pelitli vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, elde edilen fraksiyonların FRAP yöntemine göre analiz edilen antioksidan kapasitelerinin sıralaması şu şekildedir: LMW < LMW-FP < HMW. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla ve diğer antioksidan kapasite analiz yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir. Kamiloğlu vd. (2014)'nin kurutulmuş meyve ve kabuklu yemişlerde yaptıkları çalışmada % 0.1 formik asit içeren %75 metanol çözeltisi ile ekstrakte edilen fındığın antioksidan kapasitesi 201 mg TE/100 g fındık olarak raporlanırken bademin antioksidan kapasitesi 20 mg TE/100 g badem ve cevizinki de 1694 mg TE/100 g olarak verilmiştir. Kullanılan farklı çözümler ve farklı birimler sebebiyle mevcut çalışma ve literatür değerleri arasında direkt karşılaştırma yapılması mümkün değildir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, fındığın Sephadex LH-20 gel kolon dolgu maddesi kullanılarak polifenolik fraksiyonlarına ayrılmasıyla elde edilen fraksiyonlardan aseton elüenti ile gelen fraksiyon hem antioksidan kapasite açısından yüksek aktiviteye sahiptir hem de kondense tanenler açısından zengindir. Tanenler sağlık üzerine ve gıda kalitesi üzerine olumlu etkileri olan ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip maddelerdir. Bu sebeple fındık, yüksek tanen içeriği sebebiyle sağlık açısından önemli bir kaynak olarak değerlendirilebilir. Bu çalışma sonucunda, düşük molekül ağırlığına sahip fraksiyonların düşük toplam fenolik madde, kondense tanen miktarları ve antioksidan kapasiteleri sebebiyle ayrı ayrı fraksiyonlar olarak elde edilmesine gerek olmadığı, yüksek molekül ağırlıklı fraksiyondan ayrılmasının yeterli olduğu tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Avrupa Birliği FP7-NutraHEALTH projesi (Grant no: 316012) tarafından desteklenmiştir. Prof. Dr. Ryszard Amarowicz, Doç. Dr. Cesarettin Alaşalvar ve Dr. Michał

Adam Janiak'a desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR

Alasalvar C., Bolling B.W. (2015). Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *Br J Nutr*, 113: 68-78, doi: 10.1017/S0007114514003729.

Alasalvar C., Karamac' M., Amarowicz R., Shahidi F. (2006). Antioxidant and antiradical activities in extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut green leafy cover. *J Agric Food Chem*, 54: 4826-4832, doi: <https://doi.org/10.1021/jf0601259>.

Alasalvar C., Karamac', M., Kosińska A., Rybarczyk A., Shahidi F., Amarowicz, R. (2009). Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. *J Agric Food Chem*, 57: 4645-4650, doi: <https://doi.org/10.1021/jf900489d>.

Alaşalvar C., Pelvan E. (2009). Günümüzün ve geleceğin gıdaları fonksiyonel gıdalar. *Bilim ve Teknik*, 501: 26-29.

Amarowicz R., Estrella I., Hernández T., Dueñas M., Troszyńska, A., Kosińska A., et al. (2009). Antioxidant activity of a red lentil extract and its fractions. *Int J Mol Sci*, 10: 5513-5527, doi: 10.3390/ijms10125513.

Amarowicz R., Troszyńska A., Shahidi F. (2005). Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. *J Food Lipids*, 12: 344-358, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2005.00029.x>.

Arapitsas P. (2012). Hydrolyzable tannin analysis in food. *Food Chem*, 135: 1708-1717, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.096>.

Armada P.L., Rivas S., Gonzalez B., Moure A. (2019). Extraction of phenolic compounds from hazelnut shells by green processes. *J Food Eng*, 255: 1-8, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.008>.

Barreira J.C.M., Ferreira I.C.F.R., Oliveira M.B.P.P., Pereira J.A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower,

- leaf, skins and fruit. *Food Chem*, 107: 1106–1113, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.030>.
- Benzie I.F.F., Strain J.J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*, 299: 15-27, doi: 10.1016/s0076-6879(99)99005-5.
- Contini M, Baccelloni S, Massantini R, Anelli G. (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnuts (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chem*, 110: 659-669, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.060>.
- de la Rosa L.A., Alvarez-Parrilla E, Shahidi F. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of kernels and shells of Mexican pecan (*Carya illinoensis*). *J Agric Food Chem*, 59: 152-62, doi: 10.1021/jf1034306.
- Delgado T., Malheiro R., Pereira J.A., Ramalhosa, E. (2010). Hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts. *Ind Crops Prod*, 32: 621–626, doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.07.019>.
- Ghirardello D., Bertolino M., Belviso S., Belloa B.D., Giordano M., Rolle L., Gerbi V., Antonucci M., Spigolon N., Zeppa G. (2016). Phenolic composition, antioxidant capacity and hexanal content of hazelnuts (*Corylus avellana* L.) as affected by different storage conditions. *Postharvest Biol Tech*, 112: 95-104, doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.039>.
- Gini T.G., Jothi G.J. (2018). Column chromatography and HPLC analysis of phenolic compounds in the fractions of *Salvinia molesta* Mitchell. *Egypt J Basic Appl Sci*, 5: 197–203, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2018.05.010>.
- Gu L, Kelm M.A., Hammerstone J.F., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S., Prior R.L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J Nutr*, 134: 613–617, doi: 10.1093/jn/134.3.613.
- International Nut & Dried Fruit Council Foundation (INC), International Nut & Dried Fruits Statistical Year Book 2018/2019, https://www.nutfruit.org/files/tech/1553521370_INC_Statistical_Yearbook_2018.pdf. (Erişim tarihi: 01 Temmuz 2019).
- Kamiloglu S., Pasli A.A., Ozcelik B., Capanoglu E. (2014). Evaluating the in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *LWT - Food Sci Technol*, 56: 284-289, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.040>.
- Karamać M., Kosińska A., Rybarczyk A., Amarowicz R. (2007). Extraction and chromatographic separation of tannin fractions from tannin-rich plant material. *Pol J Food Nutr Sci*, 57: 471-474.
- Koroleva O., Torkova A., Nikolaev I., Khrameeva E., Fedorova T., Tsentlovich M., et al. (2014). Evaluation of the antiradical properties of phenolic acids. *Int J Mol Sci*, 15: 16351-16380, doi: 10.3390/ijms150916351.
- Lainas K., Alasalvar C., Bolling B.W. (2016). Effects of roasting on proanthocyanidin contents of Turkish Tombul hazelnut and its skin. *J Funct Foods*, 23: 647-653, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.029>.
- Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Martelli A., Stévigny C., Arlorio M. (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chem*, 119: 1647-1655, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.048>.
- Milevskaya V.V., Prasad S., Temerdashev Z.A. (2019). Extraction and chromatographic determination of phenolic compounds from medicinal herbs in the Lamiaceae and Hypericaceae families: A review. *Microchem J*, 145: 1036–1049, doi: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.11.041>.
- Monagas M., Garrido I., Lebron-Aguilar R., Gomez-Cordoves M.C., Rybarczyk A.,

- Amarowicz R., et al. (2009). Comparative flavan-3-ol profile and antioxidant capacity of roasted peanut, hazelnut, and almond skins. *J Agric Food Chem*, 57: 10590-10599, doi: 10.1021/jf901391a.
- Mueller-Harvey I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins. *Anim Feed Sci Technol*, 91: 3-20, doi: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00227-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00227-9).
- Nacz M., Shahidi F. (2004). Extraction and Analysis of Phenolics in Food. *J Chromatogr*, 1054: 95-111, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>.
- Napolitano A., Cerulli A., Pizza C., Piacente S. (2018). Multi-class polar lipid profiling in fresh and roasted hazelnut (*Corylus avellana* cultivar "Tonda di Giffoni") by LC-ESI/LTQOrbitrap/MS/MSⁿ. *Food Chem*, 269: 125-135, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.06.121.
- Pelvan E., Alasalvar C., Uzman S. (2012). Effects of roasting on the antioxidant status and phenolic profiles of commercial Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.). *J Agric Food Chem*, 60: 1218-1223, doi: 10.1021/jf204893x.
- Pelvan Pelitli E., Janiak M.A., Amarowicz R., Alasalvar C. (2017). Protein precipitating capacity and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut phenolic extract and its fractions. *Food Chem*, 218: 584-590, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.070>.
- Price M.L., Scoyoc S.V., Butler L.G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem*, 26: 1214-1218, doi: <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>.
- Shahidi F, Alasalvar C, Liyana-Pathirana C.M. (2007). Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *J Agric Food Chem*, 55: 1212-1220, doi: <https://doi.org/10.1021/jf062472o>.
- Taş N.G., Gökmen V. (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins. *J Food Comp Anal*, 43: 203-208, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.07.003>.
- Taş N.G., Yılmaz C., Gökmen V. (2019). Investigation of serotonin, free and protein-bound tryptophan in Turkish hazelnut varieties and effect of roasting on serotonin content. *Food Res Int*, 120: 865-871, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.051>.
- United States Department of Agriculture (USDA). Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Foods, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. (Erişim tarihi: 15 Aralık 2011).
- Yuan B., Lu M., Eskridge K.M., Isom L.D., Hanna M.A. (2018). Extraction, identification, and quantification of antioxidant phenolics from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shells. *Food Chem*, 244: 7-15, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.116>



AVRUPA BİRLİĞİ VE TÜRKİYE KAYNAKLI GIDALARDA 2009–2018 YILLARI ARASINDA RASFF BİLDİRİMLERİ*

Aydın Sağlam, M. Tuğrul Masatcioğlu[†]

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tayfur Sökmen Kampüsü,
Antakya, Hatay, Türkiye

Geliş / Received: 10.04.2020; Kabul / Accepted: 09.06.2020; Online baskı / Published online: 22.06.2020

Sağlam, A., Masatcioğlu, M.T. (2020). Avrupa Birliği ve Türkiye kaynaklı gıdalarda 2009–2018 yılları arasında RASFF bildirimleri. *GIDA* (2020) 45(4) 623-634 doi: 10.15237/gida.GD20051

Sağlam, A., Masatcioğlu, M.T. (2020). RASFF notification on foods originated from European Union and Turkey between 2009–2018. GIDA (2020) 45(4) 623-634 doi: 10.15237/gida.GD20051

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, Gıda ve Yemler için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF) veri kaynağında 2009–2018 yılları arasında gıdalarda yapılan bildirim sayılarını geniş kapsamlı incelemektir. Portalda RASFF üye ülkeleri ile Türkiye kaynaklı gıda ve gıda ürünlerinden elde edilen veriler; yıllara, ürün kategorilerine, bildirim türlerine, risk kararlarına, bildirim kaynağına ve tehlike kategorilerine göre sınıflandırılmıştır. Ürün kategorisine göre sonuçlar değerlendirildiğinde, en fazla bildirim meyve ve sebzelerde tespit edilmiştir. Bu ürün grubunun; veri kaynağına aktarılan tüm gıdalar içerisindeki oranı %20 olarak saptanmış, Türkiye kaynaklı bildirim yapılan gıdalar arasındaki payı ise dikkate değer düzeyde (%62) yüksek bulunmuştur. İlgili süreçte, gıdalarda yapılan bildirimlerde tehlike kategorilerine bakıldığında ilk sırayı mikotoksinlerin aldığı görülmektedir. Mikotoksinler incelendiğinde en fazla bildirim aflatoksinlerde (%89) olduğu ve bunu okratoksin A (%9)'nın takip ettiği belirlenmiştir. Ülkemiz kaynaklı gıda bildirimlerinde de benzer bir tablo elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Gıda ve yemler için hızlı alarm sistemi (RASFF), ürün kategorileri, risk kararları, bildirim türü, bildirim kaynağı, tehlike kategorileri, mikotoksinler

RASFF NOTIFICATION ON FOODS ORIGINATED FROM EUROPEAN UNION AND TURKEY BETWEEN 2009–2018

ABSTRACT

The aim of this study is to extensively investigate of the numbers of notifications in foods between 2009 and 2018 by using the Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) data source. In the RASFF portal, food and food products notifications obtained from member countries and Turkey are classified as years, product categories, types of notifications, risk decisions, source of notifications, and hazard categories. When the results are evaluated according to the product category, the most notification was found in fruits and vegetables. The notifications ratio in this category constituted 20% of total and the notification of fruits and vegetables originated from Turkey were determined remarkably higher (62%). In this period (2009–2018), it was seen that mycotoxin notifications take the first place according to the hazard category. Once the mycotoxins notifications were examined, it was shown that aflatoxins were the most reported one (89%) and it was followed by ochratoxin A (9%). A similar trend was also observed in food notifications originated from our country.

Keywords: Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), product categories, risk decisions, type of notification, source of notification, hazard categories, mycotoxins

* Bu araştırma makalesi Aydın SAĞLAM'ın yüksek lisans tez çalışması kapsamında hazırlanmıştır.

[†] Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: tmasatci@gmail.com,

☎: (+90) 326 245 5845

☎: (+90) 326 245 5832

Aydın Sağlam; ORCID no: 0000-0003-3721-7783

M. Tuğrul Masatcioğlu; ORCID no: 0000-0002-2583-8796

GİRİŞ

Gıda ve Yemler için Hızlı Alarm Sistemi (Rapid Alert System For Food and Feed; **RASFF**), 1979 yılında kurulan, gıdalarda ve yemlerde ciddi riskler oluşmasının sonucunda bu sistemdeki üye ülkelerin (Avrupa Birliği üyesi 28 ülkenin ulusal gıda güvenliği otoriteleri, Avrupa Komisyonu (European Commission; EC), Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority; EFSA), Avrupa Serbest Ticaret Birliği (European Free Trade Association; EFTA) ve Norveç, Lihtenştayn, İzlanda, İsviçre) arasında gıda veya yem ile ilgili sağlık tehditlerine karşı daha hızlı ve koordineli bir şekilde hareket edilmesini ve alınabilecek önlemler ile ilgili yetkili kontrol birimleri arasında bilgi aktarımının yapılabilmesini sağlayan bir araçtır (Anonymous, 2007). Bu sistemde, üye ülkelerden herhangi biri, insan sağlığı açısından gıda veya yem kaynaklı olarak tehdit oluşturabilecek bir bilgiyi RASFF aracılığı ile Komisyon'a bildirir. Komisyon irtibat noktası tarafından riskin doğrulanmasından sonra bu bildirimler belirlenen riskin ciddiyetine ve ürünün marketteki dağılımına göre, komisyon irtibat noktası bildirimini ağ üyelerine iletmeden önce "alarm", "bilgi" ya da "sınır reddi" bildirimleri olarak sınıflandırılır ve RASFF bildirimleri ağda bulunan tüm üyelere iletilir.

RASFF'nin işleyişinin daha net anlaşılabilmesi için Avrupa Birliği Komisyonu tarafından tanımlanan bildirimlerin açık bir şekilde ifade edilmesi gerekir. Bu bağlamda alarm bildirimleri, markette bulunan gıda, yem ya da gıdayla temas eden materyal; ciddi bir risk içerdiğinde ve bildirim yapan ülkeden ziyade başka bir ülkede hızlı hareket etmek gerektiğinde gönderilir. Alarm bildirimleri, problem tespit eden ve çekme veya geri çağırma ile ilişkilendirilen bir ölçümü sunan ağ üyesi tarafından başlatılır ve marketlerinde ilgili ürün bulunan ağ üyelerinin tamamına bildirimleri doğrulamak için gerekli bilgi vermeyi amaçlar. Alarm bildirimine maruz kalan ürünler çekilmiş ya da marketlerden çekilmek üzere işlenenlerdir. Üye ülkelerin eğer gerekirse medyaya detaylı bilgi sağlamayı içeren eylemleri gerçekleştirecekleri kendi mekanizmaları vardır. Sınır reddi bildirimleri; insan sağlığı ve hayvan sağlığı için risk oluşturmasından dolayı Avrupa Birliği'ne girişte

reddedilen gıda, yem ya da gıdayla temas eden materyaller gibi sevkiyatlarla ilgili bildirimlerdir. Bilgi bildirimleri, riski tespit edilmiş gıda, yem ya da gıdayla temas eden materyalle ilgili ciddi bir risk durumu olmaması veya bildirim yapıldığı zamanda ürünün marketlerde bulunmamasından dolayı hızlı hareket etmeyi gerektiren bir durum olmadığında gönderilir. Avrupa Birliği Komisyonunun 16/2011 sayılı düzenlemesi 2 çeşit bilgi bildirimini tanımlar (EC, 2011). Bunlardan ilki olan takip için bilgi bildirimleri; başka üye ülkelerin marketlerinde yer alabilen ürünlerle ilgilidir. Dikkat için bilgi bildirimleri ise; sadece bildirim yapan ülkede bulunan ürünler, henüz marketlerde bulunmayan ürünler veya artık marketlerde olmayan ürünler için gönderilir. RASFF haberleri, gıda veya yem güvenliği ile ilgili bir alarm, bilgi veya sınır reddi bildirimleri olarak iletilmeyen ancak üye ülkelerdeki gıda ve yem kontrol yetkilileri için kayda değer olarak değerlendirilen herhangi bir bilgi türüyle ilgilidir (Anonymous, 2017).

RASFF'nin risk-fayda değerlendirmesi için farklı görüşler ileri sürülmüştür. Bánáti (2011) RASFF'nin yararlı bir araç olduğunu, ancak kontamine gıdaların piyasadaki gıda zincirine girmesini engelleyemeyeceğini bildirmiştir. Trevisani ve Rosmini (2008) RASFF uyarılarının, gıdaları geri çağırma veya ithal gıda ve ürünlerin piyasaya sürülmeden önce derecelendirme riskleri için faydalı olacağını rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, Marvin vd. (2009) RASFF sistemi içerisinde tehlikelerin ancak meydana geldikten sonra tespit edildiğini; bu nedenle, herhangi bir müdahale için etkin olmayacağını bildirmişlerdir. Spichtinger ve Astley (2009) ise, RASFF'nin Avrupa'da gıda güvenliğinin sağlanmasında hayati bir rol oynadığını ve tüketiciler için proaktif bir yaklaşım sergilediğini belirtmektedir.

Pigłowski (2020) tarafından yapılan çalışmada 1979–2017 yılları arasında, gıdanın RASFF sisteminde en sık bildirilen (tüm bildirimlerin % 89.5'i) ürün türü olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, gıdalarda tehlike kategorisine göre en çok RASFF bildirimleri mikotoksinlerde (gıda içindeki bildirimlerin % 23.0'i) tespit edilmiştir. Bunları sırasıyla, patojen mikroorganizmalar (% 624

18.2), pestisit kalıntıları (% 8.7), ağır metaller (% 6.0), bileşim (% 5.8), gıda katkı maddeleri ve aroma maddeleri (% 5.6), veteriner tıbbi ürün kalıntıları (% 4.4) ve yabancı cisimler (% 3.7) takip etmektedir.

Kowalska vd. (2018) Polonya'daki tahıl ve fırıncılık ürünlerinde yapılan gıda hilelerini araştırdıkları çalışmalarında, Polonya ile bağlantılı RASFF portalında yer alan tahıl ve fırıncılık ürünlerinde genel bildirimleri (n=177) inceleyerek en çok uyumsuzluğun mikotoksinler, beyan edilmemiş genetik modifiye materyaller ve alerjenler üzerine olduğunu rapor etmişlerdir. Pop vd. (2015) araştırmalarında 2007–2014 yılları arasında RASFF yıllık raporlarını baz alarak gıda ve yemlerde tanımlanan biyolojik tehlikelerin düzeyini analiz etmişlerdir. Anılan çalışmada Avrupa Ekonomik Alanı (European Economic Area, EEA) ülkeleri tarafından mikotoksin kontaminasyonları (aflatoksin; AF, deoksinivalenol; DON, fumonisin; F, okratoksin A; OTA, patulin, zearalenon; ZEN) dikkate alınarak gönderilen bildirimlerden alınan bilgilerin analizine başvurulmuştur. Çalışma bulguları, mikotoksin kontaminasyonunun (AF baskın olmak üzere) görülme sıklığının önemli düzeyde olduğunu ve fakat son yıllarda mikotoksin kontaminasyonlarının azalma trendi (2007–2014 yılları arasında %50 civarında) gösterdikleri bildirilmiştir. Bu gelişimin RASFF sisteminin kullanılabilirliği ve verimliliğinin yansımaları olarak göz önüne alınabileceği vurgulanmıştır. Çınar vd. (2017) 2009–2016 yıllarını kapsayan RASFF Türkiye raporunda, söz konusu yıllarda Avrupa Birliği'ne yapılan ihracatların ülkemiz kaynaklı temel sorunun ürünlerdeki yüksek aflatoksin düzeyi olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın öncelikli amacı, 2009–2018 yıllarını kapsayan on yıllık periyotta RASFF (Gıda ve Yemler için Hızlı Alarm Sistemi)'a üye ülkelerde gıda ve gıda ürünlerinde gerçekleşen bildirimlerin yıllara, ürün kategorilerine, bildirim türlerine, risk kararlarına, bildirim kaynağına ve tehlike kategorilerine göre sınıflandırılıp, detaylı olarak incelenmesi ve bu süreçte ülkemiz kaynaklı gıdalarda yapılan bildirimler ile kıyaslanmasıdır. Çalışmada ayrıca, gıdalarda en ciddi tehlike

oluşturan bildirim türü olan mikotoksinler kapsamlı olarak ele alınmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Veri Materyali

Bu çalışmada RASFF veri tabanı (<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>) kaynak olarak kullanılmıştır (RASFF Portal, 2019). RASFF portalında primer arama tipi “gıda” olarak seçilmiştir. Bildirim türleri; alarm, sınır reddi, bilgi bildirimi, takip için bilgi bildirimi, dikkat için bilgi bildirimi olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmada bildirim kaynakları; sınır kontrolü (sevkiyatı engellenmiş, sevkiyatına izin verilmiş veya gümrük sevkiyatı), şirketin kendi ürünlerine yaptığı kontroller, tüketici şikâyeti üzerine yapılan kontroller, gıda zehirlenmeleri üzerine yapılan kontroller, medya takibi, RASFF bildirimlerinin ardından resmi kontroller, piyasadaki resmi kontroller ve ACC üzerinden istek/bilgi şeklinde gruplandırılmıştır. Gıda bildirimlerinin RASFF portalında tehlike kategorileri; hile, alerjenler, biyolojik kontaminantlar, kimyasal kontaminantlar, bileşim, çevresel kirleticiler, gıda katkı maddeleri ve aromalar, yabancı maddeler, genetiği değiştirilmiş gıda, endüstriyel kontaminantlar, etiketsiz veya eksik/yanlış etiketleme, metaller, mikrobiyal kontaminantlar, migrasyon, mikotoksinler, doğal toksinler, diğer/belirlenmemiş, yeni geliştirilen gıda, organoleptik görünüm, hatalı/yanlış paketlenme, parazit istilası, patojenik mikroorganizmalar, pestisit kalıntısı, yetersiz kontrol, proses kontaminantları, radyasyon, veterinerlik tıbbi ürün atıkları ve TSEs (örneğin; geviş getiren hayvan DNA varlığı) olarak sınıflandırılmıştır. Tehlike kategorisinde risk kararları ise ciddi, ciddi değil ve kararsız olmak üzere 3 grup altında değerlendirilmiştir. RASFF portalı ürün kategorisinde tüm gıdalar (örneğin; tahıl ve fırıncılık ürünleri, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, meyve ve sebzeler, balık ve balık ürünleri) araştırma kapsamında incelenmiştir. Çalışmada RASFF sistemine üye tüm ülkelerden gelen bildirimler dikkate alınmıştır. Ayrıca, ülkemiz kaynaklı gıdalarda yapılan bildirimlerin değerlendirilmesi amacıyla portaldaki ürün kategorisi altında ülke sekmesinden Türkiye seçilerek tarama yapılmıştır.

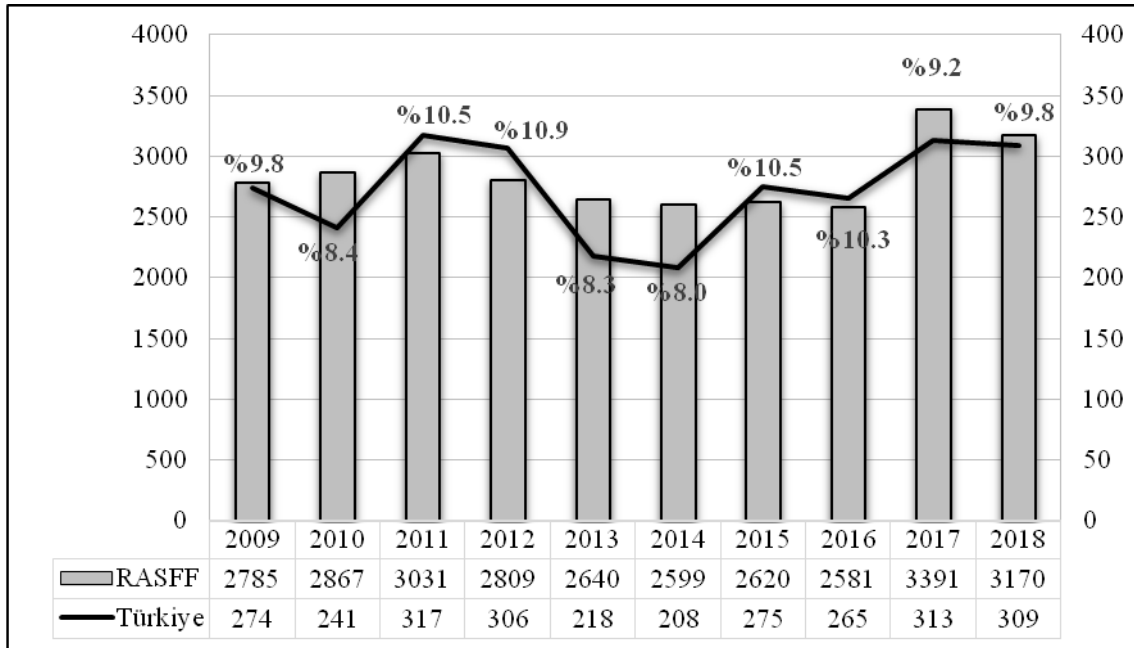
Verilerin Değerlendirilmesi

RASFF portalında 01 Ocak 2009 – 31 Aralık 2018 tarihleri arasında, RASFF üyelerinin yaptıkları ve Türkiye kaynaklı bildirimler Microsoft Excel (2016) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler bildirimlerin yapıldığı yıllara, bildirimleri yayınlayan ülkelere, bildirim türlerine, gıda ürünü türlerine, tehlikenin çeşitlerine, risk değerlendirmelerine ve kontrol noktalarına göre sınıflandırılmıştır. Türkiye kaynaklı gıdalarda yapılan bildirim sayıları ile RASFF üyesi ülkeler tarafından yapılan bildirim sayılarını kıyaslamak amacıyla SPSS paket programı kullanılarak korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Gıda ve Yemler için Hızlı Alarm Sistemi (Rapid Alert System For Food and Feed; RASFF) portalında RASFF üyesi ülkeler ve Türkiye kaynaklı gıdalarda (ham ve/veya işlenmiş) 2009–2018 arasında yapılmış olan bildirimlerin yıllara göre dağılımı Şekil 1’de verilmiştir. RASFF üyesi ülkeler tarafından son on yılda gıdalarda toplam 28493 bildirim yapıldığı, bu bildirimlerin 2009’dan

2011’e kadar artış gösterdiği ve 2011 yılından da 2014’e kadar azalma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, RASFF bildirimlerinin yaklaşık %30 artışla son 2 yılda en yüksek seviyelere ulaştığı saptanmıştır (Şekil 1). Pigłowski (2020) araştırmasında, tehlike kategorilerini dikkate alarak 2000–2017 yılları arasında RASFF portalında toplam bildirim sayılarını incelemiş, 2002/2003’ten 2005/2006’ya kadar bildirim sayısında önemli bir artış olduğunu ve daha sonraki süreçte sayının stabil devam ettiğini; bununla birlikte, 2017 yılında yine önemli bir artış meydana geldiğini bildirmiştir. Çalışmada, 2000–2017 yıllarındaki gıda akışı ile RASFF sistemindeki bildiri sayısı arasında orta düzeyde korelasyon (Pearson katsayısı, r) tespit edilmiştir. Araştırmacı, burada önemli olan etkenin, Avrupa Birliği içi ithalat durumunda elde edilen korelasyonun ($r = 0.69$), Avrupa Birliği dışı ithalat durumundan ($r = 0.53$) daha yüksek, bunun da iç pazardan gelen gıda miktarı ile ilgili tehlikelerin tespitinin daha yüksek olmasıyla ilgili olduğunu rapor etmiştir.



Şekil 1. Gıdalarda 2009–2018 yılları arasında yapılan RASFF bildirim sayıları
Figure 1. RASFF notifications in foods between 2009–2018

Türkiye kaynaklı gıdalarda yapılan bildirim sayıları ile RASFF üyesi ülkeler tarafından yapılan bildirim sayıları arasında yüksek düzeyde korelasyon ($r = 0.71$) belirlenmiştir. Şekil 1’de ayrıca ülkemiz kaynaklı gıdalarda yapılan bildirimlerin, RASFF sistemindeki toplam bildirimlere oranları da verilmiştir. Buna göre, toplam bildirimlerin %8.0–%10.5’inin ülkemiz kaynaklı olduğu tespit edilmiştir.

RASFF portalında ürün kategorilerine göre bildirim sayıları incelendiğinde; en fazla bildirim meyve ve sebzelerde (%20) olurken; bunu %17’lik oranla sert kabuklu yemişler ve tohumlar takip etmektedir. Tahıl ve fırıncılık ürünlerinde ise bildirim sayısı yaklaşık %5 oranında (1446 bildirim) tespit edilmiştir. Türkiye kaynaklı gıdalarda 2009–2018 yılları arasında ürün kategorilerine göre bildirim sayısına bakıldığında en fazla bildirim meyve ve sebzelerde (%62) olurken; bunu %27’lik oranla sert kabuklu yemişler ve tohumlar takip etmektedir. Tahıl ve fırıncılık ürünlerinde ise bildirim sayısı yaklaşık %1 oranında tespit edilmiştir. Türkiye kaynaklı gıdalarda ürün kategorilerine göre bildirim sayıları, RASFF ağındaki üye ülkelerden alınan veriler ile kıyaslandığında oransal bir farklılık gösterse de sıralamanın aynı olduğu görülmektedir. Çınar vd. (2017) Türkiye tarafından ihraç edilen ve RASFF veri tabanında (2009–2016) en çok bildirim bulunan ürün grubunun meyve ve sebze (%60) olduğunu rapor etmişlerdir. Bir diğer çalışmada, 2011–2015 yılları arasında ülkemiz kaynaklı ürün gruplarına göre bildirim sayısı incelenmiş, en fazla bildirim %64 ile meyve ve sebzeler için olduğu ve bunu %23 ile sert kabuklu yemişler ve tohumların takip ettiği bildirilmiştir (Yılmaz Çebi ve Olhan, 2017).

RASFF portalında gıda ürünlerinde 2009–2018 yılları arasında yapılan bildirimlerin türlere göre (alarm, sınır reddi, bilgi bildirim, takip için bilgi bildirim, dikkat için bilgi bildirim) değişimi Şekil 2’de sunulmuştur. RASFF sisteminde 2009 ve 2010 yıllarında alarm, sınır reddi ve bilgi bildirimleri yapılmışken, 2011 yılından itibaren “bilgi” bildirimleri yerine “dikkat için bilgi” ve “takip için bilgi” bildirimleri yapılmıştır. Son on yılda bildirimlerin türlere göre dağılımı

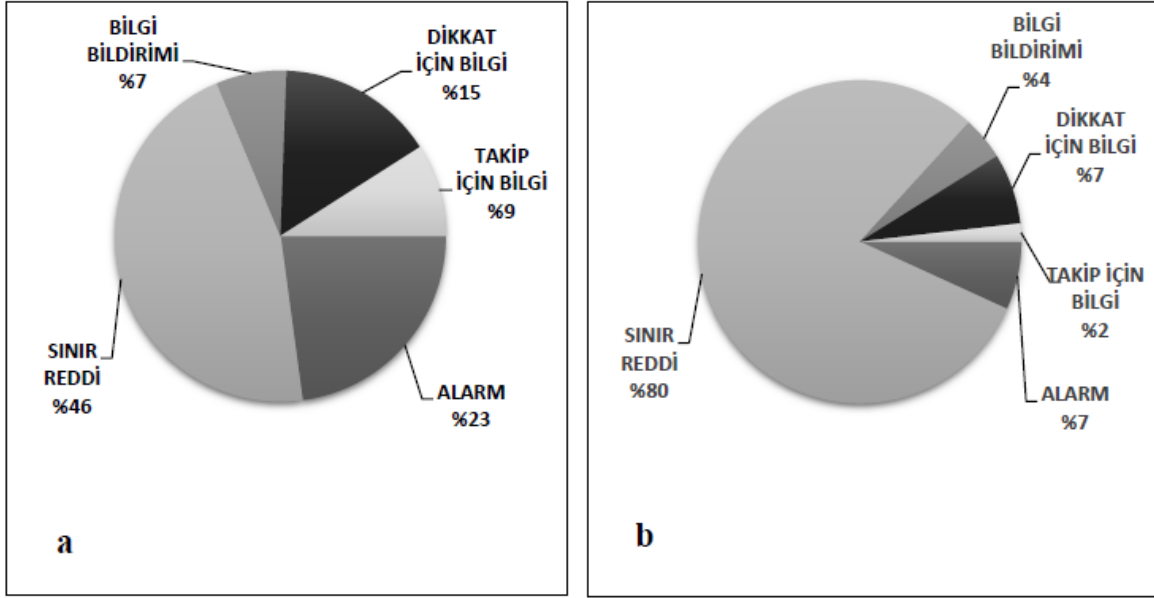
incelendiğinde sınır reddi bildirimleri %46’lık oranla en yüksek değere sahip bulunmuştur. RASFF portalında 2009–2018 yılları arasında gıdalarda 6515 alarm bildirim, 13062 sınır reddi bildirim, 1959 bilgi bildirim, 4387 dikkat için bilgi bildirim ve 2570 takip için bilgi bildirim yapılmıştır (Şekil 2a). Türkiye kaynaklı gıdalarda 2009–2018 yılları arasında toplamda 2726 RASFF bildirim yapılmış olup, bu bildirimlerin %7’si alarm bildirim (186 bildirim), %80’i sınır reddi bildirim (2180 bildirim), %4’ü bilgi bildirim (118 bildirim), %7’si dikkat için bilgi bildirim (193 bildirim), %2’si takip için bilgi bildirim (49 bildirim) olarak tespit edilmiştir (Şekil 2b). Dolayısıyla, Türkiye kaynaklı gıdalarda türlere göre en fazla bildirim sınır reddi bildirimleri olduğu, bir diğer ifadeyle ihraç edilen gıdaların daha pazara girmeden sınırda ret edildiği görülmektedir. Yılmaz Çebi ve Olhan (2017) çalışmalarında, sınırdan geri çevrilen gıdaların ülkemize ulaştığında, “Bitkisel Gıda ve Yemin İhracatında Sağlık Sertifikası Düzenlenmesi ve İhracattan Geri Dönen Ürünler İçin Uygulama Yönetmeliği” (Anonymous, 2011) kapsamında işlem gördüğünü bildirmişlerdir. Öte yandan bu durum, ülkemiz ihracatını da önemli düzeyde etkilemekte ve gıda güvenliği konusunda ihracatçı ülkeler tarafından endişe yaratmaktadır.

RASFF bildirimlerinde alınan risk kararları ciddi, ciddi değil ve kararsız olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. RASFF portalında 2009–2011 yıllarında alınan risk kararları “kararsız” şeklinde bildirilmiş olup; 2011 yılından sonra alınan risk kararlarında “kararsız” bildirimler azalma eğilimi göstermiş, “ciddi” risk kararlarında ise, artış gözlemlenmiştir. Son on yılda (2009–2018) yapılan 28493 bildirim %45’i kararsız (12682 bildirim), %41’i ciddi (11678 bildirim), %14’ü ciddi değil (4133 bildirim) risk kararı şeklinde dağılım göstermiştir. Türkiye kaynaklı bildirimlerin risk kararları ise, %46’sı ciddi (1250 bildirim), %43’ü kararsız (1172 bildirim), %11’i ise ciddi değil (304 bildirim) düzeyinde tespit edilmiştir.

RASFF portalına ilgili süreçte bildirim yapan ülkeler arasında 4086 bildirim ile (toplam bildirim %14’ü) İtalya ilk sırada yer alırken,

bunu sırasıyla Büyük Britanya (3268 bildirim; %12) ve Almanya (3106 bildirim; %11) takip etmektedir. Türkiye kaynaklı gıdalarda 2009–2018 yılları arasında en çok bildirim yapan ülke 605 bildirim ile (toplam bildirim %22'si) Bulgaristan olurken, Bulgaristan'ı sırasıyla, Almanya (549 bildirim; %20), Fransa (287 bildirim; %11) ve İtalya (260 bildirim; %10) takip etmektedir. Avrupa Birliği'ne meyve ve sebze ihracatımızın yaklaşık %90'ı lojistik bakımdan tercih edilen

Bulgaristan üzerinden yapılan resmi kontrollerden sonra üye ülke pazarına sunulmaktadır (Yılmaz Çebi ve Olhan, 2017). Diğer taraftan, Türkiye'nin 2008'den 2017 yılı sonuna kadar toplamda 1.388.195.824 \$ ihracat yaptığı ve buradaki en büyük payın Almanya'ya ait olduğu bildirilmiştir (Koşar, 2018). Bu literatür bilgileri, Türkiye kaynaklı gıdalarda en çok bildirim yapan ülkeleri destekler niteliktedir.



Şekil 2. Gıdalarda 2009–2018 yılları arasında yapılan RASFF bildirim türleri; (a) RASFF ve (b) Türkiye kaynaklı veriler

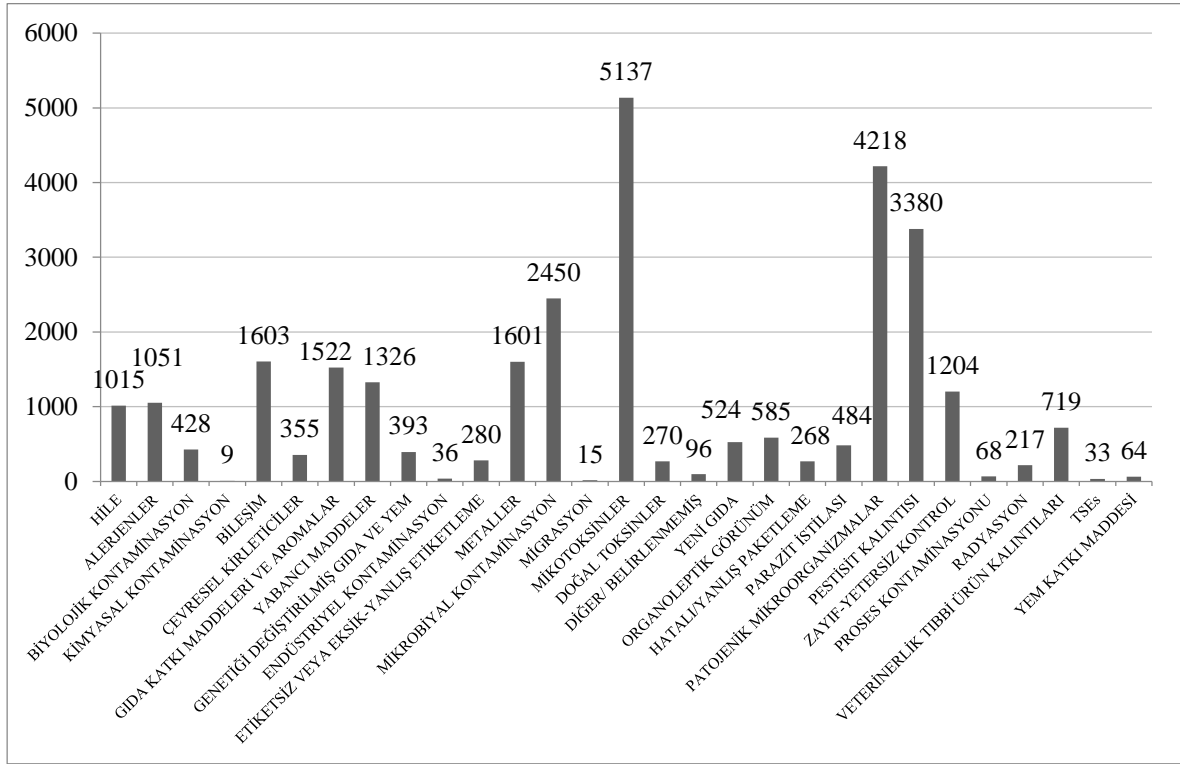
Figure 2. RASFF notification types in foods between 2009–2018; according the source of (a) RASFF and (b) Turkey

Gıdalarda bildirim kaynağına göre 2009–2018 yılları arasında yapılan RASFF bildirimlerin %51'i sınır kontrolü, %30'u piyasadaki resmi kontrolleri, %11'i şirketin kendi ürünlerine yaptığı kontroller, %4'ü tüketici şikâyeti üzerine yapılan kontroller, %2'si gıda zehirlenmeleri üzerine yapılan kontrolleri kapsarken, diğerleri ise %1'lik dilimi kapsamaktadır. Türkiye kaynaklı gıdalarda ise ilgili süreçte (2009–2018) yapılan bildirimlerin %82'si sınır kontrolü, %14'ü piyasadaki resmi kontrolleri kapsarken, %4'lük dilimi ise diğerleri oluşturmaktadır. Son on yılda Türkiye kaynaklı 2726 bildirim 2027'si sınırda kontrol edilip sevkiyatına izin verilmeyen gıdalar oluşturmaktadır.

Gıdalarda bildirimlerin tehlike kategorilerine göre 2009–2018 yılları arasında yapılan RASFF bildirim sayısı Şekil 3'te sunulmuştur. Son on yılda gıdalarda tehlike kategorisine göre en çok RASFF bildirim mikotoksinlerde (5137 bildirim; toplam bildirim %17'si) yapılmıştır. Bunları sırasıyla patojen mikroorganizmalar (4218 bildirim; %14), pestisit kalıntıları (3380 bildirim; %12) ve diğerleri takip etmektedir. RASFF sisteminin kurulduğu 1979 yılı ile 2017 yıllarını kapsayan bir araştırmada, tehlike kategorilerine göre yapılan toplam 45761 bildirim 10507'sini (%23) mikotoksinlerin oluşturduğu ve bunu sırasıyla patojen mikroorganizmalar (8322 bildirim; %18.2) ve pestisit kalıntılarının (4002 bildirim;

%8.7) izlediği bildirilmiştir (Pigłowski, 2020). Bu bilgi göz önüne alındığında RASFF sisteminin kurulduğu günden bu yana mikotoksinlerde yapılan toplam bildirim sayısının yaklaşık yarısının son on yıllık dönemde olduğu görülmektedir. Türkiye kaynaklı gıdalarda tehlike kategorisine göre mevcut durum değerlendirildiğinde, ilgili periyotta en fazla bildirim (1364 bildirim) mikotoksinlerde yapıldığı tespit edilmiştir. Bu değer, RASFF üye ülkeleri tarafından bildirilen

toplam mikotoksin değerinin %26.6'sını kapsamaktadır. Bir diğer anlatımla, RASFF portalında gıdalarda yapılan toplam mikotoksin bildirimlerinin %26.6'sını Türkiye kaynaklı gıdalar oluşturmaktadır. RASFF portalından elde edilen veriler değerlendirildiğinde; en çok bildirim mikotoksinler kategorisinde olması dikkat çekici bulunmuş, makalenin ilerleyen bölümünde RASFF portalında mikotoksin başlığı daha detaylı incelenmiştir.



Şekil 3. Gıdalarda bildirimlerin tehlike kategorilerine göre 2009–2018 yılları arasında yapılan RASFF bildirim sayısı

Figure 3. RASFF notifications between 2009–2018 according to the hazard categories of notifications in foods

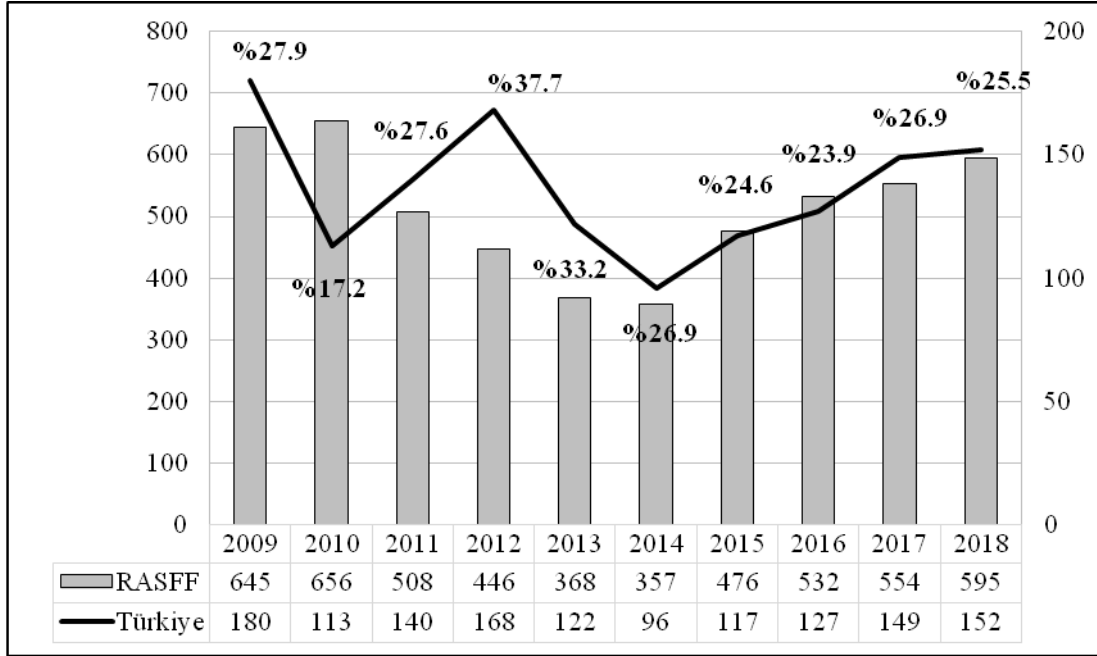
Gıdalarda Tehlike Kategorisine Göre Mikotoksinlerde Yapılan RASFF Bildirimleri

RASFF portalında son on yılda (2009–2018 yılları arası) gıdalarda tespit edilen mikotoksin bildirimlerinin yıllara göre değişimi Şekil 4'te sunulmuştur. En yüksek mikotoksin bildirim 2010 yılında tespit edilirken, 2010 yılından 2014 yılına kadar dikkate değer bir azalma tespit edilmiştir. 2014 yılından 31 Aralık 2018 tarihine kadar mikotoksin miktarında ise ciddi artış görülmüştür. Türkiye kaynaklı gıdalarda tespit

edilen mikotoksinlerde 2009 yılında maksimum seviyede olan bildirim sayısı 2014 yılında minimum düzeye inmiştir. 2015 yılından itibaren bildirim sayılarında bir önceki yıla göre artış gözlenmiştir (Şekil 4). Türkiye kaynaklı gıdalarda tespit edilen mikotoksinler için RASFF bildirimlerindeki bu genel eğilim üye ülkelerin verileri ile orta düzeyde korelasyon ($r = 0.45$) göstermiş olsa da, toplam mikotoksin bildiriminin %17.2–37.7'sinin Türkiye kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Pop vd. (2015) RASFF yıllık raporlarını

bazı olarak 2007–2014 yılları arasında gıda ve yemlerde mikotoksin kontaminasyonun (AF baskın olmak üzere) görülme sıklığının önemli düzeyde olduğunu ve fakat çalışmanın kapsadığı

son yıllarda mikotoksin kontaminasyonlarının azalma eğilimi (yaklaşık %50 civarında) gösterdiğini rapor etmişlerdir. Elde edilen veriler literatür ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 4. Gıdalarda tespit edilen mikotoksinlerde 2009–2018 yılları arasında yapılan RASFF bildirim sayısı

Figure 4. RASFF notifications between 2009–2018 on mycotoxins detected in foods

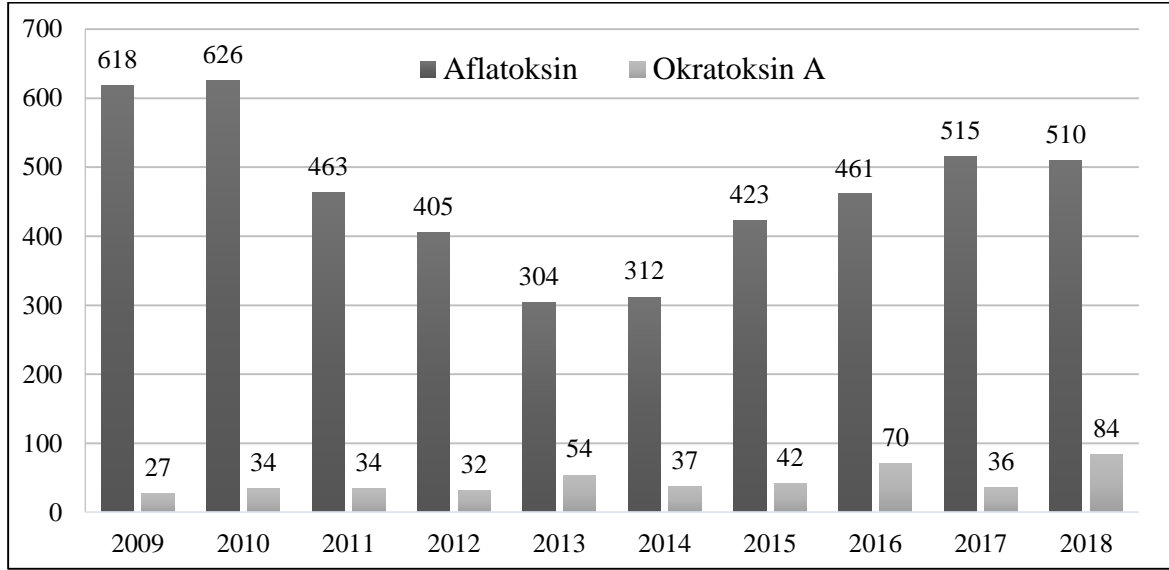
Yapılan bu mikotoksin bildirimlerinden 4076'sı sınır reddi bildirimi, 615'i alarm bildirimi, 108'i bilgi bildirimi, 315'i dikkat için bilgi bildirimi ve 23'ü ise takip için bilgi bildirimi olarak belirlenmiştir. İncelenen periyotta (2009–2018) tespit edilen toplam 5137 mikotoksin bildiriminin %40'ı (2064 bildirim) “kararsız”, %59'u (3045 bildirim) “ciddi”, %1'i (28 bildirim) ise “ciddi değil” risk kararı şeklindedir. Gıdalarda tespit edilen mikotoksinler bildirim kaynağına göre incelendiğinde; %82'si sınır kontrolü, %14'ü piyasadaki resmi kontrolleri kapsarken, diğerleri ise %4'lük paya sahiptir. İlgili süreçte Türkiye kaynaklı gıdalarda tespit edilen mikotoksinlerde toplamda 1364 bildirim yapılmıştır. Bu bildirimlerin 1153'ü sınır reddi bildirimi, 105'i alarm bildirimi, 27'si bilgi bildirimi, 76'sı dikkat için bilgi bildirimi ve 3'ü takip için bilgi bildirimidir. Bu bildirimlerin 858'i ciddi risk kararında, 4'ü ciddi değil ve 502'si kararsız olarak

ele alınmıştır. Türkiye kaynaklı gıdalarda tespit edilen mikotoksinlerin 2009–2018 yılları arasında yapılan bildirimlerin %86'sı sınır kontrolü, %12'si piyasadaki resmi kontrollerini kapsarken, diğerleri ise %2'lik dilimi kapsamaktadır. Bu bağlamda hem RASFF üye ülkeleri hem de ülkemizde en fazla bildirim; sınırda kontrolü sağlanıp sevkiyatına izin verilmeyen mikotoksin kaynaklı gıdalar oluşturmaktadır.

RASFF portalında elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, son on yılda mikotoksin bildirimlerinin %89'unu aflatoksin (AF), %9'unu okratoksin A (OTA) ve %2'lik kısmını diğer mikotoksinlerin oluşturduğu görülmektedir. Gıdalarda 2009–2018 yılları arasında RASFF sisteminde yapılan AF ve OTA bildirimlerinin yıllara göre dağılımı Şekil 5'te gösterilmiştir. Buna göre AF bildirim sayısı 2010 yılından 2014 yılına kadar düşüş gösterirken, takip eden yıldan itibaren

AF bildirim sayılarında tekrar bir artış gözlemlenmiştir. Şekil 4 ve Şekil 5'te gözlenen bu

eğilim 2014 yılında yürürlüğe giren Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği ile açıklanabilir.



Şekil 5. Gıdalarda 2009–2018 yılları arasında RASFF portalında yapılan aflatoksin ve okratoksin A bildirim sayısı

Figure 5. RASFF notifications between 2009–2018 on aflatoxin and ochratoxin A detected in foods

Aflatoksinler ile kontaminasyon riski bulunan belirli gıda maddelerinin belirli üçüncü ülkelerden ithalatını düzenleyen özel koşulları uygulamaya koyan ve 1152/2009 sayılı Yönetmeliği yürürlükten kaldıran Avrupa Birliği Komisyonu 884/2014 sayılı Yönetmeliği 13 Ağustos 2014 tarihinde yürürlüğe girmiştir. Bu gıda maddelerinin serbest dolaşımına izin verilinceye kadar her bir sevkiyat ile birlikte sağlık sertifikası, numune alma ve analiz sonuçları ve ortak giriş belgesi (Common Entry Document; CED) bulundurma zorunluluğu getirilmiştir (Anonymous, 2014). Bu getirilen yeni yönetmelikle birlikte daha etkin denetimlerin yapıldığı speküle edilebilir. Dolayısıyla bu durumun da, 2014'ten sonraki süreçte RASFF bildirimlerinde artışa neden olduğu (Şekil 1, Şekil 4 ve Şekil 5) ve ağın daha verimli kullanıldığını göstermektedir.

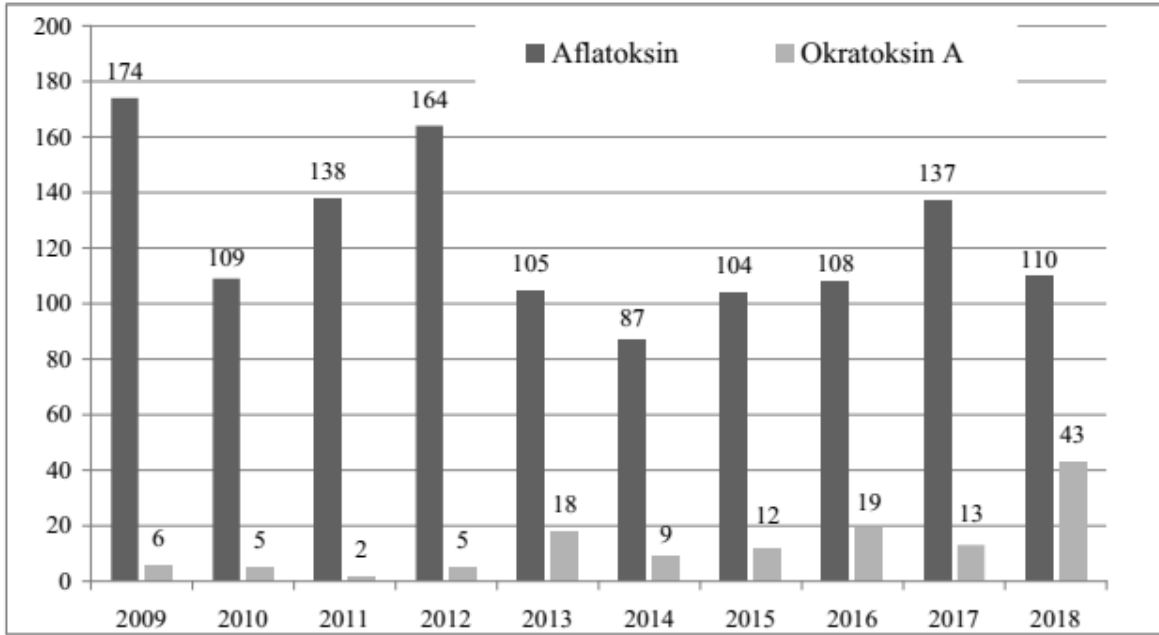
Gıdalarda 2009–2018 yılları arasında RASFF portalında yapılan OTA bildirimlerinin yıllara göre dağılımı Şekil 5'te verilmiştir. Son on yılda gıdalarda toplamda 450 OTA tespiti yapılmış

olup, bu değer toplam mikotoksinlerin %9'unu oluşturmaktadır. Her ne kadar OTA bildirim sayıları yıllar içerisinde değişim göstermiş olsa da, AF bildirimleri ile kıyaslandığında oldukça düşük bulunmuştur. Çalışmanın kapsadığı dönemde (2009–2018) gıdalarda tespit edilen mikotoksin bildirimlerinin %2'lik kısmını oluşturan Fumonisin, Deoksinivalenol, Zearalenon bildirim sayıları ise sırasıyla; 38, 56, 9 olarak tespit edilmiştir. Bu anılan mikotoksinlerin AF ve OTA bildirimlerine oranla çok düşük seviyede olması nedeniyle yıllara göre dağılımı çalışmada kapsam dışı tutulmuştur.

Ülkemiz kaynaklı gıdalarda yapılan bildirimler tehlike kategorilerine göre değerlendirildiğinde ise, mikotoksinlerin toplam bildirimlerin yaklaşık %50'sini oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu bağlamda, Türkiye kaynaklı gıdalarda öne çıkan iki mikotoksin grubu (AF ve OTA) için yıllara göre yapılan RASFF bildirim sayıları Şekil 6'da sunulmuştur. Anılan periyotta Türkiye kaynaklı gıdalarda toplamda 1236 bildirimde AF tespiti yapılmıştır. En yüksek AF bildirim (174 bildirim)

2009 yılında, en düşük AF bildirimleri (87 bildirim) ise 2014 yılında rapor edilmiştir. 2014 yılından sonra AF bildirimlerinde genel olarak yıldan yıla artış gözlemlenmiştir. Araştırmanın yapıldığı dönemde

Türkiye kaynaklı gıdalarda toplam 132 bildirimde OTA tespiti yapılmıştır. En çok OTA bildirimleri (43 bildirim) 2018 yılında görülmektedir (Şekil 6).



Şekil 6. Türkiye kaynaklı gıdalarda 2009–2018 yılları arasında tespit edilen aflatoksin ve okratoksin A RASFF bildirim sayısı

Figure 6. RASFF notifications on aflatoxin and ochratoxin A detected in foods originated from Turkey between 2009–2018

Kayabaşı (2015) Avrupa Birliği'ne ihraç ettiğimiz ve aflatoksin sorunu yaşadığımız fındık, Antep fıstığı ve kuru incir ile ilişkili olarak numune alma sıklıklarının yıllar içerisindeki değişimine dikkat çekmiştir. Kayabaşı araştırmasında, 1152/2009 sayılı Tüzük ile 2009 yılında belirlenen numune alma sıklıklarının fındıkta % 5'ten % 10'a, Antep fıstığında % 10'dan % 50'ye, kuru incirde ise % 10'dan % 20'ye çıkarıldığını, 884/2014 sayılı Tüzük ile 2014 yılında ise fındıkta numune alma sıklığının % 10'dan rastgeleye çekildiğini rapor etmiştir. İlgili Tüzüğe (884/2014) göre ithalat noktasındaki yetkili otorite, herhangi bir gıdanın Birlik içerisinde serbest dolaşımına izin vermeden önce, AF B₁ ve TAF için numune alarak, Tüzüğün ekinde (Ek I) belirtilen sıklıkta kimlik kontrolü ve fiziksel denetim gerçekleştirmektedir. Dolayısıyla bu durum, 2014 yılından günümüze aflatoksin bildirimlerinde gerçekleşen artışın önemli bir göstergesidir.

Diğer taraftan, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küfleri belirli gıda ve yemlerde uygun sıcaklık ve nem koşulları altında büyüyebildiği, hasat öncesi ve/veya sırasında, ambalajlama, sevkiyat ve depolama koşullarında aflatoksin ürettiği bilinmektedir (Bushby ve Wogan, 1979). Bu bağlamda, hasat öncesi ve/veya sırasında sıcaklık ve nem miktarları aflatoksin oluşumunda büyük önem arz etmektedir. Dolayısıyla, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü resmi web sayfasından (Anonymous, 2020) 2009–2018 yılları arasındaki Türkiye yıllık toplam yağış verisi alınmış ve ülkemiz kaynaklı gıdalarda yapılan toplam mikotoksin bildirimleri ile arasındaki korelasyon incelenmiştir. Buna göre, yıllık toplam yağış \times toplam mikotoksin bildirimleri arasında orta düzeyde korelasyon ($r = 0.44$) tespit edilmiştir. Ayrıca, 2009–2018 yılları arasındaki Türkiye yıllık ortalama nisbi nem verisi (Anonymous, 2020) ile ülkemiz kaynaklı gıdalarda

yapılan toplam mikotoksin bildirimleri arasında zayıf düzeyde korelasyon ($r = 0.33$) saptanmıştır. Türkiye yıllık ortalama sıcaklık verisi ile kıyaslandığında ise negatif yönlü zayıf düzeyde ($r = -0.30$) korelasyon bulunmuştur.

SONUÇ

Bu çalışmada, Gıda ve Yemler için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF) veri kaynağı kullanılarak 1 Ocak 2009–31 Aralık 2018 tarihlerini kapsayan on yıllık süreçte RASFF üye ülkeleri ile Türkiye kaynaklı gıda ve gıda ürünlerinde gerçekleşen bildirimler detaylı olarak incelenmiştir. Türkiye kaynaklı gıdalarda yapılan bildirim sayıları ile RASFF üyesi ülkeler tarafından yapılan bildirim sayılarının yıllara göre dağılımı incelendiğinde, bu iki değişken arasında yüksek düzeyde korelasyon ($r = 0.71$) tespit edilmiştir. Diğer taraftan, ilgili süreçte RASFF portalında yapılan toplam bildirimlerin yaklaşık %9.6'sının ülkemiz kaynaklı olduğu belirlenmiştir. Ürün kategorilerine göre bildirim sayıları değerlendirildiğinde en fazla bildirim meyve ve sebzelerde (%20) olurken; Türkiye kaynaklı gıdalarda yapılan bildirimlerde de sıralama değişmemiş, en fazla bildirim %62'lik oranla meyve ve sebzelerde tespit edilmiştir. Tehlike kategorisine göre gıdalarda en fazla RASFF bildiriminin mikotoksin kaynaklı olduğu, ülkemiz ihracatında da en önemli sorunun mikotoksin kaynaklı gıdaların oluşturduğu saptanmıştır. Bu çalışma kapsamında, RASFF üye ülkeleri tarafından bildirilen toplam mikotoksin değerinin yaklaşık %26.6'sının Türkiye kaynaklı olduğu belirlenmiş ve veriler arasında orta düzeyde korelasyon ($r = 0.45$) tespit edilmiştir. Hem RASFF üye ülkeleri hem de ülkemiz ihracatı açısından en önemli tehlike kategorisini aflatoksin oluşturmaktadır. Mikotoksinlerin üremesinde ve çoğalmasında başta sıcaklık ve nem olmak üzere, hasat öncesi ve/veya sırasındaki yağış, depolama veya sevkiyat koşulları gibi birçok faktörün etkili olduğu bilinmektedir. Bu hususta 2009–2018 yılları arasındaki ülkemiz kaynaklı gıdalarda yapılan toplam mikotoksin bildirimleri ile yıllık toplam yağış, yıllık ortalama nisbi nem ve yıllık ortalama sıcaklık verileri kıyaslanmış ve genel olarak orta/zayıf düzeyde korelasyon tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, son yıllarda özellikle mikotoksin bildirimlerindeki artışa paralel olarak RASFF sisteminde gıdalarda yapılan toplam bildirim sayısının arttığı belirlenmiştir. Bu bağlamda, Türkiye kaynaklı özellikle meyve ve sebzeler ile sert kabuklu yemişler ve tohumlarda aflatoksin bildirimleri maalesef önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye kaynaklı gıdalarda, 2009–2018 yılları arasında yapılan bildirimlerin %80'inin sınır reddi edildiği dikkate alındığında, bu durum ülkemiz ihracatına ekonomik bağlamda zarar vermesinin yanı sıra gıda ürünlerimizin dış pazarda önemli düzeyde itibar kaybetmesine de neden olmaktadır. Eğer dış pazarda rekabet gücümüzü arttırmak istiyorsak, üretimden depolamaya, ambalajlamadan sevkiyata kadar her bir noktada, iyi tarım uygulamaları, üreticilerin bilinçlenmesine yönelik eğitimlerin düzenlenmesi, depolama koşullarının gıda ürünlerine uygun olarak iyileştirilmesi ve denetimlerin artırılması büyük önem taşımaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

AS, makalenin metodoloji, biçimsel analiz, yazma–orijinal taslak ve görselleştirmesine katkı sunmuştur. MTM, kavramsallaştırma, metodoloji, biçimsel analiz, istatistiksel analiz, yazma– orijinal taslak, yazma–inceleme ve düzenleme, görselleştirme ve danışman olarak katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Anonymous (2007). The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report 2007. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2007_en.pdf, (Accessed: 06 May 2019).

Anonymous (2011). Bitkisel Gıda ve Yemin İhracatında Sağlık Sertifikası Düzenlenmesi ve İhracattan Geri Dönen Ürünler İçin Uygulama Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 25 Kasım 2011 tarih ve 28123 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonymous (2014). Commission Implementing Regulation (EU) No 884/2014 of 13 August 2014 imposing special conditions governing the import of certain feed and food from certain third countries due to contamination risk by aflatoxins and repealing Regulation (EC) No 1152/2009 Text with EEA relevance.

Anonymous (2017). The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report 2017. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2017.pdf, (Accessed: 06 May 2019).

Anonymous (2020). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü. Türkiye yıllık toplam yağış verisi, Türkiye yıllık ortalama nisbi nem verisi, Türkiye yıllık ortalama sıcaklık verisi. www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?k=parametrelerinTürkiyeAnalizi (Erişim tarihi: 03.06.2020).

Bánáti, D. (2011). Consumer response to food scandals and scares. *Trends Food Sci Tech*, 22, 56–60.

Bushby, W.F., Wogan, G.N., 1979. Food-borne mycotoxins and alimentary mycotoxicoses. (In H. Riemann & F. L. Bryan, Editör). In: Food-borne infections and intoxication. Academic Press, 519–610, New York.

Çınar, S., Yılmaz, S.N., Aydın, E., Yorulmaz, A. (2016). Gıda ve Yem İçin Hızlı Alarm Sistemi (RASFF) 2009–2016 Türkiye Raporu. *Türk Tarım – Gıda Bilim Teknol. Derg.*, 5(8): 873–882.

European Commission (2011). Commission Regulation (EU) No 16/2011 of 10 January 2011 laying down implementing measures for the Rapid alert system for food and feed. *Official Journal of the European Union*, L6, 7–10.

Koşar, A. (2018). Türkiye'nin son on yılda en çok ihracat ve ithalat yaptığı ülkelerin hiyerarşik

kümeleme analizi ile gruplandırılması ve değerlendirilmesi. *Bucak İşletme Fakültesi Dergisi*, 1(1): 17–28.

Kowalska, A., Soon, J.M., Manning, L. (2018). A study on adulteration in cereals and bakery products from Poland including a review of definitions. *Food Control*, 92: 348–356.

Marvin, H.J.P., Kleter, G.A., Prandini, A., Dekkers, S., Bolton, D.J. (2009). Early identification systems for emerging foodborne hazards. *Food Chem Toxicol*, 47, 915–926.

Piğłowski, M. (2020). Food hazards on the European Union market: The data analysis of the Rapid Alert System for Food and Feed. *Food Sci Nutr*, 8, 1603–1627.

Pop, C., Frunză, G., Ştef, D. S., Mărculeţ, A.P. (2015). Study on food safety through RASFF notifications in case of contamination with mycotoxins. *Univ Agric Sci Vet Med iasi*, 64: 166–172.

RASFF Portal (2019). The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Portal Search Page. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/> (Accessed: 06 May 2019).

Spichtinger, D., Astley, S. (2009). Report from the first international MoniQA conference: Increasing trust in rapid analysis for food quality and safety. *Qual Assur Saf Crop*, 1, 61–64.

Trevisani, M., Rosmini, R. (2008). Duties and functions of veterinary public health for the management of food safety: Present needs and evaluation of efficiency. *Vet Res Commun*, 32, 25–32.

Yılmaz Çebi, S., Olhan, E. (2017). Avrupa Birliği Gıda ve Yemde Hızlı Alarm Sistemi'nin Türkiye'nin gıda ürünleri ihracatı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 23(1) 133–144.

LYTIC BACTERIOPHAGES EFFECTIVE AGAINST *ESCHERICHIA COLI* O157:H7, A FOODBORNE PATHOGEN

Tuba Sakin Şahin, Nida Nur Urgancı, Zeliha Yıldırım*

¹Niğde Ömer Halisdemir University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Niğde, Turkey

Received / Geliş: 03.04.2019; Accepted / Kabul: 22.05.2020; Published online / Online baskı: 06.07.2020

Sakin Şahin, T., Urgancı, N. N., Yıldırım, Z. (2020). Lytic bacteriophages effective against *Escherichia coli* O157:H7, a foodborne pathogen. *GIDA* (2020) 45(4)635-645 doi: 10.15237/gida.GD20047

Sakin Şahin, T., Urgancı, N. N., Yıldırım, Z. (2020). Gıda kaynaklı patojen *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı etkili bakteriyofajlar. *GIDA* (2020) 45(4)635-645 doi: 10.15237/gida.GD20047

ABSTRACT

Bacteriophages are considered as alternative antibacterial agents in the food industry and phage therapy due to the widespread of multidrug-resistant pathogen bacteria. The objective of this study was to isolate lytic bacteriophages target to foodborne pathogen *Escherichia coli* O157:H7. For screening of bacteriophages, 51 samples were collected from sewage, wastewaters of fish farms, slaughterhouses and food factories, and 18 bacteriophages were isolated. The titer of the purified phages samples were changed among 1.7×10^4 - 1.02×10^8 PFU/ml. All of the isolated phages had lytic activity against *E. coli* O157:H7 strains and thus formed clear plaques. Four of 18 phages were found to have inhibitory effects against other *E. coli* strains including CFAI, ATCC 25922 and DS α in addition to *E. coli* O157:H7. It was observed that only two phages were infective against *Salmonella* Kentucky DMC35. The Eco-OH-phages were highly infection ability with EOP values from 0.5 to 0.1 against *E. coli* O157:H7 strains.

Keywords: Bacteriophage, *Escherichia coli* O157:H7, isolation, host range, efficiency of plating

GIDA KAYNAKLI PATOJEN *ESCHERICHIA COLI* O157:H7'YE KARŞI ETKİLİ BAKTERİYOFAJLAR

ÖZ

Bakteriyofajlar, çoklu ilaç dirençli patojen bakterilerin yaygın olması nedeniyle gıda endüstrisinde ve faj terapisinde alternatif antibakteriyel ajanlar olarak kabul edilmektedirler. Bu çalışmanın amacı, gıda kaynaklı patojen *Escherichia coli* O157:H7'ye etkili litik bakteriyofajları izole etmektir. Bakteriyofajların taranması için kanalizasyon, balık çiftliklerinin, kesimhanelerin ve gıda fabrikalarının atık sularından toplam 51 örnek toplanmış ve 18 bakteriyofaj izole edilmiştir. Safılaştırılmış faj örneklerin titreleri 1.7×10^4 - 1.02×10^8 PFU/ml arasında değişmiştir. İzole edilen fajların tümü, *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı litik aktiviteye sahip olduğu ve bu nedenle berrak plaklar oluşturduğu gözlenmiştir. On sekiz fajdan dördünün, *E. coli* O157:H7'ye ek olarak CFAI, ATCC 25922 ve DSa dâhil olmak üzere diğer *E. coli* suşlarına karşı enfektif oldukları bulunmuştur. Sadece iki fajın *Salmonella* Kentucky DMC35'e karşı enfektif olduğu gözlenmiştir. Eco-OH-fajları, *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı 0.5 ila 0.1 arasında EOP değerleri ile yüksek enfeksiyon kabiliyetine sahip olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Bakteriyofaj, *Escherichia coli* O157:H7, izolasyon, konak hücre aralığı, plak etkinliği

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ zeliha.yildirim@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 2252354

☎ (+90) 388 2250112

Zeliha Yıldırım; ORCID no: 0000-0002-6155-6921

Tuba Sakin Şahin; ORCID no: 0000-0002-0597-1872

Nida Nur Urgancı; ORCID no: 0000-0002-5467-1788

INTRODUCTION

E. coli, a member of Enterobacteriaceae, is a Gram-negative, oxidase-negative, catalase-positive, generally motile, facultative anaerobic and rod-shaped bacterium. Most *E. coli* strains are nonpathogenic and colonize harmlessly in the intestinal tract of warm-blooded animals and humans as a normal flora. However, some strains of *E. coli* are pathogenic to humans and cause foodborne illness. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), shiga toxin (Stxs) producer, is defined as the pathogenic *E. coli* causing hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. The serotype in the EHEC group that often cause diseases in humans are O157:H7. *E. coli* O157:H7 is an important foodborne pathogen that lives commensally in the rumen of food animals. It spreads to the soil and water through feces, and from these, it passes to foods such as fruit, vegetables and meat and contaminates them. *E. coli* O157:H7 outbreaks have been associated with beef, uncooked sausages, raw milk and dairy products, cider, sprouts, lettuce and spinach. *E. coli* O157:H7 infections often result in enterohemorrhagic enteritis, bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome (Callaway et al. 2006; Lim et al., 2010; Estrada-Garcia et al., 2013; Jang et al., 2017; CDC, 2019). *E. coli* O157:H7 infection is a major public health concern in the world since it can survive and persist in numerous environments such as soil, water, and food as well as in animal reservoirs. Also, *E. coli* O157:H7 resists acidic conditions using different acidic resistance systems. Briefly, this pathogen survives well in diverse environments, from its natural reservoir in healthy cattle to the farm environment and food (Lim et al., 2010).

Nowadays, the food industry and the pharmaceutical industry are in search of new products or methods, as consumers prefer foods that do not contain chemical preservatives and the number and proportion of antibiotic resistant pathogenic bacteria increase. Bacteriophages are one of the most important agents that can be alternatives to chemical preservatives and antibiotics. Bacteriophages or phages are one of the member of viruses, and they only infect bacterial cells without any negative effect on

human or animal cells. They are extremely abundant in the ecosystem and found everywhere where the bacteria are located. Their proliferation depends on infecting the host bacterial cell and using the bacterial intracellular synthetic machinery of their host cell. In other word, they are mandatory parasites that need the host cellular machinery to proliferate. Virulent or lytic bacteriophages can cause the lysis of host bacteria; therefore, they are natural biopreservative agents for the control of bacterial pathogens in food and therapy agents to kill pathogenic bacteria that cause illness in animals. Phage therapy is widely being reconsidered as an alternative to antibiotics. The phage preparations that are currently approved by the FDA and tracked for use in the food industry and in the prevention of bacterial infections in animals are Listex™ P100 and Listshield™ (*Listeria monocytogenes*), EcoShield™ (*E. coli*), SalmoFresh (*Salmonella*) and SalmoPro® (*Salmonella*). These approvals by the FDA have accelerated research on the isolation and use of phages against foodborne pathogens (Mahony et al., 2011; Sarhan and Azzazy, 2015).

The range of bacteria that phages can infect is different. Some phages can infect only one or a few strains, while others can infect bacteria of different genus (Ross et al., 2016). Differences in the host cell range of phages are determined by specific phage receptors located on the surface of the host cell (OmpC, lipopolysaccharide O-antigen, lipoteichoic acid etc.) (Letarov and Kulikov, 2017).

Nearly a century ago, d'Herelle (1919) showed the effectiveness of bacteriophages against pathogen bacteria. Due to the emergence of antibiotic resistant bacteria today, phage biocontrol and phage therapy have become popular again. Multidrug-resistant *E. coli* O157:H7 strains were isolated from human clinical samples and foods and become life threatens (Meng et al., 1998; Schmidt et al., 1998; Zhao et al., 2001). Studies conducted under in vitro conditions have demonstrated that lytic bacteriophages very effectively inhibit the growth of *E. coli* O157:H7 in the different foods including meat (Tomat et

al., 2013), vegetables (O'Flynn et al., 2004; Tanji et al., 2005; Raya et al. 2006; Abuladze et al., 2008; Sharma et al., 2009; Viasis et al., 2011a; Hudson et al., 2013).

In the food industry and phage therapy, it is important to isolate new phages with high lytic activity and a wide range of target cells and to create adequate phage stocks against pathogenic bacteria. This study was conducted to isolate new lytic bacteriophages with wide host range using *E. coli* O157:H7 strains as host system from sewage and wastewaters from different sources.

MATERIALS AND METHOD

Bacterial strains and culture conditions

E. coli O157:H7 NCTC 12900, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *E. coli* O157:H7 ATCC 35150 *E. coli* O157:H7 RSKK and *E. coli* O157 AİBÜ were used as host bacterial cells to isolate phages. *E. coli* O157:H7 strains were cultivated in brain heart infusion broth (BHI) (Lab M, Lancashire, UK) and stored at -80°C in BHI broth with 20% glycerol.

Collection of wastewater

Samples used for bacteriophage screening were collected from sewage, ponds, stream, sea and wastewaters of fish farms, slaughterhouses and food factories in Niğde, Ordu, İzmir, Bursa, Adana, and Kayseri provinces and kept at 4°C before processing. The water samples were processed using the method given by Yıldırım et al. (2018). Briefly, after water samples were centrifuged at 8000 × g for 15 min, the supernatants were collected and re-centrifuged at 8000 × g for 20 min. After the supernatants are passed through 4 layers of coarse filter paper, they were passed through 0.45 µm millipore syringe membrane filters (Sartorius, Germany). In the present study, 50 different wastewater samples and one raw milk sample were used to screen the lytic bacteriophages against five different *E. coli* O157:H7 strains.

Isolation of Bacteriophages

For isolation of bacteriophages, two different methods were used: direct isolation and enrichment method. In the direct isolation

method, filtrate samples were directly used for the presence of lytic activity against *E. coli* O157:H7 strains by using spot agar test and the double agar layer plate method. In the enrichment method, 10 ml of the filtrate samples were inoculated with 2 ml of actively grown culture of five different *E. coli* O157:H7 strains in Luria–Bertani (LB) broth and mixed with 3 ml of double strength LB broth. After incubation at 35°C overnight, chloroform (50 µL/mL) was added into the samples and vigorously mixed. The samples were centrifuged at 8000 × g for 20 min and the supernatants were collected, filtered through 0.45 µm millipore syringe membrane filters and maintained at 5°C (McLaughlin et al., 2006; Yildirim et al., 2018).

Bacteriophage Activity Test

The filtrate samples were tested for the presence of phages infecting *E. coli* O157:H7 NCTC 12900, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *E. coli* O157:H7 ATCC 35150, *E. coli* O157:H7 RSKK and *E. coli* O157 AİBÜ by using spot agar overlay and double layer agar plaque assay (Adams, 1959).

For spot agar overlay, 15 µl of individual phage lysates was spotted onto a lawn of actively growing target bacterium cell. The plates were left to dry at room temperature for 30 min and then incubated at 35°C overnight. In samples showing the inhibition region in the spot test, a double layer agar plate assay was used to both confirm the presence of infective phage and to determine the titer of phage.

In the double layer agar plaque assay, 100 µl of filtrate was mixed with 300 µl of actively growing target bacterial culture in a sterile vial and added to test tube containing 4 ml of molten soft LB agar held at 45-47°C, and then poured onto LB agar basal plates. After incubation overnight at 35°C, the plates were examined for the presence of plaques or any lytic activity on bacterial lawn.

Purification of bacteriophages

Phage plaques were purified using serial dilution purification method. Briefly, an isolated phage plaque was taken using a sterile Pasteur pipette and placed in 100 µL SM (50 mM Tris-Cl, pH 7.5, 99 mM NaCl, 8 mM MgSO₄, 0.01% gelatin)

buffer and vortexed very well. After chloroform (50 µl/ml) extraction and centrifugation (9,000 × g, 20 min, 4°C), the supernatant was transferred to a new sterile tube. Actively grown host cells (OD₆₀₀=0.5) were infected with the serially diluted phage samples and incubated at room temperature for 15 min in order to allow adsorption of phages to host cell. Phage-host cell mixture was added to 4 ml of 47-50°C LB soft agar (0.6% agar) and overlaid onto LB agar plates. The plates were incubated overnight at 35°C. To ensure that each plaque originated from a single bacteriophage type, the plaques were purified by at least four rounds of dilution and re-isolation.

Phage stocks preparation

For the assay, 1 ml of *E. coli* O157:H7 culture and 100 µL of the purified phage sample were added into 100 mL of LB broth and incubated overnight at 35°C. At the end of incubation, chloroform (50 µL/mL) was added and then they were centrifuged at 9,000 × g for 15 min. The supernatants were collected and filtered with a disposable 0.45 µm pore size syringe membrane filter (Sartorius, Germany). The double-layer plaque titration method was used to determine the

number of phage in each sample. Bacteriophage lysates were stored at 4°C over chloroform.

Host range of bacteriophages

To determine the host range, the isolated bacteriophages were tested 37 strains/serovars of pathogenic bacteria including, *E. coli* O157:H7 (n=5), other *E. coli* (n=4), *Salmonella* Enteritidis (n=6), *S. Typhimurium* (n=5), other *Salmonella enterica* serovars (n=8), *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10875, *Yersinia enterocolitica* O:9 AÜ, *Citrobacter freundii* AÜ, *Enterobacter aerogenes* AÜ, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus cereus* ATCC 10875 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Table 1). LB soft agar containing 300 µl of actively grown (OD₆₀₀=0.3) test bacterium was poured onto dried base plates. Subsequently, 10 µL of the 10⁻², 10⁻⁴, 10⁻⁶ phage dilutions were spotted on the overlay and incubated at 35°C for 18 h. At the end of the incubation, the plates were examined in terms of whether plaques were formed. In other word, the interaction of bacteriophage with target bacteria has been revealed as the presence of plaque formation. Phage plaques were evaluated for lysis profile and clarity.

Table 1. Titer of the isolated phage samples

Phage positive samples	Host cell <i>E. coli</i> O157:H7 strain	Phage titers of the samples (PFU/mL)	Phage code	Phage titer of the purified samples (PFU/mL)
Wastewater of milk plant-1	ATCC 35150	20.8×10 ⁶	Eco-OH1	6.80×10 ⁹
Wastewater of slaughterhouse-1	NCTC 12900	1.70×10 ⁴	Eco-OH2	2.60×10 ⁸
Wastewater of fish farm-1	NCTC 12900	3.50×10 ⁵	Eco-OH3	4.90×10 ⁸
Wastewater of slaughterhouse-2	NCTC 12900	5.60×10 ⁴	Eco-OH4	2.60×10 ⁸
Sea-1	ATCC 35150	3.35×10 ⁶	Eco-OH7	3.70×10 ⁹
Sea-2	ATCC 43888	5.75×10 ⁵	Eco-OH9	9.20×10 ¹⁰
Sewage-1	NCTC 12900	3.55×10 ⁷	Eco-OH10	2.00×10 ¹⁰
Sewage-1	ATCC 43888	3.95×10 ⁷	Eco-OH11	2.60×10 ⁹
Sewage-2	ATCC 35150	1.02×10 ⁸	Eco-OH13	2.10×10 ⁹
Pond-1	ATCC 43888	2.65×10 ⁶	Eco-OH14	6.50×10 ⁹
Wastewater of fish farm-2	ATCC 35150	5.85×10 ⁶	Eco-OH15	1.28×10 ¹⁰
Sewage-3	NCTC 12900	4.40×10 ⁷	Eco-OH16	1.80×10 ¹⁰
Sewage-3	ATCC 43888	2.00×10 ⁷	Eco-OH17	9.10×10 ¹⁰
Sewage-4	ATCC 35150	2.80×10 ⁴	Eco-OH18	3.00×10 ⁸
Sewage-5	ATCC 35150	6.55×10 ⁶	Eco-OH19	2.50×10 ⁹
Wastewater of slaughterhouse-3	NCTC 12900	2.80×10 ⁶	Eco-OH20	4.40×10 ⁹
Sewage-6	NCTC 12900	3.60×10 ⁷	Eco-OH21	5.90×10 ⁸
Stream-1	ATCC 43888	7.85×10 ⁵	Eco-OH22	1.13×10 ⁹

Efficiency of plating (EOP)

In this analysis, only phages that were effective against other bacteria in addition to their host cell were used. All bacterial strains to be tested were cultivated overnight (18 hours) at 35°C and 200 µl of each of those cultures ($OD_{600}=0.4$) was used in double layer plaque assays together with 100 µl of diluted phage lysate. After incubation overnight at 35°C, the number of phage plaque was counted. The EOP test for a particular phage was performed in parallel to all the bacterial strains tested. EOP was calculated as follows average the number of phage plaque on the test bacterium/average the number of phage plaque on the host bacterium. EOP was classified as “high”, “moderate”, and “low” efficiency based on the productive infection on the target bacterium. EOP was considered as “high” efficiency only if the phage-bacterium combination against the test bacterium had a productive infection of at least 50% ($EOP \geq 0.5$) compared to the host bacterium; $0.1 > EOP < 0.5$ was recorded “moderate” efficiency; $0.01 < EOP \leq 0.1$ was recorded as “low” efficiency; and $EOP < 0.01$ was considered as inefficient (Mirzaei and Nilsson, 2015).

Statistical analysis

Statistical analysis of the data gotten from three replications was accomplished using SPSS (version 11.0; SPSS, Chicago, IL, USA) package program and variance analysis (ANOVA).

RESULTS AND DISCUSSION

The basic approach in bacteriophage isolation is to obtain an environmental sample that is likely to contain a high percentage of the target bacteria. Phages are reported to be the most abundant organism on earth, and their total number on the planet is estimated to be more than 10^{31} . Since phages are a mandatory requirement for a host, their abundance and distribution are likely to rely on host organisms. Therefore, in order to understand the viral abundance, it is necessary to determine where most of their hosts are located. The most common locations of bacteria are human and animal intestines, sewage, soil, wastewater and marine environments (Abdon,

2008; Khan and Nilsson, 2015; Xu et al., 2016; Yu et al., 2016; Clokie et al., 2019).

In this study, total 50 wastewater samples and 1 raw milk sample were used for screening lytic phages infective against foodborne pathogen *E. coli* O157:H7. 10 of 50 the samples were obtained from river/stream water, 6 from sewage water, 7 from wastewater of fish farms, 3 from wastewater of food processing plants, 13 from wastewater of slaughterhouse, 3 from pond water, 2 from sea, 1 from hospital wastewater and 1 from swamp. Of the 50 samples examined, only 17 samples produced lytic plaques against *E. coli* O157:H7 strains tested (Table 1), and 7 samples yielded lysogenic (turbid) plaques. In the remaining 28 samples, turbid or lytic plaques were not detected.

As a result of phage screening, samples containing bacteriophage specific to *E. coli* O157: H7 are presented in Table 1. The isolated phages were designated as Eco-OH1-22. It was observed that sewage samples were good sources of lytic bacteriophages (Table 1). Many researchers have reported that various wastewaters, especially sewage, are the best source of bacteriophages specific for foodborne pathogen bacteria such as *E. coli*, *Salmonella* (Oot et al., 2007; Niu et al. 2009; Synnott et al., 2009; Viazis et al., 2011; Raya et al., 2011; Hudson et al., 2013; Litt and Jaroni, 2017; Yıldırım et al., 2018; Xu et al., 2019). *E. coli* O157:H7-specific phage positive samples were given Fig. 1. It was determined that the phage titers of the screened samples varied between 1.70×10^4 - 1.02×10^8 PFU/mL (Table 1).

The raw milk sample tested was found to have an infective effect against four different *E. coli* O157:H7 strains (Fig. 1b). When the serial dilutions prepared from the raw milk sample were tested against *E. coli* strains, the infective effect disappeared. In other word, the serial dilutions of the raw milk sample did not show inhibitory activity against any *E. coli* O157:H7 strains (Fig. 1c). Therefore, it was assumed that the infective effect of raw milk was not due to phages, but to the preservative added to raw milk.

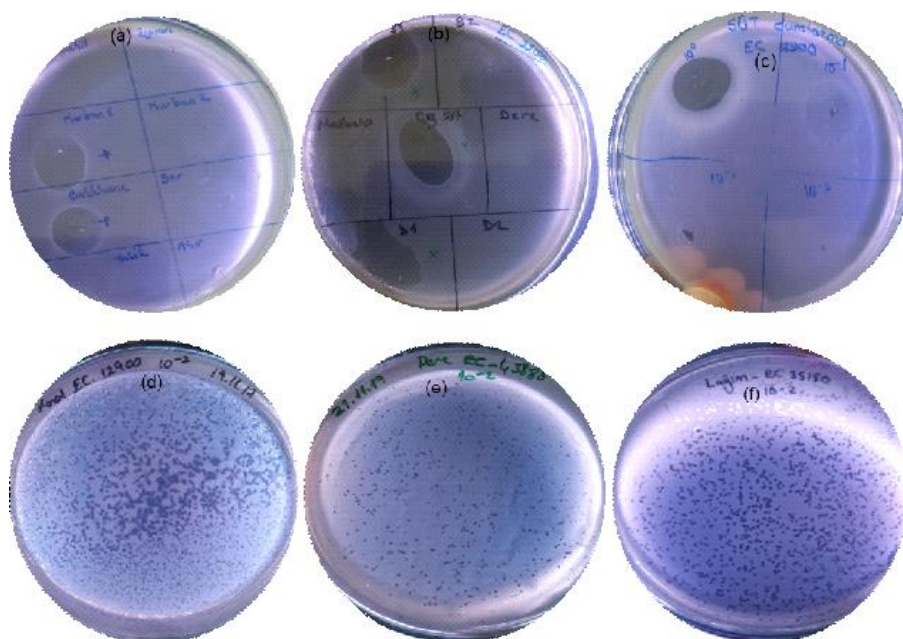


Fig. 1. *E. coli* O157:H7-specific phage positive samples. Samples tested against *E. coli* O157:H7 NCTC 12900, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 and *E. coli* O157:H7 ATCC 35150 strains. (a) samples from sea, wastewaters of fish farms and slaughterhouse; (b) samples from sewage, pond, slaughterhouse wastewater, milk, stream and wastewater of food factories; (c) dilutions of milk sample; (d) sewage sample; (e) stream sample; (f) sewage sample.

Isolated lytic bacteriophages infective against *E. coli* O157:H7 were purified by using single plaque method and then stock samples were prepared (Adam, 1958). The titer of the purified crude phage samples were among 2.6×10^8 - 9.2×10^{10} PFU/mL (Table 1).

It is usually believed that many phages can only infect a closely related spectrum of bacteria (Weinbauer, 2004). This is due to many factors including the specificity of host-binding proteins of phages, biochemical interactions during infection, and bacterial phage-resistance mechanisms (Hyman and Abedon, 2010). The host specificity of bacteriophages is a limiting factor in their use in the food industry and therapy to prevent the growth of pathogenic bacteria. Therefore, for food biopreservation and phage therapy, host cell killing tends to be the key determination. Different methods are used to measure the host cell range. Hyman and Abedon (2010) defined seven different types of host range including adsorptive, penetrative, bactericidal, productive, plugging, spotting and lysogenic.

There are two common ways of determining whether the phage is able to infect: plugging and spotting (Hyman and Abedon, 2010; Abedon, 2011). In the plugging technique, serial dilutions of phage lysate are mixed with target bacteria and placed on plate surface by soft agar overlay while in spot testing, a small volume of phage lysate is placed on a growing lawn of bacteria. Both method depends on whether a phage is able to form plaques on a particular species or strain of host bacteria. Both methods were used in order to accurately determine the host cell range of the phages. 10^0 , 10^{-2} , 10^{-4} and 10^{-6} dilutions of phage samples were used to determine the host cell range by spot assay and the results of phage host range were shown in Table 2. As seen from the table, the *E. coli* O157:H7 specific phages were mostly effective on *E. coli* O157:H7 NCTC 12900, ATCC43888 and ATCC 35150 strains and none of the phage samples had an inhibitory effect on *E. coli* O157:H7 RSKK. Only two phages showed inhibitory effect against *E. coli* O157:H7 AİBÜ.

The phages encoded Eco-OH7, Eco-OH9, Eco-OH14, Eco-OH15 and Eco-OH22 were effective against other *E. coli* strains (Table 2). Furthermore, it has been observed that Eco-OH19 and OH20 phages were effective on some *Salmonella* serovars in addition to *E. coli* strains (Table 3). The remaining phages were infective only on *E. coli* O157:H7 strains. It was determined that the Eco-OH9 and Eco-OH14 phages had the largest host cell range. Eco-OHP9 and Eco-OH14 phage was infective against 5 different bacteria, including 3 *E. coli* O157:H7 strains and 2 other *E. coli* strains. Many phages such as Eco-OH1, Eco-OH7, Eco-OH9, Eco-OH10, Eco-OH11, Eco-OH13, Eco-OH14, Eco-OH16,

Eco-OH19-OH22 have been found to have a strong infective effect against *E. coli* strains even at low concentrations (10^{-4} and 10^{-6} dilution) of the phage samples. These results show that Eco-OH phages have strong lytic activity against their host cells. Examples of inhibitory effects of some phages against host cells were given in Fig. 2. None of the phages isolated in the present study were capable of lysing *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10875, *Yersinia enterocolitica* O:9 AÜ, *Citrobacter freundii* AÜ, *Enterobacter aerogenes* AÜ and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

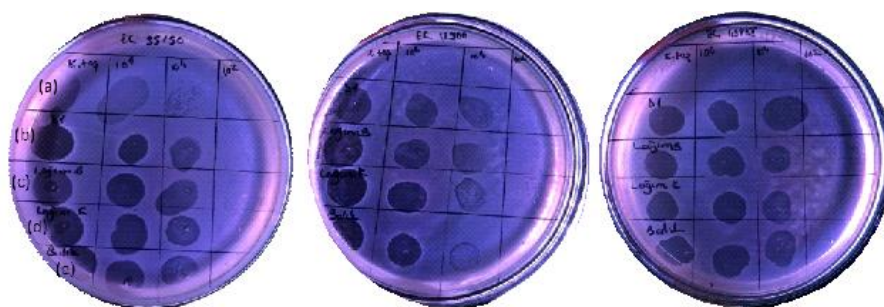


Fig. 2. Infective effect of Eco-OH18 (a), Eco-OH7 (b), Eco-OH12 (c), Eco-OH13 (d) ve Eco-OH15 (e) against *E. coli* O157:H7 ATCC 35150, NCCT 12900 and ATCC 43888, respectively.

Topka et al. (2019) reported that vB-EcoS-95 phage was able to infect different *E. coli* strains, but, it was not able to infect *E. coli* O157:H7 strains and other bacterial species, including *Shigella flexneri* or *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus sciuri*. ϕ 241 phage (Lu and Breidth, 2015) and FAHEc1 phage (Hudson et al., 2013) isolated from sewage specific to *E. coli* O157:H7 only infect *E. coli* strains that have O157 antigen.

Some researchers reported that bacteriophages target to one *E. coli* O157:H7 strain can also infect other O157:H7 strains (Bach et al., 2003; Raya et al., 2006; Sheng et al., 2006; Viazis et al. 2011; Litt and Jaroni, 2017; Yıldırım et al., 2018).

Viazis et al. (2011b) informed that 38, 39, 41, AR1, 42, CEV2, ECB7 and ECA1 bacteriophages specific to *E. coli* O157:H7 lysed different strains of *E. coli* O157:H7 and also the phage ECB7 lysed

48.2% of the *Salmonella* strains. CEV1 phage target to *E. coli* O157:H7 was also active against *Salmonella enterica* serovars tested in addition to *E. coli* strains (Raya et al., 2006). Ibrahim (1969) reported that *E. coli* phages were also effective against some *Salmonella* serovars.

Liao et al. (2019) stated that vB_EcoM-Ro111lw and vB_EcoM-Ro121lw phages were infective against multiple serogroups of STEC strains in addition to generic *E. coli* ATCC 13706, ATCC 43888 and DH5a strains, whereas vB_EcoS-Ro145lw and vB_EcoM-Ro157lw had narrow host ranges. They were only infective against Shiga toxin producing *E. coli* O145 strains, but not effective against *E. coli* O157:H7 strains and *Salmonella* serovars tested. In addition, EOP results revealed that vB_EcoM-Ro111lw was the only phage showing medium or high infection efficiency against different serogroups (O26 and O111) of STEC strains.

vB_Eco4M-7 and ECML-117 phages were effective in infecting most *E. coli* O157 strains, including various *E. coli* O157:H7 strains, but not infective against the tested *Shigella flexneri*, *Salmonella enterica*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* sp., and *Acinetobacter* sp. strains (Necel et al., 2020). Chang and Kim (2011) reported that EP23 phage infected the three *E. coli* strains and two *Shigella sonnei* strains.

Swap et al. (2018) informed that bacteriophage chee130_1 lysed enteropathogenic *E. coli*, enteroinvasive *E. coli*, enterotoxigenic *E. coli* and *Shigella sonnei* strains whereas bacteriophage 24 lysed *Salmonella* serovars, enterotoxigenic *E. coli*, enterohemorrhagic *E. coli* O103:H2, and *Shigella dysenteriae* strains. Both bacteriophages showed lysis on enterotoxigenic *E. coli* (E'TEC) type strain H10407.

Results from the present study are similar to these studies, revealing that some isolated phages are infective against *E. coli* O157:H7 strains with high target specificity and some isolated phages are infective against other *E. coli* strains and some *Salmonella enterica* serovars in addition to *E. coli* O157:H7 strains.

EOP analysis was conducted only for the plauging assay-positive strains. The twenty phages displaying a wide host range in the spot assays were subjected to a more thorough assessment of productive infection as defined by EOP. EOP analysis was performed to determine the effectiveness of each phage against a variety of target bacteria. EOP values of the phages were given in Table 4. It was determined that the Eco-OH-phages were highly infection ability with EOP values from 0.5 to 0.1 against *E. coli* O157:H7 strains. Nine of 20 phages were "highly" effective (EOP \geq 0.5) against 3 of the 5 *E. coli* O157:H7 strains tested. Eco-OH9, Eco-OH16 and Eco-OH17 phages were found to had medium infection efficiency to lyse ATTC 35150 strain, and Eco-OH7 and Eco-OH9 phages had medium infection efficiency to NCTC 12900 and ATTC 35150 strains, respectively. Eco-OH15 was the only phage that had medium EOP values

against *E. coli* O157:H7 İABU strain. It was found that Eco-OH9 and Eco-OH14 had the widest spectrum of lytic ability. Eco-OH14 had the most efficient with a wide range of lysis ability among all the isolated phages since it showed high infection efficiency against *E. coli* O157:H7 NCTC 12900, *E. coli* O157:H7 ATTC 43888, *E. coli* O157:H7 ATTC 35150, and *E. coli* DS α , and medium infection efficiency against *E. coli* CFAI strain. Eco-OH9, Eco-OH14 and Eco-OH15 phages had the capacity to infect *E. coli* DS α strain with very high efficiency (EOP \geq 0.5).

CONCLUSION

The current study was conducted to isolate lytic bacteriophages infective against *E. coli* O157:H7 strains. Among the studied samples, it was determined that the richest in terms of bacteriophage specific to *E. coli* O157:H7 were sewage samples, followed by wastewaters from slaughterhouses and fish farms, respectively. Isolated some phages were found to be highly specific, thus infecting only *E. coli* O157:H7 strains, but some phages infect other bacteria in addition to *E. coli* O157:H7 strains. The isolated Eco-OH-phages were highly infection ability with EOP values from 0.5 to 0.1 against *E. coli* O157:H7 strains. As a conclusion, phages with good host cell ranges and good infection efficacy such as Eco-OH9 and Eco-OH14 can be good candidates in the control of *E. coli* O157:H7 in food industry and phage therapy.

FUNDING

This study was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Niğde Ömer Halisdemir University (Project No: GTB 2018/801-BAGEP).

STATEMENT OF CONFLICT OF INTEREST

We declare that there are no conflicts of interest among the authors, among other authors related to this manuscript and/or other institutions/councils etc.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

ZY and TŞŞ designed the research. TŞŞ and NNU collected wastewater samples. TŞŞ screened

wastewater samples to isolate *E. coli* O157:H7 specific bacteriophages, purified the isolated bacteriophages and determined their titers and host ranges. NNU carried out efficiency of plating analysis. TSS and ZY made statistical analyzes. ZY wrote the paper. All authors have read and approved the final article.

REFERENCE

- Abedon, S.T. (2011). Lysis from without. *Bacteriophage* 1, 46-49. doi:10.4161/bact.1.1.13980
- Abedon, S.T., Kuhl, S.J., Blasdel, B.G., Kutter, E.M. (2011). Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*, 1:2, 66-85, DOI: 10.4161/bact.1.2.15845
- Abuladze T., Li M., Menetrez M.Y., Dean T., Senecal A., Sulakvelidze A. (2008). Bacteriophages reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli, and ground beef by *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* (74): 6230–6238.
- Adams MH. (1959). Bacteriophages, Interscience Publishers, Inc. New York,
- Bach SJ, McAllister TA, Veira DM, Gannon VPJ, Holley RA. 2003. Effect of bacteriophage DC22 on *Escherichia coli* O157:H7 in an artificial rumen system (Rusitec) and inoculated sheep. *Anim. Res.* 52: 89–101.
- Callaway, T.R., Edrington, T.S., Brabban, A.D., Keen, J.E., Anderson, R.C., Rossman, M.L., Engler, M.J., Genovese, K.J., Gwartney, B.L., Reagan, J.O., Poole, T.L., Harvey, R.B., Kutter, E.M., Nisbet, DJ. (2006). Fecal prevalence of *Escherichia coli* O157, Salmonella, Listeria, and bacteriophage infecting *E. coli* O157:H7 in feedlot cattle in the southern plains region of the United States. *Foodborne Pathog. Dis.* 3: 234–244.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2019) Reports of *E. coli* Outbreak Investigations from 2019. <https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-11-18/index.html>
- Chang, H. W., Kim, K.H. (2011). Comparative genomic analysis of bacteriophage EP23 infecting *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*. *J. Microbiol.* 49, 927–934. doi: 10.1007/s12275-011-1577-0.
- Clokic, M.R.J., Millard, A.D., Letarov, A.V., Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage* 1:1, 31-45, DOI: 10.4161/bact.1.1.1494231-45
- d’Herelle, F. (1919). Sur le role du microbe bacteriophage dans la typhose aviare. Comptesrendus Academy of Science Paris, 169: 932–934.
- Estrada-Garcia, T., Hodges, K., Hecht, G.A., Tarr, P.I. (2013). *Escherichia coli*. Chapter 8 In: Foodborne Infections and Intoxications. Eds. J. Glenn Morris, Jr. And Morris E. Potter, pp.129–164. Elsevier Inc. CA, USA.
- Hudson J.A., Billington C., Wilson T., On S.L. (2013). Effect of phage and host concentration on the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on cooked and raw beef. *Food Sci. Technol. Int.* 21:104–109.
- Hyman, P., Abedon, S.T. (2010). Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv. Appl. Microbiol.* 70: 217-248. doi: 10.1016/S0065-2164(10)70007-1
- Jang, J., Hur, H.G., Sadowsky, M.J., Byappanahalli, M.N., Yan T., Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *J. Appl. Microbiol.* 123: 570-581.
- Khan, M.M., Nilsson, A.S. (2015). Isolation of phages for phage therapy: a comparison of spot tests and efficiency of plating analyses for determination of host range and efficacy. *PLoS One* 10:e0118557. doi: 10.1371/journal.pone.0118557
- Letarov, A.V., Kulikov, E.E. (2017). Adsorption of bacteriophages on bacterial cells. *Biochemistry (Mosc)*. 82: 1632-1658.
- Liao, Y.T., Salvador, A., Harden, L.A., Liu, F., Lavenburg, V.M., Li, R.W., Wu, V.C.H. (2019). Characterization of a lytic bacteriophage as an antimicrobial agent for biocontrol of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145 strains. *Antibiotics* 8:74 doi:10.3390/antibiotics8020074

- Lim, J.Y., Yoon, J. W., Hovde, C.J. (2010). A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157. *J. Microbiol. Biotechnol.* 20(1): 5–14.
- Litt, P.K., Jaroni, D. (2017) Isolation and physio-morphological characterization of *Escherichia coli* O157:H7-infecting bacteriophages recovered from beef cattle operations. *Int. J. Microbiol.* 2017: 7013236.
- Lu, Z., Breidt, F. (2015). *Escherichia coli* O157:H7 bacteriophage Φ 241 isolated from an industrial cucumber fermentation at high acidity and salinity. *Front. Microbiol.* 6:67.
- Mahony, J., McAuliffe, O., Ross, R.P., Sinderen D. (2011). Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens. *Curr. Opin. Biotech.* 22(2):157-163.
- McLaughlin, M.R., Balaa, M.F., Sims, J., King, R. (2006). Isolation of Salmonella bacteriophages from swine effluent lagoons. *J. Environ. Qual.* 35: 522-528.
- Meng, J., Zhao, S., Doyle, M.P., Joseph, S.W. (1998). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food, and humans. *J. Food Prot.* 61:1511-1514.
- Mirzaei, M.K., Nilsson, A.S. (2015). Isolation of phages for phage therapy: A comparison of spot tests and efficiency of plating analyses for determination of host range and efficacy. *PLoS One* 10(3): e0118557. doi:10.1371/journal.pone.0118557
- Necel, A., Bloch, S., Nejman-Faleńczyk, B., Grabski, M., Topka, G., Dydecka, A., Kosznik-Kwaśnicka, K., Grabowski, L., Jurczak-Kurek, A., Wolkowicz, T., Węgrzyn, G., Węgrzyn, A. (2020). Characterization of a bacteriophage, vB_Eco4M-7, that effectively infects many *Escherichia coli* O157 strains. *Scientific Reports* 10:3743 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60568-4>.
- Niu, Y., McAllister, T., Xu, Y., Johnson, R.P., Stephens, T.P., Stanford, K. (2009). Prevalence and impact of bacteriophages on the presence of *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle and their environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 1271–1278.
- O’Flynn, G., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Coffey, A. (2004). Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(6): 3417–3424.
- Oot, R., Raya, R., Callaway, T., Edrington, T.S., Kutter, E.M., Brabban, A.D. (2007). Prevalence of *Escherichia coli* O157 and O157: H7-infecting bacteriophages in feedlot cattle feces. *Lett. Appl. Microbiol.* 45: 445–453.
- Raya, R.R., Varey, P., Oot, R.A., Dyen, M.R., Callaway, T.R., Edrington, T.S., Kutter, E.M., Brabban, A.D. (2006). Isolation and characterization of a new T-even bacteriophage, CEV1, and determination of its potential to reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(9): 6405–6410.
- Raya, R.R., Oot, R.A., Moore-Maley, B., Wieland, S., Callaway, T.R., et al. (2011). Naturally resident and exogenously applied T4-like and T5-like bacteriophages can reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep guts. *Bacteriophage*, 1:15–24.
- Ross, A., Ward, S., Hyman, P. (2016). More is better: selecting for broad host range bacteriophages. *Front. Microbiol.* 7:1352.
- Sarhan W.A., Azzazy, H.M.E. (2015). Phage approved in food, why not as a therapeutic? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 13(1): 91–101.
- Schmidt, H., von Maldeghem, J. Frosch, M., Karch, H. (1998). Antibiotic susceptibilities of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and nonO157 strains isolated from patients and healthy subjects in Germany during 1996. *J. Antimicrob. Chemother.* 42: 548–550.
- Sharma, M., Patel, J. R., Conway, W. S., Ferguson, S., Sulakvelidze, A. (2009). Effectiveness of bacteriophages in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut cantaloupes and lettuce. *J. Food Prot.* 72(7): 1481–1485.
- Sheng, H., Knecht, H.J., Kudva, I.T., Hovde, C.J. (2006). Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 5359–5366.
- Sváb, D., Falgenhauer, L., Rohde, M., Szabó, J., Chakraborty, T., Tóth, I. (2018). Identification

- and Characterization of T5-Like Bacteriophages Representing Two Novel Subgroups from Food Products. *Front. Microbiol.* 9:202. doi: 10.3389/fmicb.2018.00202
- Synnott, A.J., Kuang, Y., Kurimoto, M., Yamamichi, K., Iwano, H., Tanji, Y. (2009). Isolation from sewage influent and characterization of novel *Staphylococcus aureus* bacteriophages with wide host ranges and potent lytic capabilities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 4483–4490.
- Tanji, Y., Shimada, T., Fukudomi, H., Miyanaga, K., Nakai, Y., Unno, H. (2005). Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice. *J. Biosci. Bioengin.* 100(3): 280–287.
- Tomat, D., Migliore, L., Aquili, V., Quiberoni, A., Balague, C. (2013). Phage biocontrol of enteropathogenic and shiga toxin-producing *Escherichia coli* in meat products. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 3:20. doi:10.3389/fcimb.2013.00020.
- Topka, G., Bloch, S., Nejman-Falenczyk, B., Gasior, T., Jurczak-Kurek, A., Necel, A., Dydecka, A., Richert, M., Wegrzyn, G., Wegrzyn, A. (2019). Characterization of bacteriophage vB-EcoS-95, isolated from urban sewage and revealing extremely rapid lytic development. *Front. Microbiol.* 9:3326.
- Viazis, S., Akhtar, M., Feirtag, J., Diez-Gonzalez, F. (2011a). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde. *Food Microbiol.* 28:149–157.
- Viazis, S., Akhtar, M., Feirtag, J., Brabban, A.D., Diez-Gonzalez, F. (2011b). Isolation and characterization of lytic bacteriophages against enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 110: 1323–1331.
- Xu, J., Chen, M., He, L., Zhang, S., Ding, T., Yao, H., et al. (2016). Isolation and characterization of a T4-like phage with a relatively wide host range within *Escherichia coli*. *J. Basic Microbiol.* 56:405–421. doi: 10.1002/jobm.201500440
- Xu, Y., Xinyan Yu, X., Gu, Y., Huang, X., Liu, G., Xiaoqiu Liu, X. (2019). Characterization and genomic study of phage vB_EcoS-B2 infecting multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Front. Microbiol.* 9:793. doi: 10.3389/fmicb.2018.00793
- Yıldırım Z, Sakin, T, Çoban F. (2018). Isolation of Anti-*Escherichia coli* O157:H7 bacteriophages and determination of their host ranges. *Turkish J. Agri. Food Sci. Technol.* 6: 1200-1208.
- Yıldırım Z, Sakin T, Çoban F. (2018). Isolation of lytic bacteriophages infecting *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis. *Acta Biol. Hung.* 69: 350–69.
- Yu, P., Mathieu, J., Li, M., Dai, Z., Alvarez, P.J. (2016). Isolation of polyvalent bacteriophages by sequential multiple-host approaches. *Appl. Environ. Microbiol.* 82: 808–815.
- Zhao, S., White, D.G., Ge, B., Ayers, S., Friedman, S., English, L., Wagner, D., Gaines, S., Meng, J. (2001). Identification and characterization of integron-mediated antibiotic resistance among shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1558–1564.



GIDA İŞLETMELERİNDE COVID-19 SALGININA YÖNELİK ALINMASI GEREKEN ÖNLEMLER VE ETKİN DEZENFEKSİYON UYGULAMALARI

İlkin Yücel Şengün*, Ayşegül Kırmızıgül, Gülden Kılıç, Berna Öztürk
Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 19.05.2020; Kabul / Accepted: 16.06.2020; Online baskı / Published online: 06.07.2020

Yücel Şengün, İ., Kırmızıgül, A., Kılıç, G., Öztürk, B. (2020). Gıda işletmelerinde COVID-19 salgınına yönelik alınması gereken önlemler ve etkin dezenfeksiyon uygulamaları. *GIDA* (2020) 45(4) 646-664 doi: 10.15237/gida.GD20075

Yücel Şengün, İ., Kırmızıgül, A., Kılıç, G., Öztürk, B. (2020). Precautions to be taken against COVID-19 pandemic in food establishments. GIDA (2020) 45(4) 646-664 doi: 10.15237/gida.GD20075

ÖZ

SARS-CoV-2 virüsünün neden olduğu COVID-19 salgını, son zamanlarda tüm dünyayı ele geçirmiş ve binlerce kişinin ölümüne neden olmuştur. COVID-19 gıda kaynaklı bir hastalık olmamasına rağmen, gıdalar COVID-19'un yayılımına aracılık edebilmektedir. Bu nedenle, gıda işletmelerinde iyi hijyen uygulamalarının sağlanması, personel hijyenine dikkat edilmesi, meyve ve sebzelerin işleme ve tüketim öncesinde mutlaka bol su ile yıkanması, ısı işlem sonrası tüketilecek gıdaların uygun sıcaklıklarda pişirilmesi ve çapraz kontaminasyonun önlenmesi gibi birçok uygulama ile COVID-19'un gıdalara kontaminasyonu önlenmekte veya kontamine gıdada bu virüsün inaktivasyonu sağlanabilmektedir. Etanol (>70%), NaClO (%0.1), H₂O₂ ve kuaterner amonyum bileşikler, COVID-19'un inhibisyonu amacıyla kullanımı önerilen dezenfektanlardır. Bu çalışmada, gıdalar aracılığıyla COVID-19'un yayılımı, gıdaların COVID-19 açısından güvenli hale getirilmesi, gıda işletmelerinde üretim, taşıma, servis ve satış aşamalarında COVID-19'a karşı alınması gereken önlemler ve bu amaçla işletmelerde kullanılabilecek dezenfektanlar ile ilgili bilgiler derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: COVID-19, SARS-CoV-2, gıda güvenliği, dezenfektan

PRECAUTIONS TO BE TAKEN AGAINST COVID-19 PANDEMIC IN FOOD ESTABLISHMENTS

ABSTRACT

COVID-19 outbreak caused by SARS-CoV-2 virus, has recently been taken hold of worldwide and caused thousands of people death. Although COVID-19 is not a food-borne outbreak, foods can mediate the spread of COVID-19. Thus, prevention of contamination of foods with COVID-19 or inactivation of the virus from contaminated foods could be provided by ensuring good hygiene practices in food establishments, being careful in personnel hygiene, washing fruit and vegetables with plenty of water before processing and consumption, cooking foods at proper temperatures and avoid cross-contamination. Ethanol (>70%), NaClO (0.1%), H₂O₂ and quaternary ammonium compounds are suggested as disinfectants to inhibit COVID-19. In this study, information has been reviewed about the spread of COVID-19 through foods, making foods safe in terms of COVID-19, measures to be taken against COVID-19 in food establishments during production, transportation, service and selling stages and disinfectants that can be used in food premises for this purpose.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, food safety, disinfectant

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉: ilkin.sengun@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3028

☎: (+90) 232 3427 592

İlkin Yücel Şengün; ORCID No: 0000-0002-9445-5166

Ayşegül Kırmızıgül; ORCID No: 0000-0003-4723-7374

Güliden Kılıç; ORCID No: 0000-0001-6125-6219

Berna Öztürk; ORCID No: 0000-0003-1104-1863

GİRİŞ

Virüsler, bakteriler veya fungusların aksine gıda ve/veya suda çoğalamayan hücre içi mikroorganizmalardır. Gıdalar, virüs kaynaklı hastalıkların meydana gelmesinde taşıyıcı olarak rol oynamaktadır (Koopmans ve Duizer, 2004). Virüsün gıdalara kontaminasyonu, meyve, sebze, kabuklu deniz veya su ürünleri gibi ürünlerin, virüs ile kontamine olmuş sularla veya virüs ile enfekte olmuş personel tarafından işlenmesi aşamasında gerçekleşebilmektedir (Bosch vd., 2016). Rotavirüs ve Hepatit E virüsü insanlarda hastalık yapma potansiyeli bulunan patojen virüsler olarak bilinmektedir (Rodríguez-Lázaro vd., 2012). Bununla birlikte, kaynağı her zaman net bir şekilde tespit edilemeyen ve dünya çapında enfeksiyon ve salgınlara neden olabilen yeni virüsler ile karşılaşabilmektedir. Son dönemde, tüm dünyayı etkisi altına alan ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından küresel salgın olarak ilan edilen COVID-19 salgınının etkeni SARS-CoV-2, Mayıs (2020) ortası itibarıyla yaklaşık 3.8 milyon kişiyi enfekte etmiş ve 260 bin kişinin ise hayatını kaybetmesine neden olmuştur (WHO, 2020a).

Coronaviridae familyasına ait olan koronavirüsler, pozitif polariteli, büyük, zarflı ve tek zincirli RNA virüsleri olarak tanımlanmakta, serolojik ve genotipik özelliklerine bağlı olarak Alfa, Beta, Gama ve Delta olmak üzere dört alt gruba ayrılmaktadır (Ahn vd., 2020). Alfa ve Beta grubunda yer alan ve insanları enfekte eden toplam altı adet koronavirüs bulunmaktadır (Lu vd., 2015). Alfa koronavirüslerden HCoV-NL63 ve HCoV-229E, Beta koronavirüslerden ise HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 soğuk algınlığına, ayrıca Beta koronavirüslerden MERS-CoV Ortadoğu solunum sendromuna ve SARS-CoV ise ağır akut solunum yolu yetmezliğine neden olmaktadır. Koronavirüslerin zoonotik olduğu ve hayvanlardan insanlara bulaşarak insanlarda da hastalık yapabildiği bildirilmektedir (Ahn vd., 2020). Yapılan çalışmalarda, SARS-CoV virüsünün misk kedilerinden, MERS-CoV virüsünün ise develerden insanlara bulaştığı, bununla birlikte henüz insanlara bulaşmamış olan ancak hayvanlarda saptanan birçok koronavirüsün

de bulunduğu bildirilmektedir (Petrosillo vd., 2020).

COVID-19'un neden olduğu hastalık ilk olarak 31 Aralık 2019'da Çin'in Hubei eyaletinin Wuhan şehrinde etiyojisi bilinmeyen pnömoni (zatürre) olarak ortaya çıkmıştır. Hastalık etkeni 7 Ocak 2020'de daha önce insanlarda tespit edilmemiş yeni bir koronavirüs (2019-nCoV) olarak tanımlanmıştır. Meydana gelen bu hastalık, 11 Şubat 2020 tarihinde WHO tarafından yeni koronavirüs hastalığı (COVID-19) olarak adlandırılmış ve 11 Mart 2020 tarihinde ise hastalık küresel salgın olarak ilan edilmiştir (WHO, 2020b). Daha önce 2019-nCoV olarak adlandırılan ve COVID-19 hastalığının etkeni olan koronavirüs, filojenik ve taksonomik özelliklere bağlı olarak, Uluslararası Virüs Sınıflandırma Komitesi tarafından ağır akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) olarak yeniden adlandırılmıştır (Sun vd., 2020). COVID-19'un ana kaynağı tam olarak bilinmemekle birlikte belirlenen 41 vakanın üçte ikisinin, deniz ürünleri ve yarası, kurbağa, kuş, yılan, dağ sıçanı ve tavşan gibi canlı hayvanların da satıldığı Huanan (Wuhan, Çin) deniz ürünleri pazarı ile bağlantısı olduğu bildirilmiştir (Shereen vd., 2020). İlk raporlar virüsün insandan insana bulaşmadığını veya bulaşmanın sınırlı olduğunu belirtmiş olsa da özellikle sağlık çalışanlarında ve Huanan deniz ürünleri pazarı ile teması olmayan kişilerde de bu hastalığın görülmesi, insandan insana bulaşma olduğunu ve yaşanan bu son süreçle de birlikte virüsün büyük ölçekte yayılım gösterdiği görülmüştür (Shereen vd., 2020). Yapılan çalışmalar, COVID-19'un damlacık yoluyla bulaştığını ve kuluçka süresinin kontaminasyon sonrası 2 ile 14 gün arasında değişim gösterdiğini ortaya koymuştur (Hemida ve Ba Abdullah, 2020). Hastalık semptomları arasında ateş, kuru öksürük, yorgunluk, kas ağrısı ve ishal yer almakta, daha ciddi vakalarda ise pnömoni, ağır akut solunum yolu enfeksiyonu, böbrek yetmezliği ve hatta ölüm gerçekleşebilmektedir. Bununla birlikte hastalık semptomları, hastanın yaşına ve vücut direncine göre değişim gösterebilmekte, hiçbir semptom göstermeyen enfekte hastaların olduğu da bildirilmektedir (CDC, 2020a).

COVID-19, insandan insana veya kontamine yüzeyler ve/veya nesnelere insana kontamine olabilmektedir. Enfekte kişi öksürdüğünde veya hapşırdığında ortaya çıkan damlacıklar, yakınında bulunan kişilerin aldığı nefesle birlikte ağız ve/veya burna yerleşebilmekte ve buradan da akciğerlere taşınabilmektedir. Ayrıca kişinin elleri ile virüs kontaminasyonu olan bir yüzeye ya da nesneye temas ettikten sonra ellerini ağız, burun ve/veya gözlerine dokundurması ile kontaminasyon ve akabinde enfeksiyon meydana gelebilmektedir (CDC, 2020a). Dolayısıyla gıdalar, bu virüslerin yayılımına aracılık edebilmektedir. Yapılan çalışmalarda COVID-19'un gıda kaynaklı olmadığı, ancak virüsü taşıyan ürünlerin tüketimi sırasında meydana gelecek kontaminasyon nedeniyle hastalığın oluşabileceği belirtilmektedir (Yepiz Gomez vd., 2013; WHO, 2020c). Bu derleme çalışmasında, gıdalar aracılığıyla COVID-19'un yayılımı, gıdaların COVID-19'a karşı güvenli hale getirilmesi, gıda üretimi ve satışı yapan işletmelerin COVID-19'a karşı alınması gereken önlemler ve işletmelerde bu salgının önlenmesi amacıyla kullanılacak dezenfektanlar detaylı olarak tartışılmıştır.

COVID-19'UN GIDALAR ARACILIĞIYLA YAYILIMI

Koronavirüsler kontamine gıda, su, hava ve toprak yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak insana bulaşabilmektedir (Rodríguez-Lázaro vd., 2012). Daha önce meydana gelen SARS-CoV ve MERS-CoV, ve şimdi de SARS-CoV-2'nin neden olduğu salgın ile ilgili raporlarda, koronavirüslerin gıda tüketimi sonucu hastalığa neden olduğuna dair bir kanıtın bulunmadığı, ancak bu virüslere karşı, özellikle hayvansal çığ gıdaların riskli olduğu (WHO, 2020g) ve gıdaların bu virüsün yayılımına aracılık edebileceği belirtilmektedir (Desai ve Aronoff, 2020). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve WHO tarafından hazırlanan raporlarda, koronavirüslerin gıdalara kontaminasyonunu engellemek adına gıdaların işlenmesinde iyi hijyen uygulamalarının kullanılması, özellikle personel hijyenine dikkat edilmesi, gıdaları hazırlarken ellerin ve çalışma yüzeylerinin belirli aralıklarla dezenfekte edilmesi ve çığ et gibi hayvansal gıdaların diğer gıdalardan ayrı tutulması (çapraz kontaminasyonun önlenmesi) gerektiği

bildirilmektedir. Ayrıca gıdaların uygun sıcaklıkta (70°C) pişirilmesi ile bu virüslerin inaktif hale geleceği ve soğutma aşamasından sonra, çapraz kontaminasyonun önlenmesi halinde, virüsün kontaminasyonun da engellenebileceği bildirilmektedir (FDA, 2020a; WHO, 2020g).

COVID-19'un gıdalara kontaminasyonu, COVID-19 hastası bir kişinin gıdanın yakınında hapşırması/öksürmesi veya hapşırmama/öksürme sonrası ellerini dezenfekte etmeden gıdaya teması ile gerçekleşebilmektedir (BfR, 2020). Gıda yüzeyinde bulunan virüslerin, belirli bir süre (yaklaşık 72 saat) bekletilen gıdalarda etkisiz hale gelebileceği, ancak soğukta veya dondurularak muhafaza edilen gıdalar için bu bekleme işleminin mümkün olmayacağı bildirilmektedir (BfR, 2020; Desai ve Aronoff, 2020; El Zowalaty ve Järhult, 2020). Yapılan bir çalışmada, solunum yoluyla kontamine olan koronavirüs türlerinden CoV-229E'nin çilek yüzeyine tutunmadığı, marul yapraklarına ise %19.6 oranında tutunabildiği ve marul yapraklarında 3.91 logaritmik birim seviyesinde bulunan virüsün 4°C'de 4 gün canlılığını sürdürebildiği belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca bu virüs ile kontamine olmuş gıdaların tüketimi sırasında enfeksiyon riskinin oluşabileceği ve virüs ile kontamine olmuş ellerden, el ile temas eden diğer yüzeylere de taşınabileceği bildirilmiştir (Yepiz Gomez vd., 2013). Dolayısıyla özellikle meyve ve sebze gibi açıkta satışa sunulan ve çığ olarak tüketilen gıdaların tüketim öncesi bol su ile iyice yıkanması gerektiği bildirilmektedir (Desai ve Aronoff, 2020).

GIDA İŞLETMELERİNDE COVID-19'A KARŞI ALINMASI GEREKEN ÖNLEMLER

Tüm dünyada meydana gelen COVID-19 gibi salgın hastalıkların yayılımının önlenmesinde, genel olarak gıda işletmelerinin Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktası (HACCP) ilkelerine dayalı ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri'ne (FSMS) sahip olmasının çok önemli olduğu bildirilmektedir (CA, 2009; WHO, 2020c). Bu amaçla, hijyen ve gıda güvenliği uygulamaları (İyi Hijyen Uygulamaları, İyi Tarım Uygulamaları, İyi Üretim Uygulamaları vb.) ile tedarikçi kontrolü,

depolama, dağıtım, nakliye, personel hijyeni ve eğitimi gibi önkoşul programlarının sağlanması gerekmektedir (CA, 2009; Bosch vd., 2018). Gıda işletmelerinde COVID-19'un yayılımının önlenmesi amacıyla (Anonymous, 2020b, c; CDC, 2020b; Kimball vd., 2020; Pan vd., 2020; Tong vd., 2020; WHO, 2020c; Yu vd., 2020);

-Personel virüs ve virüsün neden olduğu hastalık hakkında bilgilendirilmeli,

-Personel, hastalığa yakalanması durumunda ilgili uzmanlarla nasıl temasa geçmesi gerektiği konusunda bilgilendirilmeli,

-Hastalanan çalışanlara idari izin verilmeli,

-Çalışma ortamında sosyal mesafeye uygun çalışılmalı,

-İşletme içerisinde iyi hijyen uygulamaları sağlanmalı,

-Çalışanlar WHO (2020f) tavsiyelerine uygun olarak ellerini dezenfekte etmeli, bu konuda bir kişi, diğer çalışanları uyararak üzere görevlendirilmeli,

-Özellikle eller ile sık dokunulan yüzeyler; kapı kolları, bataryalar, düğmeler, telefon ahizesi, ortak kullanım alanlarındaki tuvalet ve lavabo temizliğine özen gösterilmeli ve bu alanların temizliği için su ve deterjan ile temizlik yapıldıktan sonra 1:100 oranında seyreltilmiş sodyum hipoklorit (Cas No: 7681-52-9) veya klor tablet kullanılmı,

-Mümkünse maske dağıtımını temassız yapılmalı,

-Üretim binası içerisinde temassız kullanılabilen el dezenfektanları bulundurulmalı,

-Çalışma materyalleri kişiye özel olmalı (et kesimhanelerinde kişiye özel bıçak gibi),

-Molalarda personelin açık alana çıkması teşvik edilmeli,

-Vardiya başlangıç ve bitiş saatleri esnetilmeli,

-İşletme girişlerinde dezenfektanlı paspas ve el dezenfektanları bulundurulmalı,

-Soyunma odaları, yemekhane ve servislerde sosyal mesafenin korunması için gerekli önlemler alınmalı,

-İşletmeye giriş ve çıkışlar kontrol altında yapılmalı, ek kart okuma sistemleri kurularak vardiya giriş/çıkışlarındaki yığılmalar azaltılmalıdır.

Gıda işletmelerinde özellikle personel hijyeni ve sosyal mesafenin korunması, COVID-19'un

yayılımının önlenmesinde büyük önem taşımaktadır.

Personel Hijyeni

Personel hijyeni, özellikle de el hijyeni, COVID-19 yayılımını önlemek amacıyla alınabilecek en önemli uygulamalardan biridir. İşletmede çalışan personele temel el hijyeni eğitimleri verilmeli ve işletme duvarlarına el hijyeninin sağlanması ile ilgili uyarıcı afişler asılmalıdır. Doğrudan kontaminasyona neden olacağından personel, öksürürken/hapşırırken dirsek içi veya tek kullanımlık mendil ile ağızlarını kapatmaları konusunda uyarılmalıdır. Bununla birlikte çalışanlar, el yıkama işleminin, gıda hazırlama öncesi, sonrası ve sırasında, yemek yemeden önce, ağız/burun/göze dokunduktan sonra, tuvalet kullanımından sonra, herhangi bir yüzeye temas ettikten sonra, hapşırdıktan/öksürdüktan sonra yapılması gerektiği ve genel olarak en az 30 dk'da bir ellerin dezenfekte edilmesi gerektiği konularında bilgilendirilmelidir. İşletmede el hijyeni için gerekli malzemeler ve eldivenler bulunmalı, el yıkama imkânı olmayan alanlara el dezenfektanları konulmalıdır (CDC, 2020b; WHO, 2020f). El yıkama işlemi, WHO (2020f) tavsiyelerine uygun şekilde, sabun ve su ile 40-60 sn boyunca elin tüm yüzeyi ovalanarak, alkol bazlı dezenfektanlar kullanıldığında ise dezenfektan elin tüm yüzeyine sürülüp kuruyana dek ovalanarak uygulanmalıdır.

FDA (2020c), COVID-19 salgınının yayılımının önlenmesi amacıyla el hijyenine ek olarak kişisel koruyucu ekipman (KKE)'lerin da kullanılması gerektiğini bildirmekte ve KKE'lerin kullanımı ile ilgili Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) yönergelerine uyulması gerektiğini tavsiye etmektedir. KKE'lar, kişinin cilt, ağız, burun veya gözleri ile COVID-19 enfeksiyonu arasında koruyucu bariyer oluşturarak kişinin enfekte olmasını veya enfekte olmuş kişinin enfeksiyonu yaymasını önlemek amacıyla tasarlanmış koruyucu giysi veya ekipmanı olarak tanımlanmaktadır (WHO, 2020h). KKE'lar eldiven, maske, yüz koruyucu, kask maskeleri (N95 veya FFP2 standardı veya eşdeğeri), gözlük, önlük ve iş ayakkabılarını içermektedir (CDC, 2020c). Mümkün olduğu ölçüde tek kullanımlık KKE'ler

tercih edilmeli ve tüm kişisel koruyucuların tesisten dışarıya çıkarılmaması konusunda özen gösterilmelidir.

CDC (2020c), özellikle sosyal mesafe uygulamasının zor olduğu ortamlarda (market, eczane, hastane ve toplu taşıma vb.) maske kullanılması gerektiğini bildirmektedir. Öncelikle maske kullanımı ile ilgili çalışanların bilgilendirilmesi gerekmektedir. Maske kullanımında, maskenin ağız ve burnu kapatacak şekilde yüze dikkatlice yerleştirilmesi, maskeyi takarken maske yüzeyine dokunmaktan kaçınılması, kullanım sonrası maskenin tekniğine uygun şekilde ön yüzeyine dokunmadan arkadan çözülerek çıkarılması, maskeyi çıkardıktan sonra veya kullanılmış bir maskeye yanlışlıkla dokunulması durumunda, ellerin iyice dezenfekte edilmesi, maskelerin nemli hale gelir gelmez temiz bir maske ile değiştirilmesi, tek kullanımlık maskelerin tekrar kullanılmaması ve her kullanımdan sonra maskelerin kapalı çöp kutularına atılması gerektiği bildirilmektedir (CDC, 2020c). Koruyucu gözlük ve yüz koruyucularının dış yüzeyi kontamine kabul edildiğinden, kullanılan gözlük ya da yüz koruyucusu, başın arkasındaki bant kaldırılarak ön tarafına dokunulmadan çıkarılmalı, gözlük ya da yüz koruyucusu çıkartılırken eller dış yüzeye temas ederse hemen dezenfekte edilmeli, ekipman tekrar kullanılabilir durumda ise, temizlik işlemi için uygun bir yere bırakılıp dezenfekte edilmeli, değilse ağız kapalı atık kutusuna atılmalıdır (CDC, 2020c). Koruyucu kıyafet olarak belirtilen önlüklerin ön kısmı ve kolları da kontamine olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle önlükler çıkartılırken önlüğün bağcıkları gevşetilmeli, bağcıklara ulaşmaya çalışırken önlüğün kontamine yerlerinin vücuda temas etmemesine dikkat edilmeli, önlüğün sadece içine dokunmaya dikkat ederek boyun ve omuzdan sıyrılarak çıkartılmalı, önlüğü çıkartırken ellerin kontamine bölgeye teması durumunda hemen el dezenfeksiyonu sağlanmalı ve kullanım sonrası önlük, iç kısmı dışa gelecek şekilde katlanıp tıbbi atık kutusuna atılmalıdır (CDC, 2020c).

WHO, COVID-19 salgını önlemede çalışanların eldiven kullanmasının da önemli olduğunu, ancak

eldivenlerin doğru şekilde kullanılması ve sık sık değiştirilmesi gerektiğini bildirmektedir. Gıda çalışanları, eldiven kullanımının el yüzeyinde bakterilerin çoğalmasına neden olabileceği ve bu nedenle gıdaların bu bakterilerle kontaminasyonunu önlemek amacıyla eldivenlerin çıkarıldığı veya değiştirileceği zamanlarda ellerin mutlaka yıkanması gerektiği konusunda bilgilendirilmelidir. Çalışanlar eldiven giyerken ağız, burun veya gözlerine dokunmaktan kaçınmalıdır. Eldivenler, kapı açma/kapama gibi gıda ile ilgili olmayan faaliyetler gerçekleştirildikten sonra mutlaka değiştirilmelidir. Tek kullanımlık eldiven giymek çalışanlara yanlış bir güvenlik hissi verebileceğinden, ellerini gerektiği şekilde yıkamalarına sebebiyet verebilecektir. Bu nedenle çalışanlar eldiven kullanımı ile virüsün tamamen engellenemeyeceği konusunda bilgilendirilmelidir. Bununla birlikte, ellerin uygun şekilde yıkanıp dezenfekte edilmesi ile, virüs kontaminasyonuna karşı eldiven kullanımından daha fazla koruyucu etki sağlayacağı unutulmamalıdır (WHO, 2020c).

Kullanım sonrası KKE'lar kontamine ürünler olarak düşünülmesi ve kapalı çöp kutularına veya tıbbi atık kutularına atılmalıdır. KKE'lar COVID-19'un yayılımının önlenmesi amacıyla kullanılmasına karşın, KKE'ların etkinliği büyük ölçüde doğru kullanımına, ekipmanların kullanımı ile ilgili personellerin eğitimi ve uygun el hijyeninin sağlanmasına bağlıdır (CDC, 2020c).

Çalışma Ortamında Sosyal Mesafenin Sağlanması

COVID-19'un yayılımının önlenmesi, enfekte olmuş bireylerle sağlıklı bireylerin birbirleri ile temaslarının engellenmesi ile gerçekleşmektedir. Bu amaçla, tüm gıda işletmeleri, mümkün olduğunca sosyal mesafe kuralına uygun hareket etmeli ve çalışanlara sosyal mesafeyi hatırlatacak uyarılar yapılmalıdır (CDC, 2020b). WHO (2020c), çalışanlar arasında en az 1 metre (3 fit) mesafe olması gerektiğini bildirmektedir. Gıda işletmelerinde sosyal mesafe kuralının sağlanması amacıyla (CDC, 2020b; WHO, 2020c);

-İşletme içerisinde daha az sayıda çalışan bulundurulması,

- Çalışanların çalışma bantlarında çapraz şekilde konumlanarak çalışması,
- Temas içeren el sıkışma, sarılma gibi hareketlerden kaçınılması,
- Çalışanların işletmede veya diğer çalışma ortamlarında kalabalık gruplar halinde bulunmalarının engellenmesi ve bu konuda uyarıların yapılması,
- İşletmede çalışanların vardiyalı olarak çalıştırılması gerekmektedir.

Gıda Üretim ve Servisi Yapılan İşletmelerde Alınması Gereken Önlemler

Gıda üretimi yapılan alanlarda, hazırlık öncesi ve hazırlık sırasında ellerin iyice yıkanması, meyve ve sebzelerin işleme ve tüketim öncesi mutlaka bol su ile yıkanması, alet-ekipmanlar, masalar, kesme tahtaları, mutfak aletleri ve diğer gıda ile temas eden yüzeylerin sürekli temizlenmesi ve uygun dezenfektanlar kullanılarak dezenfekte edilmesi, gıdalara uygun sıcaklıklarda ısı işlem uygulanması, salata servis dolapları, taze ürünler ve unlu mamuller gibi reyonlarda gıda güvenliği ve hijyen uygulamalarının sağlanması, kişisel koruyucu ekipmanların doğru şekilde kullanılması, sosyal mesafenin korunması ve üretim alanlarında az sayıda çalışan bulundurulması gerekmektedir (Anonymous, 2020a; FDA, 2020b). Müşterilere tüketim öncesinde meyve ve sebzeleri içme suyu ile iyice yıkamaları hususunda tavsiyelerde bulunulmalıdır. Hem müşteriler hem de çalışanlar, tüketime hazır gıda ürünlerinin olduğu alanlarında iyi hijyen uygulamalarına kesinlikle uymalıdır. Bu amaçla (WHO, 2020c);

- Gıda ile temas eden yüzeylerin ve mutfak aletlerinin hijyen ve sanitasyonu sağlanmalı, Yemek servisi yapan çalışanlar ellerini sık sık yıkamalı, eldiven kullanıyorsa yiyecek hazırlamadan önce ve sonra eldiveni mutlaka değiştirmeli,
- Servis gereçleri ve yemek kapları sık sık temizlenmeli ve dezenfekte edilmeli,
- İşletme giriş ve çıkışlarına müşteriler için el dezenfektanları yerleştirilmeli,
- Self servis tezgâhlarında ambalajlanmamış unlu mamuller açıkta sergilenmemeli, ambalajlanamayan gıdalar müşterilere servis edilirken maşa gibi ekipmanlar veya tek kullanımlık servis gereçleri kullanılmalıdır.

Gıda Nakliyesi ve Dağıtım Sırasında Alınması Gereken Önlemler

Gıda işletmeleri hijyen ve sanitasyonu doğru şekilde uyguladığında, virüs işyerine sadece enfekte olmuş bir kişi veya kontamine ürünler aracılığıyla girebilecektir. Dolayısıyla işletme dışında çalışan sürücü ve/veya tedarikçi gibi diğer çalışanlar, teslimat sırasında araçlarından ayrılmamalı, işletmeye gelen araçların kapılarını sadece sürücü açıp kapatmalıdır. Bu çalışanlar teslimat sırasında sosyal mesafeyi korumalı, kişisel hijyen kurallarına dikkat etmeli ve işletmeye girerken yüz koruyucu veya maske gibi koruyucu kıyafetler giymelidir. Ayrıca bu çalışanların kullandığı nakliye araçlarını sık sık dezenfekte etmesi ve taşıdığı tüm ürünlerin kontaminasyondan korunması konusunda bilinçli davranması gerekmektedir. Bununla birlikte, bu çalışanlar özellikle COVID-19'un yayılımında potansiyel risk taşıdıklarını ve daha fazla önlem almaları gerektiğinin bilincinde olmalıdırlar (CDC, 2020b; WHO, 2020c).

Gıda Satışı Yapan İşletmelerde Alınması Gereken Önlemler

COVID-19 salgını sırasında market ve manav gibi gıda satışı yapan işletmeler, hijyen standartlarını sağlama, çalışanları enfeksiyon riskinden koruma, müşterilerle çalışanlar arasında sosyal mesafeyi sağlama ve sürekli tedarik sağlama gibi zorluklarla karşı karşıya kalmaktadır.

Bu işletmelerde çalışanların, iyi hijyen uygulamalarına uymaları durumunda gıdaları kontamine etmeleri mümkün değildir. Bu doğrultuda, el hijyeninin sağlanması ve koruyucu kıyafet kullanımı gibi önlemler ile hastalığın yayılma riski azaltılabilecektir. İşverenler, iyi hijyen uygulamalarının, daha sık el yıkama ve temas edilen yüzeylerin sürekli temizlenmesi ve dezenfekte edilmesinin önemini vurgulamalı ve çalışanları bu konuda uyarmalıdır. Çalışanlar COVID-19 hastalığı ile ilgili bilgilendirilmeli, semptom olması durumunda işverenlerine durumu bildirmeli ve tıbbi yardım almalıdır (Anonymous, 2020a; WHO, 2020c).

Bu işletmelerde sosyal mesafeyi korumak ve COVID-19 hastalığının kontaminasyon riskini

azaltmak amacıyla (Anonymous, 2020b; WHO, 2020c);

-İşletme içine giren müşteri sayısı sınırlandırılmalı,

-COVID-19 hastası müşterilerin, işletmeye girmemeleri konusunda giriş noktalarına uyarıcı işaretler yerleştirilmeli,

-İşletme içi ve dışında sosyal mesafenin sağlanması için uyarılar yapılmalı,

-İşletmeye giriş noktalarına el dezenfektanları ve tek kullanımlık kağıt havlular konulmalı,

-Temassız ödemelerin kullanımı teşvik edilmeli, temassız ödemenin mümkün olmadığı durumlarda her müşteriden sonra pos cihazı dezenfekte edilmeli,

-Müşterilere, kullanım öncesi ve sonrasında alışveriş çantalarını temizlemeleri konusunda tavsiyede bulunulmalı,

-Müşterilere alışveriş sepetlerinin kollarını tutabilmeleri için tek kullanımlık mendiller sağlanmalı veya kullanım sonrası alışveriş sepetlerinin kolları dezenfekte edilmeli,

-Teması en aza indirmek için işletme kapıları mümkün olduğunca açık tutulmalıdır.

Personel Kantinlerinde Alınması Gereken Önlemler

Personel kantinleri de virüsün yayılması için ideal alanlardan biridir. Bu nedenle, çalışanlar masalara çapraz şekilde oturmalı, çalışanlar arasında en az 1 metre sosyal mesafe bulunmalı, kantinde çalışan personel sayısı azaltılmalı, mola süreleri kişi sayısına göre ayarlanmalı, çalışanların gerekirse açık havada mola vermeleri sağlanmalı, fiziksel temas mümkün olduğunca kısıtlanmalı, el hijyeni ve sosyal mesafenin sağlanması için uyarılar yapılmalı, tek kullanımlık çatal, kaşık, tabak ve bardak kullanılmalı, tezgahlar/servis gereçleri/self servis ekranları/kapı kolları gibi ekipman ve sık temas edilen yüzeyler için temizlik ve dezenfeksiyon prosedürleri uygulanmalıdır (CDC, 2020b; WHO, 2020c).

COVID-19 Hastalığının Görüldüğü İşletmelerde Ne Yapılmalı?

Personel, COVID-19 semptomlarından herhangi birini hissettiğinde işe ara vermeli ve tıbbi yardım almalıdır. Ayrıca personel hastalığı ile ilgili işyerine sağlık raporu vermesine gerek olmadığı ve

hastalığını sadece telefonla işverene bildirmesinin yeterli olduğu konusunda bilgilendirilmelidir. İşveren, hastalığa yakalanan çalışanlarını desteklemeli (özellikle hastalığını gizlememesi konusunda) ve hastalığın tedavisi için nasıl bir yol izleyeceği ile ilgili kendisine rehberlik yapmalıdır (CDC, 2020b; WHO, 2020c). Bununla birlikte, bir gıda çalışanının COVID-19 hastalığına yakalanması durumunda (WHO, 2020c);

-Hastalanan kişi tıbbi yardım almak için bir sağlık kuruluşuna başvurmalı,

-Hastalanan kişi tıbbi yardımı veya eve gönderilmeyi beklerken, diğer çalışanlarla temastan kaçınmalı, ayrı bir odada bekletilmeli ve mutlaka maske kullanılmalı,

-Hastanın tıbbi yardım beklerken banyo kullanması gerekiyorsa, kullanım sonrası banyo dezenfekte edilmeli,

-Hastalanan kişi insanlara, yüzeylere ve nesnelere temas etmekten kaçınmalı, öksürürken/hapşırırken tek kullanımlık mendil kullanılmalı ve daha sonra mendili herhangi bir yere temas ettirmeden kapalı bir çöp kutusuna atmalı,

-Enfekte çalışanın temas ettiği tüm yüzeyler, tuvaletler, kapı kolları ve telefonlar gibi potansiyel olarak kontamine olmuş tüm alanlar dezenfekte edilmeli,

-Enfekte kişi ile temasta bulunan veya bulunmayan tüm çalışanlar, ellerini sabun ve su ile en az 40-60 sn boyunca iyice yıkamalıdır.

Bir çalışanın COVID-19 hastalığına yakalandığı onaylanırsa, enfekte olmuş çalışanın tüm yakın (tüm çalışma ekibi ve aynı evde yaşayanlar) temaslarını bilgilendirmesi ve hastalığın yayılım riskinin en aza indirilebilmesi için ekstra önlemler alması gerekmektedir. Bununla birlikte, hasta kişi ile temaslı kişilerin de son temastan itibaren 14 gün boyunca karantinaya alınması ve temaslı kişilerde herhangi bir COVID-19 semptomu olması durumunda tıbbi yardım alması tavsiye edilmektedir (WHO, 2020e).

COVID-19 hastalığına yakalanmış ve sonrasında iyileşmiş çalışanlar için işe dönüş politikası yürürlükte olmalıdır. WHO, hastanın iyileşmiş olarak kabul edilmesi için en az 24 saat arayla uygulanan iki PCR testi sonucunun da negatif olması gerektiğini bildirmekte, PCR testinin

yapılması mümkün değilse, hastanın semptomları düzeldikten sonraki 14 gün karantinada olmasını önermektedir (WHO, 2020d).

COVID-19 SALGININA YÖNELİK GIDA İŞLETMELERİNDE KULLANILABİLECEK DEZENFEKTANLAR VE DEZENFEKSİYONUN ÖNEMİ

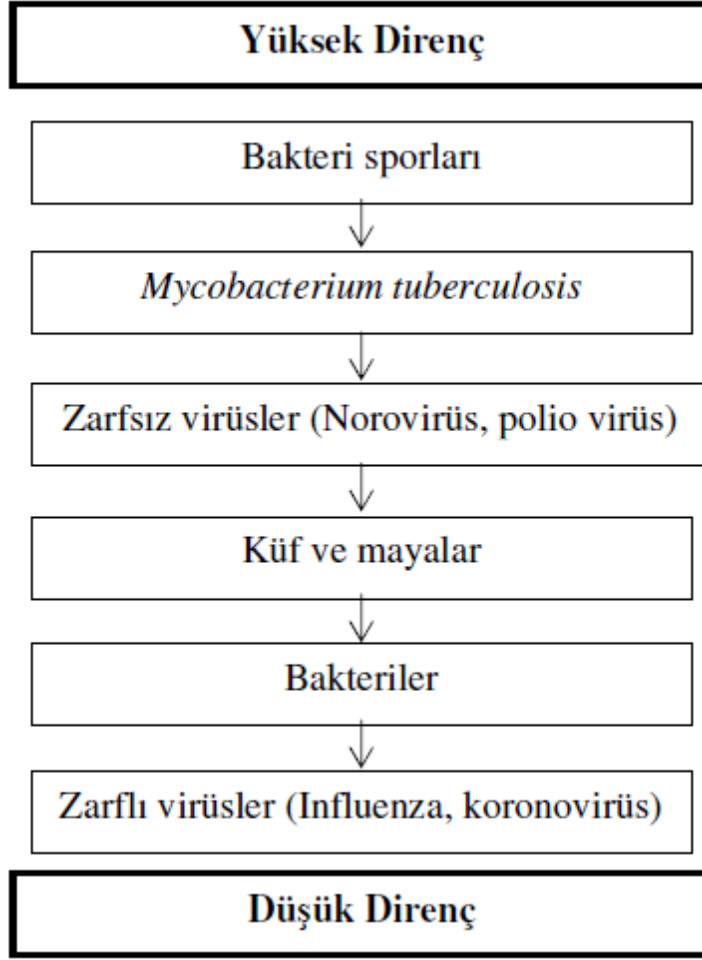
Küresel salgına neden olan COVID-19, enfekte kişilerin öksürme/hapşırma veya doğrudan temas sonucunda insanlara, gıdalara ve çeşitli yüzeylere (kapı kolu, masa, sandalye, yemek kapları, gıda ambalajları vb.) kontaminasyonu nedeni ile hızla yayılmakta (Querido vd., 2019) ve bu durum yetersiz hijyen uygulamalarının bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır (Russo, 2016). WHO, COVID-19 gibi salgın hastalıkların önlenmesi amacıyla yüzeylerin su ve deterjanla temizlenmesini ve ardından uygun bir dezenfektan kullanılarak dezenfeksiyon işleminin yapılmasını önermektedir. Dolayısıyla, personel hijyeninin ve alet-ekipman ve çeşitli diğer yüzeylerin hijyeninin sağlanması amacıyla temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin düzenli bir şekilde uygulanması önem arz etmektedir (WHO, 2020c).

COVID-19'un yüzeylerde canlı kalma süresinin tutunduğu yüzeye, ortamın nem ve sıcaklığına bağlı olarak farklılık gösterebildiği ve bu virüsün aerosol olarak 3 saat, plastik ve paslanmaz çelik yüzeylerde 72 saat, bakır ve karton yüzeylerde ise sırasıyla 4 ve 24 saat canlı kalabildiği ve bu süre zarfında kontamine yüzeylerle temas edilmesi durumunda virüsün hızlıca yayılabileceği bildirilmektedir (BfR, 2020; Labs, 2020; van Doremalen vd., 2020). Bu nedenle, mevcut salgına neden olan COVID-19'un yayılımının engellenmesi amacıyla etkili bir yüzey dezenfeksiyonunun yapılması önem arz etmektedir.

Dezenfeksiyon, gıda maddesinin özelliklerini etkilemeden, fiziksel, kimyasal veya biyolojik yollarla ortamdaki mikroorganizmaların öldürülmesi veya sayısının azaltılması işlemi olarak tanımlanmaktadır (Iñiguez-Moreno vd., 2017). Dezenfektanlar logaritmik üreme fazındaki mikroorganizmalar üzerinde daha fazla etki göstermekte, bazı sporlu bakteriler ise

dezenfektanlara karşı direnç gösterebilmektedir (Dvorak vd., 2005). Bununla birlikte, zarflı virüslerin (koronavirüs, Hepatit A) dezenfektanlara karşı zarfsız virüslere (Norovirüs, Poliovirüs, Rotavirüs vb.) kıyasla daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Şekil 1) (Lewis vd., 2020). Mevcut salgında rol oynayan COVID-19 üzerinde etkili olan dezenfektanların neler olduğu net bir şekilde ortaya konulmamış olmasına karşın, zarflı virüsler üzerinde etkili olan dezenfektanların uygun konsantrasyonlarda kullanımı ile, yine zarflı bir virüs olan COVID-19'un çeşitli yüzeylerde etkili bir şekilde inaktive edilebileceği veya sayısının azaltılabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla bu dezenfektanların kullanımı ile enfeksiyonun kontrolü sağlanarak yüzeylerle temas sonucu kontaminasyon riski azaltılmış olacaktır. Bu durumda, uygun dezenfektan seçimi, temas süresi ve uygulanan konsantrasyon etkili bir dezenfeksiyon işleminin gerçekleştirilmesi için önemli parametreler olarak değerlendirilmekte ve dezenfeksiyon işleminin kısa periyotlarda uygulanması önerilmektedir (Querido vd., 2019). Dezenfeksiyon etkinliğini arttırmak için öncelikle su ve deterjan ile temizlik yapılarak ortamdaki kirlerin uzaklaştırılması gerektiği de bildirilmektedir (Fathizadeh vd., 2020).

Kullanılacak olan dezenfektanların, gıda ile temas eden yüzeyler için uygun olması, etki spektrumlarının geniş olması, çeşitli pH aralıklarında etki göstermesi, kısa zamanda ve düşük konsantrasyonda etkili sonuç verebilmesi, toksik etkisinin bulunmaması, korozif olmaması, ekonomik olması, kolay uygulanabilmesi ve bulunduğu ortamdan kolay uzaklaştırılabilmesi gerekmektedir (Russo, 2016). Ayrıca, kullanılan dezenfektanın etkili bir ajan olarak kabul edilmesi için, virüs sayısında >4 log birimlik azalma sağlanması gerekmektedir (Eggers vd., 2015). Gıda, alet-ekipman, yüzey ve personel hijyeninin sağlanması amacıyla kullanılan dezenfektanlar arasında klorlu bileşikler, iyotlu bileşikler, hidrojen peroksit (H₂O₂), perasetik asit (PAA), kuaterner amonyum bileşikleri (KAB), alkoller ve ozon yer almaktadır (Kampf vd., 2020). Farklı içeriklere sahip bu dezenfektanlar virüslerin protein ya da genom yapısını hedef alarak etki göstermektedir (Morin vd., 2015).



Şekil 1. Dezenfektanlara karşı mikrobiyal direnç (Lewis vd., 2020'den uyarlanmıştır).

Halojenler

Klorlu bileşikler

Dezenfektan olarak kullanılan klorlu bileşikler arasında sodyum hipoklorit (NaOCl), kalsiyum hipoklorit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$), klor dioksit (ClO_2), lityum hipoklorit, klorlu trisodyum fosfat ve klorlu izosiyaniürat yer almaktadır (Ayhan ve Bilici, 2015). Klor bazlı dezenfektanların genellikle hipoklorit veya hipokloröz asit (HOCl) formunda kullanıldığı bildirilmektedir (Russo, 2016). Suya gaz halindeki klorun ya da NaOCl ve $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ gibi sıvı haldeki klorun eklenmesi ile HOCl oluşmaktadır. Klorun antimikrobiyel aktivitesi, su içindeki HOCl (serbest klor) miktarına bağlı olarak değişiklik göstermekte ve serbest klor miktarı arttıkça antimikrobiyel etki de artış göstermektedir. Zemin ve çeşitli objelerin yüzey

dezenfeksiyonun sağlanması amacıyla 1000 ppm klor bazlı dezenfektanın 30 dk boyunca uygulanması gerektiği bildirilmektedir (Wang vd., 2020).

Yaygın şekilde kullanılan klorlu bileşikler arasında genellikle ev tipi çamaşır suyu olarak da adlandırılan ve içerisinde %5.25-6.15 oranında klor bulunan NaOCl sulu çözeltileri yer almaktadır. NaOCl, ekonomik ve düşük konsantrasyonlarda güvenilir olması, düşük sıcaklıkta etkili olması, hızlı etki göstermesi ve geniş etki spektrumuna sahip olması gibi özellikleri sayesinde ön plana çıkmakta ve gıda ile temas eden yüzeylerin dezenfeksiyonu amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır (Goodyear vd., 2015; dos Santos Rodrigues vd., 2018). NaOCl,

50-200 ppm aralığında bakterisidal, virüsidal ve fungusidal etki gösterirken, daha yüksek konsantrasyonlarda (2500 ppm) sporsidal etki göstermekte ancak bu konsantrasyonlarda korozif etki oluşabilmektedir (Dvorak, 2005; Russo, 2016). COVID-19 salgınından korunmak üzere yüzey dezenfeksiyonunda %0.1 NaOCl kullanımı önerilmektedir (Labs, 2020). Tyan vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, 10 dk süre ile renklendirilmiş %0.5'lik NaClO uygulamasının insan koronovirüsü (ATCC VR-740) sayısında ≥ 3.25 log birim azalma sağladığı bildirilmektedir. Bununla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda (>30 ppm) toksik etki gösteren NaClO'nun nefes darlığı, mide bulantısı, göğüs ağrısı, göz ve deride tahriş gibi insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu da bildirilmektedir. Ayrıca, yanlış kullanımı sonucunda akciğerlerde hasara neden olmakta ve özellikle COVID-19'un neden olduğu enfeksiyona karşı vücudun savunmasını düşürmektedir (Yari vd., 2020).

İyotlu bileşikler

İyodoforlar, sulandırılmış iyot ve alkol-iyot çözeltileri, dezenfeksiyon amacıyla kullanılan iyotlu bileşikler olarak bilinmekte ve dezenfektan olarak iyodoforlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. En iyi bilinen iyodoforun, povidon-iyodin olduğu ve cilt, el ve mukozal yüzeylerin dezenfeksiyonu amacıyla kullanıldığı belirtilmektedir (Rutala ve Weber, 2008). Bu bileşiklerin düşük konsantrasyonlarda geniş spektrumda aktivite gösterdiği (bakterisidal, fungusidal, virüsidal ve sporsidal), toksik ve korozif etkilerinin çok az olduğu, pH değişimlerinden etkilenmediği, kalıntı bırakmadığı ve uzun raf ömrüne sahip olduğu bildirilmektedir (Dvorak, 2005; Russo, 2016). Yapılan bir çalışmada, 5 dk süre ile %7.6 konsantrasyonda povidon-iyodin kullanımının, COVID-19 inaktivasyonunu sağladığı tespit edilmiştir (Chin vd., 2020). Bununla birlikte, yüksek sıcaklıklarda (>50°C) iyot buharlaşacağı için etkisinin azalması ve korozif etkisinin artması nedeniyle maksimum kullanım sıcaklığının 40°C olması gerektiği belirtilmektedir (Keskin ve Kök, 2007; Schmidt, 2009). Ancak, iyotlu bileşiklerin renk değişimlerine neden olması gıda endüstrisinde

dezenfektan olarak kullanımlarını kısıtlamaktadır (Russo, 2016).

Oksitleyici Ajanlar

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Güçlü bir oksitleyici olan H₂O₂, toksik özellik göstermeyen, berraklaştırıcı ve indirgeyici antimikrobiyel madde olarak bilinmekte ve genel olarak güvenilir (GRAS) kabul edilmektedir (Ayhan ve Bilici, 2015; İniguez-Moreno vd., 2017). Ayrıca, H₂O₂, kullanımdan hemen sonra toksik olmayan yan ürünlere (su ve oksijen) ayrışabildiği için doğal bir dezenfektan olarak değerlendirilmektedir (Ríos-Castillo vd., 2017). H₂O₂, pH, sıcaklık ve diğer çevresel faktörlere bağlı olarak %5-20 konsantrasyonlarda bakterisidal, virüsidal (zarflı virüsler), fungusidal etki gösterebilmektedir (Omidbakhsh ve Sattar, 2006; Morin vd., 2015). Virüs inaktivasyonunun gerçekleşmesi için 1 dk süre ile %0.5 H₂O₂ uygulanması gerektiği belirtilmektedir (Rutala ve Weber, 2008). Bununla birlikte COVID-19 salgınından korunmak amacıyla yüzey dezenfeksiyonu için %0.5 konsantrasyonda H₂O₂ kullanımı önerilmektedir (Labs, 2020). Ancak, H₂O₂ çözeltilisinin metal yüzeylerde uzun süre kullanımı aşınmaya neden olmakta, ayrıca oldukça reaktif ve uçucu olan H₂O₂'in yüksek dozlarının yanıcı maddelerin yakınında kullanımı, bu maddelerin hızlı bir şekilde alev almasına neden olabilmektedir. Bu nedenle, H₂O₂ kullanılırken güvenlik önlemlerinin alınması ve bu maddenin yan etkilerinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Yari vd., 2020).

Perasetik asit

Perasetik asit (PAA) geniş etki spektrumuna sahip, hızlı etki gösteren ve düşük toksisiteye sahip bir dezenfektan olarak gıda endüstrisinde ve daha çok yüzey ve ekipman dezenfeksiyonu amacıyla kullanılmaktadır (Russo, 2016). Düşük (%0.3) konsantrasyonlarda bakterisidal, fungusidal, virüsidal (zarflı ve zarfsız virüsler) ve sporsidal etki göstermektedir (Russo, 2016). Girard vd. (2016), 5 dk süre ile 250 ppm PAA uygulamasının, murin norovirus infektivitesinde 4 log birim azalma sağladığını bildirmektedir. Ancak, seyreltilmişinde kolayca CO₂, O₂ ve suya

dissosiyasyon olarak etkisini kaybedebilmektedir (Şener ve Temiz, 2004).

Yüzey Aktif Bileşikler

Kuaterner amonyum bileşikleri

Kuaterner amonyum bileşikleri (KAB), gıda ve sağlık endüstrisinde yaygın olarak kullanılan antimikrobiyel aktiviteye sahip yüzey aktif maddelerdir (Møretro vd., 2017). Geniş etki spektrumuna sahip olan KAB'leri, bakteriler, küf ve mayalara karşı biyosidal etki gösterirken sporlara karşı çok etkili değildir (Hegstad vd., 2010; Russo, 2016; WHO, 2020c). Bununla birlikte, KAB'lerinin hidrofobik özelliği sayesinde koronavirüs başta olmak üzere birçok zarflı virüsün inaktivasyonu amacıyla etkili bir şekilde kullanılabilirliği belirtilmektedir (Baker vd., 2020). KAB'leri diğer dezenfektanlara kıyasla daha maliyetli olmalarına karşın, stabil olma, organik madde varlığından etkilenmeme, düşük toksisiteye sahip olma, korozif olmama ve uzun süre depolanabilme gibi özellikleri sayesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Russo, 2016). Ancak, KAB'leri surfaktan özelliği gösterdikleri için durulama işleminden sonra yüzeylerde kalabilmekte ve bu nedenle gıda ile temas eden yüzeylerde kullanımı önerilmemektedir (Møretro vd., 2017). Güçlü nüfuz etme özelliklerine sahip olan KAB'leri, genellikle zemin, duvar ve gıda ile temas etmeyen alet-ekipman ve diğer yüzeylerin dezenfeksiyonunda tercih edilmektedir (Şener ve Temiz, 2004; Keskin ve Kök, 2007).

Alkoller

Geniş etki spektrumuna sahip olan, korozif özellik göstermeyen ve toksik kalıntı bırakmayan alkol, etil ve izopropil alkol olmak üzere suda çözünebilen iki bileşiği içermekte (CDC, 2008) ve genellikle el ve yüzey dezenfeksiyonu amacıyla kullanılmaktadır (Rutala ve Weber, 2008). Alkoller hızlı antimikrobiyel etki göstermektedir (Jeong vd., 2010). Alkol türevleri arasında yer alan etanolün %70-80 konsantrasyonlarında virüsidal etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (WHO, 2014, 2020c). Etanolün lipofilik (zarflı) ve hidrofilik (zarfsız) virüsleri kısa süre içerisinde inaktive edebildiği, ancak zarflı virüsler (herpes simplex, vaccinia, influenza A, hepatit B ve C virüsleri) üzerinde daha etkili olduğu belirtilmektedir (Jeong

vd., 2010; Boyce, 2018). Yapılan bir çalışma sonucunda, 30 sn >%78 etanol uygulaması ile SARS-CoV-2 sayısında >4 log birimlik azalma sağlandığı belirlenmiştir (Kampf vd., 2020). Farklı bir çalışmada, %80-95 konsantrasyonlarda etanol içeren el dezenfektanlarının 30 sn içerisinde SARS-CoV (ATCC CCL-81) sayısını tespit seviyesinin altına düşürdüğü tespit edilmiştir (Rabenau vd., 2005a). Benzer şekilde Rabenau vd. (2005b) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, 30 sn süre ile %70 konsantrasyonda izopropil alkol uygulamasının, SARS-CoV sayısında >3.31 log oranında azalma sağlandığı bildirilmiştir. Zarflı virüslerde bulunan lipitler virüsleri lipit çözücü ajanlara karşı duyarlı hale getirmektedir. Dolayısıyla, virüsün yayılımının engellenmesi amacıyla >%70 konsantrasyonlarda alkol içeren dezenfektanların kullanımı, mevcut COVID-19 salgınından korunmada etkili bir çözüm olarak görülmektedir.

Organik Asitler

Asetik asit, sitrik asit gibi organik asitler, nükleik asit bağlarının parçalanmasına ve proteinlerin koagülasyonuna neden olarak antimikrobiyel etki göstermektedir (Dvorak, 2005). %4-5 oranında asetik asit içeren sirke, toksik olmaması, antimikrobiyel aktivite göstermesi, kolay ulaşılabilir ve ucuz olması nedeniyle uzun yıllardır antimikrobiyel ajan olarak kullanılmaktadır (Cortesia vd., 2014). Yapılan birçok çalışma ile sirkenin antibakteriyel ve antiviral etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Rutala vd., 2000). Greatorex vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada, influenza virüsünün (H1N1) inaktive edilmesinde %10 malt sirkesi uygulamasının uygun olduğu ve bu uygulamanın virüs üzerinde hızlı bir şekilde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Birçok gıda ürünü doğal bir bileşen olarak bulunan sitrik asitin de birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel etki gösterdiği bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, 30 dk'lık %0.2 sitrik asit uygulamasının virüs inaktivasyonunda etkili olduğu belirlenmiştir (Lombardi vd., 2008).

Ozon

Gıda endüstrisinde pek çok uygulama alanı bulunan ve güçlü bir antimikrobiyel ajan olarak

değerlendirilen ozon, diatomik oksijen molekülüne (O₂) oksijen atomunun eklenmesiyle elde edilmektedir. Yüksek reaktivite ve geniş etki spektrumuna sahip olması ve kendiliğinden parçalanarak ortamda zararlı bileşik bırakmaması, ozonun gıdalarda güvenilir bir şekilde kullanımına olanak sağlamaktadır (Ekici vd., 2006; Wang vd., 2018). Ozon, çeşitli yüzeylerin, ambalaj materyallerinin, meyve, sebze ve suların dezenfeksiyonu amacıyla yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bakteriler, küf ve mayalar üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olan ozonun virüsler (Herpes simplex virüs type-1, Influenza A virüs) üzerinde de etkili olduğu belirtilmektedir (Murray vd., 2008; Lake vd., 2020).

Çizelge 1’de farklı yüzeylerde bulunan virüs türleri üzerinde antiviral etki gösteren çeşitli dezenfektanlar ve etki mekanizmaları verilmiştir.

Çizelge 1. Farklı dezenfektanların virüs inaktivasyonu üzerindeki etkileri

Dezenfektan	Etki mekanizması	Virüs	Ortam	Konsantrasyon ve temas süresi	Etki (log azalma)	Kaynak
NaClO		Mürin norovirüs	-	200 ppm/30 sn	5 log	Girard vd., 2016
NaClO	Protein denatürasyonu, viral yapının bozulması, viral genom hasarı	Mürin hepatit (SARS-CoV)		%0.21/30 sn	≥4,40 log	Dellanno vd., 2009
ClO ₂ (g)		Mürin norovirüs	Paslanmaz çelik	4 ppm/1 dk	>5 log	Yeap vd., 2016
Povidon iyodin	Zarflı virüslerin yüzey proteinlerinin denatürasyonu, doymamış karbon bağları ile reaksiyona girerek yağ asitlerinin destabilizasyonu	MERS-CoV	-	%1/30 sn	>4 log	Eggers vd., 2015
H ₂ O ₂	Virüslerin kapsidlerinde oluşan sülfidril ve sülfür bağlarının parçalanması, protein ve enzim denatürasyonu, nükleik asit hasarı	Norovirüs	Paslanmaz çelik	%7.5/5 dk	2.5 log	Montazeri vd., 2017
PAA	Virüslerin kapsidlerinde oluşan sülfidril ve sülfür bağlarının parçalanması, protein ve enzim denatürasyonu, nükleik asit hasarı	Mürin norovirüs	Polivinil klorür	50 ppm /5 dk	>4 log	Vimont vd., 2014
PAA		Bovin enterovirüs	Paslanmaz çelik	250 ppm/30 dk	≥3.1 log	Martin vd., 2013
KAB	Zarflı virüslerde lipitlerin parçalanması, morfolojik değişikliklere yol açarak infektivitenin azaltılması	Influenza virüs	-	200 ppm/30 sn	ND	Ito vd., 2018
KAB		Simian virüs 40	Polivinil klorür	%0.6/5 dk	>4 log	Becker vd., 2019
Etanol		H1N1	Plastik	%70/1 dk	ND	Jeong vd., 2010
Etanol	Lipit hasarı, protein denatürasyonu	Koronavirüs	Paslanmaz çelik	%70/1 dk	>3 log	Hulkower vd., 2011
Etanol		COVID-19	-	%70/5 dk	ND	Chin vd., 2020

Çizelge 1. devam

Dezenfektan	Etki mekanizması	Virüs	Ortam	Konsantrasyon ve temas süresi	Etki (log azalma)	Kaynak
Organik asit		Norovirüs	-	%5/60 dk	>3 log	Poschetto vd., 2007
Asetik asit (Malt sirkesi)	Glikoproteinlerin konformasyonel değişikliğe uğraması ile enfektivitenin azaltılması	H1N1	-	%10/<1 dk	ND	Greatorex vd., 2010
Sitrik asit		Feline calicivirüs	Polistren	%2.5/1 dk	>5 log	Whitehead ve McCue, 2010
Ozon	Zarflı viruslarda lipit peroksidasyonu, zarfın hasar görmesi; zarfsız viruslarda ise kapsid proteinlerinin denatürasyonu	Simian virüs	Paslanmaz çelik	78.460 ppm/120 dk	>5 log	Maier ve Chu, 2016
Ozon (g)		Koronovirüs	Yüz maskesi	120 ppm/5 dk	ND	Lee vd., 2020

*ND: Tespit limitinin altında

Gıda işletmelerinde temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin etkin bir şekilde uygulanması, mikroorganizmaların yayılımının önlenmesinde ve dolayısıyla salgınların kontrol altına alınmasında büyük önem taşımaktadır. Genellikle, yüzey ve alet-ekipman dezenfeksiyonu amacıyla klor bazlı dezenfektanların, el ve cilt dezenfeksiyonunun sağlanması amacıyla alkolün, iyodoforların, klor bazlı dezenfektanların ve H₂O₂'in kullanılabilmesi belirtilmektedir (Wang vd., 2020).

SONUÇ

Son dönemde tüm dünyayı etkisi altına alan COVID-19 salgını ne yazık ki halen etkisini sürdürmektedir. Sağlık kaybı ile birlikte büyük ekonomik kayıplara da neden olan bu salgının engellenmesine yönelik olarak yapılan çalışmalar büyük önem taşımaktadır. COVID-19 gıda kaynaklı bir hastalığa neden olmamakta, ancak gıdalar bu virüsün taşınmasında rol almaları açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle gıdaların ve gıda çalışanlarının COVID-19'a karşı korunması amacıyla üretim ve satış alanlarında iyi hijyen uygulamalarının sağlanması, özellikle personel hijyenine dikkat edilmesi, üretim alanlarında daha az sayıda çalışan bulundurulması ve sosyal mesafenin korunması gibi çeşitli önlemlerin alınması gerekmektedir. Gıda işletmelerinde temizlik ve dezenfeksiyonun sağlanması amacıyla salgın etmeni virüse uygun

dezenfektanların, uygun konsantrasyon ve sürelerde kullanılması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, COVID-19'un yayılımının önlenmesi amacıyla kullanılacak uygun dezenfektanların etanol (>%70), NaClO (%0.1), H₂O₂, ve KAB'leri olduğu görülmüştür. Sonuç olarak zorlu dönemlerden geçtiğimiz bu süreçte özveriyle çalışmaya devam eden gıda işletmelerinde COVID-19 salgınına yönelik alınacak önlemler ile hem gıda güvenliğinin sağlanması hem de salgının yayılımının engellenmesi mümkün olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bu makale ile ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında bir çıkar çatışması yoktur.

YAZAR KATKILARI

Bu makalenin hazırlanmasında Yazarların katlı payı şöyledir: İYŞ: %40; AK: %20; GK: %20, BÖ: %20. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

Ahn, D.G., Shin, H.J., Kim, M.H., Lee, S., Kim, H.S., Myoung, J., Kim, B.T., Kim, S.J. (2020). Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID 19). *J Microbiol Biotechnol*, 30(3): 313-324, doi: 10.4014/jmb.2003.03011.

- Anonymous (2020a). Preventing the spread of COVID 19: Guidance for food establishments. <https://www.doh.wa.gov/Portals/1/Documents/1600/coronavirus/FoodWorkerEstablishment.pdf> (Accessed 1 May 2020).
- Anonymous (2020b). Gıda işletmelerinde koronavirüs tedbirleri. https://www.tarimorman.gov.tr/Belgeler/COVID%2019%20Tedbirleri/gida_isletme-kirmizi-afis-yukse.pdf (Accessed 15 June 2020).
- Anonymous (2020c). COVID-19 gıda marketlerinde alınması gereken önlemler. https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/depo/diger_kamu_kuruluslar/COVID19-GidaMarketlerindeAlinmasiGerekenOnlemler.pdf (Accessed 15 June 2020).
- Ayhan, B., Bilici, S. (2015). Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan gıda dezenfektanları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 72(4): 323-336.
- Baker, N., Williams, A., Tropsha, A., Ekins, S. (2020). Repurposing quaternary ammonium compounds as potential treatments for COVID-19. <https://osf.io/ehsn3/> (Accessed 1 May 2020).
- Becker, B., Henningsen, L., Paulmann, D., Bischoff, B., Todt, D., Steinmann, E., Steinmann, J., Brill, F.H.H., Steinmann, J. (2019). Evaluation of the virucidal efficacy of disinfectant wipes with a test method simulating practical conditions. *Antimicrob Resist In*, 8(1): 121, doi: 10.1186/s13756-019-0569-4.
- BfR (2020). Can the new type of coronavirus be transmitted via food and objects? <https://www.bfr.bund.de/cm/349/can-the-new-type-of-coronavirus-be-transmitted-via-food-and-objects.pdf> (Accessed 1 May 2020).
- Bosch, A., Gkogka, E., Le Guyader, F.S., Loisy Hamon, F., Lee, A., van Lieshout, L., Marthi, B., Myrmet, M., Sansom, A., Schultz, A.C., Winkler, A., Zuber, S., Phistern, T. (2018). Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing. *Int J Food Microbiol*, 285: 110-128, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.001.
- Bosch, A., Pinto, R.M., Guix, S. (2016). Foodborne viruses. *Curr Opin Food Sci*, 8:110-119.
- Boyce, J.M. (2018). Alcohols as surface disinfectants in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 39(3): 323-328, doi: 10.1017/ice.2017.301.
- CA, Codex Alimentarius (2009). Food hygiene: Basic texts <http://www.fao.org/3/a1552e/a1552e00.pdf> (Accessed 1 May 2020).
- CDC (2020a). Coronavirus disease 2019 basics. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/faq.html> (Accessed 1 May 2020).
- CDC (2020b). Strategies to reduce COVID-19 transmission at the Smithfield Foods Sioux Falls Pork Plant. https://covid.sd.gov/docs/smithfield_recs.pdf (Accessed 1 May 2020).
- CDC (2020c). Guidance for the selection and use of Personal Protective Equipment (PPE) in healthcare settings. <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/ppe/ppeslides6-29-04.pdf> (Accessed 18 May 2020).
- CDC (2008). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. *Chemical Disinfectants*. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/disinfection-methods/chemical.html> (Accessed 1 May 2020).
- Chin, A., Chu, J., Perera, M., Hui, K., Yen, H.L., Chan, M., Peiris, M., Poon, L. (2020). Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe*, 1(1): e10, doi: 10.1016/S2666-5247(20)30003-3.
- Cortesia, C., Vilchèze, C., Bernut, A., Contreras, W., Gómez, K., De Waard, J., Jacobs, W.R. Takiff, H. (2014). Acetic acid, the active component of vinegar, is an effective tuberculocidal disinfectant. *MBio*, 5(2): e00013-14, doi: 10.1128/mBio.00013-14.
- Dellanno, C., Quinn Vega, M.S., Boesenberg, D. (2009). The antiviral action of common household disinfectants and antiseptics against murine hepatitis virus, a potential surrogate for SARS Coronavirus. *Am J Infect Control*. 37: 649-652, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2009.03.012>.

- Desai, A.N., Aronoff, D.M. (2020). Food safety and COVID-19. <https://jamanetwork.com/> (Accessed 1 May 2020).
- dos Santos Rodrigues, J.B., de Souza, N.T., Scarano, J.O.A., de Sousa, J.M., Lira, M.C., de Figueiredo, R.C.B.Q., Souza, E.L., Magnani, M. (2018). Efficacy of using oregano essential oil and carvacrol to remove young and mature *Staphylococcus aureus* biofilms on food-contact surfaces of stainless steel. *LWT- Food Sci Technol*, 93: 293-299, doi: 10.1016/j.lwt.2018.03.052.
- Dvorak, G. (2005). Disinfection 101. *Center for Food Security and Public Health*. <http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/Assests/Disinfection101.pdf> (Accessed 1 May 2020).
- Eggers, M., Eickmann, M., Zorn, J. (2015). Rapid and effective virucidal activity of povidone-iodine products against Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) and modified vaccinia virus ankara (MVA). *Infect Dis Ther*, 4(4): 491-501, doi: 10.1007/s40121-015-0091-9.
- Ekici, L., Sağdıç, O., Kesmen, Z. (2006). Gıda endüstrisinde alternatif bir dezenfektan: Ozon. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1: 47-57.
- El Zowalaty, M.E., Järhult, J.D. (2020). From SARS to COVID 19: A previously unknown SARS-CoV-2 virus of pandemic potential infecting humans-Call for a One Health approach. *One Health*, 100124. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100124.
- Fathizadeh, H., Maroufi, P., Momen-Heravi, M., Dao, S., Köse, S., Ganbarov, K., Pagliano, P., Esposito, S., Kafil, H.S. (2020). Protection and disinfection policies against SARS-CoV-2 (COVID-19). *Infez Med*, 28(2): 185-191.
- FDA (2020a). Food safety and the coronavirus disease 2019 (COVID-19). <https://www.fda.gov/food/food-safety-during-emergencies/food-safety-and-coronavirus-disease-2019-covid-19> (Accessed 1 May 2020).
- FDA (2020b). Guidance for food businesses on coronavirus (COVID-19). <https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-guidance-for-food-businesses/guidance-for-food-businesses-on-coronavirus-covid-19> (Accessed 1 May 2020).
- FDA (2020c). Enforcement policy for face masks and respirators during the coronavirus disease (COVID-19) public health emergency (revised), Guidance for industry and food and drug administration staff. <https://www.fda.gov/media/136449/download> (Accessed 18 May 2020).
- Girard, M., Mattison, K., Fliss, I., Jean, J. (2016). Efficacy of oxidizing disinfectants at inactivating murine norovirus on ready-to-eat foods. *Int J Food Microbiol*, 219: 7-11, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.015.
- Goodyear, N., Brouillette, N., Tenaglia, K., Gore, R., Marshall, J. (2015). The effectiveness of three home products in cleaning and disinfection of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on home environmental surfaces. *J Appl Microbiol*, 119(5): 1245-1252, doi: 10.1111/jam.12935.
- Greatorex, J.S., Page, R.F., Curran, M.D., Digard, P., Enstone, J.E., Wreghitt, T., Powell, P.P., Sexton, D.W., Vivancos, R., Nguyen-Van-Tam, J.S. (2010). Effectiveness of common household cleaning agents in reducing the viability of human influenza A/H1N1. *PLoS One*, 5(2): e8987, doi: 10.1371/journal.pone.0008987.
- Hegstad, K., Langsrud, S., Lunestad, B.T., Scheie, A.A., Sunde, M., Yazdankhah, S.P. (2010). Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? *Microb Drug Resist*, 16: 91-104, doi: 10.1089/mdr.2009.0120.
- Hemida, M.G., Ba Abdulllah, M.M. (2020). The SARS-CoV-2 outbreak from a one health perspective. *One Health*, 100127 (Basımda), doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100127.
- Hulkower, R.L., Casanova, L.M., Rutala, W.A., Weber, D.J., Sobsey, M.D. (2011). Inactivation of surrogate coronaviruses on hard surfaces by health care germicides. *Am J Infect Control*, 39(5): 401-407, doi: 10.1016/j.ajic.2010.08.011.
- Íñiguez-Moreno, M., Avila-Novoa, M.G., Íñiguez-Moreno, E., Guerrero-Medina, P.J.,

- Gutiérrez-Lomelí, M. (2017). Antimicrobial activity of disinfectants commonly used in the food industry in Mexico. *J Glob Antimicrob Resist*, 10: 143-147, doi: 10.1016/j.jgar.2017.05.013.
- Ito, M., Alam, M. S., Suzuki, M., Takahashi, S., Komura, M., Sangsriratakul, N., Shoham, D., Takehara, K. (2018). Virucidal activity of a quaternary ammonium compound associated with calcium hydroxide on avian influenza virus, Newcastle disease virus, and infectious bursal disease virus. *J Vet Med Sci*, 80(4): 574-577, doi: 10.1292/jvms.18-0006.
- Jeong, E.K., Bae, J.E., Kim, I.S. (2010). Inactivation of influenza A virus H1N1 by disinfection process. *Am J Infect Control*, 38(5): 354-360, doi: 10.1016/j.ajic.2010.03.003.
- Kampf, G., Todt, D., Pfaender, S., Steinmann, E. (2020). Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and its inactivation with biocidal agents. *J Hosp Infect*, 104(3): 246-251, doi: 10.1016/j.jhin.2020.01.022.
- Keskin, D., Kök, F. (2007). Mikroorganizmaların gıda işletmelerinde kullanılan dezenfektanlara karşı direnci. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(4): 308-317.
- Kimball, A., Hatfield, K. M., Arons, M., James, A., Taylor, J., Spicer, K., Bardossy, A.C., Oakley, L.P., Tanwar, S., Chisty, Z., Bell, J.M., Methner, M., Harney, J., Jacobs, J.R., Carlson, C.M., McLaughlin, H.P., Stone, N., Clark, S., Brostrom-Smith, C., Page, L.C., Kay, M., Lewis, J., Russell, D., Hiatt, B., Gant, J., Duchin, J.S., Clark, T.A., Honein, M.A., Reddy, S.C., Jernigan, J.A. (2020). Asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility-King County, Washington, March 2020. *MMWR*, 69(13): 377-381.
- Koopmans, M., Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *Int J Food Microbiol*, 90: 23-41, doi: 10.1016/S0168-1605(03)00169-7.
- Labs, W. (2020). COVID-19: Can it survive the supply chain?. <https://www.foodsafetystrategies.com/articles/1251-covid-19-can-it-survive-the-supply-chain> (Accessed 1 May 2020).
- Lake, R., Kingsbury, J., Hewitt, J., Smit, E., King, N. (2020). Potential for foodborne transmission of COVID-19: Literature review update. <https://www.unitedfresh.co.nz/assets/COVID-19/NZFSSRC---Potential-for-Foodborne-Transmission-of-COVID-19---Lit-Review-Update---6-April-2020.pdf> (Accessed 1 May 2020).
- Lee, J., Bong, C., Bae, P.K., Abafog, A.T., Baek, S.H., Shin, Y.B., Moon, S.P., Park, S. (2020). Fast and easy disinfection of coronavirus-contaminated face masks using ozone gas produced by a dielectric barrier discharge plasma generator. *MedRxiv*, 1-13. doi: 10.1101/2020.04.26.20080317.
- Lewis, M.R. (2020). Novel Coronavirus (2019-nCoV) scope for aqualution hypochlorous acid solution for effective prevention and control. <https://www.aqualution.co.uk/2020/02/05/novel-coronavirus-2019-ncov-aqualution-effective-prevention-and-control/> (Accessed 1 May 2020).
- Lombardi, M.E., Ladman, B.S., Alphin, R.L., Benson, E.R. (2008). Inactivation of avian influenza virus using common detergents and chemicals. *Avian Dis*, 52(1): 118-123, doi: 10.1637/8055-070907-Reg.
- Lu, G., Wang, Q., Gao, G.F. (2015). Bat to human: spike features determining “host jump” of coronaviruses SARS CoV, MERS CoV, and beyond. *Trends Microbiol*, 23(8): 468-478, doi: 10.1016/j.tim.2015.06.003.
- Maier, I., Chu, T. (2016). Use of ozone for inactivation of bacteria and viruses in cryostats. *J Cytol Histol*, 7(3): 1-5.
- Martin, H., Soumet, C., Fresnel, R., Morin, T., Lamaudière, S., Le Sauvage, A.L., Deleurme, K., Maris, P. (2013). Comparison of the virucidal efficiency of peracetic acid, potassium monopersulfate and sodium hypochlorite on hepatitis A and enteric cytopathogenic bovine orphan virus. *J Appl Microbiol*, 115(4): 955-968, doi: 10.4172/2157-7099.1000428.
- Montazeri, N., Manuel, C., Moorman, E., Khatiwada, J.R., Williams, L.L., Jaykus, L.A.

- (2017). Virucidal activity of fogged chlorine dioxide-and hydrogen peroxide-based disinfectants against human norovirus and its surrogate, feline calicivirus, on hard-to-reach surfaces. *Front Microbiol*, 8: 1031, doi: 10.3389/fmicb.2017.01031.
- Møretro, T., Schirmer, B.C., Heir, E., Fagerlund, A., Hjemli, P., Langsrud, S. (2017). Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry. *Int J Food Microbiol*, 241: 215-224, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.025.
- Morin, T., Martin, H., Soumet, C., Fresnel, R., Lamaudière, S., Le Sauvage, A.L., Deleurme, K., Maris, P. (2015). Comparison of the virucidal efficacy of peracetic acid, potassium monopersulphate and sodium hypochlorite on bacteriophages P001 and MS 2. *J Appl Microbiol*, 119(3): 655-665, doi: 10.1111/jam.12870.
- Murray, B.K., Ohmine, S., Tomer, D.P., Jensen, K.J., Johnson, F.B., Kirsi, J.J., Robison, R.A., O'Neill, K.L. (2008). Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species. *J Virol Methods*, 153(1): 74-77, doi: 10.1016/j.jviromet.2008.06.004.
- Omidbakhsh, N., Sattar, S.A. (2006). Broad-spectrum microbicidal activity, toxicologic assessment, and materials compatibility of a new generation of accelerated hydrogen peroxide-based environmental surface disinfectant. *Am J Infect Control*, 34(5): 251-257, doi: 10.1016/j.ajic.2005.06.002.
- Pan, X., Chen, D., Xia, Y., Wu, X., Li, T., Ou, X., Zhou, L., Liu, J. (2020). Asymptomatic cases in a family cluster with SARS-CoV-2 infection. *Lancet Infect Dis*, 20(4), 410-411, doi: 10.1016/S1473-3099(20)30114-6.
- Petrosillo, N., Viceconte, G., Ergonul, O., Ippolito, G., Petersen, E. (2020). COVID 19, SARS and MERS: are they closely related?. *Clin Microbiol Infect*, (Basımda), doi: 10.1016/j.cmi.2020.03.026.
- Poschetto, L.F., Ike, A., Papp, T., Mohn, U., Böhm, R., Marschang, R.E. (2007). Comparison of the sensitivities of noroviruses and feline calicivirus to chemical disinfection under field-like conditions. *Appl Environ Microbiol*, 73(17): 5494-5500, doi: 10.1128/AEM.00482-07.
- Querido, M.M., Aguiar, L., Neves, P., Pereira, C.C., Teixeira, J.P. (2019). Self-disinfecting surfaces and infection control. *Colloids Surface B*, 178(1): 8-21, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.02.009.
- Rabenau, H.F., Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Preiser, W., Doerr, H.W. (2005b). Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med Microbiol Immunol*, 194(1-2): 1-6, doi: 10.1007/s00430-004-0219-0.
- Rabenau, H.F., Kampf, G., Cinatl, J., Doerr, H.W. (2005a). Efficacy of various disinfectants against SARS coronavirus. *J Hosp Infect*, 61(2): 107-111, doi: 10.1016/j.jhin.2004.12.023.
- Ríos-Castillo, A.G., González-Rivas, F., Rodríguez-Jerez, J.J. (2017). Bactericidal efficacy of hydrogen peroxide-based disinfectants against gram-positive and gram-negative bacteria on stainless steel surfaces. *J Food Sci*, 82(10): 2351-2356, doi: 10.1111/1750-3841.13790.
- Rodríguez-Lázaro, D., Cook, N., Ruggeri, F.M., Sellwood, J., Nasser, A., Nascimento, M. S., D'Agostino, M., Santos, R., Saiz, J.R., Rzeżutka, A., Bosch, A., Gironés, R., Carducci, A., Muscillo, M., Kovač, K., Diez Valcarce, M., Vantarakis, A., von Bonsdorff, C.H., de Roda Husman, A.M., Hernández, M., van der Poel, W.H. (2012). Virus hazards from food, water and other contaminated environments. *FEMS Microbiol Rev*, 36(4): 786-814, doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00306.x.
- Russo, J.R. (2016). Efficiency of industrial disinfectants on food-contact surfaces sanitation. Ph.D. Dissertation, Porto University, Porto, Portugal, 86s.
- Rutala, W.A., Weber, D.J. (2008). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/47378> (Accessed 1 May 2020).
- Rutala, W.A., Barbee, S.L., Aguiar, N.C., Sobsey, M.D., Weber, D.J. (2000). Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 21: 33-38, doi: 10.1086/501694.

- Schmidt, R.H. (2009). Basic elements of equipment cleaning and sanitizing in food processing and handling operations. *University of Florida Institute of Food and Agriculture Sciences*, 1-14.
- Şener, A., Temiz, A. (2004). Tavuk kesimhane ve işletmelerinde kullanılan ticari dezenfektanlar ve etkinlikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyolojisi Dergisi*, 2(10): 1-28.
- Shereen, M.A, Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., Siddique, R. (2020). COVID 19 infection: origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res*, 24: 91-98, doi: 10.1016/j.jare.2020.03.005.
- Sun, J., He, W.T., Wang, L., Lai, A., Ji, X., Zhai, X., Li, G., Suchard, M.A., Tian, J., Zhou, J., Veit, M., Su, S. (2020). COVID 19: epidemiology, evolution, and cross disciplinary perspectives. *Trends Mol Med*, doi: 10.1016/j.molmed.2020.02.008
- Tong, Z.D., Tang, A., Li, K.F., Li, P., Wang, H.L., Yi, J.P., Zhang, Y.L., Yan, J.B. (2020). Potential presymptomatic transmission of SARS-CoV-2, Zhejiang province, China, 2020. *Emerg Infect Dis*, 26(5): 1052-1054, doi: 10.3201/eid2605.200198.
- Tyan, K., Kang, J., Jin, K., Kyle, A.M. (2018). Evaluation of the antimicrobial efficacy and skin safety of a novel color additive in combination with chlorine disinfectants. *Am J Infect Control*, 46(11): 1254-1261, doi: 10.1016/j.ajic.2018.04.223.
- van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D.H., Holbrook, M.G., Gamble, A., Williamson, B. N., ...Lloyd-Smith, J.O. (2020). Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*, 382(16), 1564-1567. doi: 10.1056/NEJMc2004973.
- Vimont, A., Fliss, I., Jean, J. (2015). Study of the virucidal potential of organic peroxyacids against norovirus on food-contact surfaces. *Food Environ Virol*, 7(1), 49-57, doi: 10.1007/s12560-014-9174-0.
- Wang, H., Sikora, P., Rutgersson, C., Lindh, M., Brodin, T., Björleinius, B., Larsson, D.G.J., Norder, H. (2018). Differential removal of human pathogenic viruses from sewage by conventional and ozone treatments. *Int J Hyg Environ Health*, 221(3), 479-488, doi: 10.1016/j.ijheh.2018.01.012.
- Wang, J., Zhang, B., Duan, H., Liang, C., Sun, H., Zhang, J., ... Zhang, L. (2020). Key points of the program for disinfection technology in special places during the Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) outbreak. *China CDC Weekly*, 2(9), 140-142, doi: 10.46234/ccdcw2020.038.
- Whitehead, K., McCue, K.A. (2010). Virucidal efficacy of disinfectant actives against feline calicivirus, a surrogate for norovirus, in a short contact time. *Am J Infect Control*, 38(1): 26-30, doi: 10.1016/j.ajic.2009.03.015.
- WHO, (2020a). Coronavirus disease (COVID-19), Situation report-109. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200508covid-19-sitrep-109.pdf?sfvrsn=68f2c632_6 (Accessed 1 May 2020).
- WHO, (2020b). Coronavirus disease 2019 (COVID-19), Situation report-51. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10 (Accessed 1 May 2020).
- WHO, (2020c). COVID-19 and food safety: Guidance for food businesses. <https://www.who.int/publications-detail/covid-19-and-food-safety-guidance-for-food-businesses> (Accessed 1 May 2020).
- WHO, (2020d). Home care for patients with COVID-19 presenting with mild symptoms and management of their contacts. [https://www.who.int/publications-detail/home-care-for-patients-with-suspected-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-presenting-with-mild-symptoms-and-management-of-contacts](https://www.who.int/publications-detail/home-care-for-patients-with-suspected-novel-coronavirus-(ncov)-infection-presenting-with-mild-symptoms-and-management-of-contacts) (Accessed 1 May 2020).
- WHO, (2020e). Considerations in the investigation of cases and clusters of COVID-19. <https://www.who.int/publications-detail/considerations-in-the-investigation-of-cases-and-clusters-of-covid-19> (Accessed 1 May 2020).

- WHO, (2020f). Infection prevention and control SAVE LIVES: Clean your hands. https://www.who.int/infection-prevention/campaigns/clean-hands/WHO_HH-Community-Campaign_finalv3.pdf?ua=1 (Accessed 1 May 2020).
- WHO, (2020g). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation report-32. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200221-sitrep-32-covid-19.pdf?sfvrsn=4802d089_2 (Accessed 1 May 2020).
- WHO, (2020h). Rational use of personal protective equipment for coronavirus disease 2019 (COVID-19) (Interim guidance). https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331215/WHO-2019-nCov-IPCPPE_use-2020.1-eng.pdf (Accessed 18 May 2020).
- WHO, (2014). Annex G. Use of disinfectants: alcohol and bleach. Infection prevention and control of epidemic-and pandemic-prone acute respiratory infections in health care. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK214356/> (Accessed 1 May 2020).
- Yari, S., Moshammer, H., Asadi, A. F. (2020). Side effects of using disinfectants to fight COVID-19. *Asian Pac J Cancer*, 3(1): 9-13, doi: 10.31557/APJEC.2020.3.1.9-13.
- Yeap, J.W., Kaur, S., Lou, F., DiCaprio, E., Morgan, M., Linton, R., Li, J. (2016). Inactivation kinetics and mechanism of a human norovirus surrogate on stainless steel coupons via chlorine dioxide gas. *Appl Environ Microbiol*, 1: 116-123, doi: 10.1128/AEM.02489-15.
- Yepiz-Gomez., M.S., Gerba, C.P., Bright, K.R. (2013). Survival of respiratory viruses on fresh produce. *Food Environ Virol*, 5(3): 150-156, doi: 10.1007/s12560-013-9114-4.
- Yu, P., Zhu, J., Zhang, Z., Han, Y. (2020). A familial cluster of infection associated with the 2019 novel coronavirus indicating possible person-to-person transmission during the incubation period. *J Infect Dis*, 221(11), 1757-1761, doi: 10.1093/jiaa077.



**ANTIOXIDANT CAPACITY AND FLAVOR PRESERVED HAZELNUT
EXTRACT, MACERATION AND SC-CO₂ EXTRACTION AND COMPARISON
OF EXTRACTION METHODS**

**Asli BARLA-DEMIRKOZ^{1,2*}, Melis KARAKAS¹,
Pelin BAYRAMOĞLU¹, Melike UNER³**

¹Department of Research and Development Center, Aromsa Flavours and Food Additives San. ve Tic. A.S.,
Kocaeli, Turkey

² Haliç University, Department of Nutrition and Dietetics, İstanbul, Turkey

³ Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Received / Geliş: 17.12.2019; Accepted / Kabul: 08.06.2020; Published online / Online baskı: 14.07.2020

Barla-Demirkoz, A., Karakas, M., Bayramoglu, P., Uner, M. (2020). Antioxidant capacity and flavor preserved hazelnut extract, maceration and SC-CO₂ extraction and comparison of extraction methods. *GIDA* (2020) 45(4)665-675 doi: 10.15237/gida.GD20020

Barla-Demirkoz, A., Karakas, M., Bayramoglu, P., Uner, M. (2020). Antioksidan aktivitesi ve aroması korunmuş fındık ekstraktı eldesi, maserasyon ve SC-CO₂ ekstraksiyonu ve ekstraksiyon yöntemlerinin kıyaslanması. *GIDA* (2020) 45(4)665-675 doi: 10.15237/gida.GD20020

ABSTRACT

In this study, Tombul type hazelnuts (*Corylus avellana* L.) were extracted by supercritical carbondioxide (SC-CO₂) extraction and maceration method. The extraction yielded in 8.5% by SC-CO₂ extraction when 0.84% by maceration. Extracted hazelnuts were analyzed by Dynamic Headspace Analysis/Gas Chromatography-Mass Spectrometry and 24 volatile compounds were detected after SC-CO₂ method while 41 compounds were detected after maceration. Flavour and antioxidant value preserved Hazelnut extract by SC-CO₂ technique showed better radical scavenging ability in 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) than the one by maceration. Antioxidant activities of the extracts obtained by SC-CO₂ (12.35±0.06 µg/mL) and by maceration (8.79±0.23 µg/mL) had a medium impact compared with the synthetic antioxidant standards ($P < 0.05$). No significant difference was observed between the total phenolic contents of the hazelnut extracts obtained by SC-CO₂ method and by maceration ($P < 0.05$). As a result, SC-CO₂ technique for extraction of Tombul type hazelnuts was concluded to be more beneficial and suitable compared to maceration technique.

Keywords: Antioxidant capacity, dynamic headspace, hazelnut (*Corylus avellana* L.), SC-CO₂ extraction, volatile compound

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ aslibarla@gmail.com, asli.barla@aromsa.com.tr, ☎ (+90) 262 326 1111 📠 (+90) 262 751 1390

Asli Barla Demirköz; ORCID no: 0000-0002-3261-0212

Melis Karakas; ORCID no: 0000-0003-1291-892X

Pelin Bayramoglu; ORCID no: 0000-0003-3969-2158

Melike Uner; ORCID no: 0000-0003-2786-5947

ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ VE AROMASI KORUNMUŞ FINDIK EKSTRAKTI ELDESİ, MASERASYON VE SC-CO₂ EKSTRAKSİYONU VE EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN KIYASLANMASI

ÖZ

Bu çalışmada, Tombul tipi fındıklar (*Corylus avellana* L.) süperkritik karbondioksit (SC-CO₂) ekstraksiyonu ve maserasyon yöntemi ile ekstrakte edildi. Ekstraksiyon verimleri; maserasyon ile % 0.84 iken SC-CO₂ ekstraksiyonu ile % 8.5 olarak hesaplandı. Elde edilen ekstraktlarda uçucu bileşen analizleri Dinamik Headspace Analysis / Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi ile yapıldı ve 24 uçucu bileşik SC-CO₂ yöntemiyle elde edilen ekstraktta, 41 bileşik ise maserasyon ile elde edilen ekstraktta tespit edildi. SC-CO₂ tekniği ile elde edilen fındık ekstraktının 2,2-Dipenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemiyle antioksidan kapasitesi incelendi buna göre; Süperkritik CO₂ yöntemi ile elde edilen fındık ekstraktının daha iyi radikal süpürme kabiliyeti gösterdiği görüldü. SC-CO₂ (12.35±0.06 µg / mL) ve maserasyon (8.79±0.23 µg / mL) yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri için, sentetik antioksidan standartlarına kıyasla orta düzeyde bir etkiye sahip oldukları söylenebilir (p <0.05). SC-CO₂ metodu ile elde edilen fındık ekstraktının toplam fenolik içeriği ile maserasyon ile elde edilen fındık ekstraktı arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p <0.05). Sonuç olarak, Tombul tipi fındıkların ekstraksiyonu için SC-CO₂ tekniğinin, geleneksel bir yöntem olan maserasyon tekniğine kıyasla daha faydalı ve uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Antioksidan kapasitesi, dinamik headspace, fındık (*Corylus avellana* L.), SC-CO₂ ekstraksiyonu, uçucu bileşenler

INTRODUCTION

Turkey is the largest producer country as well as the largest exporter for various species of hazelnuts in the world, contributing approximately 70% to the total global production, followed by Italy (12%), USA (4.5%) and Spain (2.5%) (Oliveira et al., 2008; Pelvan et al., 2012). Among 18 varieties of hazelnuts cultivated in Turkey, only Tombul (Round) hazelnut is classified as the premium quality due to its high oil content, distinctive taste and aroma. Its brown skin can be able to remove easily and quickly during roasting (Alasalvar et al., 2010; Alasalvar et al., 2012). Hazelnut provides a distinctive and unique flavour as a food ingredient. Hazelnut oily extracts are mainly composed of unsaturated fatty acids such as oleic (C18:1) and linoleic (C18:2) acids at high concentrations (80% and 12%, respectively) (Ozkal et al., 2005a; Bernardo-Gil et al., 2002). Taste and aroma of hazelnut extracts are caused by their taste-active components (free amino acids and phenolic acids, sugars, organic acids and condensed tannins) and aroma-active components (ketones, aldehydes, pyrazines, alcohols, aromatic hydrocarbons, furans, pyrroles, terpenes and acids) (Alasalvar et al., 2010). Hazelnuts can be consumed as raw and roasted. However, roasted hazelnuts have an advantage of

improved desirable flavour in the extract which are caused by various components including Filbertone (5-methyl-(E)-2-hepten-4-one) and pyrazines (Saklar et al., 2001). Hazelnut extracts additionally contain antioxidant phenolics, vitamins (Vit E and Vit B complex), dietary fibres, minerals and phytosterols (Alasalvar et al., 2003a). These attributes make hazelnuts popular especially in Europe and Asia (Alasalvar et al., 2004). The antioxidant capacity of the hazelnut extract can be evaluated by considering their phenolic content, because phenolic substances are able to donate hydrogen atom to free radicals. Furthermore, antioxidants can increase the shelf life of products by retarding the process of lipid peroxidation when they are added to food products, especially to lipids and lipid containing foods (Singh et al, 2002).

Hazelnut extracts have a great potential for pharmaceutical and cosmetic purposes especially due to their fatty acid profile and high B vitamins, carotenoids, squalene and phytosterol content (Hotellier et al., 1972; Stuetz et al., 2017; Granata et al., 2017). Their chemoprotective potential have been reported to be caused by phenolic substances (Oliveira et al., 2008; Gleis et al., 2018). Fatty acid content of hazelnut extracts may be

beneficial to prevent risk of coronary heart disease when tocopherol, squalene and phytosterol content provide cardioprotective effect (Maguire et al., 2004; Surra et al., 2013; Tey et al.; 2017).

Hazelnut extracts have antimicrobial, antimicotic and anticestodal effects (Oliveira et al., 2008; Eskandarian et al., 2018; Abuladze et al., 2015). Hazelnuts have also been recommended to use for their brain-protective activity and particularly reversing brain atrophy in Alzheimer's disease (Gorji et al., 2017).

Hazelnut extracts can be obtained by SC-CO₂ extraction and maceration methods (Alasalvar et al., 2010; Alasalvar et al., 2012; Alasalvar et al., 2004; Alasalvar et al., 2003b). Maceration technique presents some drawbacks like low efficiency and solvent residue in products. On the other hand, SC-CO₂ extraction which is an environmentally benign technique, is advantageous for providing higher efficiency by avoiding solvent residues and retaining organoleptic characteristics of a starting material. Various studies have been conducted on determination of efficiency, physicochemical characteristics and sensory properties of products obtained by using those 2 techniques, individually (Bernardo-Gil et al., 2002; Ozkal et al., 2005b; Farinelli et al., 2008; Ciurlia et al., 2009).

However, any comparison study on SC-CO₂ extraction and maceration method are not available in the literature for obtaining roasted hazelnut extracts. For the first time, it was aimed to compare antioxidant capacity, volatile compound contents of roasted hazelnut extracts obtained by using SC-CO₂ extraction and maceration methods in this study.

MATERIAL AND METHODS

Materials

Turkish Tombul variety of roasted hazelnuts were purchased from Ucuşcular Gıda (Istanbul, Turkey). Ethanol (EtOH, Merck), β -carotene (Sigma-Aldrich), butylated hydroxytoluene (BHT, Sigma-Aldrich), butylated hydroxyanisole (BHA, Sigma-Aldrich), α -tocopherol (Sigma-Aldrich)

and Mili-Q water (TGI Pure Water System, USA) were provided from Aromsa A.S. (Kocaeli, Turkey). All other chemicals were of analytical grade.

Sample Preparation

Roasted hazelnuts were chopped in a planetary grinder. Particle size fraction (1,5 mm mesh size) of the coarse powder was obtained by standard Retsch sieves (Germany) and stored at 0-4 °C until the extraction process.

SC-CO₂ Method

SC-CO₂ extraction was performed using a Waters SFE 1000 supercritical fluid extraction system (U.S.A) equipped with an 1000 mL extractor under 450 bar pressure and 125 g_{CO₂}/min CO₂ mass flow rate. Parameters were optimized including pressure, temperature, CO₂ flow rate, time, feed amount, particle size, co-solvent which are critical and valuable for the extraction process affecting yield. For this purpose, one parameter was changed in each experiment when the others were kept constant. This study was replicated 3 times.

Maceration Method

A maceration method reported by Contini *et al.* was modified for extraction of hazelnuts (Yilmaz, O. 2009). Chopped hazelnuts were dispersed in EtOH (80%, v/v) with a solid to solvent ratio of 1:1 (w/v). The dispersion was kept at the room temperature for 24 h until filtration process under vacuum at 50 bar (Büchi, Switzerland) and the supernatant was collected. The residue was macerated for three times under the same conditions (50 bar). EtOH content of the supernatants was evaporated by a rotary evaporator (Büchi, Switzerland) until 65°Bx under vacuum at 40 °C. All extracts are evaporated until 65°Bx because the extracts used in food industry, the extracts microbiological load is so important. It is known that If the extract is evaporated until 65°Bx, the extracts is got rid of their microbiological loads. Flavour and antioxidant value preserved Hazelnut extracts obtained were stored at 0-4 °C.

Determination of the Total Phenolic Content

The determination of the total phenolic content of the extracts were determined by Folin Ciocalteu method (Contini et al., 2008; Slinkard et al., 1977). The extracts were dissolved in EtOH (1000 ppm) and, 500 μ L and 1000 μ L samples were taken from the extracts. 0.1 mL 2N Folin-Ciocalteu reagent was added to each sample. After 3 min, 0.3 mL anhydrous sodium carbonate solution was added and they were diluted to 5 mL with distilled water. Solutions obtained were kept in the dark for reaction for 2 h and absorbance values were determined at 760 nm (Pgeneral T80+double beam UV/VIS Spectrometer, U.K.). Gallic acid was initially used to construct the standard curve (0-200 mg/ml. Results were expressed as mg of gallic acid equivalents/100g of extract (GAEs). This study replicated 3 times.

Antioxidant Capacity of the Extracts

Determination of Radical Scavenging Capacity Using DPPH Method

DPPH method was used for verifying the antioxidant capacity of the extracts (Contini et al., 2008; Slinkard et al., 1977). The extracts were kept in the dark and ambient conditions for 30 min. Absorbance values were measured spectrophotometrically at 517 nm and radical scavenging capacity (RSA) - inhibition percent was calculated. This study was repeated for each extract and synthetic antioxidant reagent (BHT, BHA, α -tocopherol) by replicating 3 times.

β -Carotene-Linoleic Acid System Model

Antioxidant capacity of the extracts was measured by β -carotene-linoleic acid system model (Oliveira et al., 2008). A mixture prepared as above without β -carotene served as the control sample. Antioxidant capacity of the extracts was determined. This study was replicated 3 times for each extract and synthetic antioxidant reagent (BHT, BHA, α -tocopherol).

Dynamic Headspace/Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Volatile compounds in hazelnut extracts were analyzed by DHA/GC-MS. Total ion chromatogram of the volatiles were obtained using the Gerstel DHS System (Germany)

connected to an Agilent 7890A GC and an Agilent 5975C MS (Inert MSD with Triple Axis Detector, ABD). Preparation of the internal standard was based on the method described by Alasalvar (Alasalvar et al., 2003b). 1g hazelnut extract was weighed in a 20 mL standart headspace vial and 0.2 g 5 ppm 2,4,6-trimethylpyridine solution was added. It was placed in a tray of Gerstel Multi Purpose Sampler. Desorbed compounds were injected automatically into an INNOWAX GC column (CP-WAX 52, 60 m x 0.25 μ m film thickness x 0.25 mm inner diameter). The flow rate of the helium carrier gas was 1.2 mL/min. Samples were injected in the splitless mode. The GC oven temperature was programmed to a range from 40 $^{\circ}$ C to 240 $^{\circ}$ C at 5 $^{\circ}$ C/min heating rate.

Data Treatment and Statistics

The statistical analyzes were managed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's multiple range tests to identify significant differences among data obtained from antioxidant capacity analysis of the extracts. The results were considered statistically significant when $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Process Yield of SC-CO₂ Extraction: Optimization of Parameters

Co-Solvent

Co-solvent use may be often required for optimization of parameters affecting yield of SC-CO₂ extraction process. Different co-solvents ratios and various CO₂ flow rates were found to result in extracts having polyphenols at differing ratios in a recent study (Manna et al., 2015). Thus, it should be decided whether to use a co-solvent or not. Parameters like pressure, CO₂ flow rate, extraction temperature and hazelnut feed amount must be kept constant in the case of co-solvent use. In this study, experiments were performed with and without co-solvent. The extract yield of extraction without a co-solvent was observed to be higher than one with co-solvent. This can be attributed to higher solubility of fats in CO₂ compared to EtOH and combination of EtOH and CO₂ (Kabouche et al., 2007). However, flavouring part of the extract, which is expressed as the Filbertone, could not be extracted without

co-solvent according to the dynamic headspace results (Table 1). Because Filbertone is freely soluble in EtOH. Therefore, EtOH was decided

to be used as a co-solvent for SC-CO₂ extraction process.

Table 1. Optimization of Process Parameters for SC-CO₂ extraction process

Optimization	Test	EtOH (%)	P (Bar)	T (°C)	t (min)	Feed (g)	M _{CO₂} (g/min)	Yield (%)	Filbertone (%)
Co-Solvent Usage	I	0	450	60	380	200±2	40	40.2	0
	II	5	450	60	380	200±2	40	19.1	1.85
Co-Solvent Ratio	I	2	350	50	45	150±2	125	9.2	0.89
	II	3	350	50	45	150±2	125	10.3	4.63
	III	5	350	50	45	150±2	125	8.4	5.22
	IV	7	350	50	45	150±2	125	11	2.42
	V	10	350	50	45	150±2	125	6	0
Process Time	I	5	350	50	45	255±2	125	6.4	4.85
	II	5	350	50	90	255±2	125	1.8	0.5
	III	5	350	50	180	255±2	125	8.9	0.79
	IV	5	350	50	420	255±2	125	3.9	0.38
	V	5	350	50	495	255±2	125	6.5	0.14
Feed Amount	I	5	350	50	45	150±2	125	9.7	4.84
	II	5	350	50	45	200±2	125	6.4	4.36
	III	5	350	50	45	335±2	125	4.9	3.29
CO ₂ Flow Rate	I	5	350	50	45	150±2	40	1.5	3.6
	II	5	350	50	45	150±2	50	5	0.13
	III	5	350	50	45	150±2	75	4.8	0.91
	IV	5	350	50	45	150±2	100	5.6	4.87
	V	5	350	50	45	150±2	125	7.7	5.38
Pressure	I	5	150	50	45	150±2	125	2.5	3.97
	II	5	300	50	45	150±2	125	3.2	3.91
	III	5	350	50	45	150±2	125	8	4.98
	IV	5	400	50	45	150±2	125	6.5	4.21
	V	5	450	50	45	150±2	125	6.9	3.36
Temperature	I	5	350	40	45	150±2	125	2.9	2.65
	II	5	350	50	45	150±2	125	8.3	5.64
	III	5	350	60	45	150±2	125	7.5	3.46
	IV	5	350	70	45	150±2	125	5	1.41

P, pressure; T, temperature; t, time; M_{CO₂}, CO₂ flow rate

Optimization of co-solvent ratio which is critical for affecting extraction yield and selectivity, is required for achievement of extraction process. Following the “like-dissolves-like” principle, EtOH was specified as the co-solvent since the extracted chemical compound was a ketone and

could be dissolved in alcohol (Kabouche et al., 2007) 2, 3, 5, 7 and 10% co-solvent ratios (v/v) were studied at constant extraction temperature, pressure, CO₂ flow rate, process time and feed amount, then extracts were analysed sensually and with dynamic headspace. 5% EtOH ratio was

confirmed to be optimum since maximum amount of Filbertone and one of the highest yields were obtained at this ratio (Table 1). Yield of extract obtained with SC-CO₂ extraction was 10 fold higher compared to the maceration method due to the lower diffusion coefficient of supercritical fluids and high mass transfer capability of the liquid CO₂ (Helena et al., 1995). In the case of Filbertone yields, similar results were obtained since EtOH getting contact with the material was renewed continuously as the principle of SC-CO₂ extraction method.

Process Time

It was reported that the extraction yield was enhanced as the process time was increased (Kabouche et al., 2007). Pressure, extraction temperature, feed amount, rate of CO₂ flow and EtOH ratio were kept constant while different process times (45, 90, 180, 420 and 495 min.) were performed in each test for observing the effect of the process time. The extracts were then analysed both sensually and with dynamic headspace. It was seen that the maximum yield (8.9%) was achieved with a process time of 180 min. 0.79 % Filbertone was confirmed to be extracted during 180 min (Table 1). On the other hand, 45 min provided the highest filbertone rate (4.85%). Extract yield was 6.4% for 45 min SC-CO₂ extraction because of this reason, “45 min” was chosen as the optimum process time. SC-CO₂ extraction method introduces several advantages over traditional methods like maceration. When maceration is employed at least 24 hours, SC-CO₂ extraction method can be completed in a few hours for yielding purer extracts with higher quality compared to traditional methods. This is the biggest advantage of SC-CO₂ extraction method for large-scale production in food industry.

Hazelnut Feed Amount

Particle size of the feed material is very critical for extraction process. When the particle size is very small, the caking problem occurs, which is the tendency of the powders to form lumps, comes out in the extractor; on the other hand, when the particle size is very large, it results in channeling which can decrease the extraction yield (Manna et

al., 2015). In a study, yield has been reported to enhance and caking not to observe when particle size of the feed material was between 0.85 mm and 2 mm (Ozkal et al., 2005). In this study, we used particle fraction of roasted hazelnut between 1 mm and 2 mm mesh sieves. To determine the amount of hazelnut in the extractor feed tank, pressure, extraction temperature, CO₂ flow rate, EtOH ratio and process time were kept constant while 150, 200 and 335 g hazelnut feed amounts were tested. Optimum hazelnut feed amount was chosen as “150 ± 2 g” since the maximum yield (9.7%) and the highest Filbertone percentage (4.84%) were observed with this amount (Table 1).

CO₂ Flow Rate

The yield of an extraction process increases with increasing flow rate. When the flow rate is comparably high, the mass transfer resistance around the feed particles decreases and the yield enhances (Doker et al., 2004). For the purpose of optimizing of the flow rate; pressure, extraction temperature, process time, feed amount and EtOH ratio were kept constant while 40, 50, 75, 100 and 125 g_{CO₂}/min flow rates were applied on to hazelnuts. Optimum CO₂ flow rate was specified as “125 g_{CO₂}/min” because the maximum yield (7.7%) and the highest Filbertone amount (5.38%) were obtained with 125 g_{CO₂}/min of CO₂ flow rate (Table 1).

Process Pressure

Pressure affects the yield and the selectivity of the extraction process. The solubility is increased and the volume of the fluid is decreased by increasing pressure at a constant extraction temperature (Kabouche et al., 2007). Temperature, CO₂ flow rate, EtOH ratio, process time and feed amount were kept constant while 150, 300, 350, 400 and 450 Bar pressures were tried during the extraction process for optimizing. The pressure was optimized as “350 bar” since the maximum yield (8.0%) and the highest Filbertone amount (4.98%) were observed at this pressure (Table 1).

Temperature

When temperature is increased at a constant pressure, density of a supercritical fluid is

decreased and its solubility is affected (Manna et al., 2015). However, the process temperature is directly related to the raw material and the flavouring part which is wanted to be extracted. While optimizing the temperature, heat sensitive raw materials should be considered. SC-CO₂ extraction of hazelnuts were replicated at various temperatures (40, 50, 60 and 70 °C) while keeping the other process conditions constant. 50 °C was confirmed to be the most suitable temperature since maximum yield and the highest Filbertone amount were gained (Table 1).

Process Yield

The process yield of the hazelnut extraction is related with the extraction efficiency. In SC-CO₂ method, detected optimum process parameters were used and extraction yield was calculated as 8.5% while in maceration, it was 0.84%. The higher efficiency of SC-CO₂ extraction is the result of its process conditions. Thus, SC-CO₂ technique can be appreciated as a preferable method to maceration for hazelnut extraction.

Volatile Compounds (DHA/GC-MS) in the Extracts 24 and 41 compounds were detected in hazelnuts extracted by SC-CO₂ and maceration method, respectively (Table 2). It was observed that rates of the characteristic flavouring components, Filbertone (5-methyl-(*E*)-2-hepten-4-one and 2,5-dimethyl pyrazine) were higher in the extract obtained by SC-CO₂ than by maceration. 5-methyl-(*E*)-2-hepten-4-one and 2,5-dimethyl pyrazine are particularly desired volatile compounds from flavour and antioxidant value preserved hazelnut extracts for food industry in all over the world. 5-methyl-(*E*)-2-hepten-4-one was obtained at higher concentrations by SC-CO₂ method than maceration. SC-CO₂ extraction method was also confirmed to be a selective technique for obtaining hazelnut extract. However, 2-ethyl-5-methyl pyrazine concentration was higher in the extract obtained by maceration than by SC-CO₂.

Table 2. Comparison of Volatile Compounds

Peak	Compound	RT (min)	RI*	SC-CO ₂ extraction (ng/g)	Maceration (ng/g)
1	Ethyl acetate	5.837	907	nd	12670±1558
2	EtOH	6.322	929	946±69	11700±1663
3	Hexanal	8.980	1084	110±7	721±80
4	n-Undecane	9.067	1100	nd	263±13
5	n-2-pentanol	9.611	1091	nd	126±21
6	3(<i>E</i>)-penten-2-one	10.102	1122	nd	137±11
7	Heptanal	11.333	1186	49±7	Nd
8	n-Dodecane	11.367	1200	155±10	212±38
9	3-methyl-1-butanol	11.705	1184	nd	324±37
10	2-pentyl furan	12.319	1229	nd	220±34
11	Ethyl hexanoate	12.406	1223	nd	186±21
12	n-pentan-1-ol	12.800	1213	383±10	592±37
13	p-cymene	13.400	1272	57±5	201±35
14	n-Octanal	13.935	1278	260±11	148±11
15	Tridecane	13.885	1312	263±10	228±39
16	5-methyl-(<i>E</i>)-2-hepten-4-one	14.054	1288	855±25	564±12
17	3-penten-2-one	14.371	1123	nd	60±7
18	2,5-dimethyl pyrazine	15.098	1306	536±15	325±13

Table 2. continuation

19	Ethyl lactate	15.312	1358	nd	546±12
20	1-Hexanol	15.457	1345	485±13	663±78
21	Butan-2-ol	15.876	975	nd	130±11
22	Tetradecane	16.450	1400	nd	352±6
23	IS (2,4,6-trimethyl pyridine)	16.498	1360	-	-
24	Nonanal	16.617	1382	336±13	Nd
25	2-ethyl-5-methyl pyrazine	16.785	1386	172±5	269±10
26	3-octene-2-one	17.126	1388	nd	52±6
27	5-methyltetradecane	17.611	1444	97±9	Nd
28	Trans-2-octenal	17.710	1427	232±20	Nd
29	4-methyl tetradecane	17.786	1460	175±12	Nd
30	Furfural	18.675	1455	nd	201±17
31	2-ethyl-1-hexanol	18.902	1485	472±6	379±43
32	Ethyl 3-hydroxy butyrate	19.842	1521	nd	91±9
33	Propanoic acid	20.187	1523	nd	430±71
34	Butanal	20.284	832	nd	227±41
35	1-Octanol	20.597	1519	775±21	Nd
36	Isobutyric acid	20.868	1558	nd	242±55
37	Hexadecane	21.410	1600	nd	103±7
38	Butanoic acid	22.334	1619	nd	192±9
39	Butyrolactone gamma	22.983	1632	319±10	318±58
40	Furfuryl alcohol	23.206	1199	173±14	154±17
41	2-methyl butanoic acid	23.286	1665	nd	456±56
42	Benzyl acetate	24.842	1697	nd	156±17
43	Pentanoic acid	24.845	1720	172±3	Nd
44	Hexanoic acid	27.176	1872	659±2	621±4
45	Phenyl Ethyl alcohol	28.889	1859	nd	104±7
46	Octanoic acid	31.521	2083	1089±8	323±7
47	Decanoic acid	35.472	2361	778±21	169± 14
48	Benzoic acid	39.092	1624	nd	81±3
49	Lauric acid	42.757	2517	nd	235±13
	Total Volatiles			9548±326	35171±4201

*Kovats Retention Indices

Determination of Antioxidant Capacity of the Extracts

When scavenging capacity of the extracts on DPPH radicals was compared, hazelnut extract obtained by SC-CO₂ extraction was determined to be better than extract obtained by maceration (Table 3). DPPH radical capacity of the hazelnut extract obtained by SC-CO₂ extraction was found to be 1.5 fold higher than maceration. Total phenolic contents and % inhibition of hazelnut extracts obtained by SC-CO₂ method was insignificantly higher compared to maceration ($p < 0.05$). However, both of the methods were seen to show lower scavenging activities than the

synthetic antioxidants (BHT, BHA and α -tocopherol). In addition, both methods showed no significant difference in β -carotene assay ($p < 0.05$). β -carotene-linoleic acid results proved that synthetic antioxidant standards were superior to both extraction methods. It could be concluded that antioxidant activities of the hazelnut extract obtained by SC-CO₂ and by maceration have a medium impact compared with the synthetic antioxidant standards. As we expected, substances dissolved in the lipophilic extract drifted with CO₂ flow. This process resulted in higher antioxidant amounts in the extracts.

Table 3. Antioxidant capacity results of hazelnut extracts

Extraction Model	DPPH Inhibition %	TPC (mg of GAE/100 g)	β -Carotene-Linoleic Acid Inhibition%
SC-CO ₂ Extraction	12.35±0.06	149.38±0.92	44.36±0.33
Maceration	8.79±0.23	146.16±0.91	42.08±0.60
BHT	45.50±0.13		84.73±0.56
BHA	67.46±0.17		90.56±0.57
α -Tocopherol	59.46±0.23		67.47±0.51

^aData are expressed as mean \pm SD (n=3, P <0.05).

CONCLUSION

The aim of the present study was to detect the volatile compounds of the extracts of roasted Tombul hazelnuts obtained by SC-CO₂ and maceration methods, furthermore to compare the yields, antioxidant activities and volatile molecules by DHA/GC-MS analysis of these two techniques. The yield of SC-CO₂ extraction (8.5 %) was higher to the yield of maceration (0.84 %) as a result of the low temperature and high pressure process conditions of SC-CO₂ method. Extract is obtained from SC-CO₂, yield is 8,5%. SC-CO₂ conditions are detected and the optimum conditions are 5% EtOH used as a co-solvent, 350 Bar (pressure), 50°C (Temperature), 125 gCO₂/min. (flow rate) and 45 minutes (process time). 24 volatile compounds in SC-CO₂ extraction and 41 compounds in maceration were detected by DHA/GC-MS. 5-methyl-(E)-2-hepten-4-one and 2,5-dimethyl pyrazine are particularly desired volatile compounds from flavour preserved hazelnut extracts for food industry in all over the world. 5-methyl-(E)-2-hepten-4-one was obtained at higher concentrations by SC-CO₂ method than maceration. DPPH radical capacity of the hazelnut extract obtained by SC-CO₂ extraction was found to be 1,5 fold higher than maceration. Total phenolic contents and % inhibition of hazelnut extracts obtained by SC-CO₂ method was insignificantly higher compared to maceration.

CONFLICT OF INTEREST

Asli Barla Demirköz declares that she has no conflict of interest. Melis Karakas declares that she has no conflict of interest. Pelin Bayramoğlu declares that she has no conflict of interest.

Melike Üner declares that she has no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey) (Grant Number TEYDEB 3130379). The authors thank to Murat Yasa and Melis Yasa in Aromsa A.Ş. in Kocaeli, Turkey for their support in this study.

REFERENCES

- Abuladze, N., Javakhia, M., Gabunia, K., Iavich, P., Gabelashvili, M. (2015). Creation of ointment compositions containing phenol compounds for medical treatment. *Georgian Med News* 247:77-81.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Liyanapathirana, CM., Ohshima, T. (2003a). Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) 1. Compositional characteristics. *J Agric Food Chem* 51(13):3790-3796.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Cadwallader, KR. (2003b). Comparison of natural and roasted Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) volatiles and flavor by DHA/GC/MS and descriptive sensory analysis. *J Agric Food Chem* 51(17):5067-5072.
- Alasalvar, C., Odabasi, AZ., Demir, N., Balaban, MO., Shadidi, F., Cadwallader, KR. (2004). Volatiles and flavour of five Turkish hazelnut varieties as evaluated by descriptive sensory analysis, electronic nose and dynamic headspace analysis/gas chromatography-mass spectrometry. *J Food Sci* 69(3): 99-106.
- Alasalvar, C., Pelvan, E., Amarowicz, R. (2010). Effects of roasting on taste-active compounds of

- Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.). *J Agric Food Chem* 58(15):8674-8679.
- Alasalvar, C., Pelvan, E., Bahar, B., Korel, F., Olmez, H. (2012). Flavour of natural and roasted Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) by descriptive sensory analysis, electronic nose and chemometrics. *Food Sci Technol Int* 47(1):122-131.
- Bernardo-Gil, MG., Grenha, J., Santos, J., Cardoso, P. (2002). Supercritical fluid extraction and characterization of oil from hazelnut. *Eur J Lipid Sci Technol* 104(7):402-409.
- Ciurlia, L., Bleve, M., Rescio, L. (2009). Supercritical carbon dioxide co-extraction of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.) and hazelnuts (*Corylus avellana* L.): A new procedure in obtaining a source of natural lycopene. *J Supercrit Fluids* 49(3):338-344.
- Contini, M., Baccalloni, S., Massantini, R., Anelli, G. (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chem* 110(3):659-669.
- Doker, O., Salgin, U., Sanal, I., Mehmetoglu, U., Calimli, A. (2004). Modeling of extraction of β -carotene from apricot bagasse using supercritical CO₂ in packed bed extractor. *J Supercrit Fluids* 28(1):11-19.
- Eskandarian, AA. (2012). Scolicidal effects of squash (*Corylus spp*) seeds, hazel (*Curcubita spp*) nut and garlic (*Allium sativum*) extracts on hydatid cyst protoscolices. *J Res Med Sci* 17(11):1011-1014.
- Farinelli, D., Zadra, C., Marucchini, C., Tombesi, A. (2008). Sensory analysis and headspace/gas chromatography of Italian hazelnut varieties. Paper presented at the Proc. VIIth International Congress on Hazelnut. Viterbo, Italy. 651-656p.
- Glei, M., Fischer, S., Lamberty, J. et al. (2018). Chemopreventive potential of in vitro fermented raw and roasted hazelnuts in LT97 colon adenoma cells. *Anticancer Res* 38(1):83-93.
- Gorji, N., Moeini, R., Memariani, Z. (2018). Almond, hazelnut and walnut, three nuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: A neuropharmacological review of their bioactive constituents. *Pharmacol Res* 129(March):115-127.
- Granata, MU., Bracco, F., Gratani, L. et al. (2017). Fatty acid content profile and main constituents of *Corylus avellana* kernel in wild type and cultivars growing in Italy. *Nat Prod Res* 31(2):204-209.
- Helena, Sovová., Jaromír, Jez., Milena, Bártlová., Jitka, Št'astová. (1995). Supercritical carbon dioxide extraction of black pepper. *J Supercrit Fluids*, 8(4):295-301.
- Hotellier, F., Delaveau, P. (1972). Oils of pharmaceutical dietetic and cosmetic importance. 3. Almond (*Prunus amygdalus Stokes dulcis*), pits (various *Prunus*) hazel-nut (*Corylus avellana* L.). *Ann Pharm Fr* 30(7):495-502.
- Kabouche, A., Kabouche, Z., Ozturk, M., Kolak, U., Topcu, G. (2007). Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. *Food Chem* 102(4):1281-1287.
- Maguire, LS., O'Sullivan, SM., Galvin, K., O'Connor, TP., O'Brien, NM. (2004). Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. *Int J Food Sci Nutr* 55(3):171-178.
- Manna, L., Bugnone, CA., Banchemo, M. (2015). Supercritical carbon dioxide co-extraction of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.) and hazelnuts (*Corylus avellana* L.): A new procedure in obtaining a source of natural lycopene. *J Supercrit Fluids* 104(September):204-211.
- Oliveira, I., Sousa, A., Sa´Morais, J., Ferreira, I., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J. (2008). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food Chem Toxicol* 46(5):1801-1807.
- Ozkal, SG., Salgin, U., Yener, ME. (2005a). Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil. *J Food Eng* 69(2):217-223.
- Ozkal, SG., Yener, ME., Bayindirli, L. (2005b). Mass transfer modelling of apricot kernel oil extraction with supercritical carbondioxide. *J Supercrit Fluids* 35(2):119-127.

- Pelvan, E., Alasalvar, C., Uzman, S. (2012). Effects of roasting on the antioxidant status and phenolic profiles of commercial Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.). *J Agric Food Chem* 60(5):1218-1223.
- Saklar, S., Katnas, S., Urgan, S. (2001). Determination of optimum hazelnut roasting conditions. *Food Sci Technol Int* 36(3):271-281.
- Singh, RP., Chidambara, KN., Jayaprakasha, GK. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J Agric Food Chem* 50(1):81-86.
- Slinkard, K., Singleton, VL. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *J Enol Vitic* 28(1):49-55.
- Stuetz, W., Schlörmann, W., Gleis, M. (2017). B-vitamins, carotenoids and α -/ γ -tocopherol in raw and roasted nuts. *Food Chem* 221(April):222-227.
- Surra, JC., Barranquero, C., Torcal, MP. (2013). In comparison with palm oil, dietary nut supplementation delays the progression of atherosclerotic lesions in female apoE-deficient mice. *Br J Nutr* 109(2):202-209.
- Tey, SL., Robinson, T., Gray, AR., Chisholm, AW., Brown, RC. (2017). Do dry roasting, lightly salting nuts affect their cardioprotective properties and acceptability? *Eur J Nutr* 56(3):1025-1036.
- Yilmaz, O. (2009) *Aspir (Carthamus tinctorius L.) tohumunun süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu*, M.Sc. Thesis, Anadolu University, Institute of Science, Department of Chemical Engineering, Eskisehir, Turkey. 158p.

ARAPSAÇI OTUNUN (*FOENÍCULUM VULGARE*) KURUMA KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ VE KURUMA DAVRANIŞININ MODELLENMESİ

Yeliz TEKGÜL¹, Gülşah ÇALIŞKAN KOÇ^{2*}

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Köşk Meslek Yüksek Okulu, Aydın, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 25.03.2019; Kabul / Accepted: 09.06.2020; Online baskı / Published online: 14.07.2020

Tekgöl, Y., Çalışkan-Koç, G. (2020). Arapsaçı otunun (*Foeniculum vulgare*) kuruma kinetiğinin incelenmesi ve kuruma davranışının modellenmesi. *GIDA* (2020) (45)3 676-688 doi: 10.15237/gida.GD20044.

Tekgöl, Y., Çalışkan-Koç, G. (2020). Investigation of the drying kinetics and modeling of drying behavior of the fennel (*Foeniculum vulgare*). *GIDA* (2020) (45)3 676-688 doi: 10.15237/gida.GD20044.

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, arapsaçı otunun (*Foeniculum vulgare*) farklı kurutma teknikleri ve koşulları altında kuruma davranışının belirlenmesidir. Bu amaçla, arapsaçı otu mikrodalga fırında (460-700 W) ve tepsili kurutucuda (1 m/s hava akış hızı, 50-70 °C) kurutulmuştur. Örneklerin kuruma süreleri mikrodalga fırında 105-150s arasında değişirken, bu süre sıcak havada kurtulan örnekler için 60-150dk arasında değişim göstermiştir. Örneklerin kuruma davranışının beş farklı ince tabaka kurutma modeline (Lewis, Page, Henderson ve Pabis, iki terimli eksponansiyel, logaritmik) uyumluluğu incelenmiştir. Mikrodalga fırında kurutulan örnekler için en yüksek R², en düşük RMSE ve χ^2 değerleri Page modelden elde edilirken, sıcak havada kurutulan örnekler için logaritmik modelden elde edilmiştir. Tüm kurutma denemelerinde kuruma genel olarak azalan hızda kuruma periyodunda gerçekleşmiştir. Mikrodalga fırında kurutulan örnekler için daha yüksek efektif nem difüzyon katsayısı değerleri (4.7061×10^{-7} - 8.3168×10^{-7} m²/s) elde edilmiştir. Aktivasyon enerjisi mikrodalga fırında kurutulan örnekler için 131.3443 W/g, sıcak havada kurutulan örnekler için ise 37.5142 kJ/mol olarak hesaplanmıştır.

Anahtar kelimeler: Arapsaçı otu, mikrodalga kurutma, efektif nem difüzyon katsayısı, aktivasyon enerjisi

INVESTIGATION OF THE DRYING KINETIC AND MODELLING OF DRYING BEHAVIOR OF THE FENNEL (*FOENÍCULUM VULGARE*)

ABSTRACT

In this study, the effect of different drying techniques and conditions on the drying behaviors of fennels (*Foeniculum vulgare*) were investigated. For this purpose, fennels were dried at a microwave oven (460-700W) and tray dryer (1m/s airflow rate, 50-70°C). Drying time of microwave and tray dried fennels ranged between 105-150s and 60-150min, respectively. In order to determine the drying behavior of fennels, experimental data were fitted to five different thin-layer drying models (Lewis, Page, Henderson and Pabis, Two-term exponential, and Logarithmic). The highest R² and lowest RMSE and χ^2 values were obtained from Page and logarithmic models for microwave and tray dried samples, respectively. The overall drying process took place in the falling rate period for all drying experiments. Higher effective moisture diffusivity values (4.7061×10^{-7} - 8.3168×10^{-7} m²/s) were obtained for microwave dried samples. Activation energy values were calculated as 131.3443 W/g and 37.5142 kJ/mol for microwave and tray dried samples, respectively.

Keywords: Fennel, microwave drying, effective moisture diffusivity, activation energy

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: yeliz.tekgul@adu.edu.tr,

☎: (+90) 256 212 0258-1320

☎: (+90) 256 214 6834

Yeliz Tekgöl; ORCID no: 0000-0002-5227-4754

Gülşah Çalışkan Koç; ORCID no: 0000-0002-6542-3093

GİRİŞ

Apiaceae familyasından olan Arapsaçı otu (*Foeniculum vulgare*), Akdeniz, Mısır ve Hindistan çevresinde yetişen otsu bir bitkidir. Diüretik özellik göstermesi ve gastrointestinal sistem bozuklukları üzerine olumlu etkisi nedeniyle halk arasında teröpatik amaçlı değerlendirilmektedir (Zeng vd., 2015). Arapsaçı otu linolenik ve stearik asit başta olmak üzere yağ asitlerince zengindir. Bitki tohumundan elde edilen esansiyel yağlar antioksidan, antitrombotik ve antidiyabetik özellik göstermektedir (Ruberto vd., 2001; Tognolini vd., 2007; Abou El-Soud vd., 2011). Ayrıca yapılan çalışmalar, bitki esansiyel yağlarının *Escherichia coli*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas spp.*, *Listeria innocua*, *Serratia marcescens* ve *Pseudomonas fluorescens* gibi patojenler üzerinde antibakteriyel, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Candida spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Trichophyton mentagrophytes* gibi mikroorganizmalar üzerinde ise antifungal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (Mahady vd., 2005; Inouye vd., 2006; Singh vd., 2006; Mohsenzadeh, 2007; Viuda-Martos vd., 2011; Rostami ve Shafiei 2012; Roby vd., 2013). Arapsaçı otu taze olarak tüketilmesinin yanı sıra yaprakları ve tohumu aromatik bileşenlerce zengin olduğundan kurutularak dondurma, alkollü içecekler, bitki çayları, et ve balık ürünlerinin üretiminde katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Atta-Aly, 2001; Parejo vd., 2002).

Kurutma bilinen en eski gıda muhafaza yöntemlerindedir. Gıda ürünlerinin kurutulmasındaki temel amaç, suyun uzaklaştırılması yoluyla gıdada meydana gelebilecek kimyasal reaksiyonların ve mikrobiyal bozulmaların yavaşlatılması ya da durdurulmasıdır (Krokida vd., 2003; Ayan, 2010). Kurutma yöntemleri doğal ve yapay olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Sıcak hava ile kurutma gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen enerji verimliliği düşük, kuruma süresi uzun olan bir dehidrasyon yöntemidir. Kuruma süresinin uzaması ürünlerde, besin değerinin azalmasına ve renk, tat, aroma ve tekstürde istenmeyen değişikliklere yol açmaktadır (Maskan, 2000). Mikrodalga enerjisi, 300 MHz ile 300 GHz aralığında frekansa sahip iyonize olmamış

elektromanyetik ışınıdır (Karabacak vd., 2015). Bir maddenin mikrodalga uygulaması ile kurutulması sırasında o maddenin yüzeyine gelen mikrodalgalar absorbe edilmektedir. Gıda bünyesine alınan elektromanyetik enerjinin etkisi ile polar moleküller arasında oluşan titreşim ve sürtünmeler sonucunda sıcaklık artışı görülmektedir. Meydana gelen sıcaklık artışı, üründe yer alan suyun buharlaşmasına yol açmaktadır (Platts, 1991; Stephen, 1997). Mikrodalga ile kurutma tekniğinde gıda maddesinde hacimsel ısıtma meydana geldiğinden kuruma süresi önemli ölçüde kısalmaktadır. Kurutma prosesinin optimizasyonu, yeni kurutma sistemlerinin tasarlanması ve mevcut sistemlerin iyileştirilmesi amacıyla çeşitli matematiksel modellerden faydalanılmaktadır. İnce tabaka kurutma modelleri teorik (Fick'in difüzyon yasası; Basitleştirilmiş Fick modeli, Henderson ve Pabis, Modifiye Henderson ve Pabis, Logaritmik, İki Terimli, Modifiye İki Terimli, İki Terimli Exponansiyel, Midilli, Difüzyon Yaklaşımı ve Modifiye Midilli), yarı teorik (Newton'un soğutma yasası; Lewis, Page, Modifiye Page ve Otsura) ve empirik modeller (deneysel veriler; Wang ve Singh, Thompson, Hii ve ark., Weibull, Vega-Galvez ve ark., Jena Das, Wang ve ark., Demir ve ark., Diamente ve ark., Haghi ve Angiz, Sripinyowanich ve Noomhorm, Noomhorm ve Verma, Hasibuan ve Daud, Sharaf-Eldeen ve ark., Henderson ve Henderson, Parabolik, Geometrik, Lojistik, Üssel, Regresyon, Chavez-Mendez ve ark., Aghbashlo, Modifiye Henderson ve Perry, Üç terimli, Alibas, vb.) olarak üç kategoride sınıflandırılabilir. Fick'in difüzyon yasasından çıkarılan modeller, teorik temelleri nedeniyle meyve ve sebzelerin kuruma davranışını daha iyi tanımlamaktadır (Erbay ve Icier, 2009; Onwude vd., 2016; Ertekin ve Firat, 2017). Bu çalışmanın amacı, farklı hava sıcaklıkları ve mikrodalga güç değerlerinin arapsaçı otunun kuruma kinetiği üzerine etkilerinin belirlenmesi ve efektif nem difüzyon katsayısı ile aktivasyon enerjisi değerlerinin hesaplanmasıdır. Bu amaçla arapsaçı otu, tepsili kurutucuda ve mikrodalga fırında farklı sıcaklık ve güç değerlerinde kurutulmuştur. Ayrıca, çalışma kapsamında arapsaçı otu örneklerinin kuruma davranışının beş farklı ince tabaka kurutma modeline (Lewis, Page,

Henderson ve Pabis, iki terimli eksponansiyel ve logaritmik) uygunluğu incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan arapsaçı otu (*Foeniculum vulgare*) örnekleri, Aydın ilinde bulunan yerel bir marketten alınmış, sap kısımları uzaklaştırıldıktan sonra yıkanmış ve peçete yardımıyla fazla su uzaklaştırılmıştır.

Yöntem

Mikrodalga Kurutma

Örnekler, mikrodalga fırında (Arçelik MD 574S, Türkiye, 17 litre hacim, 230 V, 50 Hz besleme gerilimi, 1200 W toplam güç, 700W çıkış gücü, 452 mm x 325 mm x 262 mm) farklı güç değerlerinde (460, 600 ve 700 W) kurutulmuştur. 4.0 ± 0.5 g örnek cam petri (10.8 cm çap, 5 mm kalınlık) içinde mikrodalga fırının döner tablasına yerleştirilmiştir. Nem kaybını belirlemek üzere her 15 saniyede bir ± 0.001 g hassasiyete sahip dijital terazi (RADWAG WTC 2000, Radom, Polonya) ile tartım alınmıştır.

Sıcak Hava Kurutma

Örnekler sabit hava hızında (1 m/s) ve farklı sıcaklık değerlerinde (50, 60 ve 70 °C) laboratuvar ölçekli tepsili kurutucuda (Eksis TK, Isparta, Türkiye) kurutulmuştur. 4.0 ± 0.5 g örnek cam petri (10.8 cm çap, 5 mm kalınlık) içinde fırın tepsisine yerleştirilmiştir. Kurutma süresince örnekler sabit tartıma ulaşmaya kadar her 10 dakikada bir ± 0.001 g hassasiyete sahip dijital terazi (RADWAG WTC 2000, Radom, Polonya) ile tartım alınmıştır.

Kurutma denemeleri iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Tüm ağırlık ölçüm işlemleri kurutma rejiminin bozulmaması açısından en kısa süre içinde (max. 5 s) tamamlanmıştır. Arapsaçı otu örnekleri petrilerin taban alanını tamamen kapsayacak şekilde yerleştirilmiş ve birim alana düşen örnek miktarı 0.44 kg/m^2 olarak hesaplanmıştır.

Matematiksel Modelleme, Kuruma Hızı ve Efektif Nem Difüzyonu Değerlerinin (D_{eff} , m^2/s) Hesaplaması

Kurutulan arapsaçı örneklerinin zamana bağlı olarak ağırlığında meydana gelen değişim takip edilerek, boyutsuz nem oranı (MR) ve kuruma hızı (DR) değerleri Eşitlik 1 ve 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_i - M_e} \quad (1)$$

$$DR = \frac{M_{t+dt} - M_t}{dt} \quad (2)$$

M_t , M_i , M_e ve M_{t+dt} sırasıyla herhangi bir t anındaki, başlangıç anındaki, denge durumundaki ve herhangi bir t+dt anındaki nem içeriğini (g su/g kuru madde (KM)) ifade etmektedir. t ise kuruma zamanı (mikrodalga deneyleri için saniye, sıcak havada kurutma deneyleri için dakika) olarak tanımlanmıştır.

Lewis ($MR = \exp(-kt)$), Page ($MR = \exp(-kt^n)$), Henderson ve Pabis ($MR = a * \exp(-kt)$), İki terimli eksponansiyel ($MR = a * \exp(-kt) + (1 - a)\exp(-kat)$), ve logaritmik ($MR = a * \exp(-kt) + b$) ince tabaka kurutma modelleri seçilerek; arapsaçı otu örneklerinin kurutulması sırasında boyutsuz nem oranı değerlerinin kuruma zamanı ile değişiminin bu modellere uyumluluğu incelenmiştir (Erbay ve Icier, 2009; Onwude vd., 2016). Seçilen ince tabaka kurutma model parametrelerini değerlendirmek amacıyla doğrusal olmayan regresyon analizi kullanılmıştır (SPSS 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD). Deneysel verilerin model eşitliği tarafından açıklanabilirliğinin belirlenmesinde belirleme katsayısı (R^2), hata kareler ortalamasının karekökü (RMSE) ve indirgenmiş ki-kare (χ^2) değerleri kullanılmıştır (Erbay ve Icier, 2009).

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{pre,i}) \times \sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{exp,i})}{\sqrt{\left[\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{pre,i})^2 \right] \times \left[\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{exp,i})^2 \right]}} \quad (3)$$

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N-n} \quad (5)$$

$MR_{pre,i}$: hesaplanan boyutsuz nem oranı, $MR_{exp,i}$: deneysel boyutsuz nem oranı, N ; gözlem sayısı, n ; sabit sayısını ifade etmektedir.

Efektif nem difüzyon katsayısı Fick'in ikinci yasasına göre hesaplanmıştır.

$$MR = \frac{M - M_e}{M_0 - M_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[-(2n+1)^2 \frac{\pi^2 D_{eff} t}{L^2} \right] \quad (6)$$

L (m); kuruma tek yönden gerçekleştiği için arapsaçı örneklerinin kalınlığını (5mm) temsil etmektedir. Uzun kuruma süreleri için ($MR < 0.6$) Eşitlik 6'da gösterilen seri basitleştirilerek Eşitlik 7'de belirtilen ilk terim kullanılmış ve efektif nem difüzyon katsayısı hesaplanmıştır (Bennamoun vd., 2013).

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \exp \left[\frac{D_{eff} t \pi^2}{4L^2} \right] \quad (7)$$

Efektif nem difüzyon katsayısı ve mikrodalga gücü veya hava sıcaklığı arasındaki ilişkinin Arrhenius fonksiyonu olduğu varsayılmaktadır (Eşitlik 8 ve 9) (Dadali vd., 2007; Erbay ve Icier 2009; Onwude vd., 2016).

$$D_{eff} = D_0 \exp \left(-E_a \frac{m}{P} \right) \quad (8)$$

$$D_{eff} = D_0 \exp \left(-\frac{E_a}{RT} \right) \quad (9)$$

D_0 ; pre- ekponansiyel faktörü (m^2/s), E_a ; aktivasyon enerjisini (W/g), P ; mikrodalga gücünü (W), m ; örnek miktarını (g), T ; mutlak sıcaklığı (Kelvin) ve R ; gaz sabitini ($R = 8.31451 J/mol.K$) göstermektedir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Saplarından ayrılan arapsaçı otu örneklerinin başlangıç nem içeriği 4.52 kg su/kg kuru madde (%81.88 y.b.) olarak hesaplanmıştır. Arapsaçı otu

örneklerinin kuruma süreleri mikrodalga fırın için 105-150 saniye arasında değişirken, bu süre sıcak havada kurtulan örnekler için 60-150 dakika arasında değişim göstermiştir. Mikrodalga gücündeki her artış kuruma süresinde 15 saniyelik bir azalışa neden olmuştur. Tepsili kurutucuda sıcaklık 50°C'den 60°C'ye arttığında kuruma süresi %50 azalmıştır. Sıcaklık 60°C'den 70°C'ye artırıldığında ise kuruma süresi 10 dakika (%14.29) kısalmıştır. Yüksek mikrodalga gücü gıdalarda daha fazla ısı jenerasyonuna neden olduğundan, gıdadan nem uzaklaşması hızlanmakta ve kuruma süresi kısalmaktadır (Torki-Harchegani vd., 2018). Yüksek hava sıcaklıkları, ısı ve kütle transferinin itici gücünde artışa neden olmakta, su buharı difüzyon hızı artmakta ve kuruma süresi kısalmaktadır. Benzer şekilde Ozkan vd. (2007) yaptıkları çalışmada ıspanak yapraklarını farklı mikrodalga güçlerinde kurutmuşlar (90, 160, 350, 500, 650, 750, 850 ve 1000 W) ve artan mikrodalga gücünün ıspanak yapraklarının kuruma süresini (290 s ve 4005 s) önemli ölçüde kısalttığını ve 1000 W'ta kurutulan örneklerin kuruma sürelerinin 50 ve 75 °C'de (1 m/s hava hızı) kurutulan örneklere kıyasla 33 ve 17 kat daha kısa olduğunu belirtmişlerdir. Soysal (2004) yaptığı çalışmada maydanozların kuruma süresinin artan mikrodalga gücü (360, 450, 540, 630, 720, 810 ve 900 W) ile kısaldığı (3.50–9.75 dk) sonucuna varmıştır. Çalışmada 900 W'ta kurutulan örneklerin 360 W'ta kurutulan örneklere kıyasla %64 daha kısa sürede kuruduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada 900 W mikrodalga gücünde kurutulan maydanoz örneklerinin 30, 40, 50 ve 65°C'de kurutulan örneklere kıyasla kuruma sürelerinin sırasıyla 111, 92, 37 ve 31 kat daha kısa olduğu ortaya konulmuştur. Farklı mikrodalga güçlerinde (180, 360, 540, 720 ve 900 W) kurutulan nane örneklerinin kuruma sürelerinin artan mikrodalga gücü ile kısaldığı ve 900 W'ta kurutulan örneklerin kuruma süresinin, 180 W mikrodalga gücünde kurutulanlara kıyasla %76 daha kısa olduğu belirtilmiştir (Özbek ve Dadali 2007). *Sabia officinalis* yapraklarının kuruma süresinin artan hava sıcaklığı ile kısaldığı, hava sıcaklığı 60°C' den 50 °C'ye düşürüldüğünde kuruma süresinin yaklaşık 2.5 kat arttığı, 80°C'den 60 °C'ye düşürüldüğünde ise yaklaşık 1.5 arttığı belirtilmiştir (Jebri vd., 2019). Bu çalışma

kapsamında elde edilen bulgular literatür ile uyum içindedir. Arapsaçı otu örneklerinin kuruma süreleri, artan mikrodalga gücü ve hava sıcaklığı ile kısalmıştır. Mikrodalga fırında kurutulan örneklerin kuruma süresi, sıcak havada kurutulan örneklerle kıyasla önemli ölçüde kısa bulunmuştur. Seçilen kurutma sistemlerinin farklı prensiplere göre kurutma işlemini gerçekleştirmesi bu durumun nedeni olarak açıklanabilir. Mikrodalga fırında yapılan kurutma denemelerinde, enerji gıdaya elektromanyetik dalgalar ile iletilmekte ve gıdalar hacimsel olarak ısınmaktadır. Bu nedenle, ısıtma hızı sınırlı olmamakta ve homojen ısı dağılımı büyük ölçüde sağlanmaktadır. Ayrıca, bipolar moleküllerin dönüş hareketi mikrodalga alanı içinde üretilen ısı için önemlidir. Arapsaçı otu örneklerinin yüksek nem içeriği, ürünün içinde üretilen ısıya dışa doğru nem difüzyonunu hızlandırmakta ve kuruma hızını arttırarak kuruma zamanını kısaltmaktadır (Torki-Harchegani vd., 2018). Kutlu ve İşçi (2016) kuruma süresinin kısaltılmasının enerji sarfiyatını azaltarak endüstriyel olarak büyük bir maddi kazançta yol açacağını belirtmiştir. Kuruma işleminin kısa sürede gerçekleşmesi enerji sarfiyatının azaltılmasının yanında üründe istenmeyen reaksiyonların ortaya çıkmasını da engellemektedir. Bu kapsamda, arapsaçı otu örneklerinin mikrodalga fırında kurutulmasının gerek kuruma süresi gerekse enerji tüketimi açısından avantajlı olduğu sonucuna varılabilir.

Arapsaçı otu örneklerinin boyutsuz nem oranı (MR) değerlerinin kuruma zamanına bağlı değişimi Şekil 1'de gösterilmiştir. Beklenildiği gibi arapsaçı otu örneklerin MR değerleri kuruma süresine bağlı olarak azalmıştır. Mikrodalga fırında gerçekleştirilen kurutma denemelerinde 80 saniyeden sonra MR değerindeki değişim büyük ölçüde azalmıştır. Mikrodalga fırında kurutulan örneklerin kuruma davranışı birbirine benzerlik göstermektedir. Sıcak havada 60 ve 70 °C kurutulan örneklerin MR değerinde hızlı bir düşüş meydana gelirken 50 °C kurutulan örneklerde bu düşüşün daha yavaş olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde Motevali vd. (2016) yaptıkları çalışmada, papatya yapraklarını mikrodalga-konvektif kurutucuda kurutmuşlar (200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 ve 900 W ve 50 °C, 0.5 m/s) ve artan

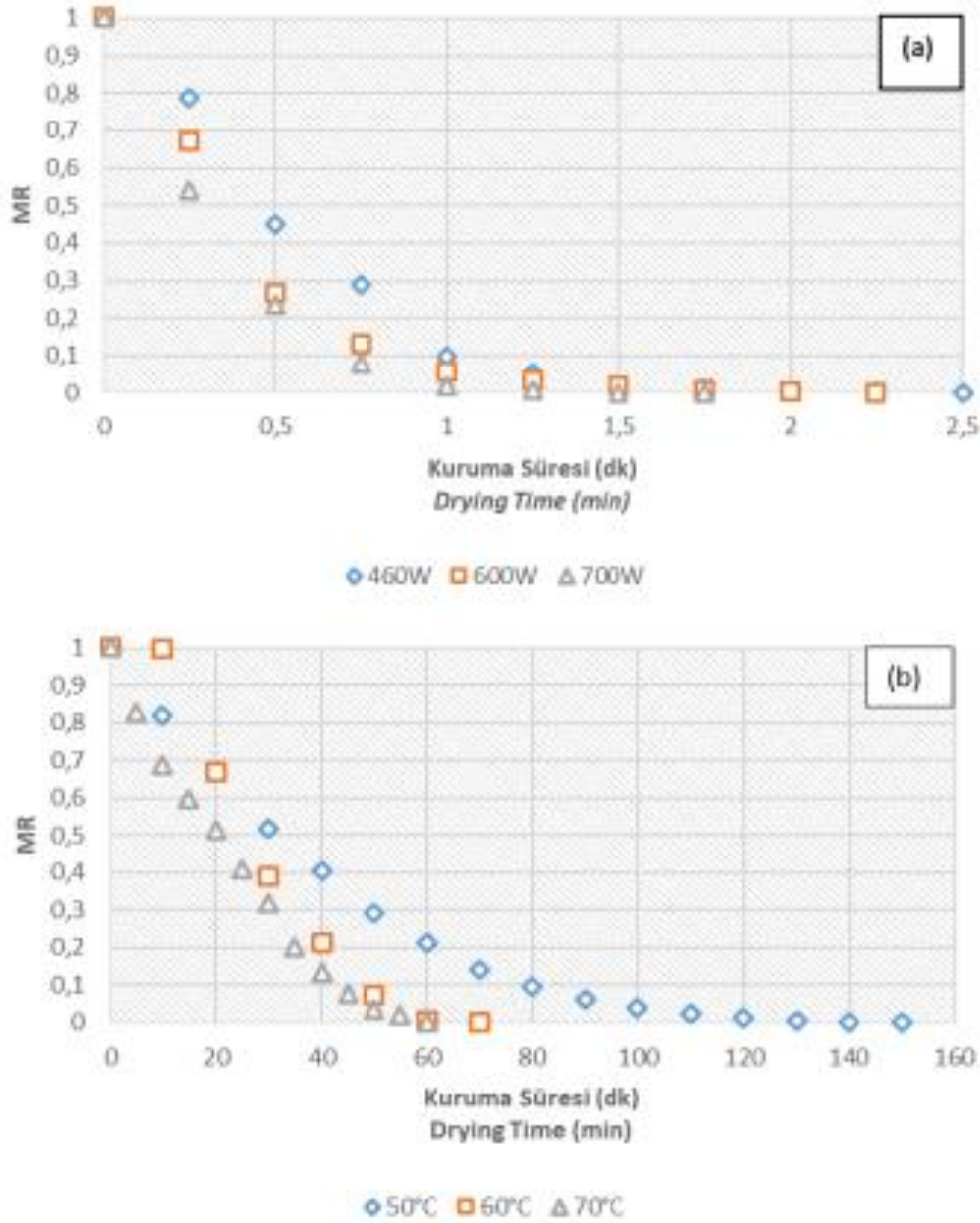
kuruma süresiyle birlikte nem içeriğinin ve kuruma hızının azaldığı sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar nem içeriğindeki düzenli azalışın nedeninin nem transferinin difüzyon ile gerçekleşmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Ayrıca gıda maddelerinin mikrodalga enerjisini absorbe etmesinin gıdanın nem içeriğine bağlı olduğunu, zamana bağlı olarak su buharı evaporasyonu ile kuruma hızının azaldığını açıklamışlardır (Motevali vd., 2016).

Örneklerin nem içeriği mikrodalga güçleri ve hava sıcaklıkları için sırasıyla %2.64 (460 W), %2.47 (600 W), %3.24 (700 W) ve %4.81 (50 °C), %8.57 (60 °C), %9.79 (70 °C) olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre mikrodalga kurutma yöntemi ile üründen daha fazla nem uzaklaştırarak daha düşük nem içerikli örneklerin elde edilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca yüksek hava sıcaklıklarında yapılan kurutma denemelerinde, üründe kabuk oluşumu sonucunda daha yüksek nemli ürünler elde edildiği bilinmektedir. Hava sıcaklığındaki artışa bağlı olarak nem içeriğinin artması kabuk oluşumu ile açıklanabilir.

Arapsaçı otu örneklerinin kuruma hızı hesaplanmış ve nem içeriğine karşı kuruma hızı eğrisi çizilmiştir (Şekil 2). Şekil 2 incelendiğinde, hem mikrodalga fırında hem de sıcak havada kurutulan örneklerin kurumasının azalan hızda kuruma periyodunda gerçekleştiği söylenebilir. Yüksek mikrodalga gücü ve sıcaklıklarda daha yüksek kuruma hızı değerleri elde edilmiştir. Bulunan sonuçlar literatür ile uyum içerisindedir (Doymaz, 2006; Akdoğan vd., 2017; Jebri vd. 2019). Ayrıca mikrodalga fırında gerçekleştirilen kurutma denemelerinde, sıcak havada gerçekleştirilen kurutma denemelerine kıyasla daha yüksek kuruma hızı değerleri elde edilmiştir. Azalan hızda kuruma periyodunda nem transferi moleküler difüzyon ile gerçekleşmektedir. Kutlu ve İşçi (2016) azalan hız periyodunda, ürün içerisindeki nem oranının azalmasıyla kuruma hızının azaldığını belirtmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da, arapsaçı otu örneklerinin kuruma hızı nem içeriği ile azalan bir eğilim göstermektedir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde mikrodalga fırında mısır kabuğunun (Akdoğan vd., 2017) ve patlıcan

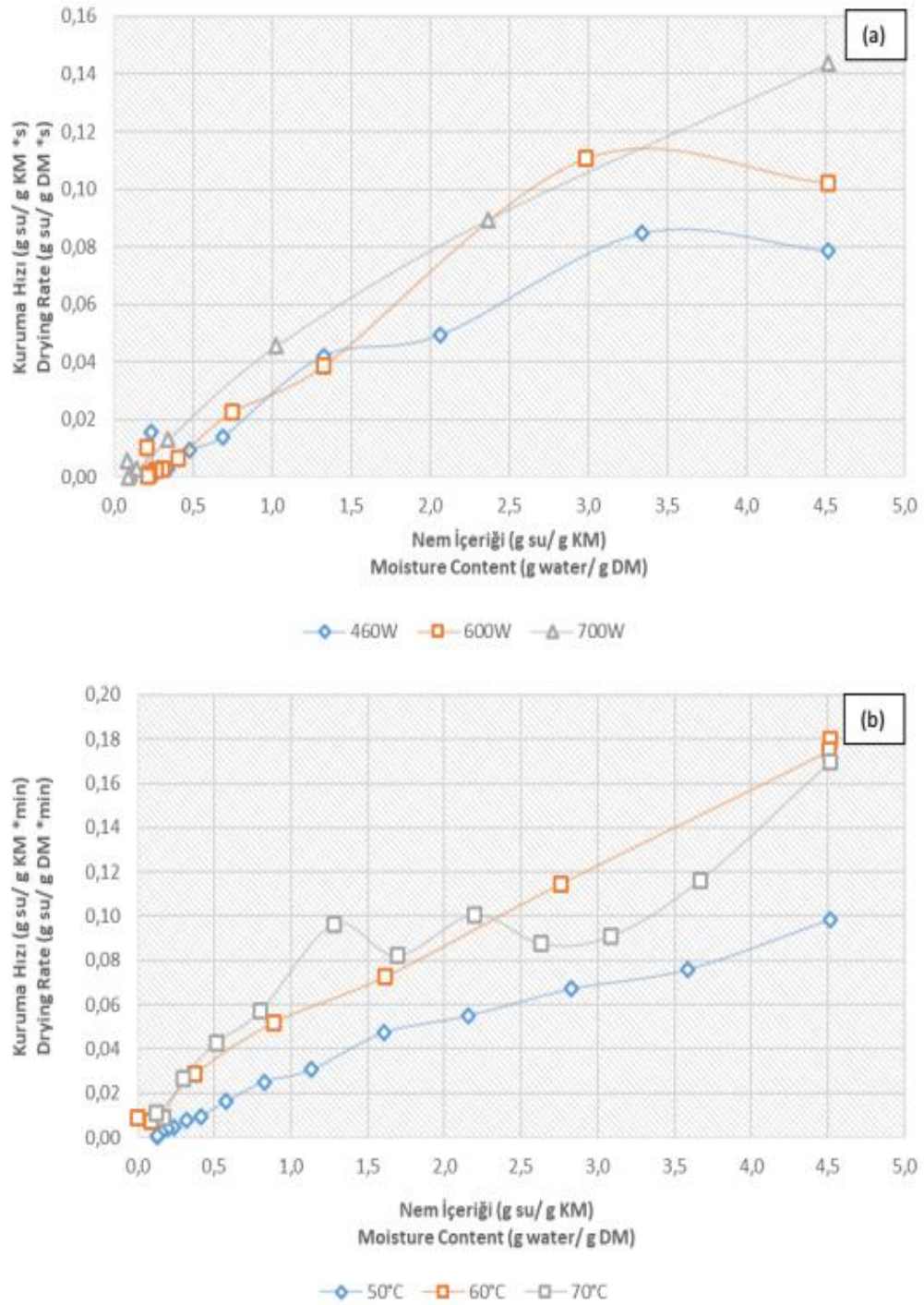
dilimlerinin (Kutlu ve İşçi 2016), mikrodalga-konvektif kombine kurutucuda papatya yaprağının (Motevali vd., 2016) ve sıcak havada

nanelerin (Doymaz, 2006) kuruma işleminin azalan hızda kuruma periyodunda gerçekleştiği görülmektedir.



Şekil 1. Boyutsuz nem içeriği (MR) değerlerinin kuruma zamanına bağlı değişimi (a: Mikrodalga fırında kurutulan örnekler; b: Sıcak havada kurutulan örnekler)

Figure 1. Changes in the moisture ratio values (MR) depending on drying time (a: Microwave dried samples; b: Hot air dried samples)



Şekil 2. Nem içeriğine karşı kuruma hızı eğrisi (a: Mikrodalga Fırında kurutulan örnekler; b: Sıcak havada kurutulan örnekler)

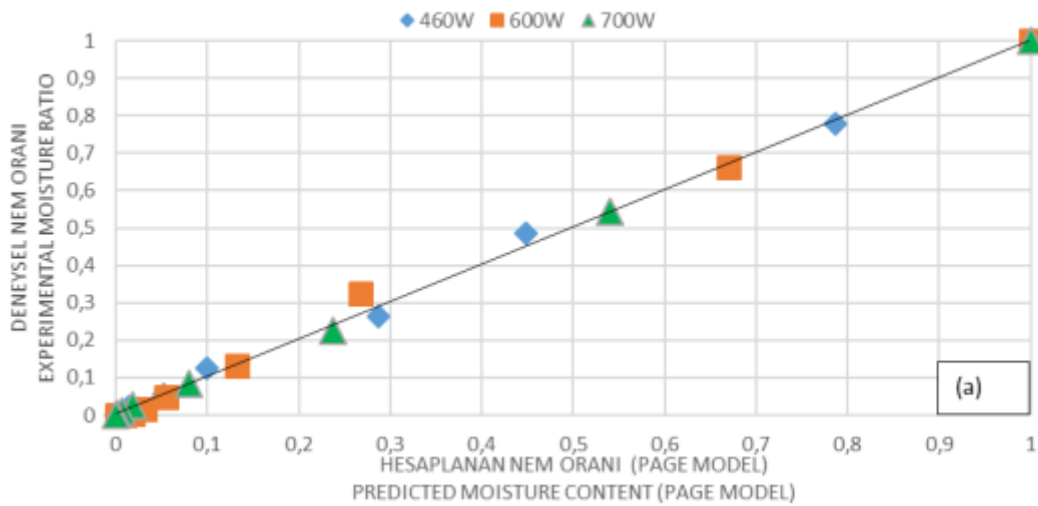
Figure 2. Moisture content values versus drying rate (a: Microwave dried samples; b: Hot air dried samples)

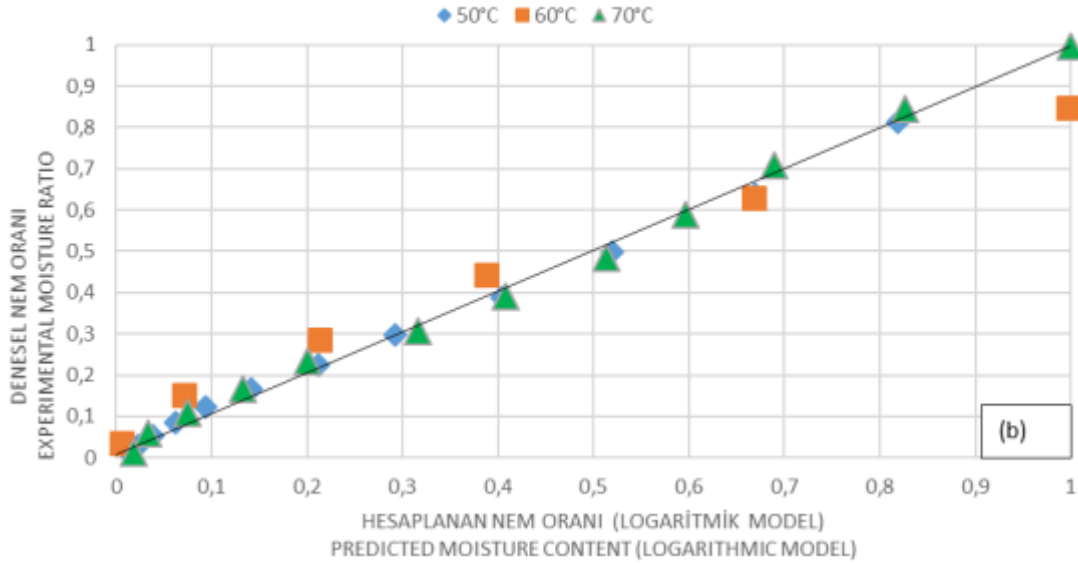
Son yıllarda, nane, maydanoz, defneyapağı, papatya yaprağı, zeytin yaprağı gibi çeşitli yapraklı bitkilerin ince tabaka kurutulmasının matematiksel modellenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Ancak literatürde arapsaçı otunun kuruma davranışının incelenmesi üzerine yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Farklı kurutma yöntemleri ve kurutma koşullarının arapsaçı otu örneklerinin kurutma davranışı üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yaygın olarak kullanılan beş farklı ince tabaka kurutma modeli seçilmiştir. Model parametreleri ve istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir. Seçilen modellerin R^2 değeri 0.8915’ten büyük bulunmuştur. Seçilen ince tabaka kurutma modellerinin yüksek R^2 değerlerine dayanarak, tüm modellerin deneysel veriler için iyi uyum gösterdiği sonucuna varılmıştır. Mikrodalga fırında kurutulan örnekler için en yüksek R^2 değerleri Page (0.9935-0.9990) ve iki terimli ekponensiyel modellerinden (0.9945-0.9990) elde edilmiştir. Sıcak havada kurutulan örnekler için ise iki terimli ekponensiyel (0.9840-0.9950) ve logaritmik modellerin (0.9545-0.9965) R^2 değerleri en yüksek olarak bulunmuştur. Deneysel verilerin açıklanmasında en yüksek belirleme katsayısı (R^2), en düşük hata kareler ortalamasının karekökü (RMSE) ve indirgenmiş ki-kare (χ^2) değerleri veren matematiksel model seçilmektedir (Erbay ve Icier 2009). Mikrodalga fırında kurutulan örnekler için en yüksek R^2 , en düşük RMSE ve χ^2 değerleri Page modelden elde edilirken, sıcak havada kurutulan örnekler için logaritmik modelden elde edilmiştir. Benzer şekilde, Ozkan vd. (2007) yaptıkları çalışmada ıspanak yapraklarını farklı mikrodalga güçlerinde kurutmuşlar (90, 160, 350, 500, 650, 750, 850 ve 1000 W) ve Page modelin ıspanak yapraklarının kuruma davranışını açıkladığı sonucuna varmışlardır ($R^2 > 0.9943$). Routray ve Rayaguru (2011) farklı mikrodalga güçlerinde (180, 360, 540 ve 720W) kurutulan aromatik *Pandanus amaryllifolius* yapraklarının kuruma davranışını en iyi Page modelin tanımladığını belirtmişlerdir ($R^2 > 0.9884$). Akdoğan vd. (2017) mısır kabuğunun mikrodalga fırında (180, 360, 540, 720 ve 900W) kuruma davranışının Page model ile en iyi şekilde açıklandığını ortaya koymuşlardır ($R^2 > 0.999$). Ayrıca araştırmacılar, kuruma hız sabitinin (k)

mikrodalga gücüyle arttığını saptamışlardır. Kuruma hız sabitinin (k) artan mikrodalga gücü ile artışının nedeninin ürünün daha hızlı kurumasından kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Ozkan vd., 2007; Routray ve Rayaguru, 2011; Akdoğan vd., 2017). Çelen vd. (2017) tarafından yapılan ve mikrodalga konveyör kurutucu (1500 ve 2100 W mikrodalga gücü ve 0.175, 0.210 ve 0.245 m/dk. konveyör hızı) kullanarak kurutulan kabak dilimlerinin (5-15 mm kalığında) kuruma davranışının incelendiği bir çalışmada kuruma davranışını en iyi açıklayan modelin Page model ($r: 0.978-0.998$) olduğu ortaya konulmuştur. Kabak dilimlerinin (5mm) mikrodalga gücü ve konveyör hızına bağlı olarak k değerlerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, kuruma hız sabitinin (0.175m/dk-1500 W için k: 6×10^{-5} , 0.175m/dk-2100 W için k: 9.1×10^{-6} , 0.210m/dk-1500 W için k: 0.0003, 0.210m/dk-2100 W için k: 9.1×10^{-6} , 0.245m/dk-1500 W ve 2100 W için k: 0.000) artan mikrodalga gücü ile azaldığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada 10 ve 15 mm kalınlıklardaki kabak örnekleri için k değerinde artışlar ve azalışlar gözlenmiştir. Ancak yapılan bu çalışmada kuruma hız sabiti önce azalmış daha sonra artış göstermiştir. Şekil 3’te arapsaçı örneklerinin kuruma hızı eğrileri yer almaktadır. Şekil 3 incelendiğinde 600 W’ta yapılan kurutma denemelerinde bazı kuruma hızı değerlerinin 460 W için hesaplanan kuruma hız sabiti değerlerinden daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun 600 W mikrodalga gücünde yapılan kurutma denemeleri için hesaplanan kuruma hız sabiti değerlerinin 460 W’ta yapılabileceğiyle daha düşük olmasının nedeni olduğu düşünülmektedir. Doymaz (2006) nane örneklerini farklı hava sıcaklıklarında (35-60°C) kurutmuş ve örneklerin kuruma davranışının logaritmik modelle açıklanabileceği sonucuna varmıştır. Mikrodalga fırında yapılan denemeler için Page modelin ve sıcak havada yapılan denemeler için logaritmik modelin uyumluluğu, deneysel nem oranının tahmin edilen nem oranı ile karşılaştırılmasıyla doğrulanmış ve Şekil 3’te gösterilmiştir. Hesaplanan değerler, genellikle seçilen modellerin uygunluğunun güçlü bir kanıtı olan düz bir çizgi etrafında toplanmıştır.

Çizelge 1. Farklı mikrodalga gücü ve sıcaklık değerlerinde kurutulan arapsaçı otu örneklerinin kuruma davranışlarının belirlenmesinde kullanılan matematiksel modeller ve istatistiksel veriler
 Table 1. Mathematical models and statistical values used in the determination of the drying behavior of the fennel samples dried at different microwave powers and temperatures

Model Model	Mikrodalga Gücü (W)- Sıcaklık (°C) Microwave Power (W)- Temperature (°C)	Model Sabitleri Model Constants		R ² R ²	χ ² χ ²	RMSE RMSE
Lewis Lewis	460	k=0.0305±0.0021		0.9830±0.0170	0.0021±0.0004	0.03982±0.0251
	600	k=0.0405±0.0021		0.9815±0.0021	0.0022±0.0002	0.0444±0.0019
	700	k=0.0515±0.0050		0.9930±0.0000	0.0009±9E-05	0.0286±0.0012
	50	k=0.0290±0.0057		0.9895±0.0050	0.0010±5E-04	0.0308±0.0080
	60	k=0.0345±0.0021		0.8915±0.0012	0.0198±0.0010	0.1310±0.0050
	70	k=0.0455±0.0050		0.9675±0.0035	0.0037±0.0004	0.05812±0.0029
Page Page	460	k=0.0120±0.0021	n=1.3595±0.2369	0.9985±0.0007	0.0002±0.0000	0.0102±0.0214
	600	k=0.0100±0.0028	n=1.4155±0.0530	0.9935±0.0050	0.0009±0.0000	0.0266±0.0091
	700	k=0.0195±0.0007	n=1.2980±0.0226	0.9990±0.0000	6E-05±4E-05	0.0070±0.0019
	50	k=0.0125±0.0050	n=1.2320±0.0452	0.9990±0.0000	0.0171±0.0100	0.1128±0.092
	60	k=0.0010±0.0000	n=2.1030±0.1655	0.9890±0.0071	0.0165±0.0146	0.1050±0.0523
	70	k=0.0155±0.0021	n=1.3355±0.0050	0.9875±0.0021	0.0402±0.0408	0.1699±0.1016
Henderson ve Pabis Henderson and Pabis	460	k=0.0320±0.0014	a=1.0440±0.0297	0.9860±0.0141	0.0020±0.0020	0.0368±0.0226
	600	k=0.0420±0.0014	a=1.0320±0.0070	0.9830±0.0028	0.0020±0.0003	0.0430±0.0026
	700	k=0.0520±0.0125	a=1.0155±0.0021	0.9935±0.0007	0.0010±0.0001	0.0280±0.0014
	50	k=0.0300±0.0057	a=1.0425±0.0120	0.9915±0.0035	9E-04±0.0004	0.0280±0.0071
	60	k=0.0385±0.0021	a=1.1425±0.0106	0.9145±0.0092	0.0170±0.0022	0.1140±0.0074
	70	k=0.0480±0.0057	a=1.0490±0.0014	0.9705±0.0035	0.0036±0.0004	0.0553±0.0028
İki Terimli Ekspansiyonel Two-term Exponential	460	k=38.6051±2.0156	a=0.0010±0.0006	0.9945±0.0064	0.0091±0.0004	0.0864±0.0015
	600	k=0.0645±0.0007	a=2.0635±0.0743	0.9945±0.0006	0.0010±0.0001	0.0320±0.0210
	700	k=0.0735±0.0078	a=1.8840±0.0382	0.9990±0.0000	1E-04±5E-05	0.0090±0.0020
	50	k=0.0010±0.0000	a=42.2375±3.0483	0.9925±0.0035	0.0100±0.0070	0.0920±0.0330
	60	k=0.0620±0.0106	a=2.479±0.0064	0.9950±0.0078	0.0010±0.0001	0.0296±0.0252
	70	k=0.0600±0.0027	a=1.8240±0.1321	0.9840±0.0028	0.0020±0.0120	0.0412±0.0007
Logarithmic Logarithmic	460	k=0.0290±0.0028	a=1.0745±0.0473	c=-0.0395±0.0106	0.9895±0.0106	0.0025±0.0014
	600	k=0.0410±0.0028	a=1.0385±0.0176	c=-0.0090±0.0007	0.9835±0.0035	0.0022±0.0004
	700	k=0.0475±0.0035	a=1.0430±0.0000	c=-0.0325±0.0021	0.9960±0.0000	0.0006±1E-04
	50	k=0.0265±0.0064	a=1.0735±0.0318	c=-0.0470±0.0021	0.9965±0.0007	0.0004±5E-05
	60	k=0.0195±0.0050	a=1.5820±0.2037	c=-0.4820±0.0007	0.9545±0.0050	0.0094±5E-04
	70	k=0.0291±0.0071	a=1.2720±0.0976	c=-0.2715±0.0014	0.9940±0.0014	0.0007±0.0002





Şekil 3. Deneysel ve hesaplanan boyutsuz nem oranı değerlerinin karşılaştırılması (a: Mikrodalga Fırında kurutulan örnekler; b: Sıcak havada kurutulan örnekler)

Figure 3. Experimental moisture ratio versus predicted moisture ratio values (a: Microwave dried samples; b: Hot air dried samples)

Efektif nem difüzyon katsayısı ve aktivasyon enerjisi değerleri hesaplanmış sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Efektif nem difüzyon katsayısı değerleri artan mikrodalga gücü ve hava sıcaklığına bağlı olarak artış göstermiştir. Bu durumun yüksek mikrodalga gücü ve hava sıcaklıklarının nem difüzyonunu hızlandırdığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, mikrodalga fırında kurutulan örnekler için daha yüksek efektif nem difüzyon katsayısı değerleri elde edilmiştir. Benzer şekilde, Akdoğan vd. (2017) yaptıkları çalışmada mısır kabuklarını farklı mikrodalga güçlerinde (180, 360, 540, 720 ve 900 W) kurutmuşlar ve efektif nem difüzyon katsayısı değerlerinin (2.264×10^{-10} - $8.941 \times 10^{-10} \text{m}^2/\text{s}$) artan mikrodalga gücü ile arttığını ortaya koymuşlardır. Routray ve Rayaguru (2011), artan mikrodalga gücü (180, 360, 540 ve 720W) ile aromatik *Pandanus amaryllifolius* yapraklarının efektif nem difüzyon katsayısı değerlerinin arttığı ve bu değerlerin 5.35×10^{-8} ile $1.99 \times 10^{-7} \text{m}^2/\text{dk}$ arasında değiştiği sonucuna varmışlardır. Çelen vd. (2017) artan mikrodalga gücü ile kabak dilimlerinin efektif nem difüzyon katsayısı değerlerinin arttığını ve 1.682×10^{-7} ile 2.690×10^{-6}

m^2/s arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun nedeninin artan ısı enerjisiyle su moleküllerinin aktivitesindeki artıştan kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır (Çelen vd., 2017). Sıcak havada kurutulan *Sahia officinalis* yapraklarının efektif nem difüzyon katsayısı değerleri ($50\text{-}80^\circ\text{C}$) 2915×10^{-12} ve $2964 \times 10^{-11} \text{m}^2/\text{s}$ (Jebri vd., 2019), mercanköşk yapraklarının ($40\text{-}60^\circ\text{C}$) efektif nem difüzyon katsayısı değerleri 7.19×10^{-12} ve $1.17 \times 10^{-10} \text{m}^2/\text{s}$ (Benhamou vd., 2008) ve nanelerin ($35\text{-}60^\circ\text{C}$) efektif nem difüzyon katsayısı değerleri 3.067×10^{-9} ve $1.941 \times 10^{-8} \text{m}^2/\text{s}$ (Doymaz 2006) arasında değişim göstermiştir. Erbay ve Icier (2009) gıdaların efektif nem difüzyon katsayısı değerlerinin 10×10^{-12} ile $10 \times 10^{-6} \text{m}^2/\text{s}$ arasında değiştiğini ve bu değerlerin %75'inin 10×10^{-10} ile $10 \times 10^{-8} \text{m}^2/\text{s}$ arasında olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma kapsamında arapsaçı otu için hesaplanan efektif nem difüzyon katsayısı değerlerinin literatür ile uyum içinde olduğu görülmektedir.

Aktivasyon enerjisi değerleri mikrodalga fırında kurutulan örnekler için 131.3443W/g , sıcak

havada kurutulan örnekler için ise 37.5142 kJ/mol olarak hesaplanmıştır. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, aktivasyon enerjisi değerleri mikrodalga fırında kurutulan nane örnekleri için 12.2839 W/g (Özbek ve Dadalı 2007), mikrodalga fırında kurutulan aromatik *Pandanus amaryllifolius* yaprakları için 13.6 W/g (Routray ve Rayaguru 2011), mikrodalga fırında kurutulan mısır kabukları için 49.350 W/g (Akdoğan vd., 2017), mikrodalga fırında kurutulan patlıcan dilimleri (5mm kalınlığında) için 76.5 W/g (Kutlu ve İşçi 2016), sıcak havada ve mikrodalga fırında kurutulan *Salvia officinalis* yaprakları için sırasıyla 1054.85 J/mol ve 4.85 W/g (Jebri vd., 2019), sıcak havada kurutulan mercanköşk yapraklarının için 82 kJ/mol (Benhamou vd., 2008), sıcak havada kurutulan

naneler için 62.96 kJ/mol (Doymaz, 2006) olarak bulunmuştur. Erbay ve Icier (2009), gıdaların aktivasyon enerji değerlerinin 12.32- 82.93 kJ/mol arasında değiştiğini ve bu değerlerin % 80.5'inin 18-49.5 kJ/mol arasında olduğunu belirtmiştir. Bu çalışma kapsamında arapsaçı otunun sıcak havada kurutulması için hesaplanan aktivasyon enerjisi değeri (37.5142 kJ/mol) literatür ile uyum içerisindedir. Mikrodalga fırında kurutma için hesaplanan aktivasyon enerjisi değeri literatürde belirtilen değerlerin üzerindedir. Bu durumun, kullanılan örneklerin kimyasal bileşimi, doku yapıları, spesifik yüzey alanı, kurutma yöntemi ve koşulları (sıcaklık, mikrodalga gücü, vb.) arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 2. Farklı mikrodalga gücü ve sıcaklık değerlerinde kurutulan arapsaçı otu örneklerinin efektif nem difüzyon katsayısı, aktivasyon enerjisi ve istatistiksel veriler
Table 2. The effective moisture diffusivity, activation energy, and statistical values for the fennel samples dried at different microwave powers and temperatures

Mikrodalga Gücü (W)-Sıcaklık (oC) Microwave Power (W)-Temperature (oC)	D_{eff} (m^2/s) D_{eff} (m^2/s)	R2 R ²	Ea (W/g ya da kJ/mol) Ea (W/g or kJ/mol)	R2 R ²
460	$4.7061 \times 10^{-7} \pm 3.2990 \times 10^{-8}$	0.9851 ± 0.0004	131.3443 ± 5.7845	0.7177 ± 0.2010
600	$5.1422 \times 10^{-7} \pm 5.4505 \times 10^{-8}$	0.9955 ± 0.0011		
700	$8.3168 \times 10^{-7} \pm 1.8647 \times 10^{-7}$	0.9816 ± 0.0018		
50	$7.6068 \times 10^{-9} \pm 7.1718 \times 10^{-10}$	0.9692 ± 0.0228	37.5142 ± 3.2651	0.9881 ± 0.0141
60	$1.1664 \times 10^{-8} \pm 7.1718 \times 10^{-10}$	0.9684 ± 0.0102		
70	$1.7242 \times 10^{-8} \pm 2.8687 \times 10^{-9}$	0.9544 ± 0.0091		

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında, arapsaçı otunun mikrodalga fırında ve tepsili kurutucuda kuruma kinetiği incelenmiştir. Mikrodalga fırında kurutulan arapsaçı otu örneklerinin, sıcak havada kurutulanlara kıyasla daha kısa kuruma zamanına, daha yüksek kuruma hızı ve efektif nem difüzyonu değerlerine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Mikrodalga gücü ve hava sıcaklığı ile kuruma süresinin kısaldığı, nem içeriği ve kuruma hızının ise arttığı tespit edilmiştir. Arapsaçı otu örneklerinin kuruma kinetiğini en iyi açıklayan modeller Page (mikrodalga fırın için) ve Logaritmik model (tepsili kurutucu için) olmuştur. Arapsaçı otu için hesaplanan efektif nem difüzyonu değerlerinin, mikrodalga fırında yapılan kurutma denemeleri için 4.7061×10^{-7} - 8.3168×10^{-7} m^2/s ve tepsili kurutucuda yapılan kurutma

denemeleri için 7.6068×10^{-9} - 1.7242×10^{-8} arasında değiştiği ve literatür ile uyum içinde olduğu sonucuna varılmıştır. Farklı kurutma işlemlerinin ve koşullarının arapsaçı otunun fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinde meydana getirdiği değişim ileriki çalışmalar kapsamında incelenebilir.

KAYNAKLAR

Abou El-Soud, N., El-Lithy, N., Mohamed, G., Wahby, M.S., Yossif, M., Morsy, F., Shaffie, N. (2011). Antidiabetic activities of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil in streptozotocin-induced diabetic rats. *Maced J Med Sci*, 4, 139–146.
Akdoğan, A., Çalışkan Koç, G., Dirim, S.N. (2017). Mathematical Modeling on Thin Layer Microwave Drying of Corn Husk and

- Investigation of Powder Properties. *Bulg Chem Commun*, 49, 986 – 993.
- Atta-Aly, M. (2001). Fennel swollen base yield and quality as affected by variety and source of nitrogen fertilizer. *Sci Horti (Amsterdam)*, 88, 191–202.
- Ayan, H. (2010). Güneşte ve Yapay Kurutucuda Kurutulmuş Domates (*Lycopersicon esculentum*) Üretimi ve Proses Sırasındaki Değişimlerin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Benhamou, A., Idrimam, A., Lamharrar, A., Benyoucef, B., Kouhila, M., Abou, U., Belkaïd, B., Tlemcen, A. (2008). Diffusivité hydrique et cinétique de séchage solaire en convection forcée des feuilles de marjolaine. *Revue des Energies Renouvelables*, 11 (1),75 – 85.
- Bennamoun, L., Kahlerras, L., Michel, F., Courard, L., Salmon, T., Fraikin, L. (2013). Determination of moisture diffusivity during drying of mortar cement: Experimental and modeling study. *Int J Energy Eng*, 3, 1–6.
- Çelen, S., Haksever, A., Moralar A. (2017). Investigation of Drying Kinetics of Zucchini using Microwave Energy. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 32(4),107–120.
- Dadali, G., Demirhan, E., Özbek, B. (2007). Color Change Kinetics of Spinach Undergoing Microwave Drying. *Dry Technol*, 25, 1713–1723.
- Doymaz, İ. (2006). Thin-layer drying behaviour of mint leaves. *J Food Eng*, 74, 370–375.
- Erbay, Z., Icier, F. (2009). A review of thin layer drying of foods: theory, modeling, and experimental results. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 4, 441–464.
- Ertekin, C., Firat, M.Z. (2017). A comprehensive review of thin layer drying models used in agricultural products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57, 701-717.
- Inouye, S., Uchida, K., Abe, S. (2006). Vapor activity of 72 essential oils against a Trichophyton mentagrophytes. *J Infect Chemother*, 12, 210–216.
- Jebri, M., Desmorieux, H., Maaloul, A., Saadaoui, E., Romdhane, M. (2019). Drying of *Salvia officinalis* L. by hot air and microwaves: dynamic desorption isotherms, drying kinetics and biochemical quality. *Heat Mass Transf*, 55, 1143–1153.
- Karabacak, A. Ö., Sınır, G.Ö., Suna, S. (2015). Mikrodalga ve Mikrodalga Destekli Kurutmanın Çeşitli Meyve ve Sebzelerin Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2), 125-135.
- Krokida, M.K., Karathanos, V.T., Maroulis, Z.B., Marinou-Kouris, D. (2003). Drying kinetics of some vegetables. *J Food Eng*, 59, 391–403.
- Kutlu, N., İşçi, A. (2016). Farklı Kurutma Yöntemlerinin Patlıcanın Kurutma Karakteristikleri Üzerine Etkisi ve Kurutmanın Matematiksel Modellenmesi. *Akademik Gıda*, 14(1) 21-27.
- Mahady, G.B., Pendland, S.L., Stoia, A., Hamill, F.A., Fabricant, D., Dietz, B.M., Chadwick, L.R. (2005). In Vitro susceptibility of Helicobacter pylori to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phyther Res*, 19, 988–991.
- Maskan, M. (2000). Microwave/air and microwave finish drying of banana. *J Food Eng*, 44, 71–78.
- Mohsenzadeh, M. (2007). Evaluation of Antibacterial Activity of Selected Iranian Essential Oils Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli in Nutrient Broth Medium. *Pak J Biol Sci*, 10, 3693–3697.
- Motevali, A., Minaei, S., Banakar, A., Ghobadian, B., Darvishi, H. (2016). Energy analyses and drying kinetics of chamomile leaves in microwave-convective dryer. *J Saudi Soc Agric Sci*, 15, 179–187.
- Onwude, D.I., Hashim, N., Janius, R.B., Nawi, N.M., Abdan, K. (2016). Modeling the Thin-Layer Drying of Fruits and Vegetables: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 15, 599–618.
- Özbek, B., Dadali, G. (2007). Thin-layer drying characteristics and modelling of mint leaves undergoing microwave treatment. *J Food Eng*, 83, 541–549.
- Ozkan, I.A., Akbudak, B., Akbudak, N. (2007). Microwave drying characteristics of spinach. *J Food Eng*, 78, 577–583.
- Parejo, I., Francesc, V., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., Codina, C. (2002). Comparison between the Radical Scavenging Activity and Antioxidant Activity of Six Distilled and Nondistilled Mediterranean

- Herbs and Aromatic Plants. *J Agric Food Chem*, 50, 6882–6890.
- Platts, J. (1991). Microwave Ovens. Peter Pergrinus Ltd. London UK.
- Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.-H., Khalel, K.I. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Ind Crops Prod*, 44, 437–445.
- Rostami, H., Shafiei, S. (2012). Antibacterial and Antifungal Activity of some Medicinal Plants from Iran. *J Plant Sci*, 7, 55–66.
- Routray, W., Rayaguru, K. (2011). Microwave drying kinetics and quality characteristics of aromatic Pandanus amaryllifolius leaves. *Int Food Res J*, 18, 992–999.
- Ruberto, G., Baratta, M., Deans, S., Dorman, H. (2001). Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* Essential Oils. *Planta Med*, 66, 687–693.
- Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M.P., Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control*, 17, 745–752.
- Soysal, Y. (2004). Microwave Drying Characteristics of Parsley. *Biosyst Eng*, 89, 167–173.
- Stephen, J.H. (1997). Microwave Enhanced Chemistry (Fundamentals, sample preparation and Application). American Chemical Society, Washington DC., USA.
- Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M., Barocelli, E. (2007). Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. *Pharmacol Res*, 56, 254–260.
- Torki-Harchegani, M., Pirbalouti, A.G., Ghanbarian, D. (2018). Influence of Microwave Power on Drying Kinetic, Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Peppermint Leaves. *J Essent Oil Bear Plants*, 21, 430–439.
- Viuda-Martos, M., Mohamady, M.A., Fernández-López, J., Abd ElRazik, K.A., Omer, E.A., Pérez-Alvarez, J.A., Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22, 1715–1722.
- Zeng, H., Chen, X., Liang, J. (2015). In vitro antifungal activity and mechanism of essential oil from fennel (*Foeniculum vulgare* L.) on dermatophyte species. *J Med Microbiol*, 64, 93–103.

ANTIBIOTIC RESISTANCE AND HEMOLYTIC ACTIVITY IN ENTEROCOCCI ISOLATED FROM TULUM CHEESE SOLD IN AKSARAY PROVINCE

Şule Ayhan, Halil İbrahim Kahve, Furkan Aydın*, Mustafa Ardic

¹Aksaray University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Aksaray, Turkey

Received/ Geliş: 13.05.2020; Accepted/ Kabul: 09.07.2020; Published online/ Online baskı: 18.07.2020

Ayhan, S., Kahve, H.I., Aydın, F., Ardic, M. (2020). Antibiotic resistance and hemolytic activity in enterococci isolated from tulum cheese sold in Aksaray Province. GIDA (2020) 45(4) 689-698 doi: 10.15237/gida.GD20068

Ayhan, Ş., Kahve, H.İ., Aydın, F., Ardic, M. (2020). Aksaray ilinde satışa sunulan tulum peynirlerinden izole edilen enterokokların antibiyotik dirençlilikleri ile hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi. GIDA (2020) 45(4) 689-698 doi: 10.15237/gida.GD20068

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the hemolytic activity and antibiotic susceptibility of enterococci isolated from Tulum cheese samples sold in Aksaray province. The isolates were identified as *E. faecium* ($n = 30$), *E. faecalis* ($n = 25$), and *E. durans* ($n = 7$) as a result of 16S rRNA gene sequencing. Three strains (*E. faecalis* ATC12, *E. faecium* ATC49, and *E. faecium* ATC54) exhibited β -hemolytic activity, whereas others were non-hemolytic. Enterococci were found to have an intermediary or high resistance to nalidixic acid (%100), oxacillin (92%), and streptomycin (72.6%), respectively. *E. faecalis* strains had more resistant phenotypes to various clinically significant antibiotics than *E. faecium* and *E. durans*. Multi-drug resistance was found in 41.93% of the isolates. According to the results, Tulum cheese produced in Aksaray could be a potential vehicle for the transmission of antibiotic resistance via the food chain.

Keywords: Tulum cheese, *Enterococcus*, hemolytic activity, antibiotic resistance

AKSARAY İLİNDE SATIŞA SUNULAN TULUM PEYNİRLERİNDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARIN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİ İLE HEMOLİTİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZ

Bu çalışmada, Aksaray ilinde satışa sunulan tulum peyniri örneklerinden izole edilen enterokokların hemolitik aktivitesi ile antibiyotik duyarlılığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. İzolatlar, 16S rRNA gen sekanslaması sonucunda *E. faecium* ($n = 30$), *E. faecalis* ($n = 25$) ve *E. durans* ($n = 7$) olarak tanımlanmıştır. Üç izolat (*E. faecalis* ATC12, *E. faecium* ATC49 ve *E. faecium* ATC54) β -hemolitik aktivite gösterirken, diğerlerinin hemolitik aktivite göstermediği saptanmıştır. İzolatların toplamda nalidiksik aside (%100), oksasiline (%92) ve streptomisine (%72.6) karşı orta veya yüksek derecede direnç gösterdiği saptanmıştır. *E. faecalis* suşlarının klinik olarak önem arz eden çeşitli antibiyotiklere *E. faecium* ve *E. durans* suşlarından daha dirençli fenotipleri olduğu görülmüştür. Çoklu antibiyotik direncinin %41.93 olduğu saptanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde Aksaray'da üretilen Tulum peynirinin gıda yolu ile antibiyotik direncinin yayılmasında tehlikeli bir araç olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Tulum peyniri, *Enterococcus*, hemolitik aktivite, antibiyotik dirençlik

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: furkanaydin06@gmail.com

☎ +90 530 692 2917

☎ +90 382 288 3525

Şule Ayhan ORCID ID: 0000-0003-4523-6677

Halil İbrahim Kahve ORCID ID: 0000-0001-6599-1309

Furkan Aydın ORCID ID: 0000-0003-2924-5434

Mustafa Ardic ORCID ID: 0000-0002-4193-1990

INTRODUCTION

Enterococci are a group of lactic acid bacteria (LAB) ubiquitously found in the gastrointestinal tracts of mammals (Franz et al., 1999). The presence of enterococci in food occurs due to the lack of hygienic production conditions. They can be found in raw milk because of fecal contamination. Their high ability to resist adverse environmental conditions, such as low pH and high salt concentrations, enables them to survive through cheese-making and ripening processes (Giraffa, 2003). Although many reports have been published regarding their positive contributions to cheese making technology in point of view of aroma production (Martino et al., 2016) and inhibition of several foodborne pathogens (Maia et al., 2017), they are not recognized as safe, unlike other LAB. Thus, the use as a starter or probiotic is still under debate, and they are not listed in the QPS (qualified presumption of safety) approaches declared by the European Food Safety Authority (EFSA, 2013). Multidrug-resistant and/or virulent enterococci (MRE;VE) give rise to several types of nosocomial infections, including urinary tract, surgical site, and bloodstream infections (Togay and Temiz, 2011; Kankaya et al., 2017). Cheese, specially produced from raw milk, is a serious vehicle for the transmission of MRE and VE that can persist in the human intestinal tract (Erginkaya et al., 2007; Jamet et al., 2012). Furthermore, enterococci have an efficient gene transfer mechanism through horizontal gene transfer and are able to transfer their plasmids encoding virulence genes in the human gastrointestinal tract with a broad range of bacteria, including pathogenic species, which makes treatments hindering (Jahan et al., 2015). Dissemination of MRE and VE is a serious problem worldwide, and the food chain is thought to be a significant vector for the transmission of these transposable genes. Numerous studies have reported the detection of VE and antibiotic-resistant enterococci for different kinds of cheeses (Jamet et al., 2012; Yogurtcu and Tuncer, 2013; Ispirli et al., 2017; Sanlibaba and Senturk, 2018; Ozdemir and Tuncer, 2020).

Tulum cheese is a very popular cheese consumed in Turkey, along with Turkish white cheese and

Kashar cheese. The name 'Tulum' comes from 'goat's or sheep's skin bag' in Turkish, which is thought to have been used in replace of alternative packaging materials in the past and gives unique properties to cheese. Even though a small proportion of production takes place on an industrial scale, most of the production is made traditionally with no standard method (Tekinsen and Akar, 2017; Arslaner and Turkmen, 2020). It means that many species of bacteria, including the *Enterococcus* genus, may grow and dominate the microflora during ripening. Traditional production and consumption of tulum cheese are widespread throughout Turkey. This study was planned to be conducted in tulum cheese sold in different retails in Aksaray province of Turkey.

Antibiotic resistance of enterococci isolated from tulum cheese produced in different provinces of Turkey has been studied by several researchers (Yogurtcu and Tuncer, 2013; Ozdemir and Tuncer, 2020; Yerlikaya and Akbulut 2020). As a result of these studies the strains were found to be resistant to different kind of antibiotics, suggesting that resistance of a strains is mostly strain- and region-dependent. Tulum cheese is widely consumed in Aksaray province. To the best of our knowledge, there is no report regarding the antibiotic susceptibility and hemolytic activity of enterococci isolated from tulum cheese produced in Aksaray. The present study aims to evaluate the antibiotic susceptibility and hemolytic activity of *Enterococcus* spp. isolated from Tulum cheese sold in different retail markets in Aksaray.

MATERIALS AND METHODS

Isolation of enterococci

A total of 22 traditionally produced Tulum cheese samples were collected from different local markets in Aksaray throughout the autumn of 2019. The samples were transferred to Aksaray University, Food Microbiology Laboratory, in ice containers to be analyzed within 24 h. Ten grams of each cheese was homogenized in 90 mL of ¼ Ringer solution and diluted serially. Serial dilutions were inoculated onto Kanamycin Esculin Azide Agar (KEA) (Merck, Germany) to be incubated at 37 °C for 48 h. Typical *Enterococcus*

colonies with a black halo were purified using Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, Germany) and Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck, Germany). The purified colonies were incubated in TSB at different temperatures (10 and 45 °C), at 6.5% NaCl concentration, and pH 9.6. Catalase activity and Gram staining were performed for each isolate. Catalase-negative and Gram-positive cocci were assessed to be *Enterococcus* at the genus level (Vos et al., 2011) and were stored in TSA containing 40% glycerol at 20 °C.

Molecular identification

The total DNA of each isolate was extracted from the overnight cultures grown in TSB following the protocol provided by Promega Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA). To amplify the 16S rRNA region of the ribosomal box, primers (Amp-F) 5'-GAG AGT TTG ATY CTG GCT CAG-3' and (Amp-R) 5'- AAG GAG GTG ATC CAR CCG CA-3' (Y is C or T; R is A or G) were used as forward and reverse, respectively (Baker et al., 2003). Polymerase Chain Reaction (PCR) mixture contained 1 µL of 50 ng template DNA, 10 µL 5× PCR buffer, 0.4 µL dNTPs, 1 µL of 20 mM each primer, 0.25 µL 5 U *Taq* polymerase and sterile ddH₂O up to 50 µL of total volume. The reaction was performed using a T100 thermal cycler (Bio-Rad, USA). It consisted of 95 °C/2 min, 20 cycles of 95 °C/30s, 55 °C/20s, 72 °C/30s with a final extension at 72 °C for 5 min. PCR products were visualized on 1.2% agarose gel using 1x TAE buffer and purified with Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, USA) according to manufacturer instructions. The purified amplicons were sent to a commercial company for bidirectional sequencing (Macrogen, South Korea).

The sequence data were analyzed and performed via a BLASTn search in the GenBank database (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) to match the closest available reference sequences. Accession numbers of the isolates submitted to the National Center for Biotechnology Information (NCBI) are MT393685 through MT393746. Phylogenetic and molecular evolutionary analyses of sixty-two isolates from this study and the corresponding *Enterococcus* isolates in the GenBank nucleotide

database (*E. faecalis*: NR114782, NR115765, NR040789; *E. faecium*: NR042054, NR114742, NR113904; *E. durans*: NR113257, NR036922) were aligned with ClustalW (Thompson et al., 1994). Phylogenetic trees were constructed using the Maximum-Likelihood method with bootstrap analyses in Mega X software (Kumar et al., 2018) as previously described by Aydin et al. (2020) in detail.

Hemolytic activity

The hemolytic activity of the strains was determined by streaking the overnight cultures onto Columbia Agar (Merck, Germany) supplemented with 5% sheep blood. The plates were incubated aerobically at 37 °C for 24-48 h. The plates showing clear zones around the colonies were evaluated to be β-hemolytic, whereas no-zones around the colonies were interpreted as γ-hemolytic (Semedo et al., 2003).

Antibiotic susceptibility testing

The antibiotic susceptibility test was carried out by the disc diffusion method on Mueller-Hinton Agar (Merck, Germany). The discs containing the following antibiotics were obtained from a commercial institution (Bioanalyse, Turkey): Ampicillin (10 µg), Penicillin (10 µg), Teicoplanin (30 µg), Vancomycin (30 µg), Gentamycin (120 µg), Streptomycin (10 µg), Ciprofloxacin (5 µg), Chloramphenicol (30 µg), Tetracycline (30 µg), Erythromycin (15 µg), Nalidixic acid (30 µg), Norfloxacin (10 µg), Oxacillin (1 µg), and Rifampicin (5 µg). Determination of susceptibility was evaluated according to the criteria offered by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2011; 2016).

RESULTS AND DISCUSSION

Isolation and identification of enterococci

In the present study, 62 presumptive enterococci, which are surrounded by a black halo on the KEA medium, were isolated and identified with traditional methods at the genus level. All of the isolates gave Gram-positive and catalase-negative reactions as well as grew well at 10 °C, 45 °C, 6.5% NaCl concentration, and pH 9.6. The molecular identification was accomplished by using two

gastrointestinal tract (Giraffa, 2003). Our results are also in accordance with those reported by Oner et al. (2004) and Yogurtcu and Tuncer (2013) in Tulum cheese samples collected from Isparta and Ankara provinces of Turkey.

Hemolytic activity

E. faecalis ATC12, *E. faecium* ATC49, and *E. faecium* ATC54 strains showed β -hemolytic activity, whereas others were γ -hemolytic, which indicates the absence of hemolysis on the agar medium supplemented with sheep blood. Haemolysin is a toxin encoded in either plasmid or the chromosomal DNA, and it is a significant virulence factor that affects the severity of the disease (Pérez-Pulido et al., 2006). Similarly, Psoni et al. (2006) and Trivedi et al. (2011) reported β -hemolytic *Enterococcus* isolates from different cheese samples. Conversely, Yogurtcu and Tuncer (2013) did not find any β -hemolytic strains among 47 *Enterococcus* strains from Turkish Tulum cheese. Non-hemolytic enterococci are advantageous in tulum cheese produced in Aksaray province; however, the strains showing negative β -hemolysis phenotypically may harbor the hemolysins/cytolysin encoding genes. These genes may be silent, and their expression can change according to the environmental conditions, as reported by Semedo et al. (2003) and Pérez-Pulido et al. (2006).

Antibiotic susceptibility patterns

Sixty-two molecularly identified enterococci have been screened for their susceptibility to 14 different antibiotics using the disc diffusion method. The results obtained, according to CLSI, are indicated in Table 1. All strains were sensitive to norfloxacin (100%), which was followed by penicillin (93.3%), ampicillin (92%), teicoplanin (85.3%), chloramphenicol (79.7%), and ciprofloxacin (77.3%). Numerous studies have been carried out regarding the antibiotic resistance of enterococci from several kinds of traditional cheeses both phenotypically and in molecular ways (Citak et al., 2004; Yogurtcu and Tuncer, 2013; Furlaneto-Maia et al., 2014; Bulajić et al., 2015; Yuksel et al., 2015; Ispirli et al., 2017; Russo et al., 2018). Yogurtcu and Tuncer (2013) isolated 47 enterococci from tulum cheese and

found them fully sensitive to ampicillin, chloramphenicol, gentamycin, penicillin, sulphamethoxazole, and vancomycin. They reported intermediary and high resistance to erythromycin (72.3%), streptomycin (55.3%), and tetracycline (34%).

The food chain is a great vector that transmits the antibiotic resistance from animal and environmental sources to the human gastrointestinal tract by means of bacteria having an efficient gene transfer mechanism, such as the *Enterococcus* genus. Enterococci are regarded as intrinsically resistant to β -lactam group antibiotics, such as penicillin and ampicillin, due to their prolonged use for the treatment of enterococcal infections (Garrido et al., 2014). However, the strains were mostly susceptible to ampicillin (92%) and penicillin (93.3%). Similar results were obtained for different traditional cheese samples, as reported by Yogurtcu and Tuncer (2013) and Bulajić et al. (2015). On the other hand, Pesavento et al. (2014) and Sanlibaba and Senturk (2018) reported relatively higher ampicillin resistance than penicillin.

Our isolates were mostly sensitive to vancomycin (70.7%); however, 80% of *E. faecalis* strains were resistant to vancomycin at an intermediate or strong level. In the past, most of the resistance in enterococci to vancomycin was caused by the use of avoparcin as a growth promoter. The use of avoparcin is forbidden in Turkey. Therefore, vancomycin-resistant enterococci occur mostly due to the overuse of antibiotics and cross-resistance. (Miller et al., 2016). Yerlikaya and Akbulut (2020) reported that all of the *Enterococcus* strains were fully sensitive to vancomycin in İzmir Tulum cheese. Similar results were also reported by Ozdemir and Tuncer (2020). On the other hand, Citak et al. (2004) reported very high resistance (96.7 %) for *E. faecalis* strains. The isolates were found to be resistant to gentamycin at a higher ratio than streptomycin, which are the two aminoglycosides. Similar results were reported by Yogurtcu and Tuncer (2013) in Tulum cheese produced in Isparta province.

Table 1. Antimicrobial resistance patterns of enterococci against tested antibiotics (%).

Antibiotic	<i>E. faecalis</i> (n = 25)			<i>E. faecium</i> (n = 30)			<i>E. durans</i> (n = 7)			Total (n = 62)		
	S*	I*	R*	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ampicillin	80	-	20	100	-	-	100	-	-	92	-	8
Penicillin	100	-	-	86.6	6.7	6.7	85.7	-	14.3	93.3	2.7	4
Teicoplanin	84	16	-	76.8	6.7	16.5	100	-	-	85.3	8	6.7
Vancomycin	20	24	56	90	3.3	6.7	100	-	-	70.7	9.3	20
Gentamycin	36	56	8	50.5	36.3	13.2	42.9	57.1	-	53.3	38.7	8
Streptomycin	40	28	32	23.1	53.8	23.1	14.3	28.6	57.1	27.4	40.3	32.3
Ciprofloxacin	80	12	8	63.7	23.1	13.2	57	14.3	28.7	77.3	12	10.7
Chloramphenicol	68	8	24	73.5	16.5	10	100	-	-	79.7	9.3	12
Tetracycline	44	24	32	76.8	16.5	6.7	85.7	14.3	-	70.6	18.7	10.7
Erythromycin	52	20	28	67	19.8	13.2	71.3	14.3	14.3	61.2	19.4	19.4
Nalidixic acid	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100
Norfloracin	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
Oxacillin	4	4	92	16.5	3.3	80.2	-	28.7	71.3	8	5.3	86.7
Rifampicin	24	12	64	59.4	13.2	27.4	57	14.3	28.7	54.6	10.7	34.7

*: S: Susceptible; I: Intermediate-resistant; R: Resistant

Even though low levels of resistance were observed for tetracycline and erythromycin among all enterococci, *E. faecalis* strains showed higher resistance comparing to *E. faecium* and *E. durans* strains. Cariolato et al. (2008) reported *Enterococcus* spp. from different dairy materials were found to be resistant to tetracycline (30.8%) and streptomycin (25.6%) at low levels. The prevalence of erythromycin and tetracycline resistance is often thought to arise from the efficient gene transfer mechanism by means of plasmids and transposons since the resistance genes of these two antibiotics are ubiquitous in the environment and animal facilities (Patterson et al., 2007). Besides, tetracycline is used as a growth promoter in livestock (Wegener, 2003), which may explain the relatively high level of resistance in *E. faecalis* strains.

All of the strains were highly resistant to nalidixic acid. Most of the enterococci have intrinsic

resistance to nalidixic acid. Similar results were reported by Yuksel et al. (2015) and Sanlibaba and Senturk (2018). Conversely, much lower resistance to nalidixic acid (62%) was reported by Furlaneto-Maia et al. (2014). Rifampicin resistance was widespread among *E. faecalis* strains. Seventy-four percent of *E. faecalis* strains were intermediately and highly resistant to rifampicin, which inhibits the transcription of mRNA of the cell (Miller et al., 2014). Similar results were obtained by Sanlibaba and Senturk (2018), whereas higher resistance patterns were reported for *E. faecium* and *E. faecalis* from different traditional cheeses (Yuksel et al., 2015). In total, *E. faecalis* strains were found to be more resistant to ampicillin, vancomycin, gentamycin, chloramphenicol, tetracycline, erythromycin, and rifampicin comparing to *E. faecium*, and *E. durans* strains.

Table 2. Resistance to multiple antibiotics detected among the strains.

	<i>E. faecalis</i> (n = 25)	<i>E. faecium</i> (n = 30)	<i>E. durans</i> (n = 7)	Total (n = 62)
Resistance to 3 antibiotics	2	4	3	9
Resistance to 4 antibiotics	4	6	1	11
Resistance to 5 antibiotics	0	4	0	4
Resistance to 6 antibiotics	0	2	0	2

Multi-drug resistance (MDR) can be defined as resistance to at least three antibiotics (Sanlibaba and Senturk, 2018). The summary of MDR is given in Table 2. According to our results, 41.93% ($n = 26$) of the strains were resistant to at least three antibiotics. *E. faecium* strains had more MDR patterns than *E. faecalis* and *E. durans* strains which is contrary to results reported by Gomes et al. (2008) and Pesavento et al. (2014). *E. faecium* ATC 49 and *E. faecium* ATC54 were resistant to six antibiotics, including streptomycin and gentamycin, which are clinically significant drugs to cure infections caused by MRE. These aminoglycosides are not affected by intrinsic enzymes produced by enterococci and have the ability to work with β -lactam group antibiotics in synergism (Miller et al., 2014). According to results obtained by Yogurtcu and Tuncer (2013), only two of the strains were resistant to tetracycline and a high level of streptomycin. Similar to those results, Cariolato et al. (2008) also stated that MDR is uncommon among enterococci from dairy origin. On the other hand, Sanlibaba and Senturk (2018) reported that MDR was 70.9% among enterococci isolated from traditional cheeses in Turkey. Relatively lower incidence (24.59%) in enterococci isolated from traditional and industrial cheeses was also reported by Bulajić et al. (2015). The difference is thought to be mostly strain- and region-dependent, taking into account that resistance to a significant amount of antibiotics can be obtained from the environment due to the efficient gene transfer mechanism of enterococci.

CONCLUSION

The present study mainly focused on the hemolytic activity and antibiotic susceptibility of enterococci isolated from Tulum cheese samples produced in Aksaray. Sequencing of the 16S rRNA gene revealed that *E. faecium* and *E. faecalis* constituted the dominant *Enterococcus* microbiota of tulum cheese samples. Most of the strains did not show hemolytic activity, which is a significant virulence factor. *E. faecalis* strains had more resistance phenotypes to clinically essential antimicrobial agents than *E. faecium* and *E. durans*. High percentage (41.93%) of enterococci were MRD. Our results demonstrated that Tulum

cheese widely consumed in Aksaray province could be a potential source for the transmission of antibiotic resistance. However, the phenotypic determination of antibiotic resistance or hemolytic activity may not be sufficient to explain the virulence determinants. Silent genes may be present within the genome or plasmids. More extensive genetic studies are required to determine potential virulence genes.

CONFLICT OF INTEREST

There is no possible conflict of interest among the authors.

AUTHOR CONTRIBUTION

Sule AYHAN and Mustafa ARDIÇ were responsible for collecting the cheese samples as well as evaluating hemolytic activity and antibiotic susceptibility. Halil İbrahim KAHVE and Furkan AYDIN performed the molecular analyses and wrote the article.

REFERENCES

- Arslaner, A., Turkmen, O. (2020). Erzincan Tulum Cheese. *Turkish JAF Sci Tech*, 8(4): 932-940, doi: 10.24925/turjaf.v8i4.932-940.3170.
- Aydin, F., Ardic, M. (2019). Farklı illerden toplanan sıkma peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *GIDA* 44(5): 826-836, doi: 10.15237/gida.GD19088.
- Aydin, F., Ozer, G., Alkan, M., Cakir, I. (2020). The utility of iPBS retrotransposons markers to analyze genetic variation in yeast. *Int J Food Microbiol*, 325: 108647, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108647.
- Baker, G.C., Smith, J.J., Cowan, D.A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J Microbiol Methods*, 55(3): 541-555, doi: 10.1016/j.jmimet.2003.08.009.
- Bulajić, S., Tambur, Z., Opačić, D., Miljkovic-Semlimovic, B., Doder, R., Cenic-Milosevic, D. (2015) Characterization of antibiotic resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus* spp. isolated from cheeses. *Arch Biol Sci*, 67(1):139-146, doi:10.2298/ABS140426016B.
- Bulut, C., Gunes, H., Okuklu, B., Harsa, S., Kilic, S., Coban, H.S., Yenidunya, A.F. (2005).

- Homofermentative lactic acid bacteria of a traditional cheese, Comlek peyniri from Cappadocia region. *J Dairy Res*, 72, 19-24, doi: 10.1017/S0022029904000536.
- Cariolato, D., Andrighetto, C., Lombardi, A. (2008). Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19(9): 886-892, doi: 10.1016/j.foodcont.2007.08.019.
- Citak, S., Yucel, N., Orhan, S. (2004). Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. *Int J Dairy Technol*, 57(1): 27-31, doi: 10.1111/j.1471-0307.2004.00122.x.
- CLSI (2011) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 21th Informational Supplement. Document M100-S21. Clinical Laboratory Standards Institute.
- CLSI (2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th Informational Supplement, Document M100-S26. Clinical Laboratory Standards Institute.
- Dagdemi, E., Ozdemir, S. (2008). Technological characterization of the natural lactic acid bacteria of artisanal Turkish White Pickled cheese. *Int J Dairy Technol*, 61(2) 133-140, doi: 10.1111/j.1471-0307.2008.00394.x.
- Domingos-Lopes, M.F.P, Stanton, C., Ross, P.R., Dapkevicius, M.L.E., Silva, C.C.G. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiol*, 63: 178-190, doi: 10.1016/j.fm.2016.11.014.
- EFSA (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA Journal*, 11(11), 3449.
- Erginkaya, Z., Yurdakul, N.E., Karakaş, A. (2007). *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'ın Starter ve Probiyotik Kültür Özellikleri. *GIDA* 32(3), 137-142.
- Franz, C.M., Holzappel, W.H., Stiles, M.E. (1999). Enterococci at the crossroads of food safety?. *Int J Food Microbiol*, 47(1-2): 1-24, doi: 10.1016/S0168-1605(99)00007-0.
- Furlaneto-Maia, L., Rocha, K.R., Henrique, F.C., Giuzzi, A., Furlaneto, M.C. (2014). Antimicrobial resistance in *Enterococcus* sp isolated from soft cheese in Southern Brazil. *Adv Microbiol*, 4(3): 175-181, doi: 10.4236/aim.2014.43023
- Garrido, A.M., Galvez, A., Pulido, R.P. (2014). Antimicrobial resistance in enterococci. *J Infect Dis Ther*, 2(4):150, doi: 10.4172/2332-0877.1000150.
- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *Int J Food Microbiol*, 88(2-3): 215-222, doi: 10.1016/S0168-1605(03)00183-1.
- Gomes, B.C., Esteves, C.T., Palazzo, I.C.V., Darini, A.L.C. Felis, G.E., Sechi, L.A., Franco, B.D.G.M., De Martinis, E.C.P. (2008) Prevalence and Characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiol*, 25: 668-675, doi: 10.1016/j.fm.2008.03.008.
- Ispirli, H., Demirbas, F., Dertli, E. (2017). Characterization of functional properties of *Enterococcus* spp. isolated from Turkish white cheese. *LWT-Food Sci Technol*, 75: 358-365, doi: 10.1016/j.lwt.2016.09.010.
- Jahan, M., Zhanel, G.G, Sparling, R., Holley, R.A. (2015). Horizontal transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to clinical isolates of *E. faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Int J Food Microbiol*, 199: 78-85, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.01.013.
- Jamet, E., Akary, E., Poisson, M.A., Chamba, J.F., Bertrand, X., Serron, P. (2012). Prevalence and characterization of antibiotic resistant *Enterococcus faecalis* in French cheeses. *Food Microbiol*, 31(2), 191-198, doi: 10.1016/j.fm.2012.03.009.
- Kankaya, D.A., Tuncer, B.Ö., Tuncer, Y. (2017). Gıda kaynaklı enterokokların potansiyel risk faktörleri. *GIDA* 42(1): 8-19, doi: 10.15237/gida.GD16048.
- Kirmaci, H.A., Ozer, B.H., Akcelik, M., Akcelik, N. (2016). Identification and characterisation of lactic acid bacteria isolated from traditional Urfa cheese. *Int J Dairy Technol*, 69 (2): 301-307, doi: 10.1111/1471-0307.12260.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary

- genetics analyses across computing platforms. *Mol Biol Evol*, 35: 1547–1549, doi: 10.1093/molbev/msy096.
- Maia, L.F., Giuzzi, A., Brandalize, C., Katsuda, M.S., Rocha, K.R., Terra, M.R., Furlaneto, M. C. (2017). Isolation and characterization of potential probiotic enterococci strains from soft cheese flora. *Afr J Microbiol Res*, 11(12): 482-487, doi:10.5897/AJMR2017.8429.
- Martino, G.P., Quintana, I.M., Espariz, M., Blancato, V.S., Magni, C. (2016). Aroma compounds generation in citrate metabolism of *Enterococcus faecium*: Genetic characterization of type I citrate gene cluster. *Int J Food Microbiol*, 218, 27-37, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.004.
- Miller, W.R., Munita, J.M., Arias, C.A. (2014). Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti-Infe*, 12(10): 1221-1236, doi: 10.1586/14787210.2014.956092.
- Miller, W.R., Murray, B.E., Rice, L.B., Arias, C. A. (2016). Vancomycin-resistant enterococci: therapeutic challenges in the 21st century. *Infect Dis Clin*, 30(2), 415-439, doi: 10.1016/j.idc.2016.02.006.
- Oner, Z., Sagdic, O., Simsek, B. (2004). Lactic acid bacteria profiles and tyramine and tryptamine contents of Turkish tulum cheeses. *Eur Food Res Technol*, 219(5): 455-459, doi: 10.1007/s00217-004-0962-x.
- Ozdemir, R., Tuncer, Y. (2020). Detection of antibiotic resistance profiles and aminoglycoside-modifying enzyme (AME) genes in high-level aminoglycoside-resistant (HLAR) enterococci isolated from raw milk and traditional cheeses in Turkey. *Mol Biol Rep*, 1-10, doi: 10.1007/s11033-020-05262-4.
- Patterson, A.J., Colangeli, R., Spigaglia, P., Scott, K.P. (2007). Distribution of specific tetracycline and erythromycin resistance genes in environmental samples assessed by microarray detection. *Environ Microbiol*, 9(3): 703-715, doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01190.x
- Pérez-Pulido, R., Abriouel, H., Omar, N. B., Lucas, R., Martínez-Canamero, M., & Galvez, A. (2006). Safety and potential risks of enterococci isolated from traditional fermented capers. *Food Chem Toxicol*, 44(12): 2070-2077, doi: 10.1016/j.fct.2006.07.008.
- Pesavento, G., Calonico, C., Ducci, B., Magnanini, A., Nostro, A.L. (2014). Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. *Food Microbiol*, 41: 1-7, doi: 10.1016/j.fm.2014.01.008.
- Psoni, L., Kotzamanides, C., Andrighetto, C., Lombardi, A., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. (2006). Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *Int J Food Microbiol*, 109(1-2): 109-120, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.027.
- Russo, N., Caggia, C., Pino, A., Coque, T.M., Arioli, S., Randazzo, C.L. (2018). *Enterococcus* spp. in ragusano PDO and pecorino siciliano cheese types: a snapshot of their antibiotic resistance distribution. *Food Chem Toxicol*, 120: 277-286, doi: 10.1016/j.fct.2018.07.023.
- Sanlibaba, P., Senturk, E. (2018). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of enterococci from traditional cheeses in Turkey. *Int J Food Prop*, 21(1): 1955-1963, doi: 10.1080/10942912.2018.1489413.
- Semedo, T., Santos, M.A., Martins, P., Lopes, M.F.S., Marques, J.J.F., Tenreiro, R., Crespo, M.T.B. (2003). Comparative study using type strains and clinical and food isolates to examine hemolytic activity and occurrence of the *cyl* operon in enterococci. *J Clin Microbiol*, 41(6): 2569-2576, doi: 10.1128/JCM.41.6.2569-2576.2003.
- Tekinsen, K.K., Akar, D. (2017). Erzincan tulum peyniri. *Atatürk University J Vet Sci*, 12(2): 218-226, doi: 10.17094/ataunivbd.347980.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22: 4673–4680, doi: 10.1093/nar/22.22.4673.

Togay, S.O., Temiz, A. (2011). Gıda kaynaklı enterokokların gıda ve insan sağlığı yönünden önemi. *GIDA* 36(5): 303-310.

Trivedi, K., Cupakova, S., Karpiskova, R. (2011). Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs. *Vet Med*, 56(7): 352-357.

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Whitman, W.B. (Eds.). (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3)*. Springer Science and Business Media, New York, the USA, 594p.

Wegener, H.C. (2003). Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Curr Opin Microbiol*, 6(5): 439-445, doi: 10.1016/j.mib.2003.09.009.

Yerlikaya, O., Akbulut, N. (2020). In vitro characterisation of probiotic properties of *Enterococcusfaecium* and *Enterococcusdurans* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. *Int J Dairy Technol*, 73 (1): 98-107, doi: 10.1111/1471-0307.12645.

Yogurtcu, N.N., Tuncer, Y. (2013). Antibiotic susceptibility patterns of *Enterococcus* strains isolated from Turkish Tulum cheese. *Int J Dairy Technol*, 66(2): 236-242, doi: 10.1111/1471-0307.12014.

Yuksel, F.N., Akcelik, N., Akcelik, M. (2015). Incidence of antibiotic resistance and virulence determinants in *Enterococcusfaecium* and *Enterococcusfaecalis* strains, isolated from traditional cheeses in Turkey. *Mol Genet Microbiol Virol* 30(4): 206-215, doi: 10.3103/S089141681504014X.



THE EFFECT OF PRETREATMENTS AND VACUUM DRYING ON DRYING CHARACTERISTICS, TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF ARTICHOKE (*CYNARA CARDUNCULUS* VAR. *SCOLYMUS* L.) SLICES

**Kubra Gizem SAHIN, Gulsah OZCAN-SINIR,
Feride DURMUS, Omer Utku COPUR***

Uludag University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Bursa/ Turkey

Received / Geliş: 04.12.2019; Accepted / Kabul: 08.06.2020; Published online / Online baskı: 23.07.2020

Sahin, K.G., Ozcan-Sinir, G., Durmus, F., Copur, O.U. (2020). The effect of pretreatments and vacuum drying on drying characteristics, total phenolic content and antioxidant capacity of artichoke (*Cynara cardunculus* var. *Scolymus* L.) slices. *GIDA* (2020) 45(4)699-709 doi: 10.15237/gida.GD19158

Sahin, K.G., Ozcan-Sinir, G., Durmus, F., Copur, O.U. (2020). Ön işlemlerin ve vakum kurutma yönteminin enginar (*Cynara cardunculus* var. *Scolymus* L.) dilimlerinde kurutma karakteristikleri, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite üzerine etkisi. *GIDA* (2020) 45(4)699-709 doi: 10.15237/gida.GD19158

ABSTRACT

In this study, boiling and steaming pretreatments applied on artichoke slices and then dried by using vacuum-assisted dryer (70°C with 10, 15 and 25 kPa) to determine the drying characteristics, color analysis, total phenolic content and antioxidant capacity. Color values showed differences according to pretreatments and drying conditions. In comparison to the fresh sample, the dried samples showed an important decrease in both antioxidant capacity and total phenolic content. The highest total phenolic content of vacuum dried artichoke slices (160.24±0.16 mg GA/100 g dw) was determined at 70°C-15 kPa with boiling water-treated samples. According to the drying characteristics, Page and Modified Page models were the best fitted drying models with the highest value of R² (for both 0.9989) and the lowest values of RMSE (0.0023 for both) and χ^2 (0.000067).

Keywords: Antioxidant capacity, artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *Scolymus*), mathematical modeling, vacuum drying.

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ ucopur@uludag.edu.tr,

☎ (+90) 224 294 1494

☎ (+90) 224 294 1402

Kübra Gizem Şahin; ORCID no: 0000-0003-0298-0615

Gülşah Özcan-Sinir; ORCID no: 0000-0003-3954-0058

Feride Durmuş; ORCID no: 0000-0002-6431-1428

Ömer Utku Çopur; ORCID no: 0000-0002-1951-7937

ÖNİŞLEMLERİN VE VAKUM KURUTMA YÖNTEMİNİN ENGINAR (*CYNARA CARDUNCULUS* VAR. *SCOLYMUS* L.) DİLİMLERİNDE KURUTMA KARAKTERİSTİKLERİ, TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİĞİ VE ANTIOKSIDAN KAPASİTE ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada, farklı ön işlemler (suda haşlama ve buharla muamele) uygulanarak, vakumlu kurutucuda kurutulan (70°C'de 10, 15 ve 25 kPa) enginar dilimlerinin renk analizi, toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasiteleri ve kurutma karakteristikleri incelenmiştir. Uygulanan ön işlemler ve kurutma parametreleri renk değerleri üzerinde farklılık oluşturmuştur. Kurutulmuş enginar dilimlerinde toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite değerleri taze enginara kıyasla önemli oranda azalma göstermiştir. Vakum kurutma yapılan enginar dilimlerinde en yüksek toplam fenolik madde içeriği (160.24±0.16 mg GA/100 g dw) 15 kPa vakumda suda haşlama ön işlemine tabi tutulan enginar örneklerinde tespit edilmiştir. Enginar dilimlerinin kurutma karakteristikleri incelendiğinde uygulanan matematiksel modelleme sonucunda elde edilen verilere göre, en yüksek R² değeri (0.9989), en düşük χ^2 (0.000067) ve RMSE (0.0023) değerleri Page ve Modifiye Page modellere ait olduğu belirlenmiştir. **Anahtar kelimeler:** Antioksidan kapasite, enginar (*Cynara cardunculus* L. var. *Scolymus*), matematiksel modelleme, vakum kurutma.

INTRODUCTION

Globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *Scolymus*) belonging to the Asteraceae family is a perennial herbaceous plant, which has been known since the 4th century BC. This plant has been used for its nutritional and therapeutic effects since ancient Egypt, Greek and Roman Empires (Lattanzio et al., 2009). Globe artichoke is an important crop especially, around the Mediterranean region. It is widely produced in Italy, Egypt, Spain, China and France as well as in the Near East countries like Turkey and Iran, in the Northern Africa (Morocco, Algeria, and Tunisia) and South America (Lombardo et al., 2012).

In recent years with the increasing interest in functional foods, globe artichoke had a high demand in consumer choices. Previous in vitro and in vivo studies proved its antioxidant, anticarcinogenic, antigenotoxic, reducing cholesterol, hepatoprotective, diuretic and anti-inflammatory effects, as well as antifungal, anti-HIV and antibacterial properties of globe artichoke extracts (Pandino et al., 2013; Eljounaidi et al., 2015). Although there were plenty of researches done about the chemical composition of artichoke leaves, however studies on the edible parts of the globe artichoke heart was not sufficient (Abu-Reidah et al., 2013).

Drying process have become important in the 20th century, because it is not just a preservation method, it also provides great convenience for storage, packaging and transportation of food products (Sagar and Suresh, 2010). The main purpose of the drying process is to provide the inhibition of microorganisms and prevent the spoilage of food products by reducing the moisture content and water activity (Vega-Galvez et al., 2009). Also, enzymatic and non-enzymatic browning reactions can be avoided with the decrease in moisture content and water activity in food products (Krokida et al., 2001). Blanching and steaming were the most widely used pretreatments in the dehydration of fruits and vegetables (McBean and others 1964).

The current study focused on the antioxidant activity and physicochemical changes in dried artichoke heart, which was dried by using a vacuum-assisted dryer with and without pretreatments and under different vacuum conditions (10, 15 and 25 kPa). Also, mathematical modelling of drying artichoke heart was carried out by using Lewis, Page, Modified Page, Henderson & Pabis and Logarithmic methods.

MATERIAL AND METHODS

Material

Artichoke hearts, Bayrampaşa variety, were supplied as fresh, peeled, and vacuum-packed during the harvesting period from Bursa Hasanağa province, and stored at +4°C until the vacuum drying process.

Preparation of Fresh Artichoke

Fresh artichoke hearts were cut into 2 mm thickness and 1x2 cm slices then the sliced artichokes were kept in 0.2% citric acid solution in order to prevent the polyphenoloxidase enzyme activity until next step. The samples were washed with tap water and drained on filter paper before pretreatments or drying process.

Pretreatments

Before drying, (1) no pretreatment and two types of pretreatments; (2) pretreated in boiling water for 1 min and steaming for 1 min, were applied to artichoke samples. The ratio between water and solid was 1 L / 50 g for boiling water pretreatment. In steaming, artichoke samples were homogeneously and separately placed on the stainless steel blanching net and the net was located in the cooker without any contact with the boiling water. The lid of the cooker kept close for 1 min to avoid steam loss during steam pretreatment.

Drying Process

After pretreatments, samples were drained on filter paper and then equally distributed to aluminum trays without overlapping and then dried. Sliced artichokes were dried by using a vacuum-assisted dryer. 200 g samples were weighted, homogeneously distributed and dried in eight batches in aluminum tray. Vacuum drying (Memmert VO400, Germany, 49 L volume) was carried out at 70°C and under 10, 15 and 25 kPa pressures. The initial moisture content of artichokes were measured as 6.7, 9.0, and 10.5 g water/ g dry matter without pretreatment, boiling pretreatment, and blanching pretreatment, respectively. The moisture loss of samples during drying was recorded at 30 min. intervals periodically until the moisture content reaches to 0.06 g water/g DM (Özkan-Karabacak, 2019),

which is a calculated limit to prevent the growth and reproduction of microorganisms in dried food. Every weighing process was carried out in maximum 15 s during drying treatment.

Drying is one of the most common preservation methods for extending the shelf life of fruits and vegetables by reducing the water content to a level so as to prevent the growth and reproduction of microorganisms and to inactivate many of the moisture-mediated deteriorative reactions (Mujumdar, 2014; Omolola et al., 2017).

Chemical Analysis

Total phenolic content and antioxidant capacity analysis

Extraction procedure of antioxidant and phenolic compounds was applied according to Vitali et al. (2009) by placing 2 g of grinded (Moulinex, China) fresh or dried samples and 20 mL extraction solution (HCl: methanol: water, 1: 80: 10) in a falcon tube and tubes were placed in a shaking water bath (Memmert WNB 22) at 20°C for 2h with 160 strokes per min. Total phenolic content and antioxidant capacity analyzes were done by using the supernatants of extracts after centrifugation (Beta et al., 2005; Vitali et al., 2009). Folin-Ciocalteu (FC) method was used for the determination of the total phenolic content. It was determined spectrophotometrically by using FC reagent at 725 nm and the results were expressed through the equation achieved from the gallic acid curve ($R^2 = 0.98$) as “mg gallic acid equivalent (GAE)/ 100 g” (Zhang and Hamauzu, 2004). DPPH (2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Katalinic et al., 2006), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Benzie and Strain, 1996), and CUPRAC (Copper (II) reducing antioxidant capacity) (Apak et al., 2005) methods were applied to determine antioxidant capacity. All of the results were expressed as $\mu\text{mol TE}$ (trolox equivalent)/g in dried artichoke slices by using equation obtained from calibration curves. R^2 values of curves were determined as 0.99, 0.97 and 0.99 for DPPH, FRAP and CUPRAC methods, respectively.

Color analysis

Color analysis of the samples was measured by using the Konica Minolta CR-5 (Japan) color

analyzer. Hunter L , a , b , C , and b° values were determined.

Mathematical modelling

Five different thin-layer drying models; Page (Sarsavadiva et al., 1999), Modified Page (Overhults et al., 1973), Henderson and Pabis (Westerman et al., 1973), Logarithmic (Yagcioglu, 1999) and Lewis (Doymaz, 2006) were used for the estimation of the best model, which reproduces the drying curve of artichoke slices

(Table 1). The following equations were used to establish the moisture ratio (MR) and drying rate in artichoke slices during drying:

$$MR = \frac{M - M_e}{M_i - M_e}$$

where MR is moisture ratio, M is the moisture content at a certain time (g water/g dry base), M_i is the primary moisture content (g water/g dry base) and M_e is the equilibrium moisture content (g water/g dry base) (Arslan and Ozcan, 2010).

Table 1: Mathematical models were used in the study

Model Name	Model	References
Page	$MR = \exp(-kt^n)$	(Sarsavadiva et al., 1999)
Modified Page	$MR = \exp[(-kt)^n]$	(Overhults et al., 1973)
Logarithmic	$MR = a \exp(-kt) + c$	(Yagcioglu, 1999)
Lewis	$MR = \exp(-kt)$	(Doymaz, 2006)
Henderson and Pabis	$MR = a \exp(-kt)$	(Westerman et al., 1973)

The root mean square error (RMSE) provides the deviation between the approximate and experimental values for the models. Higher correlation coefficients (R^2) and lower RMSE and Chi-square (χ^2) values were used to specify the perfection of the fit of the model to the vacuum drying curves of artichoke slices. These parameters were calculated using the following equations:

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N - n}$$

where $MR_{exp,i}$ is the empirically dimensionless moisture ratio for test i , $MR_{pre,i}$ is the estimated dimensionless moisture ratio for test i , N is the number of observations and n is the number of constants in the model (Avhad and Marchetti, 2016).

Statistical analysis

The variant analysis was performed on the data achieved from analyzes for three times in accordance with “Randomized Block Design”. The difference between means was calculated by using the LSD test with the 5% probability and calculations were carried on “JMP 14” statistical software (JMP, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

Drying characteristics of artichoke slices

Time-dependent change of the moisture content of dried artichokes was given in Figure 1. When the figures were examined, a direct correlation was observed between absolute pressure and drying time. When the absolute pressure decreased drying time was also getting shorter. Differences in moisture content before the drying process could be explained by changes in texture due to the pretreatments. According to the applied pretreatments, artichoke slices subjected to boiling water were dried the latest, whereas the untreated artichoke slices were dried quickest. Özkan-Karabacak (2019) was also observed a decrement in drying time with the reduction in absolute pressure level in vacuum drying.

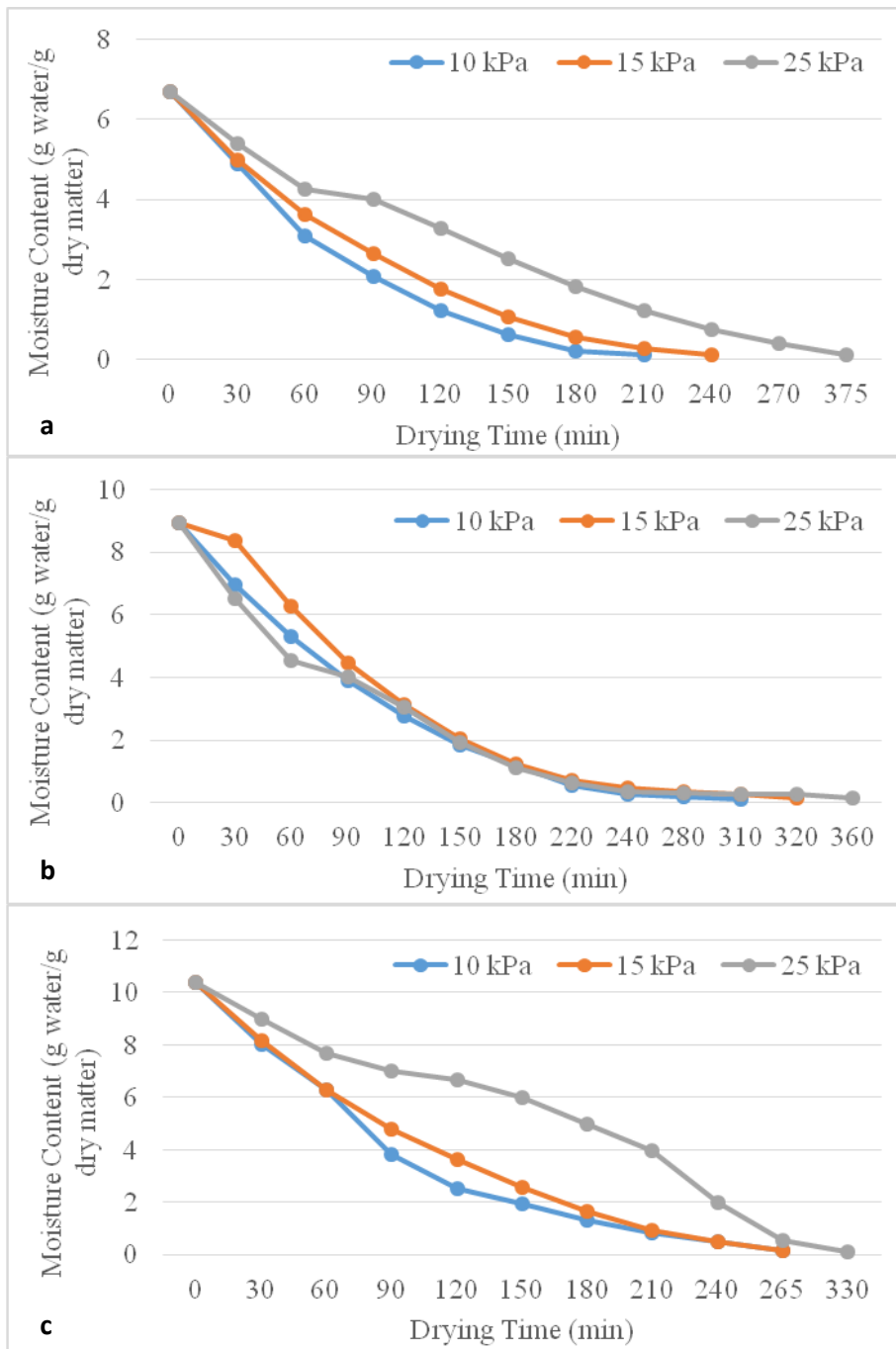


Figure 1: Drying curves of sliced artichokes without pretreatment (a), with boiling water pretreatment (b) and with steaming pretreatment (c)

Mathematical modeling was very important for engineering applications. They were mostly used in freezing, drying, heating and cooling processes. With the introduction of mathematical models in

food engineering applications, time and material losses were minimized (Devres and Pala, 1993). Correlation factor (R^2) was the most important statistical value for the determination of the best

mathematical model as well as χ^2 and RMSE values, which were calculated for each model used for the specification of the best model. As a result, the highest value of R^2 and the lowest χ^2 and RMSE values were expressed as the most appropriate mathematical model (Avhad and Marchetti, 2016).

According to the results of each mathematical model, Page and Modified Page models had the highest R^2 (0.9989) and lowest χ^2 (0.000067) and RMSE (0.0023) values. It was determined that the reduction in the experimentally determined moisture values during the drying process represented better in all drying temperatures and

better in the Page and Modified Page models (Table 2). In a study, the drying kinetics of celery slices were investigated under convectional (70, 85 and 100°C), vacuum (50, 60 and 70 kPa) and microwave (190, 375 and 680 W) drying conditions. Authors were determined that Page and Modified Page were the best fitted models (Özkan-Karabacak et al., 2018). In another study, sliced kumquats were dried by using three different drying methods, microwave (375 W), hot air (70 and 80 °C), and vacuum (70 and 80 °C with 100 and 300 mbar). Page and Modified Page models were determined as the best fitted drying methods with the highest R^2 and the lowest RMSE and χ^2 values (Özcan-Sinir et al., 2019).

Table 2: Mathematical modelling of the drying process of artichoke samples

Model name	Pre-treatment	Application (Vacuum)	Model coefficients	R^2	χ^2	RMSE
Page	Non-pretreated	10 kPa	n=1.3551 k=0.0029	0.9824	0.000688	0.008030
	Non-pretreated	15 kPa	n=1.2536 k=0.0037	0.9882	0.000648	0.007481
	Non-pretreated	25 kPa	n=1.1649 k=0.0034	0.9652	0.002335	0.013177
	Boiling	10 kPa	n=1.2583 k=0.0031	0.9930	0.000349	0.005097
	Boiling	15 kPa	n=1.6626 k=0.008	0.9829	0.001062	0.008886
	Boiling	25 kPa	n=1.1929 k=0.0092	0.9989	0.000067	0.002313
	Steaming	10 kPa	n=1.2679 k=0.0032	0.9833	0.000703	0.008835
	Steaming	15 kPa	n=1.2627 k=0.0029	0.9774	0.000922	0.008589
	Steaming	25 kPa	n=1.594 k=0.003	0.9172	0.006247	0.025247
Modified Page	Non-pretreated	10 kPa	n=1.3551 k=0.0136	0.9824	0.000688	0.008030
	Non-pretreated	15 kPa	n=1.2536 k=0.0114	0.9882	0.000648	0.007481
	Non-pretreated	25 kPa	n=1.1649 k=0.0076	0.9652	0.002335	0.013177
	Boiling	10 kPa	n=1.2583 k=0.0101	0.9930	0.000349	0.005097
	Boiling	15 kPa	n=1.6626 k=0.008	0.9829	0.001062	0.008886
	Boiling	25 kPa	n=1.1929 k=0.0092	0.9989	0.000067	0.002313
	Steaming	10 kPa	n=1.2679 k=0.0108	0.9833	0.000703	0.008835

Physicochemical properties of dried artichoke

	Steaming	15 kPa	n=1.2627 k=0.0097	0.9774	0.000922	0.008589
	Steaming	25 kPa	n=1.594 k=0.0064	0.9172	0.006247	0.025247
Logaritmik	Non-pretreated	10 kPa	k=0.0212 a=1.4102	0.9185	0.039485	0.055541
	Non-pretreated	15 kPa	k=0.0168 a=1.3457	0.9470	0.025609	0.043555
	Non-pretreated	25 kPa	k=0.0108 a=1.3021	0.9146	0.038161	0.050230
	Boiling	10 kPa	k=0.0178 a=1.6991	0.9277	0.074192	0.070038
	Boiling	15 kPa	k=0.0147 a=1.4996	0.9723	0.038294	0.050318
	Boiling	25 kPa	k=0.0137 a=1.3656	0.9774	0.227020	0.039864
	Steaming	10 kPa	k=0.0134 a=1.1289	0.9779	0.008540	0.026677
	Steaming	15 kPa	k=0.0132 a=1.2845	0.9512	0.015849	0.033309
	Steaming	25 kPa	k=0.0102 a=1.4518	0.8528	0.070280	0.076146
Lewis	Non-pretreated	10 kPa	k=0.0182	0.9046	0.008234	0.030009
	Non-pretreated	15 kPa	k=0.0144	0.9427	0.006120	0.024585
	Non-pretreated	25 kPa	k=0.0092	0.9374	0.008051	0.025795
	Boiling	10 kPa	k=0.013	0.9607	0.005958	0.022190
	Boiling	15 kPa	k=0.0116	0.9652	0.012777	0.032495
	Boiling	25 kPa	k=0.011	0.9866	0.002639	0.015412
	Steaming	10 kPa	k=0.0139	0.9331	0.005867	0.028546
	Steaming	15 kPa	k=0.0125	0.8874	0.008085	0.026975
	Steaming	25 kPa	k=0.01	0.8030	0.034235	0.064746
Henderson and Pabis	Non-pretreated	10 kPa	k=0.0209 a=1.4626	0.9264	0.038547	0.060115
	Non-pretreated	15 kPa	k=0.0164 a=1.3949	0.9621	0.025806	0.047224
	Non-pretreated	25 kPa	k=0.0105 a=1.3578	0.9599	0.022279	0.040708
	Boiling	10 kPa	k=0.0146 a=1.3938	0.9760	0.020170	0.038733
	Boiling	15 kPa	k=0.0132 a=1.4152	0.9856	0.020632	0.039174
	Boiling	25 kPa	k=0.0118 a=1.2264	0.9931	0.007040	0.023732
	Steaming	10 kPa	k=0.0157 a=1.3811	0.9501	0.038874	0.005867
	Steaming	15 kPa	k=0.0146 a=1.4885	0.9143	0.036386	0.008085
	Steaming	25 kPa	k=0.0126 a=1.8623	0.8519	0.171661	0.034235

Total phenolic content and antioxidant capacity analysis

Antioxidants such as flavonoids, phenolic acids, tannins, vitamin C, and vitamin E are substances that can prevent the harmful effects of radical oxygen species on vital parts or molecules of the human body by avoiding their chain reactions (Oroian and Escriche, 2015). In the drying process, the preservation of antioxidant compounds is quite significant because of their positive health effects. DPPH, FRAP and CUPRAC methods were used to determine the antioxidant activity of dried samples. In our study, the antioxidant capacity of fresh artichoke heart was determined as 38.24 ± 0.29 , 107.19 ± 0.34 and 76.54 ± 0.72 $\mu\text{mol TE} / \text{g dw}$ with DPPH, CUPRAC and FRAP methods, respectively. One of the research showed that the antioxidant capacity of fresh artichoke heart was between 34.58 to 50.20 $\mu\text{mol TE} / \text{g dw}$ with DPPH method (Zakynthinos and Varzakas 2016). The vacuum drying technique caused a significant loss in antioxidant activity compared to fresh artichoke. The boiling water pretreated samples had higher antioxidant capacity than other samples according to antioxidant activity results (Table 3). The highest antioxidant capacity and total phenolic contents were determined in the samples that were subjected to boiling water pretreatment and dried at 10 kPa and 15 kPa. The highest antioxidant capacities in CUPRAC and

FRAP assays were determined in boiling water pretreated and 10 kPa dried samples with 23.80 ± 1.11 and 20.28 ± 0.02 $\mu\text{mol TE} / \text{g dw}$, respectively. The highest DPPH activity were determined in boiling water pretreated and 15 kPa dried samples with 6.38 ± 0.01 $\mu\text{mol TE} / \text{g dw}$. Researchers were investigated the effect of pretreatment and drying combination on biochemical parameters of several vegetables. They determined that the total phenolic content and antioxidant capacity with measured DPPH assay decreased after boiling water pretreatment followed by drying (Şat and Özkan, 2015). Heras-Ramírez et al. (2012), clarified that boiling pretreatment before drying had positive effects on the protection of antioxidant activity on apple pomace compared to dried samples without pretreatment.

Determination of total phenolic content was carried out with the Folin-Ciocalteu method and the results showed that a significant decrease determined in total phenolic contents of artichoke. On the other hand, boiled samples contained quite higher total phenolic contents in comparison to non-pretreated samples. In a previous study, researchers expressed that the boiling process had diverse effects on different vegetables. While some vegetables showed an increment in total phenolic contents, others exhibited a loss (Wen et al., 2010).

Table 3: Antioxidant capacity and total phenolics contents of fresh and dried artichoke samples

	DPPH ($\mu\text{mol TE}^*/$ g DW)	CUPRAC ($\mu\text{mol TE}^*/$ g DW)	FRAP ($\mu\text{mol TE}^*/$ g DW)	TPC (mg GAE**/ 100 g DW)
Fresh Artichoke	38.24 ± 0.29^a	107.20 ± 0.35^a	76.55 ± 0.72^a	836.62 ± 2.81^a
Non-pretreated (10 kPa)	5.73 ± 0.04^e	1.73 ± 0.01^e	1.13 ± 0.02^g	73.40 ± 0.45^h
Non-pretreated (15 kPa)	5.73 ± 0.02^e	1.96 ± 0.07^e	0.65 ± 0.04^g	81.03 ± 0.33^g
Non-pretreated (25 kPa)	5.89 ± 0.07^{de}	1.40 ± 0.08^e	0.96 ± 0.06^g	72.12 ± 0.34^h
Boiled (10 kPa)	6.21 ± 0.02^{bc}	23.80 ± 1.11^b	20.28 ± 0.02^b	156.10 ± 0.42^c
Boiled (15 kPa)	6.38 ± 0.01^b	19.70 ± 1.40^c	15.26 ± 0.10^c	160.24 ± 0.16^b
Boiled (25 kPa)	6.22 ± 0.02^{bc}	22.20 ± 0.12^b	14.60 ± 0.08^{cd}	149.83 ± 0.34^e
Steamed (10 kPa)	6.06 ± 0.04^{cd}	10.40 ± 0.08^d	14.39 ± 0.06^d	124.54 ± 0.62^f
Steamed (15 kPa)	5.91 ± 0.03^{de}	20.17 ± 0.60^c	12.97 ± 0.03^e	152.97 ± 0.48^d
Steamed (25 kPa)	5.85 ± 0.02^{de}	22.63 ± 0.09^b	10.33 ± 0.50^f	152.44 ± 0.27^{de}

* $\mu\text{mol TE}$ (trolox equivalent) / g dw (dry weight) **GAE: Gallic acid equivalent. Samples shown in different letters in the same row are statistically different ($p < 0.01$)

Color analysis

Color is a significant quality parameter that directly effecting consumer choices. The color parameters of dried artichoke samples were shown in Table 4. In comparison with fresh artichoke heart, *L* (lightness) values were significantly decreased ($p < 0.05$) in all of the dried samples. Samples pretreated with boiling water had the highest *L* value (43.11 ± 1.04) under 15 kPa. An important decrease in *L* values was determined in the all samples after vacuum drying. Dried artichoke samples showed higher redness in comparison with fresh artichoke and non-pretreated samples had the best *a* value after the drying process. All dried samples showed an

important reduction in *b* (yellowness) values although the sample, boiled as pretreatment and dried at 10 kPa, had the highest *b* value (17.42 ± 0.71). Chroma (*C*) and b° (hue angle) values of dried artichokes were decreased in comparison with fresh artichoke. *C* values were used to explain the color intensity and it represents the brown color of dried food materials (Vega-Galvez et al., 2009). Samples pretreated with boiling water and dried at 25 kPa showed the lowest *C* value. In conclusion, the discoloration of dried artichokes was caused by non-enzymatic Maillard browning reactions and the deterioration of color pigments.

Table 4: Color values of fresh and dried artichoke samples

	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C</i>	b°
Fresh Artichoke	65.45 ± 3.45^a	0.07 ± 0.01^e	23.35 ± 0.69^a	23.75 ± 0.35^a	87.44 ± 1.17^a
Non-pretreated (10 kPa)	29.30 ± 1.67^e	5.71 ± 0.19^a	13.77 ± 0.97^{de}	14.91 ± 0.95^{cd}	67.43 ± 1.07^d
Non-pretreated (15 kPa)	30.33 ± 1.62^e	6.27 ± 0.29^a	15.52 ± 0.60^{bc}	16.75 ± 0.64^{ab}	68.00 ± 0.77^d
Non-pretreated (25 kPa)	30.79 ± 0.62^{de}	5.84 ± 0.08^a	14.62 ± 0.24^{cd}	15.73 ± 0.23^{abc}	68.22 ± 0.39^d
Boiled (10 kPa)	37.86 ± 2.06^b	4.56 ± 1.81^{bc}	17.42 ± 0.71^a	17.78 ± 0.71^a	78.44 ± 0.22^b
Boiled (15 kPa)	43.11 ± 1.04^a	2.67 ± 0.27^{de}	16.30 ± 0.23^{ab}	16.52 ± 0.24^b	80.69 ± 0.90^a
Boiled (25 kPa)	36.39 ± 0.58^b	2.27 ± 0.19^e	11.84 ± 0.28^f	12.07 ± 0.26^d	79.13 ± 1.02^{ab}
Steamed (10 kPa)	33.02 ± 2.46^{cd}	5.24 ± 0.61^{ab}	15.18 ± 1.33^{bc}	16.06 ± 1.42^{bc}	70.96 ± 1.32^d
Steamed (15 kPa)	30.31 ± 1.99^e	4.10 ± 0.13^c	12.63 ± 1.07^{ef}	13.28 ± 1.06^d	71.98 ± 0.94^d
Steamed (25 kPa)	33.49 ± 0.89^c	3.80 ± 0.27^{cd}	14.29 ± 0.42^{cd}	14.79 ± 0.41^d	75.10 ± 1.14^{cc}

*The samples shown in different letters in the same row are statistically different ($p < 0.01$)

CONCLUSION

The drying process is one of the most preferred methods to extend the shelf life of fruits and vegetables for the protection of physicochemical properties and prevention of microbiological degradation. An important reduction in antioxidant activity and total phenolic content was observed in all dried artichoke samples. Artichoke samples pretreated with boiling water had the highest antioxidant and total phenolic contents than non-pretreated and steamed samples. Page and Modified Page models were found to be the best fitted mathematical models for the description of drying characteristics of artichoke slices. All color values (*L*, *a*, *b*, *C* and b°)

showed differences according to pretreatments and drying conditions. Consequently, vacuum drying was found as a convenient method of fresh artichoke for consumption during all seasons while protecting its nutritional value.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

Abu-Reidah, I.M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynarascolymus L.*) by HPLC-DAD-ESI-

- QTOF-MS. *Food Chem* 141:2269-2277, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.066.
- Apak, R., Güçlü K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Altun, M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. *Free Radic Res* 39: 949-961, doi: 10.1080/10715760500210145.
- Arslan, D., Ozcan, M.M. (2010). Study the effect of sun, oven and microwave drying on quality of onion slices. *LWT-Food Sci Technol* 43: 1121-1127, doi: 10.1016/j.lwt.2010.02.019.
- Avhad, M.R., Marchetti, J.M. (2016). Mathematical modelling of drying kinetics of Hass avocado seeds. *Ind Crops Prod* 91: 76-87, doi: 10.1016/j.indcrop.2016.06.035.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76, doi: 10.1006/abio.1996.0292.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Sapirstein, H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chem* 82: 390-393, doi: 10.1094/CC-82-0390.
- Devres, Y.P., Pala, M. (1993). Gıda Sanayiinde Matematiksel Modellemenin Önemi ve Uygulama Alanları. *Gıda* 18(3): 173-181.
- Doymaz, I. (2006). Drying kinetics of black grapes treated with different solutions. *J Food Eng* 76: 212-217, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.05.009.
- Eljounaidi, K., Comino, C., Moglia, A., Cankar, K., Genre, A., Hehn, A., Bourgaud, F., Beekwilder, J., Lanteri, S. (2015). Accumulation of cynaropicrin in globe artichoke and localization of enzymes involved in its biosynthesis. *Plant Sci* 239:128-136, doi: 10.1016/j.plantsci.2015.07.020.
- Heras-Ramírez, M.E., Quintero-Ramos, A., Camacho-Dávila, A.A., Barnard, J., Talamás-Abbud, R., Torres-Muñoz, J.V., Salas-Muñoz, E. (2012). Effect of Blanching and Drying Temperature on Polyphenolic Compound Stability and Antioxidant Capacity of Apple Pomace. *Food Bioprocess Technol* 5:2201-2210, doi: 10.13005/bbra/2145.
- JMP®, JMP Statistical Software, Version 14. 1989-2019 SAS Institute, Cary, NC 27513, USA.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem* 94: 550-557, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.12.004.
- Krokida, M.K., Maroulis, Z.B., Saravacos, G.D. (2001). The effect of the method of drying on the colour of dehydrated products. *Int J Food Sci Technol* 36: 53-59, doi: 10.1046/j.1365-2621.2001.00426.x.
- Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V., Cardinali, A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *J Funct Foods* 1:131-144, doi: 10.1016/j.jff.2009.01.002.
- Lombardo, S., Pandino, G., Ierna, A., Mauromicale, G. (2012). Variation of polyphenols in a germplasm collection of globe artichoke. *Food Res Int* 46:544-551.
- McBean, D.M.G., Johnson, A.A., Pitt, J.I. (1964). The absorption of sulfur dioxide by fruit tissue. *J Food Sci* 29: 257-260, doi: 10.1111/j.1365-2621.1964.tb01728.x.
- Oroian, M., Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res Int* 74:10-36, doi: 10.1016/j.foodres.2015.04.018.
- Overhults, D.D., White, G., Hamilton, M.E., Ross, I.J. (1973). Drying soybeans with heated air. *Transactions of the ASAE* 16: 195-200, doi: 10.13031/2013.37459.
- Özcan-Sinir G, Özkan-Karabacak A, Tamer CE, Copur OU. (2019). The effect of hot air, vacuum and microwave drying on drying characteristics, rehydration capacity, color, total phenolic content and antioxidant capacity of kumquat (*Citrus japonica*). *Food Sci Technol (Campinas)* 39(2): 475-484, doi:10.1590/fst.34417
- Özkan-Karabacak A, Suna S, Tamer CE, Copur OU. (2018). Effects of oven, microwave and

- vacuum drying on drying characteristics, colour, total phenolic content and antioxidant capacity of celery slices. *Qual Assur Saf Crop* 10(2): 193–205, doi: 10.3920/QAS2017.1197
- Özkan-Karabacak, A. (2019). Effects of different drying methods on drying characteristics, colour and in-vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of blackthorn pestil (leather). *Heat Mass Transfer* 55(10): 2739-2750, doi: 10.1007/s00231-019-02611-3.
- Pandino, G., Lombardo, S., Lo Monaco, A., Mauromicale, G. (2013). Choice of time of harvest influences the polyphenol profile of globe artichoke. *J Funct Food* 5:1822-1828.
- Sagar, V.R., Suresh K.P. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *J Food Sci Technol* 47: 15-26, doi: 10.1007/s13197-010-0010-8.
- Sarsavadiva, P., Sawhney, R., Pangavhane, D.R., Sing, I. (1999). Drying behaviour of brined onion slices. *J Food Eng* 40: 219-226.
- Şat, İ. Özkan Ö. (2015). Haşlama ve Kurutmanın Bazı Sebzelerin Bileşimi Üzerine Etkisi. *ADYÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi* 2(3): 54-62.
- Vega-Galvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chem* 117:647-663, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.066.
- Vitali, D., VedinDragojevic, I., Sebecic, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chem* 114: 1462–1469, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.032.
- Wen, T.N., Prasad, K.N., Yang, B., Ismail, A. (2010). Bioactive substance contents and antioxidant capacity of raw and blanched vegetables. *Innov Food Sci Emerg Technol* 11: 464-469, doi: 10.1016/j.ifset.2010.02.001.
- Westerman, P.W., White, G.M., Ross, I.J. (1973). Relative humidity effect on the high temperature drying of shelled corn. *Transactions of the ASAE* 16: 1136-1139, doi: 10.13031/2013.37715.
- Yagcioglu, A. (1999). Drying technique of agricultural products. Ege University, Faculty of Agriculture Publications No. 536, Bornova, Izmir, Turkey, doi: 10.12691/ajfst-4-4-5.
- Zakynthinos, G., Varzakas, T. (2016). Mikromani'S Artichoke (*Cynara Cardunculus* Var. *Scolymus*) - A Mediterranean Nutraceutical. *Curr Res Nutr Food Sci* 4(1): 16-18. doi:10.12944/CRNFSJ.4.1.03
- Zhang, D., Hamauzu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem* 88: 503-509, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.01.065.



KEFİR STARTERİ KULLANILARAK ÜRETİLEN TULUM PEYNİRLERİNDE OLGUNLAŞMA BOYUNCA MEYDANA GELEN DEĞİŞMELER*

Sümevra Eser, Hayri Coşkun**, Ercan Sarıca

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

Geliş / Received: 09.04.2020; Kabul / Accepted: 01.07.2020; Online baskı / Published online: 23.07.2020

Eser, S., Coşkun, H., Sarıca, E. (2020). Kefir starteri kullanılarak üretilen tulum peynirlerinde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimler. GIDA (2020) 45(4)710-720 doi: 10.15237/gida.GD20050

Eser, S., Coşkun, H., Sarıca, E. (2020). The changes in ripening of tulum cheeses produced using kefir starter. GIDA (2020) 45(4)710-720 doi: 10.15237/gida.GD20050

ÖZ

Bu çalışmada; çiğ süt, mezofilik starter ve kefir starteri kullanılarak tulum peynirleri üretilmiş ve olgunlaşma dönemi boyunca meydana gelen değişimler incelenmiştir. Üç gruba ayrılmış inek sütlerinden ilk grup çiğ olarak (ÇTP), ikinci grup süt pastörize edildikten sonra mezofilik starter kullanılarak (MTP) ve üçüncü grup süt pastörize edildikten sonra kefir kültürü (KTP) kullanılarak tulum peynirleri üretilmiştir. Tulum peynirleri ilk 10 gün 10 °C'de daha sonra toplamda 6 ay boyunca 4 °C'de olgunlaştırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; ÇTP örneklerinde en yüksek kuru madde, asitlik, suda çözünür azot, trikloroasetik asitte çözünür azot, fosfotungstik asitte çözünür azot, lipoliz değeri ile toplam mezofilik canlı bakteri sayısı tespit edilmiştir. Yağ ve tuz oranlarında en yüksek değerler MTP örneklerinde tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın 180. gününde yapılan duyu analizler neticesinde, genel beğeni açısından % 45 oranında ÇTP örnekleri panelistlerce tercih edilmiştir. Bunu % 30 ile KTP ve % 25 ile MTP örnekleri takip etmiştir.

Anahtar kelimeler: Tulum peyniri, olgunlaşma, kefir kültürü

THE CHANGES IN RIPENING OF TULUM CHEESES PRODUCED USING KEFIR STARTER

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the changes during the ripening of Tulum cheese made with different starters. Cow milk was used for Tulum cheese making and divided into three groups and first group of the milk was used as raw (ÇTP), the second group was pasteurized and inoculated with mesophilic starter (MTP) and third group was also pasteurized and inoculated with kefir culture (KTP). The Tulum cheese were ripened firstly 10 days at 10 °C and 6 months at 4 °C. According to the obtained results; the highest overall average dry matter, acidity, water soluble nitrogen, trichloroacetic acid soluble nitrogen, phosphotungstic acid soluble nitrogen, lipolysis value and mesophilic total live bacteria were determined in ÇTP samples. The highest fat and salt ratios were obtained from MTP samples. As a result of sensory analysis made on the 180th days of ripening % 45 ÇTP, % 30 KTP and % 25 MTP samples were preferred by panelists in terms of general appreciation.

Keywords: Tulum cheese, ripening, kefir culture

* Bu makale Sümevra Eser'in yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır.

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉coskunhayri@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 10 00 / 4829

☎ (+90) 374 253 4558

Sümevra Eser; ORCID no: 0000-0003-1076-8614

Hayri Coşkun; ORCID no: 0000-0001-9813-0046

Ercan Sarıca; ORCID no:0000-0002-8269-9403

GİRİŞ

Tulum peyniri Türkiye'ye özgü bir peynir çeşidi olup ülkemizde en çok tüketilen ilk üç peynir arasında yer almaktadır (Akpınar vd., 2017). Ülkemizdeki toplam peynir üretiminin % 10'luk bölümünü geleneksel veya endüstriyel düzeyde üretilen tulum peynirleri oluşturmaktadır (Sert ve Akın, 2008; Tekinşen ve Akar, 2017).

Karakteristik tadı için tercih edilen Tulum peyniri; hafif ransit lezzette, krem veya beyazımsı renkte, ağızda asidik tat bırakan, yağ oranı yüksek, yarı sert ve parçalı yapıda bir peynir olarak nitelendirilmektedir (Hayaloğlu vd., 2007; Sert ve Akın, 2008). Tulum peyniri ismi, ambalajlanmasında kullanılan hayvan derisinden (tulum) gelmektedir (Hayaloğlu vd., 2007). Tulum peynirlerine olan talebin zamanla artmasına bağlı olarak farklı ambalaj materyalleri de kullanılmaya başlanmıştır (Çakmakçı vd., 2008). Tulum peynirleri, 4 ile 12 °C arasında ve % 65-85 oranlarında neme sahip ortamlarda olgunlaştırılmaktadır (Adıgüzel vd., 2009). Tulum peynirlerinin olgunlaşma süresi iki haftadan iki yıla kadar değişmektedir (Çakmakçı, 2008).

Tulum peynirleri geleneksel olarak doğrudan çiğ sütten, sanayide ise sütün pastörize edilmesinden sonra ticari kültür ilave edilmesi ile üretilmektedir. Peynir üretiminde genellikle mezofilik ve termofilik bazı laktik asit bakterileri kullanılmaktadır (Kara, 2011).

Kefir probiyotik özellikte olduğu iddia edilen bir süt ürünüdür. Yapılan çalışmalarda kefirin tümör, immünolojik ve mikrobiyal hastalıklara karşı iyi geldiği; mide rahatsızlığı ve kanser gibi bazı hastalıkların tedavisinde sinerjistik etki gösterdiği rapor edilmektedir. Tüm bunların yanında sahip olduğu mikroorganizma çeşitliliği ve oluşan yan ürünlerin kefire duyuşsal açıdan eşsiz bir nitelik kazandırdığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmaların artması, kefir tüketiminin artmasına ve kefirin öneminin anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Böylece kefirin diğer süt ürünlerinde de kullanılması gündeme gelmiştir (Esmek ve Güzeler, 2015).

Goncu ve Alpkent (2005), kefir, yoğurt ve ticari peynir kültürleri kullanarak beyaz peynir

üretmişlerdir. Üretilen peynirlerde kullanılan kültür çeşidinin, beyaz peynirlerin toplam kuru madde, yağ, asitlik, pH, olgunlaşma derecesi, suda çözünen azot değerleri ile duyuşsal özelliklerini etkilediğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca kefir starteri kullanılarak üretilen beyaz peynirlerin görünüm, koku ve yapı puanlamasında en çok tercih edilen peynir grubu olduğu rapor edilmiştir.

Kourkoutas vd. (2006), Feta peyniri üretiminde dondurularak kurutulmuş kefir starter kültürü kullanmışlar ve ürettikleri peynir örneklerinde yapılan analizler neticesinde kefir kültürünün Feta peynirinde asitliği arttırdığı, tuzsuz peynirlerde raf ömrünü uzattığı ve kefir starteri kullanılarak üretilen peynirlerin panellerde beğeni topladığı tespit edilmiştir.

Mei vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada, dondurularak kurutulmuş kefir starter kültürü kullanarak Bodljong peyniri üretmişler ve olgunlaştırmışlardır. Çalışma neticesinde, olgunlaşma süresine paralel olarak % WSN, % 12'lik TCA-SN, pH 4.6'da çözünür azot ve serbest amino asit değerlerinin artış gösterdiğini; peynir örneklerinin içerdiği enterokok, enterobakteri ve *Salmonella* serotiplerinin sayılarının oldukça düşük seviyelerde bulunduğunu beyan etmişlerdir.

Bu çalışmada, oldukça zengin bir mikrobiyotadan (genel olarak laktik asit bakterileri, çeşitli mayalar ve asetik asit bakterileri) oluşan kefir kültürü kullanımı ile Tulum peyniri üretimi amaçlanmıştır. Bu sayede hem çiğ sütte pastörizasyon uygulaması ile kaybolan mikroorganizma çeşitliliğinin yeniden kazandırılması hem de Tulum peyniri üretiminde kullanılmakta olan klasik starter kültüre alternatif bir kullanım ortaya konması hedeflenmiştir. Bunun yanı sıra, kefirin besleyici özelliği ile sağlık üzerindeki olumlu etkileri göz önünde bulundurulduğunda ve konu üzerine yapılan çalışmaların sınırlı olduğu da dikkate alındığında, çalışmanın konuya yeni bir bakış açısı getireceği şüphesizdir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, inek sütü kullanılarak Tulum peyniri örnekleri üretilmiştir. Peynir üretiminde

kullanılan inek sütü Bolu'da bir üreticiden temin edilmiştir. Tulum peynir örneklerinin üretiminde Maysa Gıda San. ve Tic. A.Ş. firmasından temin edilen mezofilik starter kültür (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) ve ticari kefir kültürü (Danisco Biolacta DC1: kefir mayaları, *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Streptococcus thermophilus*) kullanılmıştır. Pastörize edilmiş sütlere % 0.02 oranında CaCl₂ ilave edilmiştir. Peynir mayası olarak ticari şirden mayası kullanılmıştır.

Tulum Peynirlerinin Üretimi

Tulum peynirlerinin üretiminde Kurt vd. (1991)'in bildirdiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Tulum peyniri yapımında kullanılan sütler öncelikle çelik süzgeç ve bu süzgece yerleştirilen süzme bezinden birlikte geçirilmek suretiyle süzümüştür. Ardından, yapılması hedeflenen analizler için yeterli miktarda örnek alınmış ve çiğ inek sütü üç gruba ayrılmıştır. İlk grup, çiğ olarak Tulum peynirine işlenmiştir ve ÇTP olarak kodlanmıştır. Bu grup, süt mayalama sıcaklığına (32 °C) getirilerek peynir mayası ile mayalanmıştır. ÇTP peynir örneklerinin sütlere starter kültür ve CaCl₂ katılmamıştır.

İkinci grup süt, 65±2 °C'de 20 dk süreyle pastörize edilmiş, ardından süütün sıcaklığı hızlı bir şekilde mayalama sıcaklığına düşürülmüştür. Mayalama sıcaklığına getirilen süte, önceden hazırlanmış % 0.02 oranında CaCl₂ ve % 1.5 oranında aktif mezofilik starter kültür ilave edilmiştir. Bu grup MTP olarak kodlanmıştır. Daha sonra süte peynir mayası katılmıştır. Üçüncü grup yine 65±2 °C'de 20 dk süreyle pastörize edilmiş ve mayalama sıcaklığına soğutulmuştur. Daha sonra süte % 0.02 oranında CaCl₂ ve % 1.5 oranında kefir starter kültürü ilave edilmiştir. Bu grup da KTP olarak kodlanmıştır. Ardından süte peynir mayası katılmıştır.

Her üç grubun mayalama süresi yaklaşık bir saat olarak dikkate alınmıştır. Süre sonunda pıhtı oluşumu kontrol edilmiş ve özel teleme bıçakları ile pıhtı 1 cm³ ebatlarında kesilmiştir. Bu uygulama telemenin ihtiva ettiği suyun telemeden uzaklaştırmasını sağlamak amacıyla yapılmıştır ve bilahare teleme cendere bezine aktarılmıştır.

Presleme üç aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk presleme 30 dk, ikinci presleme 70 dk ve üçüncü presleme ise 30 dk sürmüştür. Uygulanan her bir presleme süresi sonunda telemenin üzerindeki baskı kaldırılmış ve teleme ufalanarak fındık büyüklüğünde parçalara ayrılmıştır.

Preslemenin ardından telemeye % 3 oranında kuru tuz ilave edilerek iyice karıştırılmış ve cam kavanozlara boşluk kalmayacak şekilde sıkıca dolmuştur. Kavanozlara örnek kodu, üretim tarihi ve isim bilgisi taşıyan etiket yapıştırıldıktan sonra, kavanozların üst kısımlarına kaba filtre kağıdı kapatılmış ve ters çevrilerek 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra peynir örnekleri önce 10 °C'de 10 gün, sonra kalan süreyi 4 °C sıcaklıkta olmak üzere toplamda 180 gün olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşmanın 0., 30., 60., 90. ve 180. günlerinde öngörülen analizler yapılmıştır. Peynir üretimi iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Analizler

Tulum peynir örneklerinde kuru madde (%), yağ (%), tuz (%), asitlik (%) ve pH analizleri Kurt vd. (1996)'ya göre yapılmıştır. Suda çözünür azot tayini, protein olmayan azot oranının belirlenmesi, amino azot oranının belirlenmesi Bütikofer vd. (1993) tarafından verilen yöntem esas alınarak yapılmıştır. Asitlik derecesi tayini (ADV), Salji ve Kroger (1981) ile Case vd. (1985)'in önerdiği metotla yapılmıştır. Örneklerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı Plate Count Agar (PCA) kullanarak Messer vd. (1985)'e göre; maya ve küf sayımı Potato Dextrose Agar (PDA) kullanarak Frank vd. (1985)'ne göre yapılmıştır. Duyusal analizler için "sınıflama testi" kullanılmıştır. Duyusal analizler 20 kişilik eğitilmiş panelistlerce gerçekleştirilmiştir (Metin, 1977). Verilerin analiz edilmesinde varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır (Devore ve Peck, 1993). İstatistikî analizlerin yapılmasında "SPSS 20" programından faydalanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Hammadde Özellikleri

Çalışmada hammadde olarak kullanılan inek süütünün pastörizasyondan önce (çiğ) ve pastörizasyondan sonra kuru madde değerleri

Tulum peyniri üretiminde kefir starteri kullanımı

sırasıyla % 12.01±0.035 ve 12.35±0.502, yağ değerleri % 3.70±0.141 ve 3.55±0.141, asitlik değerleri % 0.18±0.021 ve 0.17±0.021 ve pH değerleri 6.65±0.085 ve 6.68±0.078 olarak saptanmıştır.

Kimyasal Değişmeler

Çiğ süt (ÇTP), mezofilik starter kültür (MTP) ve kefir kültürü (KTP) kullanılarak üretilen tulum peynir örneklerinde meydana gelen kimyasal değişmeler Çizelge 1’de sunulmuştur.

Çizelge 1. Tulum peynir örneklerinde meydana gelen kimyasal değişmeler
Table 1. Changes in chemical properties of Tulum cheese samples

Özellikler/ Properties	Peynirler/ Cheeses	Olgunlaşma zamanı (Gün)/ Ripening period (Day)					Genel Ortalama / General mean (N=10)
		(x̄±SD) (n=2)					
		0	30	60	90	180	
Kurumadde/ Dry matter (%)	ÇTP	55.77±0.431 ^a	55.79±0.827 ^a	57.55±0.156 ^a	58.43±1.895 ^a	58.35±2.836 ^a	57.18±1.717 ^{A*}
	MTP	54.55±0.247 ^b	55.36±1.259 ^{ab}	55.16±1.414 ^{ab}	56.18±1.513 ^{ab}	57.90±0.099 ^a	55.83±1.468 ^A
	KTP	50.47±0.658 ^a	51.30±2.850 ^a	52.15±1.853 ^a	52.54±0.453 ^a	54.39±1.181 ^a	52.17±1.856 ^B
Yağ/Fat(%)	ÇTP	25.67±0.233 ^b	28.25±0.354 ^a	28.75±0.354 ^a	28.38±1.945 ^a	28.50±0.707 ^a	27.91±1.392 ^A
	MTP	27.25±1.534 ^a	28.00±1.414 ^a	28.00±1.414 ^a	28.00±1.414 ^a	29.50±0.707 ^a	28.15±1.259 ^A
	KTP	23.13±0.884 ^a	24.38±1.945 ^a	24.75±0.354 ^a	25.88±0.884 ^a	26.00±0.707 ^a	24.83±1.380 ^B
Tuz/Salt (%)	ÇTP	2.92±0.085 ^b	3.21±0.163 ^b	3.58±0.205 ^{ab}	3.72±0.403 ^{ab}	4.21±0.665 ^a	3.53±0.541 ^A
	MTP	2.98±0.559 ^b	3.15±0.163 ^b	3.66±0.48 ^{ab}	3.69±0.283 ^{ab}	4.22±0.332 ^a	3.54±0.547 ^A
	KTP	2.86±0.651 ^b	2.92±0.240 ^b	3.24±0.205 ^{ab}	3.49±0.085 ^{ab}	4.07±0.120 ^a	3.31±0.524 ^A
Asitlik / Acidity (%)	ÇTP	0.38±0.007 ^b	0.43±0.02 ^b	0.38±0.042 ^b	0.57±0.028 ^{ab}	0.70±0.156 ^a	0.49±0.144 ^A
	MTP	0.32±0.127 ^b	0.29±0.007 ^b	0.35±0.085 ^b	0.38±0.02 ^b	0.61±0.085 ^a	0.39±0.135 ^{AB}
	KTP	0.18±0.064 ^b	0.23±0.035 ^b	0.36±0.057 ^{ab}	0.37±0.14 ^{ab}	0.50±0.007 ^a	0.33±0.132 ^B
pH	ÇTP	5.68±0.085 ^c	5.77±0.092 ^{bc}	5.89±0.050 ^{abc}	5.96±0.106 ^{ab}	5.98±0.028 ^a	5.85±0.134 ^A
	MTP	5.76±0.078 ^a	5.83±0.07 ^a	5.84±0.19 ^a	5.97±0.035 ^a	5.95±0.042 ^a	5.87±0.112 ^A
	KTP	6.08±0.219 ^a	6.05±0.078 ^a	5.90±0.127 ^a	5.85±0.212 ^a	5.74±0.403 ^a	5.92±0.220 ^A

ÇTP: Çiğ süttten yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made with raw milk*, MTP: Mezofilik kültür kullanılarak yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made using mesophilic culture*, KTP: Kefir kültürü kullanılarak yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made using kefir starter*, x̄±SD: Ortalama ve standart sapma/ *Mean and standard deviation*, n= Her bir periyotta analiz edilen örnek sayısı/ *Number of samples analyzed in each period*, N: Analiz edilen toplam örnek sayısı/ *Number of total samples analyzed*, *: Her bir özellik bakımından aynı sırada farklı küçük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı/ *Means bearing different small letters in the same row are significantly differ from each other for each property (P<0.05)*, aynı olanlar farksızdır/ *the same ones are not different (P>0.05)*. **: Her bir özellik bakımından aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı/ *Means bearing different capital letters in the same column are significantly differ from each other for each property (P<0.05)*, aynı olanlar farksızdır/ *the same ones are not different (P>0.05)*.

Çizelgeden görüleceği üzere en düşük kuru madde değeri KTP peynir örneklerinden elde edilirken, en yüksek kuru madde değeri ÇTP örneklerinden elde edilmiştir. Yapılan istatistiki analizler

neticesinde, en düşük kuru madde değerine sahip KTP örnekleri ile diğerleri arasındaki fark önemli ($P < 0.05$) çıkmıştır. KTP örneklerinde kuru madde değerinin düşük çıkması, bir başka ifadeyle

örneklerde su miktarının fazla olması kefir starteri mikrobiyotasında yer alan geniş yelpazedeki mikroorganizmaların mayalama esnasında üretmiş oldukları ekzopolisakkaritlerden ileri gelmiş olabilir. Milci ve Yaygın (2005) kefir starter kültürü içerisinde yer alan bazı mikroorganizmaların ekzopolisakkarit ürettiğini ve bunun neticesinde kefir starter kültürünün bazı peynirlerde su tutma kapasitesini etkilediğini belirtmektedirler. Diğer yandan her üç peynir örneğine ait kuru madde değerleri olgunlaşma boyunca artış göstermiş ve en yüksek değerler olgunlaşmanın 180. gününde elde edilmiştir. Artışın nedeni, peynir ambalaj kaplarının ağız kısmının açık bırakılarak ters çevrilmesi ve bu sayede de peynir kütesinden suyun uzaklaşmasına bağlanabilir. Ancak, her üç peynir örneği grubunda olgunlaşma boyunca kuru madde değerinde meydana gelen artış istatistikî bakımdan sadece MTP peynirinde önemlidir ($P < 0.05$). KTP peynir örneklerinden elde edilen değerler Demirtaş (2018) tarafından elde edilen değerlere benzerlik gösterirken, ÇTP ve MTP örneklerine ait sonuçlar Tarakçı vd. (2005)'in elde ettiği sonuçlarla (% 57.75) benzer bulunmuştur.

Çalışma boyunca üretilen peynir örneklerine ait yağ değerleri incelendiğinde (Çizelge 1), en düşük yağ değeri KTP örneklerinde ve en yüksek yağ değeri ise MTP örneklerinden elde edilmiştir. Yapılan istatistikî değerlendirmelerden KTP örneklerinin sahip olduğu yağ değerleri ile diğerleri arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$). Peynir örneklerinin yağ değerleri, kuru madde değerlerine bağlı olarak oransal olarak yüksek veya düşük çıkmıştır. Olgunlaşma boyunca yağ değerlerinde her üç örnekte artış meydana gelmişse de bu artış istatistikî bakımdan (ÇTP peynirinde olgunlaşmanın ilk günü hariç) önemsizdir ($P > 0.05$). Yağ değerlerinde olgunlaşma boyunca meydana gelen artışın, peynir örneklerinin su kaybetmesiyle kuru maddede meydana gelen artışa bağlı olarak arttığı söylenebilir. ÇTP ve MTP peynir örneklerinin yağ değerleri Kurt vd. (1991)'nin Erzincan Tulum peyniri için verdikleri değerlerle benzer bulunmuştur.

Çalışmada üretilen ÇTP, MTP ve KTP örneklerine ait tuz değerleri incelendiğinde (Çizelge 1), her üç peynirin tuz değerleri birbirine yakın çıkmakla beraber en düşük oran KTP örneklerinde rastlanmıştır. Yapılan istatistikî değerlendirme neticesine her üç peynir grubunun tuz değerleri arasında fark önemsiz ($P > 0.05$) çıkmıştır. Diğer yandan her üç peynir grubunun tuz değerleri olgunlaşma boyunca artmış ve en yüksek değerler olgunlaşmanın 180. gününde elde edilmiştir ($P < 0.05$). Bunun nedeni, peynirlerde kapların ağız kısmının açık ve ters çevrilmiş olması nedeniyle meydana gelen su kaybı sonucu artan kuru madde değerinden dolayı oransal bir artış olarak açıklanabilir. Elde edilen tuz oranlarının Sert (2011)'in tulum peynirleri üzerinde yapmış olduğu çalışmada olgunlaşmanın 180. gününde elde ettiği tuz değerlerinden düşük, Karagözlü vd. (2009) ile Tarakçı (2005)'in rapor ettiği tuz değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Her üç peynir örneğinin sahip olduğu genel ortalama asitlik değeri birbirinden farklıdır (Çizelge 1). En düşük asitlik değerine KTP peynir örnekleri sahip olmuştur ($P < 0.05$). En yüksek değer ise ÇTP örneklerinde tespit edilmiştir. Bunun sebebi ÇTP örneklerinde sütün pastörize edilmeden çiğ kullanılmış olmasıdır. Zira çiğ sütler mikroorganizma çeşitliliği bakımından daha zengindir (Sert ve Akın, 2008). Peynirlerin 180 günlük olgunlaşma periyodu boyunca her üç örnekte asitlik değeri artmıştır ($P < 0.05$). Sonuçlar Sert vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada elde edilen değerlerden düşüktür.

Peynir örneklerinin genel ortalama pH değerleri birbirine yakın çıkmıştır (Çizelge 1) ($P > 0.05$). ÇTP örnekleri hariç, diğer örneklerde olgunlaşma boyunca pH değerlerinde meydana gelen değişim önemli değildir ($P > 0.05$). Elde edilen değerler Tarakçı vd. (2005)'in elde ettiği değerlerden yüksek, Demirtaş (2018)'in rapor ettiği değerlere yakın çıkmıştır.

Biyokimyasal Değişmeler

Tulum peyniri örneklerinin biyokimyasal özelliklerindeki değişmeler Çizelge 2'de bir araya getirilmiştir.

Çizelge 2. Tulum peynir örneklerinin biyokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler
Table 2. Changes in biochemical properties of Tulum cheese samples

Özellikler/ Properties (%)	Peynirler/ Cheeses	Olgunlaşma zamanı (Gün)/ Ripening period (Day)					Genel Ortalama / General mean (N=10)
		$(\bar{x} \pm SD)$ (n=2)					
		0	30	60	90	180	
Suda Çözünen Azot / Water soluble nitrogen	ÇTP	0.121±0.021 ^{b*}	0.176±0.106 ^b	0.428±0.059 ^b	0.538±0.153 ^b	1.471±0.338 ^a	0.547±0.530 ^{A**}
	MTP	0.140±0.064 ^b	0.256±0.042 ^b	0.353±0.030 ^b	0.463±0.057 ^b	0.884±0.257 ^a	0.419±0.285 ^A
	KTP	0.137±0.034 ^c	0.265±0.013 ^c	0.408±0.066 ^b	0.488±0.076 ^b	0.727±0.045 ^a	0.405±0.215 ^A
Protein Olmayan Azot / Non protein nitrogen	ÇTP	0.100±0.000 ^d	0.065±0.006 ^d	0.275±0.061 ^c	0.509±0.001 ^b	0.828±0.066 ^a	0.355±0.301 ^A
	MTP	0.138±0.103 ^a	0.242±0.280 ^a	0.235±0.004 ^a	0.315±0.004 ^a	0.672±0.339 ^a	0.320±0.246 ^A
	KTP	0.074±0.018 ^c	0.133±0.132 ^c	0.221±0.011 ^{bc}	0.331±0.008 ^{ab}	0.429±0.045 ^a	0.237±0.144 ^A
Amino Azot / Amino nitrogen	ÇTP	0.035±0.004 ^a	0.051±0.037 ^a	0.096±0.019 ^a	0.163±0.004 ^a	0.182±0.165 ^a	0.105±0.084 ^A
	MTP	0.042±0.004 ^b	0.053±0.034 ^{ab}	0.077±0.001 ^{ab}	0.107±0.009 ^{ab}	0.199±0.118 ^a	0.095±0.072 ^A
	KTP	0.026±0.000 ^b	0.044±0.025 ^b	0.052±0.001 ^b	0.095±0.010 ^a	0.101±0.001 ^a	0.063±0.032 ^A
Asitlik Derecesi / Acid degree value	ÇTP	1.53±0.269 ^b	1.69±0.608 ^b	1.81±0.148 ^b	4.81±0.099 ^a	4.91±0.163 ^a	2.95±1.663 ^A
	MTP	1.36±0.099 ^b	1.22±0.247 ^b	1.20±0.205 ^b	1.69±0.127 ^b	3.28±0.884 ^a	1.75±0.886 ^B
	KTP	1.25±0.064 ^b	1.05±0.332 ^b	1.01±0.085 ^b	1.47±0.050 ^b	2.70±0.219 ^a	1.49±0.671 ^B

ÇTP: Çiğ süttten yapılan tulum peyniri/ Tulum cheese made with raw milk, MTP: Mezofilik kültür kullanılarak yapılan tulum peyniri/ Tulum cheese made using mesophilic culture, KTP: Kefir kültürü kullanılarak yapılan tulum peyniri/ Tulum cheese made using kefir starter, $\bar{x} \pm SD$: Ortalama ve standart sapma/ Mean and standard deviation, n= Her bir periyotta analiz edilen örnek sayısı/ Number of samples analyzed in each period, N: Analiz edilen toplam örnek sayısı/ Number of total samples analyzed, *: Her bir özellik bakımından aynı sırada farklı küçük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı/ Means bearing different small letters in the same row are significantly differ from each other for each property ($P < 0.05$), aynı olanlar farksızdır/ the same ones are not different ($P > 0.05$). **: Her bir özellik bakımından aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı/ Means bearing different capital letters in the same column are significantly differ from each other for each property ($P < 0.05$), aynı olanlar farksızdır/ the same ones are not different ($P > 0.05$).

Çizelge 2'nin incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, örneklerin genel ortalama suda çözünür azot değerleri ÇTP örneklerinde en yüksek, diğer örneklerde birbirine yakın çıkmıştır ($P > 0.05$). Olgunlaşma süresi arttıkça örneklerin suda çözünür azot değerleri de artmıştır. En yüksek suda çözünür azot değeri olgunlaşmanın 180. gününde ÇTP örneklerinden elde edilmiştir. Bunu sırayla MTP ve KTP örnekleri takip etmiştir. Analiz edilen her üç peynir grubunda olgunlaşmanın 180. gününde elde edilen değerler, olgunlaşmanın diğer günlerinde elde edilen değerlere göre istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Elde edilen suda çözünür azot değerleri Demirtaş (2018)'in elde ettiği sonuçlardan yüksek çıkmıştır. Gerek genel ortalama olarak ve gerekse olgunlaşma boyunca ÇTP peynirlerinde daha fazla suda çözünür azot

değerleri tespit edilmesinin sebebi, bu örneklerin çığ süttten yapılmış olmalarıdır. Benzer sonuçlar Öner vd. (2005) tarafından da rapor edilmiştir.

Çalışmada üretilen peynir örneklerinin protein olmayan azot değerleri genel ortalamaları en yüksek ÇTP peynir örneklerinde, en düşük KTP örneklerinde tespit edilmiştir (Çizelge 2) ($P > 0.05$). ÇTP örneklerinde protein olmayan azot değerlerinin yüksek oluşu bu peynirin elde edildiği süttün çığ olmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü çığ sütte mikroorganizma çeşitliliği daha yüksek olduğundan ortama salınan enzim çeşitliliği de daha yüksek olmaktadır (Metin, 2001). Olgunlaşma boyunca her üç peynir grubunda protein olmayan azot değerleri artmış ve bu artış 180. günde en yüksek olmuştur. Ancak, sadece ÇTP ve KTP örneklerinin 180. günü ile

olgunlaşmanın diğer günleri arasında fark önemlidir ($P < 0.05$). Erdem ve Patır (2017) tarafından rapor edilen protein olmayan azot değerleri; ÇTP örneklerine ait değerlerden düşük, MTP örneklerine ait değerlerle benzer ve KTP örneklerine ait değerlerden yüksektir.

Peynir örneklerinin genel ortalama amino azot değerleri en yüksek (% 0.105) ÇTP örneklerinde saptanmıştır (Çizelge 2). En düşük değer (% 0.063) ise KTP örneklerinden elde edilmiştir. Ancak aradaki fark önemsiz ($P > 0.05$) çıkmıştır. Diğer yandan olgunlaşma boyunca tüm örneklerde amino azot değerlerinde artış meydana gelmiştir. KTP ve MTP örneklerinin amino azot değerleri olgunlaşmanın ilk günlerine kıyasla 180. gününde önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Elde edilen değerler Tarakçı ve Durmuş (2016)'un elde ettiği değerlerden düşüktür.

Asitlik derecesi değeri yağın parçalanmasına bağlı olarak peynirlerde gelişen lipoliz düzeyini göstermektedir. Çalışmada üretilen peynirlerin genel ortalama lipoliz değerleri en yüksek ÇTP örneklerinden elde edilmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 2). Bu peynir grubunun çığ süttten yapılmış olması nedeniyle süttteki doğal lipazların ve çığ süttteki mikroorganizma çeşitliliğinin elde edilen sonuçlarda etkili olduğu (Metin, 2001) düşünülmektedir. En düşük asitlik derecesi değerleri de KTP peynir örneklerinden elde edilmiştir. Öte yandan her üç peynir grubunda asitlik derecesi değerleri olgunlaşma boyunca artmış ve en yüksek değerler olgunlaşmanın son gününde (180. gün) elde edilmiştir ($P < 0.05$). ÇTP örneklerinden elde edilen asitlik derecesi değerleri, Özcan ve Kural (2012)'nin çığ süttten ve lipaz enzimi ilave ederek ürettikleri Tulum peynirlerinden elde ettikleri değerler ile benzerlik göstermiş, MTP ile KTP örneklerine ait değerlerden ise düşük çıkmıştır.

Çalışmada üretilen peynir örneklerinin proteoliz ve lipoliz değerlerindeki değişimler genel olarak değerlendirildiğinde, çığ süttten yapılan ÇTP örneklerinde en yüksek değerlere ulaşıldığı, bunun da çığ süttteki mikroorganizma ve enzim çeşitliliğine bağlamak mümkündür. Diğer yandan KTP örneklerinde proteoliz ve lipolizdeki gelişmenin daha yavaş cereyan etmesi,

olgunlaşmanın daha kontrollü gitmesi olarak değerlendirilebilir.

Mikrobiyolojik Değişmeler

Çalışmada üretilen tulum peynir örneklerinde meydana gelen mikrobiyolojik değişimler Çizelge 3'te sunulmuştur.

Tulum peyniri örneklerindeki genel ortalama TMAB sayısı her üç peynir örneğinde birbirine yakın ve yaklaşık 7 log kob/g şeklindedir ($P > 0.05$). Olgunlaşma başlangıcında çığ süt ile yapılmış (ÇTP) örneklerde TMAB sayısı, diğerlerine göre yaklaşık 1 log kob/g birim daha fazladır. KTP örneklerinde sayı, olgunlaşmanın 30. gününde diğerlerinden daha yüksek ($P < 0.05$) bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında her üç grup peynir örneğinde TMAB sayısında olgunlaşma boyunca azalma meydana gelmiştir ($P > 0.05$) (KTP örneğinde 30. gün hariç). Çalışmadan elde edilen değerler, Ceylan vd. (2007) tarafından modifiye yöntemle yapılan tulum peynir örneklerinden elde ettikleri değerlere yakındır. Demir vd. (2018) tarafından Şavak Tulum peyniri üzerine yapılan bir çalışmada tespit edilen değerler, ÇTP örnekleri ile benzerlik gösterirken MTP ve KTP örneklerinden yüksektir.

Çizelge 2'nin incelenmesinden anlaşılacağı üzere, kefir kültürü ile yapılan KTP kodlu peynirlerin genel ortalama maya küf sayıları diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur ($P > 0.05$). Diğer yandan, KTP peynir örneklerinin maya ve küf sayıları olgunlaşmanın ilk gününde ÇTP örneklerinkinden yaklaşık 2 log kob/g, MTP örneklerinkinden yaklaşık 3 log kob/g birim daha yüksek bulunmuştur. Beklendiği üzere bunun sebebi ilave edilen kefir starter kültüründen kaynaklanmış olabilir. Maya ve küf sayıları olgunlaşma süresi boyunca her üç peynir grubunda düşüş göstermiştir. Düşüş sadece KTP peynir örneklerinde önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Peynirlerde maya ve küf sayılarının düşüş göstermesi olumlu karşılanmıştır. Zira tam tersi durum peynirlerde bozulma nedeni olarak dikkate alınmaktadır. ÇTP ve MTP için elde edilen sonuçlar Tarakçı vd. (2005)'in rapor ettiği sonuçlar ile benzerdir.

Çizelge 3. Tulum peynir örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler
Table 3. Changes in microbiological properties of Tulum cheese samples

Özellikler/ Properties (log kob/g)	Peynirler / Cheeses	Olgunlaşma zamanı (Gün) / Ripening period (Day) ($\bar{x} \pm SD$) (n=2)					Genel Ortalama / General mean (N=10)
		0	30	60	90	180	
	ÇTP	7.92±0.891 ^{a*}	7.44±1.435 ^a	7.09±1.245 ^a	6.93±0.078 ^a	6.81±0.686 ^a	7.24±0.850 ^{A**}
TMAB / <i>TMAB</i>	MTP	6.64±1.485 ^a	7.24±2.666 ^a	7.78±2.220 ^a	6.67±0.184 ^a	6.46±0.502 ^a	6.96±1.371 ^A
	KTP	6.76±0.467 ^b	8.67±1.032 ^a	6.90±0.382 ^b	6.89±0.714 ^b	6.23±0.297 ^b	7.09±0.993 ^A
Maya ve Küf / Yeasts and molds	ÇTP	5.43±1.315 ^a	5.26±1.245 ^a	5.51±2.171 ^a	3.81±0.099 ^a	3.63±1.061 ^a	4.73±1.333 ^A
	MTP	4.47±2.192 ^a	4.84±1.612 ^a	4.64±3.111 ^a	3.01±0.304 ^a	3.59±1.138 ^a	4.11±1.611 ^A
	KTP	7.40±0.834 ^a	5.11±0.127 ^b	5.11±0.354 ^b	4.79±0.354 ^b	4.24±1.096 ^b	5.33±1.243 ^A

ÇTP: Çiğ süttten yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made with raw milk*, MTP: Mezofilik kültür kullanılarak yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made using mesophilic culture*, KTP: Kefir kültürü kullanılarak yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made using kefir starter*, $\bar{x} \pm SD$: Ortalama ve standart sapma/ *Mean and standard deviation*, n= Her bir periyotta analiz edilen örnek sayısı/ *Number of samples analyzed in each period*, N: Analiz edilen toplam örnek sayısı/ *Number of total samples analyzed*, *: Her bir özellik bakımından aynı sırada farklı küçük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı/ *Means bearing different small letters in the same row are significantly differ from each other for each property (P<0.05)*, aynı olanlar farksızdır/ *the same ones are not different (P>0.05)*. **: Her bir özellik bakımından aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı/ *Means bearing different capital letters in the same column are significantly differ from each other for each property (P<0.05)*, aynı olanlar farksızdır/ *the same ones are not different (P>0.05)*.

Duyusal Özelliklerde Değişmeler

Çalışmada üretilen Tulum peynir örneklerine ait duyu analizi sonuçları Çizelge 4'te bir araya getirilmiştir. Çizelge, olgunlaşmanın gerek 90.

gününde ve gerekse 180. gününde, panelistlere sunulan örneklerin test ettikleri özelliğe göre yaptıkları ilk tercihlerini göstermektedir.

Çizelge 4. Peynirlerin duyu özelliklerine göre panelistlerin sıralama tercihi (%)
Table . Sorting preference of panelists according to the sensory properties of cheeses (%)

Olgunlaşma zamanı / Ripening period	Peynirler / Cheeses	Olgunlaşma zamanı (Gün) ($\bar{x} \pm SD$) (n=2)				
		Renk ve Görünüş / Color and appearance	Yapı ve Tekstür / Structure and texture	Koku / Smell	Lezzet / Taste	Genel Beğeni / General preference
90. gün / 90 th day	ÇTP	15.00±7.071	27.50±3.536	42.50±10.607	47.50±3.536	42.50±3.536
	MTP	35.00±14.142	40.00±7.071	27.50±10.607	32.50±3.536	35.00±7.071
	KTP	50.00±21.213	32.50±10.607	30.00±21.213	20.00±0.000	22.50±10.607
180. gün / 180 th day	ÇTP	25.00±21.213	40.00±14.142	45.00±7.071	40.00±14.142	45.00±7.071
	MTP	30.00±14.142	45.00±7.071	30.00±14.142	35.00±21.213	25.00±7.071
	KTP	45.00±7.071	15.00±21.213	25.00±21.213	25.00±7.071	30.00±0.000

ÇTP: Çiğ süttten yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made with raw milk*, MTP: Mezofilik kültür kullanılarak yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made using mesophilic culture*, KTP: Kefir kültürü kullanılarak yapılan tulum peyniri/ *Tulum cheese made using kefir starter*.

Panelistlerin (% 50'si), renk ve görünüş bakımından ilk sırada tercih ettikleri örnek kefir starteri ilave edilerek elde edilen peynir örnekleri (KTP) olmuştur (Çizelge 4). Bunu MTP örnekleri takip etmiştir. Bu tercih sırası 180. günde de değişmemiştir. Panelistler KTP örneklerinin daha açık renge (beyaz-krem) sahip olduklarını, bu

özelliği ile piyasada satılan tulum peynirlerine benzediklerini ifade etmişlerdir. Yapı ve tekstür bakımından panelistlerin % 40'ı MTP peynir örneklerini olgunlaşmanın 90. gününde, % 45'i de olgunlaşmanın 180. gününde ilk sıraya yerleştirmişlerdir. KTP peynirleri ise olgunlaşmanın 180. gününde ilk sırada en az tercih

edilmiştir. Çalışmada üretilen üç grup peynir içerisinde, gerek olgunlaşmanın 90. gününde ve gerekse olgunlaşmanın 180. gününde koku özellikleri bakımından panelistlerin çoğu ilk sıraya ÇTP örneklerini yerleştirmişlerdir. ÇTP peynirlerinin çiğ süttten yapılmış olması ve ayrıca daha zengin mikrobiyotaya sahip olması dolayısıyla peynirde daha zengin koku bileşenlerinin oluşması bu sonucun nedeni olarak ileri sürülebilir. Lezzet bakımından gerek olgunlaşmanın 90. gününde ve gerekse 180. gününde ÇTP peynir örneklerini ilk sıraya yerleştiren panelist oranı en yüksek olmuştur. Bunu sırayla MTP ve KTP örnekleri takip etmiştir. Bazı panelistlerin yapmış oldukları açıklamalarda, ÇTP kodlu örneklerde ransit tat hissedildiği bu tadın piyasadaki tulum peynirlerinin tadına benzetildiği görülmüştür.

Genel beğeni bakımından, panelistlerin çoğu ÇTP örneklerini duysal analizlerin yapıldığı her iki periyotta ilk sıraya yerleştirmişlerdir (Çizelge 4). Benzer sonuçlar Sert (2011) tarafından da rapor edilmiştir. ÇTP örneklerinden sonra, olgunlaşmanın 180. gününde KTP örnekleri ilk sıraya yerleştirilmiştir. Panelistlerin tercihleri farklı olsa da, panelistler açıklamalarında peynir örneklerinin genel özelliklerinin olgunlaşma sonuna doğru birbirine yaklaştığını ve aradaki farkın kapandığını ifade etmişlerdir. Bu sonuç tulum peyniri üretiminde kefir starteri kullanmanın mezofilik kültür kullanımına alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır. Goncu ve AlpKent (2005) ve Mei vd. (2015) de benzer bir yorumda bulunmuşlardır.

SONUÇ

Çalışmada çiğ süt, mezofilikstarter kültür ve kefir kültürü kullanılarak üretilen tulum peynir örnekleri 6 ay boyunca analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre: 1) Tulum peynir örneklerinin genel ortalama kuru madde, yağ ve asitlik değerleri en yüksek ÇTP örneklerinde tespit edilmiştir. KTP peynir örnekleri diğerlerine göre en düşük kuru madde değerine sahip olmuştur. Ayrıca olgunlaşma boyunca peynir örneklerinde nem kaybı oluşmuştur. 2) Peynir örneklerinde genel ortalama suda çözünen azot, trikloroasetik asitte çözünen azot ve asitlik derecesi değerleri en

yüksek ÇTP örneklerinden elde edilmiştir. En düşük değerler ise KTP örneklerinden elde edilmiştir. 3) Analiz edilen peynir örneklerinde, genel ortalama toplam mezofilik aerob bakteri sayısı (TMAB) her üç örnekte de birbirine yakın çıkmıştır. Öte yandan genel ortalama maya-küf sayıları en yüksek KTP örneklerinden elde edilmiştir. 4) Yapılan duysal analizler neticesinde; genel beğeni bakımından ilk sırada yüksek oranda tercih edilen ÇTP örnekleri olmuş, bunu KTP örnekleri takip etmiştir. Duysal analizlere katılan panelistler tarafından olgunlaşma sonuna doğru tüm peynirler arasındaki farkın azaldığı ve kapanmaya doğru gittiği tespiti yapılmıştır. Özetle, Tulum peyniri üretiminde kefir starter kültürü kullanımının peynirde daha kontrollü bir olgunlaşmaya neden olduğu, su tutma kapasitesini artırdığı (dolayısıyla randımanı artırabileceği) ve alternatif starter kültür olarak kullanılabilceği söylenebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

SE, makalenin metodoloji, veri elde edilmesi, biçimsel analiz, yazma-rijinal taslak ve görselleştirmesine katkı sunmuştur. HC, kavramsallaştırma, metodoloji, biçimsel analiz, yazma-rijinal taslak, yazma-inceleme ve düzenleme, görselleştirme ve danışman olarak katkı sağlamıştır. ES, makalenin metodoloji, biçimsel analize, veri elde edilmesine katkı sağlamış ve istatistiksel analiz yapmıştır. Yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Adıgüzel, G., Atasever, M., Karakaya, Y., Aydemir, M., Ünsal, C. (2009). Chemical, microbiological and sensorial properties of Tulum cheese. *Asian Journal of Chemistry*, 21(1): 572-580.

Akpınar, A., Yerlikaya, O., Kınık, Ö., Korel, F., Kahraman, C., Uysal, H.R. (2017). Some physicochemical characteristics and aroma compounds of Izmir Tulum cheese produced with different milk types. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54 (1): 27-35.

- Bütikofer, U., Rüeegg, M., Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese evaluation of a collaborative study. *LWT-Food Science and Technology*, 26(3): 271-275.
- Case, R.A., Bradley, R.L., Williams, R.R. (1985). *Chemical and physical methods. In standard methods for the examination of dairy products*. 15th Press, American Public Health Association, Washington D.C.
- Ceylan, Z.G., Çağlar, A., Çakmakçı, S. (2007). Some physicochemical, microbiological and sensory properties of Tulum cheese produced from ewe's milk via a modified method. *Int J Dairy Technol*, 60(3): 191-197.
- Çakmakçı, S. (2008). Peynirde olgunlaşma. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 761-762 s.
- Çakmakçı, S., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A.A., Gurses, M., Gündoğdu, E., (2008). Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. *World J Microbiol Biotechnol*, 24(3): 293-299.
- Demirtaş, M. (2018). Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen tulum peynirlerinin olgunlaşması esnasında meydana gelen değişimler. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bolu, Türkiye, 68 s.
- Devore, J., Peck, R. (1993). *Statistics: The exploration and analysis of data*, Duxbury Press, An imprint of Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA.
- Erdem, G., Patır, B. (2017). Elazığ'da tüketime sunulan tulum peynirlerinde histamin düzeyleri ile bazı kimyasal kalite parametreleri üzerine araştırmalar. *F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.*, 31(3): 235-241.
- Esmek, E.M., Güzeler, N. (2015). Kefir ve kefir kullanılarak yapılan bazı ürünler. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 19(4): 250-258.
- Frank, J.F., Hankin, L., Koburger, J.A., Marth, E.H. (1985). *Test for groups of microorganisms. In "Standart Methods for the examination of Dairy Products*. 14th edition APHA, Washington D.C.
- Goncu, A., Alpken, Z. (2005). Sensory and chemical properties of white pickled cheese produced using kefir, yogurt or a commercial cheese culture as a starter. *Int Dairy J*, 15:771-776.
- Hayaloğlu, A.A., Fox, P.F., Güven, M., Çakmakçı, S. (2007). Cheese of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Le Lait*, 87(2): 79-95.
- Kara, R. (2011). Geleneksel bir peynir: Afyon Tulum peynirinin karakterizasyonu ve deneysel olarak inoküle edilen *Brucella abortus* ve *Brucella melitensis* suşlarının üreme ve canlı kalma yeteneklerinin araştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Afyon, Türkiye, 168 s.
- Karagözlü, C., Kılıç, S., Akbulut, N. (2009). Some characteristics of cimi tulum from producing goat milk. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*, 15(4): 292-297.
- Kourkoutas, Y., Kandyli, P., Panas, P., Dooley, J.S.G., Nigam, P., Koutinas. (2006). Evaluation of freeze-dried kefir co-culture as starter in feta-type cheese production. *Appl Environ Microbiol*, 72(9): 6124-6135.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1991). Erzincan Tulum (Şavak) peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 16(5): 295-302.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1996). *Süt ve mamülleri muayene ve analiz metotları rehberi*, Genişletilmiş 6. Baskı, No: 252/D, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum.
- Mei, J., Feng, F., Guo, Q., Li, Y., Wu, Y. (2015). Evaluation of freeze-dried tibetan kefir co-culture as a starter for production of Bodljong cheese. *Food Sci Biotechnol*, 24(3): 1017-1027.
- Messer, I.W., Behney, H.M., Luedecke, L.O. (1985). Microbial count method. In: *Standart methods for the examination of dairy products*. 15th Edition APHA, Washington D.C.
- Metin, M. (1977). *Süt ve mamüllerinde kalite kontrolü*. Ankara Ticaret Borsası Yayınları No: 1, Ankara.
- Metin, M. (2001). *Süt teknolojisi: Sütün bileşimi ve işlenmesi*. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları

No:33, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.

Milci, S., Yaygın, H. (2005). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritler ve süt ürünlerindeki fonksiyonları. *GIDA*, 30 (2): 123-129.

Öner, Z., Karahan, A.G., Aloğlu, H. (2005). Starter kültür kullanılarak yapılan Tulum peynirlerinin bazı özellikleri. *GIDA*, 30(1): 57-62.

Özcan, T., Kurdal, E. (2012). The effects of using a starter culture, lipase and protease enzymes on ripening of Mihalıc cheese. *Int J Dairy Technol*, 65(4): 585-593.

Salji, J.P., Kroger, M. (1981). Proteolysis and lipolysis in ripening Cheddar cheese made with conventional bulk starter and with frozen concentrated direct-to-the vat starter culture. *J Food Sci*, 46: 1345-1348.

Sert, D., Akın, N. (2008). Türkiye’de bazı önemli tulum peyniri çeşitlerinin geleneksel üretim metotları. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 717-720 s.

Sert, D. (2011). Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirlerinde kullanılan sütün orijinine

bağlı olarak olgunlaşma esnasında meydana gelen bazı değişmelerin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Konya, Türkiye, 222 s.

Sert, D., Akın, N., Aktümsek, A. (2014). Lipolysis in Tulum cheese produced from raw and pasteurized goats’ milk during ripening. *Small Ruminant Res*, 121: 351-360.

Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Sancak, H., Ekici, K. (2005). İnek sütünden üretilerek cam kavanozlarda olgunlaştırılan Tulum peynirinin bazı özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1): 9-14.

Tarakçı, Z., Durmuş, Y. (2016). Effects of packaging materials on some ripening characteristics of Tulum cheese. *Mljkarstvo*, 66(4): 293-303.

Tekinşen, K.K., Akar, D. (2017). Erzincan Tulum peyniri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(2): 218-226.



PİYASADA SATIŞA SUNULAN BALDO ÇEŞİDİ PİRİNÇLERİN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN ORJİNAL ÇEŞİTLE KARŞILAŞTIRILMASI

Mehmet Metin Yazman¹, Mehmet Köten^{2*}, Ayhan Atlı³

¹Giresun Üniversitesi, Espiye Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Giresun, Türkiye

²Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Kilis, Türkiye

³Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye

Geliş / Received: 03.01.2020; Kabul / Accepted: 15.07.2020; Online baskı / Published online: 04.08.2020

Yazman, M. M., Köten, M., Atlı, A. (2020). Piyasada satışa sunulan Baldo çeşidi pirinçlerin kalite özelliklerinin orijinal çeşitle karşılaştırılması. *GIDA* (2020) 45(4)721-735 doi: 10.15237/gida.GD20014

Yazman, M. M., Koten, M., Atli, A. (2020). Comparison of the quality characteristics of the Baldo varieties purchased from the market with the original seed Baldo variety. GIDA (2020) 45(4)721-735 doi: 10.15237/gida.GD20014

ÖZ

Bu çalışma piyasadadan satın alınan Baldo çeşidi pirinçlerin kalite özelliklerinin hem Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'nde belirtilen özelliklerle hem de orijinal tohumluk Baldo çeşidi ile karşılaştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla farklı marketlerden 17 adet Baldo pirinç örneği satın alınmış ve örnekler fiziksel, kimyasal ve pişme özellikleri bakımından analiz edilmiştir. Pirinç örneklerinin analiz sonuçları Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo pirinç çeşidinin analiz sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Toplam 17 örnekte yapılan analizler sonucunda; uzunluk 6.25-7.05 mm, uzunluk/genişlik oranı 2.24-2.77, genişlik 2.53-3.02 mm, bin dane ağırlığı 19.75-26.62 g, hektolitreye ağırlığı 82.00-86.73 kg/hl, kül miktarı %0.33-0.51, protein miktarı %7.02-8.80, jel uzunluğu (konsistens) 49.00-69.50 mm, alkalide yayılma değeri (jelatinleşme sıcaklığı) 3.50-7.00, amiloz miktarı %27.70-30.75, pişme süresi 16.11-19.33 dakika, pişme kaybı %3.92-4.81, toplam organik madde miktarı 2.01-2.31 g/100g, su kaldırma oranı 1.73-1.99, hacim artış oranı 1.39-1.67 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Pirinç, pirinç kalitesi, pişme özellikleri, amiloz

COMPARISON OF THE QUALITY CHARACTERISTICS OF THE BALDO VARIETIES PURCHASED FROM THE MARKET WITH THE ORIGINAL SEED BALDO VARIETY

ABSTRACT

This study was conducted to compare the quality characteristics of the Baldo varieties purchased from the market with the characteristics specified in the Turkish Food Codex Rice Communique and with the original seed Baldo varieties. For this purpose, 17 Baldo rice samples were purchased from different markets and the samples were analyzed in terms of physical, chemical and cooking properties. The analysis results of the rice samples were compared with the analysis results of the original seed Baldo rice variety obtained from the Trakya Agricultural Research Institute. As a result

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mehmetkoten@gmail.com

☎ (+90) 533 765 5569

☎ (+90) 348 813 9392

Mehmet Metin Yazman; ORCID no: 0000-0002-7208-2012

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

Ayhan Atlı; ORCID no: 0000-0003-4207-6671

of analysis conducted on a total of 17 samples; length 6.25-7.05 mm, length/width ratio 2.24-2.77, width 2.53-3.02 mm, 1000 kernel weight 19.75-26.62 g, hectoliter weight 82.00-86.73 kg/hl, ash content 0.33-0.51%, protein content 7.02-8.80%, gel length (consistency) 49.00-69.50 mm, alkaline spreading value (gelatinization temperature) 3.50-7.00, amylose content 27.70-30.75%cooking time 16.11-19.33 minutes, cooking loss 3.92-4.81%, total organic matter content 2.01-2.31 g/100g, water uptake ratio 1.73-1.99, 1.39 volume increase ratio 1.39-1.67, has been identified.

Keywords: Rice, rice quality, cooking properties, amylose

GİRİŞ

Pirinç, *Oryza sativa* L. türüne giren kültür bitkilerinin tanesi olan çeltiğin tekniğine uygun olarak kavuzları soyulduktan sonra, çeşitli değirmenleme işlemleri uygulanarak embriyo ve kabuk ile alörönün kısmen veya tamamen alınması suretiyle elde edilen üründür (Anonymous, 2011a). Çeltik yeryüzünde buğday ve mısırdan sonra en fazla üretimi yapılan tahıl olup insan beslenmesinde besin kaynağı olarak kullanılan önemli bir tahıl cinsidir. Çeltiğin işlenmesi sonucu elde edilen pirinç, bileşiminde az miktarda protein içermesine rağmen amino asitlerce zengin olması nedeniyle özellikle yoğun olarak tüketildiği Uzakdoğu ülkelerinde önemli bir temel gıda maddesidir (Anonymous, 2011b).

Dünyada son yıllarda düzenli olarak artış gösteren pirinç üretimi 2009/10 sezonunda 440 milyon ton olarak gerçekleşmiş, 2017/18 sezonunda ise 494 milyon tona ulaşmıştır. 2018/19 sezonu küresel pirinç üretimi tahmini ise 500 milyon tonla en yüksek seviyeye çıkmıştır. Dünya pirinç üretiminde 2017/18 sezonu itibarıyla 149 milyon ton ile ilk sırada Çin gelmekte, Çin'i Hindistan, Endonezya, Bangladeş ve Vietnam takip etmektedir. Pirinç tüketiminde ise yine ilk sırada Çin gelmekte ve aynı şekilde Hindistan, Endonezya ve Bangladeş en büyük tüketici ülkeler olarak sıralanmaktadır. Dünya pirinç ticaretindeki en büyük ihracatçı ülkelerin Hindistan, Tayland ve Vietnam, en büyük ithalatçı ülkelerin ise Sahra-Altı Afrika, Çin, Benin ve Nijerya olduğu bildirilmektedir (IGC, 2019).

Türkiye, çeltik ve pirinçte ithalatçı bir ülke konumunda olmasına rağmen özellikle 2000 yılından sonra uygulamaya konulan tarımsal politika ve yapılan desteklemelerin yanında kaliteli ve yüksek verimli çeşitlerin kullanılması, çeltik yetiştirme tekniği uygulamalarının iyileştirilmesi ve çeltik üreticisinin modern tarım yöntemlerini

kullanmasına bağlı olarak üretimde ciddi artışlar olmuştur. Türkiye'de 2009 yılında 96.754 hektar alanda çeltik ekimi yapılırken bu alan 2018 yılında 120.137 hektara çıkmıştır. Aynı şekilde 2009'da 750.000 ton olan çeltik üretimi 2018 yılında 940.000 tona yükselmiştir. Buna bağlı olarak verimlilik de 2009'a oranla 2018 yılında 7 kg/da fazlalaşmıştır. Bu durum çeltik ekimindeki sürekli artışı kanıtlar niteliktedir. Pirinç üretim miktarı 2009 yılında 450 bin tonken bu rakam istikrarlı bir şekilde artarak, 2018 yılında 564 bin tona ulaşmıştır. Tüketim ise 2018 yılı itibarı ile 750 bin ton olarak gerçekleşmiştir (TMO, 2019).

Türkiye'de Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilmiş 20 çeltik çeşidi tescil edilmiş ve 3 çeltik çeşidi üretim izni almıştır. 2002 yılı itibarı ile geliştirilen bu çeşitlerden Osmancık-97, Rocca ve Baldo (üretim iznli İtalyan çeşidi) Türkiye çeltik ekiliş alanlarının %80'inden fazlasında yer tutmaktadır. Geri kalan %20'lik kısmın büyük bir bölümünü yine Enstitü tarafından geliştirilmiş diğer çeşitler oluşturmaktadır (Beşer vd., 2012).

Çeltiğin işlenmesinden sonra elde edilen pirinç, başlıca tam tane halinde buharla veya su ile pişirilerek, hızlı pişen ve kolay hazırlanabilen konserve pirinç olarak, kahvaltılık tahıl üretiminde, çocuk mamaları yapımında, hazır çorbalar, pudingler ve değişik soslarda koyulaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Bu geniş kullanım alanı nedeni ile kalitenin belirlenmesinde öncelikle pirincin son ürüne işlemeye uygunluğu dikkate alınmalıdır. Bunun yanında pirinç kalitesini değerlendirmede tüketici tercihleri de büyük önem taşımaktadır. Kalite istekleri ülkeden ülkeye hatta aynı ülke içinde farklı bölgelere göre değişiklik gösterir. Örneğin A.B.D'de tüketicilerin çoğu pişme sonunda şeklini koruyan, lapalaşmayan, diri kalabilen ve yüksek hacimli pirinçleri tercih ederken, uzak doğu ülkelerindeki

tüketiciler ise pişme sonrası sulu, lapamsı ve yapışkan özellik gösteren pirinçleri tercih etmektedirler (Juliano, 1985).

Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'ne göre pirincin farklı pirinç çeşitleri, sınıfları, grupları, tipleri ve menşei karıştırılarak piyasaya sunulmasına izin verilmemektedir. Tebliğde tam değirmenlenmiş pirinç; içerdiği kusurlu tane, organik ve inorganik yabancı madde miktarlarına göre 1. sınıf veya 2. sınıf olarak değerlendirilmiştir. Pirinçler, tane uzunluğuna göre uzun taneli pirinç, orta taneli pirinç ve kısa taneli pirinç olarak gruplandırılmış ve uzun taneli pirinçler ise Tip A, Tip B, Tip C olarak kendi aralarında uzunluk ve uzunluk / genişlik oranlarına göre sınıflandırılmıştır (Anonymous, 2011a).

Türkiye'de pazarlanan pirinçler Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'ne uygun olmalı ve piyasada satılan pirinçlerin özellikleri, kodekste belirtilen tanımındaki özellikleri taşımaktadır. Ayrıca etiket üzerindeki beyan edilen bilgiler ile ürün kalitesinin uyumlu olması gerekmektedir. Piyasada farklı uzunlukta ve değişik çeltik çeşitlerinin isimleri kullanılarak pirinç pazarlanmaktadır. Pazarlanan bu pirinçlerin etiketlerinde beyan edilen çeltik çeşitlerinin özelliklerini taşıyıp taşımadıkları ve Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'ne uygun olup olmadıkları konusunda bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada; piyasadaki Baldo ismi ile satılan çeşitli firmaların pirinçleri farklı satış yerlerinden alınıp bazı kalite özellikleri belirlenmiş ve bu özellikler Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'nde belirtilen özellikler ile Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin fiziksel, kimyasal ve pişme özellikleri ile karşılaştırılmıştır. Böylece hem pirinç örneklerinin kalite özellikleri ortaya konmuş hem de sonuçların Tebliğ ve orijinal çeşitle karşılaştırılması suretiyle etiket üzerinde yazılan pirinç çeşidinden daha düşük kaliteli çeşit karıştırılarak taşınış yapıp yapılmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada materyal olarak piyasadaki Baldo çeşit ismi ile satılan 12 firmaya ait 1 kg ambalajlı

paketlerde 12 adet Baldo ve yine aynı çeşit ismiyle 5 ayrı satış noktasından çuvalda (dökme) satılan pirinçlerden 1'er kg 5 adet alınmıştır. Bu örnekler (17 adet Baldo çeşit ismi ile satılan pirinç örneği) Gaziantep ve Şanlıurfa'daki marketlerden ve satış noktalarından temin edilirken, orijinal tohumluk Baldo çeşidi ise Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Toplamda 18 adet pirinç örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örneklerin ambalaj durumu ve etiket bilgileri Çizelge 1'de verilmiştir.

Yöntem

Fiziksel Analizler

Hektolitreye ağırlığı: Pirinç örneklerinde hektolitreye ağırlığı TS 3997 çeltik standardına göre 250 gramlık hektolitreye cihazında tayin edilmiş ve sonuçlar kilogram/hektolitreye (kg/hl) olarak verilmiştir (Anonymous, 2013).

Bin tane ağırlığı: TS 1136'da belirtilen yöntemle yapılmış ve sonuçlar kuru madde üzerinden gram olarak verilmiştir (Anonymous, 1972).

Uzunluk: Pirinç örneklerinde uzunluk tayini, Khush vd. (1979)'un bildirdiği metoda göre gerçekleştirilmiş ve pirinçler Çizelge 2'ye göre sınıflandırılmıştır.

Şekil: Pirinç örneklerinde şekil tayini, Khush vd. (1979)'un bildirdiği metoda göre tespit edilmiş ve pirinçler Çizelge 3'e göre sınıflandırılmıştır.

Kimyasal analizler

Kimyasal ve Fizikokimyasal Analizler

Nem miktarı tayini: Pirinç örneklerinde TS 3997 çeltik standardında belirtilen esaslara göre yapılmıştır (Anonymous, 2013).

Toplam kül miktarı tayini: Pirinç örneklerinde ICC-standart no: 104 metoduna göre kül fırınında 900°C'de yakılarak gerçekleştirilmiştir (ICC, 2002).

Protein miktarı tayini: Pirinç örneklerinde ICC-standart no: 105 metoduna göre yapılmıştır (ICC, 2002). Hesaplama için kullanılan faktör, pirinç için 5.95 alınmıştır.

Çizelge 1. Pirinç örneklerinin ambalaj durumu ve etiket bilgileri
 Table 1. Packing status and label informations of rice samples

Örnek No* Sample No*	Ambalaj Durumu Packing Status	Etiket Bilgisi Label Information
1	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip A, sınıf 1, kırık tane oranı maksimum %5 Long grain, type A, class 1, fracture grain rate max 5%
2	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip A, sınıf 1 Long grain, type A, class 1
3	Ambalajlı Packed	Etiket bilgisi yok No label information
4	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip A, sınıf 1 Long grain, type A, class 1
5	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip A, sınıf 1, kırık tane oranı maksimum %5 Long grain, type A, class 1, fracture grain rate max 5%
6	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip C, kırık tane oranı maksimum %5 Long grain, type C, fracture grain rate max 5%
7	Ambalajlı Packed	Tip A, sınıf 1, kırık tane oranı maksimum %5 Type A, class 1, fracture grain rate max 5%
8	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip A, sınıf 1, kırık tane oranı maksimum %5 Long grain, type A, class 1, fracture grain rate max 5%
9	Ambalajlı Packed	Uzun tane, tip A, sınıf 1, kırık tane oranı maksimum %5 Long grain, type A, class 1, fracture grain rate max 5%
10	Ambalajlı Packed	Etiket bilgisi yok No label information
11	Ambalajlı Packed	Uzun tane sınıf 1 Long grain, class 1
12	Ambalajlı Packed	Etiket bilgisi yok No label information
13	Dökme in bulk	Etiket bilgisi yok No label information
14	Dökme in bulk	Etiket bilgisi yok No label information
15	Dökme in bulk	Etiket bilgisi yok No label information
16	Dökme in bulk	Etiket bilgisi yok No label information
17	Dökme in bulk	Etiket bilgisi yok No label information
18**	Orijinal Original	Etiket bilgisi yok No label information

*1-17 arasındaki örnekler Gaziantep ve Şanlıurfa'daki marketlerden ve satış noktalarından alınmıştır

*1-17 samples were taken from markets and selling points in Gaziantep and Sanliurfa

** Orijinal tohumluk çeşit olan 18 nolu örnek Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir

** Sample number 18, the original seed variety, was obtained from the Trakya Agricultural Research Institute

Çizelge 2. Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği kapsamındaki pirinçlerin uzunluk ve uzunluk/genişlik oranları (Anonymous, 2011a)

Table 2. Length and length/width ratio of rice in Turkish Food Codex Rice Communique

Tip Type	Tane Uzunluğu Grain Length (mm)	Uzunluk/Genişlik Oranı Length / Width Ratio
Uzun Taneli Pirinç (Tip A) Long Grain Rice (Type A)	>6.7	$2 \leq - \leq 3$
Uzun Taneli Pirinç (Tip B) Long Grain Rice (Type B)	>6.7	>3
Uzun Taneli Pirinç (Tip C) Long Grain Rice (Type C)	$6.0 \leq - \leq 6.7$	$2 \leq - \leq 3$
Orta Taneli Pirinç Medium Grain Rice	$5.2 < - < 6.0$	<3
Kısa Taneli Pirinç Short Grain Rice	≤ 5.2	<2

Çizelge 3. Pirinç örneklerin uzunluk/genişlik oranlarına göre sınıflandırılması (Khush vd., 1979)

Table 3. Classification of milled rice samples according to length/width (Khush vd., 1979)

Şekil Shape	Uzunluk/Genişlik Oranı Length/width ratio
Silindir Slender	>3.0
Orta Medium	$2.1 \leq - \leq 3.0$
Bold Bold	$1.1 \leq - \leq 2.0$
Yuvarlak Round	≤ 1.0

Jelatinleşme sıcaklığı: Alkalide yayılma değeri ile tespit edilen jelatinleşme sıcaklığı Oko ve ark. (2012)'nin bildirdikleri metoda göre belirlenmiştir.

Jel Konsistensi testi: Bu analiz Cagampang vd. (1973)'ün bildirdiği metoda göre gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda okunan jel uzunluklarına göre pirinç örnekleri sert, orta-sert, orta ve yumuşak olarak sınıflandırılmıştır.

Amiloz içeriği: Juliano (1971)'in bildirdiği yöntemle göre tespit edilmiştir.

Pirinç Pişme Testleri

Analizler için belirli miktarda pirinç 400 ml'lik beherde belirli miktar su içerisinde hot plate üzerinde sabit bir sıcaklıkta, tane merkezinde jelatinizasyonun tam olarak gerçekleştiği süre kadar zaman zaman karıştırmak suretiyle

pişirilmiştir. Pişme Süresi (dakika), su kaldırma oranı (%) Bajaj ve Sidhu (1989)'un bildirdiği metoda göre, hacim artışı (%) Bhonsle ve Krishnan (2010a)'ya göre, suya geçen madde miktarı (pişirme kaybı, %) Anonymous (1976)'ya göre yapılmıştır. Pirinç örneklerinin toplam organik madde miktarları (TOM) ise ICC-standart no: 153 metoduna göre tespit edilmiştir (ICC, 2002).

İstatistiksel Analizler

Analizler 2 tekrarlı olarak yapılmış olup, elde edilen sonuçlar, SPSS (SPSS 15.0 for Windows) paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur. Sonuçlar için tek yönlü ANOVA istatistik modeli uygulanarak grup ortalamaları arasındaki farklılıklar $p < 0.05$ düzeyinde Duncan testi ile belirlenmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA
Fiziksel Özellikler

Pirinç örneklerinin hektolitreye, bin tane ağırlıkları ile uzunluk(U), genişlik(G) ve U/G oranına ait

değerler ile uzunluk ve şekil özellikleri Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. Pirinç örneklerinin hektolitreye ağırlığı, bin tane ağırlığı ile uzunluk(U), genişlik(G) ve U/G oranına ait değerler⁽¹⁾

Table 4. The values of hectoliter weight, 1000 kernel weight and length(L), width(W) and L/W ratio of rice samples

Örnek No Sample No	Hektolitreye ağırlığı Hectoliter weight (kg/hl)	Bin Tane ağırlığı 1000 kernel weight (g)*	Uzunluk Length (mm)	Uzunluk özelliği Length property	Genişlik Width (mm)	U/G oranı L/W ratio	Şekil özelliği Shape property
1	83.50±0.01 ^{cde}	26.25±0.11 ^{ab}	6.91±0.01 ^{bc}	Uzun Long	2.87±0.08 ^{fg}	2.41±0.08 ^b	Orta Medium
2	83.70±0.00 ^{cd}	25.10±0.10 ^{de}	7.05±0.01 ^a	Uzun	2.93±0.07 ^{bcd}	2.41±0.06 ^b	Orta
3	83.50±0.03 ^{cd}	24.70±0.38 ^{ef}	6.91±0.03 ^{bc}	Uzun	2.91±0.06 ^{ef}	2.38±0.06 ^{bc}	Orta
4	82.00±0.01 ^g	24.65±0.19 ^{efg}	6.90±0.03 ^{bcd}	Uzun	2.93±0.09 ^{bcd}	2.36±0.06 ^{bcd}	Orta
5	82.80±0.01 ^{efg}	26.58±0.30 ^a	6.98±0.04 ^{ab}	Uzun	2.96±0.11 ^{bcd}	2.36±0.08 ^{bcd}	Orta
6	86.73±0.01 ^a	21.54±0.23 ⁱ	6.25±0.03 ^f	Orta Medium	2.79±0.00 ^g	2.24±0.01 ^g	Orta
7	83.10±0.03 ^{defg}	26.60±0.16 ^a	6.90±0.08 ^{bcd}	Uzun	2.91±0.08	2.38±0.09 ^{bc}	Orta
8	82.60±0.01 ^{efg}	25.69±0.52 ^{bc}	6.81±0.04 ^{cde}	Uzun	2.94±0.09 ^{bcd}	2.32±0.09 ^{cdef}	Orta
9	83.30±0.03 ^{cdef}	25.37±0.00 ^{cd}	6.99±0.11 ^{ab}	Uzun	3.01±0.00 ^{abc}	2.32±0.04 ^{cdef}	Orta
10	82.60±0.03 ^{efg}	26.45±0.31 ^a	6.93±0.07 ^b	Uzun	3.02±0.02 ^{ab}	2.30±0.04 ^{defg}	Orta
11	82.20±0.01 ^{fg}	22.94±0.20 ^h	6.78±0.06 ^e	Uzun	2.92±0.03 ^{def}	2.32±0.04 ^{cdef}	Orta
12	85.60±0.04 ^b	24.42±0.14 ^{fg}	6.96±0.13 ^{ab}	Uzun	3.00±0.01 ^{abcd}	2.32±0.05 ^{cdef}	Orta
13	85.20±0.00 ^b	19.75±0.11 ⁱ	6.99±0.03 ^{ab}	Uzun	2.53±0.02 ^h	2.77±0.03 ^a	Orta
14	83.60±0.01 ^{cde}	25.33±0.21 ^{cd}	6.74±0.03 ^e	Uzun	2.96±0.04 ^{bcd}	2.28±0.04 ^{fg}	Orta
15	82.10±0.03 ^{fg}	26.62±0.51 ^a	6.94±0.11 ^{ab}	Uzun	3.01±0.01 ^{abc}	2.31±0.05 ^{def}	Orta
16	85.50±0.03 ^b	24.10±0.25 ^g	6.74±0.13 ^e	Uzun	2.93±0.01 ^{bcd}	2.30±0.03 ^{defg}	Orta
17	83.80±0.03 ^{cd}	25.43±0.34 ^{cd}	6.79±0.08 ^{de}	Uzun	2.96±0.01 ^{bcd}	2.30±0.03 ^{defg}	Orta
18**	83.93±0.00 ^c	25.87±0.03 ^{bc}	6.96±0.01 ^{ab}	Uzun	3.07±0.02 ^a	2.27±0.02 ^{fg}	Orta

⁽¹⁾Çizelgede, her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

⁽²⁾When the columns are examined from top to bottom for each property in the table, the values indicated by different letters are statistically different from each other(p<0.05)

*Kuru maddede hesaplanmıştır

*Calculated in dry matter

**Orijinal tohumluk Baldo çeşidi

**The original seed Baldo rice variety

Örneklerin hektolitreye ağırlıkları 82.00 kg/hl ile 86.73 kg/hl arasında değişmiş ve ortalama 83.65 kg/hl olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Örneklerin hektolitreye ağırlıklarının karşılaştırılması için yapılan istatistiksel analiz sonucunda, örnekler arasında hektolitreye ağırlığı bakımından fark olduğu (p<0.05) ve 11 nolu örneğin daha yüksek

hektolitreye ağırlığına sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük hektolitreye ağırlığı ise 4 nolu pirinç örneğinde tespit edilmiştir. Malezya ve Hindistan'da yetiştirilen pirinç çeşitlerinde yapılan bazı çalışmalarda hektolitreye ağırlığı 77.00 ile 88.00 arasında bulunmuştur (Thomas vd., 2013; Singh vd., 2005). Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz

hektolitreye ağırlığı değerleri literatür verileriyle paralellik göstermiştir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin hektolitreye ağırlığı 83.93 kg/hl olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4). Pirinç örneklerinin 4'ü orijinal tohumluk Baldo çeşidinin hektolitreye ağırlığından daha yüksek değer vermiştir. Orijinale göre çok düşük değer veren örneklerden 2'si dökme, diğerleri paketli olarak satılan pirinçler olmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'nde bin tane ağırlığı konusuna değinilmemiştir ve örneklerin etiketleri üzerinde de bu konuda herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bin tane ağırlığı pirinçte bir kalite özelliği olarak bilinmektedir. Bu nedenle değerlendirme yapılırken orijinal örnek ile diğer 17 örnek kendi içerisinde karşılaştırılmıştır. Bin tane ağırlığı bakımından örneklerin karşılaştırılması için yapılan istatistiksel analiz sonucunda, örneklerin birbirinden farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Genel olarak bakıldığında 17 örnekte kuru maddede bin tane ağırlığı 19.75 g ile 26.62 g arasında değişmiştir (Çizelge 4). Dipti vd. (2003), 10 adet Beruin pirinç çeşidinde yaptıkları çalışmalarında, örneklerin bin tane ağırlıklarını 14.3-25.5 g arasında bulmuştur. Samsun ekolojik koşullarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin kalite özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada, bin tane ağırlığı 22.53-29.62 g arasında değişmiştir (Koca ve Anıl, 1997). Çalışmamızda elde edilen bulgular genelde Koca ve Anıl (1997) ile uyumlu bulunurken Dipti vd. (2003) çalışmasına göre minimum değerler daha yüksek bulunmuştur. Buna neden olarak bu çalışmada analiz edilen çeşitlerin içinde çok farklı boyutta olanların olması gösterilebilir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin bin tane ağırlığı 25.87 g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4). Örneklerden 5'i orijinal tohumluk Baldo çeşidinin bin tane ağırlığından daha yüksek değer vermiştir. Orijinale göre çok düşük değer veren örneklerden 2'si ambalajlı, 1 örnek de dökme olarak satılan pirinçler olmuştur.

Yapılan istatistiksel analiz sonunda uzunluk değeri bakımından örnekler birbirinden farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Pirinç örneklerinin uzunluk değerleri 6.25 mm ile 7.05 mm arasında

değişim göstermiş ortalama 6.86 mm olarak bulunmuştur. Koca ve Anıl (1997), Samsun ekolojik koşullarında yetiştirilen 12 çeltik çeşidinin kalite özellikleri üzerine yaptıkları çalışmalarında, pirinç tane uzunluklarını 4.90-6.83 mm aralığında bulmuştur. Sekiz çeşit pirinç üzerine yapılan bir çalışmada; pirinç uzunlukları 3.6-6.5 mm arasında değişmiştir (Dipti vd., 2002). Çalışmamızda tespit edilen uzunluk değerleri, önceki çalışmalara benzer bulunmuştur. Minimum ve maksimum değerlerdeki farklılığın çalışmamızda kullanılan örneklerin orta ve uzun tane yapılı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Pirinç örneklerinden sadece 6 nolu örnek orta uzunlukta bulunurken diğer 17 örnek uzun nitelikte bulunmuştur (Çizelge 4).

Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'nde pirinçlerin uzunluk ve uzunluk/genişlik oranları birlikte değerlendirilerek sınıflandırma yapılmıştır. Çizelge 2' de verilen bu sınıflandırmaya göre; incelenen örneklerden sadece 1 örnek (6 nolu örnek) Orta Taneli Pirinç Tip C sınıfına dahil olup, diğer 17 örneğin hepsi Uzun Taneli Pirinç Tip A sınıfına girmiştir. Ambalajında etiket bilgisi verilen örneklerin hepsi, etiket bilgileri ile uyum içerisinde bulunmuştur (Çizelge 1'deki etiket bilgileri esas alınarak karşılaştırma yapılmıştır). Örneklerin uzunluk değerleri Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin uzunluk özelliği (Çizelge 2'ye göre uzun özelliktedir) ile karşılaştırıldığında sadece 6 nolu örneğin orta uzunlukta olduğu ve orijinal tohumluk Baldo çeşidi ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Uzunluk/genişlik oranı pirinçte şekil değerlendirme yapmak için kullanılmaktadır. Pirinç örnekleri uzunluk/genişlik oranı bakımından istatistiksel anlamda birbirinden farklı bulunmuştur ($p<0.05$). 17 adet pirinç örneğinde uzunluk/genişlik oranı (U/G) 2.24 ile 2.77 değerleri arasında değişmiştir (Çizelge 4). Farklı ortamlardan alınmış 23 çeşit pirinç örneğinin fizikokimyasal, pişirme ve duyu özelliklerinin karşılaştırılması amacı ile yapılan bir çalışmada uzunluk/genişlik oranı 2.65-4.55 arasında bulunmuştur (Singh vd., 2005). Dipti vd. (2003), 10 adet Beruin pirinç çeşidinde yaptıkları çalışmalarında uzunluk/genişlik oranını 2.00-2.80 arasında bulmuşlardır. Çalışmamızda elde edilen

bulgular diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Khush vd. (1979)'un bildirdiği sınıflandırmaya göre (Çizelge 3) tüm örneklerin hepsi (paketli, dökme ve orijinal ayrımı olmaksızın) şekil bakımından orta taneli pirinç olarak tespit edilmiştir.

Fizikokimyasal Özellikler

Jel konsistensi; pişmiş pirincin jel kıvamını (yoğunluğunu) belirleyen bir kimyasal özelliktir. Pirincin sert ya da yumuşak olmasını etkileyen faktördür. Jel konsistensi (kıvamı) sert ise pişmiş pirinç daha az yapışkan olma eğilimindedir. Sert jel kıvamı demek, pişmiş pirincin sert olması anlamına gelmektedir ve bu durum arzu edilmeyen bir özelliktir. Jel konsistensi yumuşak olan pirinçlerde ise pişmiş pirincin yumuşak olduğu bildirilmektedir. Yumuşak jel konsistensli olan pirinçler genellikle tercih edilenlerdir (Anonymous, 2011c). Jel konsistensi, jel uzunluğu ile belirlenmekte ve jel uzunluğuna göre sert, orta-sert, orta ve yumuşak olarak sınıflandırılmaktadır (Cagampang vd., 1973). Pirinç örneklerinin jel uzunluğu 49.00 mm ile 69.50 mm arasında değişim göstererek ortalama 56.94 mm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5). Çizelge 5 incelendiğinde; en yüksek jel konsistensi değeri 14 nolu pirinç örneğinde gözlenirken, en düşük jel konsistensi değeri 13 nolu pirinç örneğinde gözlenmiştir. Genel olarak bakıldığında jel konsistensi değerlerine göre sınıflandırmada çoğu pirinç örneğinin orta yapıda olduğu saptanmıştır. Örneklerin jel uzunluklarını karşılaştırmak için yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre örnekler arasında jel uzunluğu bakımından önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin jel uzunluğu 54.50 mm bulunmuş ve bu değere göre orta sınıf olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5). Pirinç örneklerinden 8 tanesi (6 paketli, 2 dökme) orijinal tohumluk Baldo çeşidinin jel uzunluğundan daha yüksek değer vermiştir. Bunlardan 6 tanesi yumuşak jel konsistensli, geriye kalan 11 örnek ise orijinal tohumluk Baldo ile aynı yani orta jel konsistensli sınıfına girmiştir.

Pirinç örneklerinin alkalide yayılma değerleri ve jelatinleşme sıcaklığına göre sınıflandırması Çizelge 5'te verilmiştir. Genel olarak 17 örnekte

alkalide yayılma değeri 3.50 ile 7.00 arasında değişmiş ve ortalama 5.50 olarak tespit edilmiştir. Koca ve Anıl (1997), Samsun ekolojik koşullarında yetiştirilen 12 çeltik çeşidinin kalite özellikleri üzerine yaptıkları çalışmalarında, alkalide dağılma değerini 4.5-6.0 arasında bulmuştur.

Jelatinizasyon sıcaklığı pirinçte bir kalite özelliği olarak bilinmektedir. Pişme için gerekli zamanın belirlenmesinde pirincin jelatinizasyon sıcaklığı en etkili faktörlerden biridir. Jelatinizasyon sıcaklığı, pirinçteki nişastanın su alıp şişmeye yani jelleşmeye başladığı sıcaklıktır ve alkalide yayılma faktörü ile ölçülür. Yüksek jelatinizasyon sıcaklığının pirincin çok yumuşak olmasına neden olduğu bildirilmektedir. Kaliteli bir pirinçte jelatinizasyon sıcaklığı yüksek ya da düşük olmamalı, orta (70-74°C) olmalıdır. En çok bu sınıftaki pirinçler tercih edilmektedir (Anonymous, 2011c). İncelenen örneklerden 9 tanesinde jelatinizasyon sıcaklığı orta, 9 tanesinde ise düşük bulunmuştur (Çizelge 5). Juliano ve Villalera (1993), dünya pirinçlerinin kalite değerlendirmesini inceledikleri çalışmalarında, 195 adet pirinç çeşidinde jelatinleşme sıcaklığını düşük sınıf olarak belirlemişlerdir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin alkalide yayılma değeri 7.00 olarak tespit edilmiştir. Orijinal tohumluk Baldo çeşidi jelatinleşme sıcaklığı değerlendirmesine göre 69 °C ve altı, yani düşük sınıfına girmiştir (Çizelge 5). Pirinç örneklerinden 5 tanesi (3 paketli, 2 dökme) orijinal tohumluk Baldo çeşidinin alkali yayılma değeri ile aynı, geriye kalan 12 örnek ise daha düşük değer vermiştir. Bunlardan 9 tanesi (6 paketli, 3 dökme) orta jelatinizasyon sıcaklığı sınıfına, geriye kalan 8 tanesi ise orijinal tohumluk Baldo çeşidi ile aynı yani düşük jelatinizasyon sıcaklığı sınıfına girmiştir. Orijinal tohumluk Baldo çeşidinin düşük jelatinizasyon sıcaklığı sınıfında olmasına rağmen 9 Baldo örneğinin orta sınıfta bulunması, bu konuda daha gerçekçi yorum yapmak için birden fazla lokasyonda benzer yetiştirme tekniği uygulanarak yetiştirilen çeşitlerin pişme potansiyelinin belirlenmesi gerektiğini de akla getirmiştir. Orijinal tohumluk Baldo çeşidinin düşük sınıfta olmasının nedeni de bu olabilir.

Çizelge 5. Pirinç örneklerinin fizikokimyasal özellikleri⁽¹⁾
 Table 5. Physicochemical properties of rice samples⁽¹⁾

Örnek No Sample No	Jel konsistansı Gel consistency		Jelatinleşme sıcaklığı Gelatinization temperature		
	Jel uzunluğu Gel length (mm)	Sınıflandırma Classification	Alkalide yayılma değeri Alkali spreading value	Sıcaklık Temperature (°C)	Sınıflandırma Classification
1	62.00±1.41 ^{cd}	Yumuşak <i>Soft</i>	4.00±0.00 ^d	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
2	65.00±1.41 ^{abc}	Yumuşak <i>Soft</i>	7.00±0.00 ^a	69 °C ve altı	Düşük <i>Low</i>
3	54.50±2.12 ^{ef}	Orta <i>Medium</i>	5.00±0.00 ^c	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
4	50.00±1.41 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	5.00±0.00 ^c	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
5	67.50±0.71 ^{ab}	Yumuşak <i>Soft</i>	3.50±0.71 ^d	74-75 °C	Orta <i>Medium</i>
6	54.00±2.83 ^f	Orta <i>Medium</i>	6.00±0.00 ^b	69 °C ve altı	Düşük <i>Low</i>
7	63.00±1.41 ^{bcd}	Yumuşak <i>Soft</i>	4.00±0.00 ^d	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
8	50.00±2.83 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	4.00±0.00 ^d	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
9	52.50±2.12 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	7.00±0.00 ^a	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>
10	52.50±2.12 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	6.00±0.00 ^b	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>
11	59.00±4.24 ^{dc}	Orta <i>Medium</i>	7.00±0.00 ^a	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>
12	52.50±0.71 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	6.00±0.00 ^b	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>
13	49.00±1.41 ^g	Orta <i>Medium</i>	7.00±0.00 ^a	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>
14	69.50±2.12 ^a	Yumuşak <i>Soft</i>	7.00±0.00 ^a	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>
15	51.00±2.83 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	3.50±0.71 ^d	74-75 °C	Orta <i>Medium</i>
16	65.00±5.66 ^{abc}	Yumuşak <i>Soft</i>	5.00±0.00 ^c	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
17	53.50±2.12 ^{fg}	Orta <i>Medium</i>	5.00±0.00 ^c	70-74 °C	Orta <i>Medium</i>
18**	54.50±0.71 ^{ef}	Orta <i>Medium</i>	7.00±0.00 ^a	≤69 °C	Düşük <i>Low</i>

⁽¹⁾Çizelgede, her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

⁽¹⁾When the columns are examined from top to bottom for each property in the table, the values indicated by different letters are statistically different from each other (p<0.05)

**Orijinal tohumluk Baldo çeşidi

** The original seed Baldo rice variety

Kimyasal Özellikler

Pirinç örneklerinin kimyasal özelliklerine ait veriler Çizelge 6'da gösterilmiştir. Örneklerin kül miktarı %0.33 ile %0.51 arasında değişmiş, ortalama %0.41 olarak bulunmuştur. Örneklerin karşılaştırılması için yapılan istatistiksel analiz sonucuna göre, örnekler arasında kül miktarı bakımından önemli bir farkın olduğu bulunmuştur (p<0.05). En düşük kül değeri 7 nolu pirinç örneğinde saptanırken, en yüksek kül değeri 13 nolu pirinç örneğinde saptanmıştır. Bulunan sonuçlar daha önceki yapılan çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermiştir (Thomas vd., 2013). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin kül

miktarı %0.41 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 6). Örneklerden 8'i orijinal Baldo çeşidinin kül miktarından daha yüksek değer vermiştir. Bunun nedeninin örneklerin pirince işlenirken kabuk soyma derecesinin farklı olmasına bağlı olarak kepek miktarlarının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu 8 örnekten 5'i ambalajlı 3'ü ise dökme pirinçlerdir. Orijinal tohumluk Baldo'ya göre çok düşük değer veren 5 örneğin hepsi ambalajlı olarak satılan pirinçler olmuştur. Örneklerin protein miktarı %7.02 ile %8.80 arasında değişmiş ve protein miktarları arasında önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Parida ve Mitra (1989), pirinçte protein içeriğinin çeşit ve çevre şartlarına bağlı olarak

%7.00 ile %8.00 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Samsun ekolojik koşullarında yetiştirilen 12 çeltik çeşidinin kalite özellikleri üzerine yapılan çalışmada pirinç çeşitlerinde protein miktarı %7.47-9.44 arasında tespit edilmiştir (Koca ve Anıl, 1997). Çalışmamızda elde edilen sonuçların bu ve diğer literatürle uyum içerisinde olduğu görülmüştür (Thomas vd., 2013;

Ravi vd., 2012). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin protein miktarı %9.02 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 6). Pirinç örneklerinden hem dökme hem paketli olanların hepsi orijinal tohumluk Baldo çeşidinin protein miktarından daha düşük değer vermiştir.

Çizelge 6. Pirinç örneklerinin kimyasal özellikleri⁽¹⁾
Table 6. Chemical properties of rice samples⁽¹⁾

Örnek No Sample No	Kül Ash (%) [*]	Protein Protein (%) [*]	Amiloz Amylose (%) [*]
1	0.49±0.01 ^{ab}	8.06±0.06 ^f	29.37±1.27 ^{bcd}
2	0.38±0.01 ^{defg}	7.62±0.01 ⁱ	28.79±0.18 ^{bcd}
3	0.42±0.00 ^{cde}	7.23±0.01 ^l	29.38±0.38 ^{bcd}
4	0.48±0.01 ^{abc}	7.96±0.04 ^{gh}	28.38±0.78 ^{de}
5	0.44±0.03 ^{bcd}	8.67±0.03 ^c	29.36±0.59 ^{bcd}
6	0.37±0.03 ^{efgh}	7.95±0.01 ^{gh}	28.81±0.02 ^{bcd}
7	0.33±0.01 ^h	8.26±0.08 ^e	27.70±0.99 ^e
8	0.36±0.01 ^{fgh}	7.34±0.02 ^k	29.18±0.13 ^{bcd}
9	0.38±0.08 ^{defg}	8.35±0.02 ^d	29.81±0.12 ^{abc}
10	0.41±0.03 ^{def}	7.66±0.03 ⁱ	29.85±0.52 ^{abc}
11	0.34±0.03 ^{gh}	8.80±0.05 ^b	29.85±0.28 ^{abc}
12	0.37±0.01 ^{efgh}	7.59±0.04 ^j	29.33±0.66 ^{bcd}
13	0.51±0.01 ^a	7.51±0.04 ⁱ	29.95±0.18 ^{ab}
14	0.42±0.04 ^{cde}	7.02±0.01 ^m	30.75±0.16 ^a
15	0.39±0.01 ^{defg}	8.02±0.04 ^{fg}	28.55±1.09 ^{de}
16	0.49±0.01 ^{ab}	7.90±0.01 ^h	29.36±0.02 ^{bcd}
17	0.39±0.03 ^{defg}	8.67±0.03 ^c	28.63±0.08 ^{cde}
18 ^{**}	0.41±0.04 ^{def}	9.02±0.03 ^a	29.19±0.52 ^{bcd}

⁽¹⁾Çizelgede, her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

⁽¹⁾When the columns are examined from top to bottom for each property in the table, the values indicated by different letters are statistically different from each other (p<0.05)

*Kuru maddede hesaplanmıştır

*Calculated in dry matter

**Orijinal tohumluk Baldo çeşidi

** The original seed Baldo rice variety

Pirinçteki amiloz miktarının pişmiş pirinçte yapıyı etkilediği bildirilmektedir. Amiloz miktarı pirincin kuru ve kırılabilir yapıya da nemli ve yapışkan yapıya olmasını belirleyen kimyasal bir özelliktir. Amiloz miktarı yüksek olursa pirinç kuru, sert ve kırılabilir yapıda, düşük olursa pirinç nemli ve yapışkan yapıda olmaktadır (Anonymous, 2011c). Pirinç, amiloz içeriğine göre mumsu (waxy) (%0 - 2), çok düşük (%3-9), orta düzey (%20-25) ve

yüksek (>25) amiloz içerikli olarak gruplandırılmaktadır (Cruz ve Khush, 2000). Çalışmamızdaki pirinç örneklerinin amiloz oranı %27.70 ile %30.75 arasında değişmiş bu değişim istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0.05). Dipti vd. (2002), sekiz çeşit pirinç üzerine yaptıkları bir çalışmada, pirinçlerin amiloz içeriklerini %18.6-28.0 arasında bulmuşlardır. Pirinç kalitesi üzerine farklı ambalaj tipi ve

depolama süresinin etkisinin incelendiği bir araştırmada ise amiloz içeriği %25.87 ve 26.07 olarak tespit edilmiştir (Anıl ve Koca, 2006). Çalışmamızda elde edilen amiloz içerik değerlerinin bu çalışmalarda ve diğer bazı çalışmalarda bulunan değerlerle uyum içerisinde olduğu söylenebilir (Thomas ve ark., 2013; Oko vd., 2012; Fofana vd., 2011). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo örneğinin amiloz oranı %29.19 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 6). Pirinç örneklerinin 5'i orijinal tohumluk Baldo çeşidinin amiloz oranından daha yüksek, 8'i ise orijinal örneğe çok yakın değer vermiştir. Bu sonuçlara göre piyasada Baldo çeşit ismi ile satılan pirinçlerin orijinal tohumluk Baldo çeşidine amiloz özelliği yönünden çok benzer olduğu söylenebilir.

Pişme Özellikleri

Piyasadan toplanan pirinç örnekleri ile orijinal tohumluk Baldo pirinç çeşidinin pişme özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 7'de gösterilmiştir. Örneklerin pişme süresi 16.11 dakika ile 19.33 dakika arasında değişmiş, ortalama 17.79 dakika bulunmuştur. Singh vd. (2005), farklı ortamlardan alınmış 23 çeşit pirinç örneğinin fizikokimyasal, pişirme ve duyuşal özelliklerini karşılaştırmak amacı ile yaptıkları çalışmada, pişme süresini 13.30-24.00 dakika olarak bulmuşlardır. Danbaba vd. (2011), Ofada pirincinin pişme ve yeme kalitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında pişme süresini 17.00-24.00 dakika olarak saptamışlardır. Dipti vd. (2003), 10 adet Beruin pirinç çeşidinde yaptıkları çalışmalarında, pişme süresinin 14.00-17.50 dakika arasında olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulunan pişme süresi değerleri bu çalışmalarda ve diğer bazı çalışmalarda bulunan değerlere yakın bulunmuştur (Thomas vd., 2013; Danbaba vd., 2011; Fofana vd., 2011). Örneklerin pişme süresi bakımından karşılaştırılması için yapılan istatistiksel analiz sonucunda, süreler arasında fark olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin pişme süresi 18.20 dakika olarak tespit edilmiştir (Çizelge 7). Pirinç örneklerinden 3'ü orijinal tohumluk Baldo çeşidinin pişme süresinden daha yüksek, 4 tanesi ise yakın değer

vermiştir. Orijinale göre çok düşük değer veren 6 örnekten 4'ü ambalajlı, 2 örnek de dökme olarak satılan pirinçlerdir.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, pirinç örneklerinin kuru madde kaybı değerleri arasında önemli fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Örneklerde kuru madde kaybı %3.92 ile %4.81 arasında değişmiş ortalama %4.36 olarak bulunmuştur (Çizelge 7). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin kuru madde kaybı ise %4.18 olarak saptanmıştır. Örneklerden 4'ü orijinal tohumluk Baldo çeşidinin kuru madde kaybı değerine yakın, 3 tanesi ise düşük değer vermiştir. Orijinale göre çok düşük değer veren 3 örnekten 3'ü de ambalajlı olarak satılan pirinçlerdir. Thomas vd. (2013), yaptıkları çalışmalarında, kuru madde kaybını %3.17-6.43 olarak bulmuşlardır. Farklı ortamlardan alınmış 23 çeşit pirinç örneğinin fizikokimyasal, pişirme ve duyuşal özelliklerini karşılaştırmak amacı ile yapılan çalışmada ise kuru madde kaybı %1.88-8.53 aralığında değişim göstermiştir (Singh vd., 2005).

Toplam organik madde miktarı (TOM), makarna kalitesini tahmin etmek için geliştirilmiş ve duyuşal test bulguları ile önemli pozitif ilişki içinde olan bir değerlendirme kriteridir (D'egido vd., 1982). D'egido vd. (1982)'ye göre makarna; toplam organik madde miktarı 1.4 g/100 gramdan az ise kaliteli, 1.4 g/100 g ile 2.3 g/100 g arası ise orta kaliteli ve 2.3 g/100 gramdan fazla ise düşük kaliteli olarak sınıflandırılmıştır. Pirinçte elde edilen toplam organik madde bulgularının makarna ile benzer olması beklenemez. Fakat yapılan analiz sonucunda toplam organik madde değerlerinin amiloz miktarı ($r = 0.639$, $p < 0.01$) ve pişme süresi ($r = -0.405$, $p < 0.05$) ile önemli korelatif ilişkide olduğu saptanmış (buna ilişkin tablo verilmemiştir) ve bu testin pirinçte de kullanılabilceğini göstermiştir. Pirinç örneklerinin toplam organik madde miktarı bakımından karşılaştırılması için yapılan istatistiksel analiz sonucunda, örnekler arasında fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Çizelge 7). Çizelge incelendiğinde; örneklere ait TOM değerleri 2.01 g/100 g ile 2.31 g/100 g arasında

değişim göstererek ortalama 2.17 g/100 g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 8). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin toplam organik madde miktarı ise 2.17 g/100 g olarak tespit edilmiştir

(Çizelge 7). Pirinç örneklerinde 2 paketli, 2 dökme olmak üzere 4 örnek orijinal tohumluk Baldo çeşidine yakın değerlerde, 4 paketli örnek ise çok düşük değerlerde bulunmuştur.

Çizelge 7. Pirinç örneklerinin pişme özellikleri⁽¹⁾
Table 7. Cooking properties of milled rice samples⁽¹⁾

Örnek No Sample No	Pişme süresi (dk) Cooking time(min)	Pişme kaybı Cooking loss (%)*	Toplam organik madde Total organic matter (g/100g)*	Su kaldırma oranı Water uptake ratio	Hacim artış oranı Volume increase ratio
1	17.70±0.44 ^{cde}	4.28±0.08 ^{cd}	2.01±0.03 ^g	1.76±0.00 ^{bu}	1.41±0.01 ^{hu}
2	18.19±0.01 ^{bc}	4.17±0.03 ^{cd}	2.08±0.04 ^{fg}	1.82±0.01 ^{fg}	1.43±0.01 ^h
3	18.01±0.01 ^{cd}	4.23±0.02 ^{cd}	2.13±0.06 ^{def}	1.97±0.00 ^a	1.53±0.02 ^{efg}
4	17.89±0.43 ^{cde}	4.66±0.08 ^a	2.26±0.03 ^{abc}	1.94±0.02 ^{abc}	1.57±0.00 ^{cd}
5	19.33±0.02 ^a	4.59±0.04 ^{ab}	2.10±0.06 ^{efg}	1.89±0.05 ^{cde}	1.51±0.00 ^{fg}
6	17.10±0.03 ^f	4.12±0.06 ^{de}	2.12±0.03 ^{def}	1.86±0.00 ^{def}	1.39±0.01 ⁱ
7	18.58±0.01 ^b	3.92±0.11 ^e	2.01±0.03 ^g	1.85±0.07 ^{efg}	1.44±0.05 ^h
8	17.42±0.10 ^{ef}	4.34±0.15 ^{cd}	2.13±0.06 ^{def}	1.94±0.01 ^{abc}	1.62±0.01 ^b
9	17.59±0.01 ^{def}	4.81±0.10 ^a	2.26±0.04 ^{abc}	1.86±0.01 ^{def}	1.51±0.03 ^{fg}
10	17.80±0.34 ^{cde}	4.79±0.21 ^a	2.24±0.04 ^{abc}	1.95±0.01 ^{ab}	1.40±0.01 ^{hu}
11	17.40±0.09 ^{ef}	4.21±0.06 ^{cd}	2.31±0.04 ^a	1.91±0.00 ^{bcd}	1.67±0.00 ^a
12	17.89±0.43 ^{cde}	4.15±0.04 ^{cd}	2.22±0.04 ^{abcd}	1.95±0.00 ^{ab}	1.49±0.00 ^g
13	16.31±0.03 ^g	4.73±0.06 ^a	2.26±0.03 ^{abc}	1.97±0.00 ^a	1.49±0.01 ^g
14	16.11±0.09 ^g	4.37±0.08 ^{bc}	2.29±0.06 ^{ab}	1.99±0.03 ^a	1.62±0.00 ^b
15	18.02±0.01 ^{cd}	4.34±0.03 ^{cd}	2.13±0.08 ^{def}	1.73±0.01 ⁱ	1.51±0.00 ^{fg}
16	17.91±0.63 ^{cde}	4.31±0.28 ^{cd}	2.19±0.06 ^{bcde}	1.95±0.03 ^{ab}	1.60±0.01 ^{bc}
17	19.20±0.23 ^a	4.21±0.04 ^{cd}	2.12±0.06 ^{def}	1.80±0.04 ^{gh}	1.54±0.01 ^{def}
18**	18.20±0.24 ^{bc}	4.18±0.01 ^{cd}	2.17±0.04 ^{cdef}	1.86±0.03 ^{def}	1.56±0.03 ^{de}

⁽¹⁾Çizelgede, her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

⁽¹⁾When the columns are examined from top to bottom for each property in the table, the values indicated by different letters are statistically different from each other(p<0.05)

*Kuru maddede hesaplanmıştır

*Calculated in dry matter

**Orijinal tohumluk Baldo çeşidi

** The original seed Baldo rice variety

Pirinç örneklerinin su kaldırma oranı 1.73 ile 1.99 arasında değişmiş ve bu durum istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur (p<0.05). En yüksek su kaldırma oranı 14 nolu pirinç örneğinde tespit edilmiştir. Pirinç kalitesi üzerine farklı ambalaj tipi ve depolama süresinin etkisinin incelendiği bir araştırmada su kaldırma oranı 1.75 ve 1.98 arasında değişmiştir (Anıl ve Koca, 2006).

Danbaba vd. (2011), Ofada pirincinin pişme ve yeme kalitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında, su kaldırma oranını 1.74-2.11 olarak tespit etmişlerdir. Örneklerin su kaldırma oranı açısından karşılaştırılması için yapılan istatistiksel analiz sonucunda, örnekler arasında fark olduğu saptanmıştır (p<0.05). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk

Baldo çeşidinin su kaldırma oranı 1.86 olarak bulunmuştur (Çizelge 7). Baldo çeşidindeki örneklerden 13 tanesi orijinal tohumluk Baldo çeşidinin su kaldırma oranına benzer veya daha yüksek değer vermiştir. Orijinale göre çok düşük değer veren 2 örnekten 1 tanesi ambalajlı, 1'i ise dökme olarak satın alınan pirinçler olmuştur.

Genel olarak değerlendirildiğinde; 17 örnekte hacim artış oranı ortalaması 1.51 olmuş ve 1.39 ile 1.67 arasında değişmiştir ($p < 0.05$). En yüksek hacim artışı oranına 11 nolu pirinç örneği sahip olurken, en düşük hacim artışı oranına 6 nolu pirinç örneği sahip olmuştur. Koca ve Anıl (1997), Samsun ekolojik koşullarında yetiştirilen 12 çeltik çeşidinin kalite özellikleri üzerine yaptıkları çalışmalarında hacim artış oranını 1.22-1.91 olarak belirlemişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada ise Hindistan'ın Goa bölgesinde yetiştirilen 14 adet aromatik pirinç çeşidinde hacim artış oranı 2.36 ile 4.10 arasında bulunmuştur (Bhonsle ve Krishnan, 2010b). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin hacim artış oranı ise 1.56 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 7). Örneklerde 3 paketli, 2 dökme olmak üzere 5 örnek orijinal tohumluk Baldo çeşidine benzer ya da yakın değerlerde, 5 paketli örnek ise çok düşük değerlerde bulunmuştur.

SONUÇ

Bu çalışmada, piyasadadan satın alınan 17 adet Baldo çeşidi pirinç örneği ile orijinal tohumluk Baldo çeşidi fiziksel, kimyasal ve pişme özellikleri bakımından analiz edilmiştir. Pirinç örneklerinin analiz sonuçları Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği'nde yer alan özellikler ile Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo pirinç çeşidinin analiz sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Ambalajında etiket bilgisi verilen örneklerin hepsi, etiket bilgileri ile uyum içerisinde bulunmuş (Çizelge 1'deki etiket bilgileri esas alınarak karşılaştırma yapılmıştır) ve böylece herhangi bir tağşiş yapılmadığı sonucuna varılmıştır. Örneklerin uzunluk değerleri Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen orijinal tohumluk Baldo çeşidinin uzunluk özelliği karşılaştırıldığında sadece 6 nolu örneğin orta uzunlukta olduğu ve orijinal tohumluk Baldo çeşidi ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Jel

uzunluğu bakımından örneklerin 6 tanesi yumuşak jel konsistensli, geriye kalan 11 örnek ise orijinal tohumluk Baldo ile aynı yani orta jel konsistensli sınıfına girmiştir. Pirinç örneklerinden 5 tanesi (3 paketli, 2 dökme) orijinal tohumluk Baldo çeşidinin alkali yayılma değeri ile aynı, geriye kalan 12 örnek ise daha düşük değer vermiştir. Bunlardan 9 tanesi (6 paketli, 3 dökme) orta jelatinizasyon sıcaklığı sınıfına, geriye kalan 8 tanesi ise orijinal tohumluk Baldo çeşidi ile aynı yani düşük jelatinizasyon sıcaklığı sınıfına girmiştir. Pirinç örneklerinden hem dökme hem paketli olanlarının hepsinin orijinal tohumluk Baldo çeşidinin protein miktarından daha düşük protein değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Amiloz içeriği bakımından piyasada Baldo çeşidi ismi ile satılan pirinçlerin orijinal tohumluk Baldo çeşidine çok benzer olduğu saptanmıştır. Tüm örnekler pişme özellikleri bakımından orijinal Baldo çeşidinin pişme özelliklerine yakın ve benzer sonuçlar vermiştir.

TEŞEKKÜR

Bu makale Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 13052 proje numarası ile desteklenen ve 2014 yılında tamamlanan "Pirinçte Tağşişin Kalite Özelliklerine Göre Belirlenmesi ve Piyasadaki Pirinçlerin Türk Gıda Kodeksine Uygunluğunun Saptanması" başlıklı Yüksek Lisans Tezi esas alınarak hazırlanmıştır. Yazarlar, Harran Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve BAP birimine teşekkür eder.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makalenin araştırılması, yazarlığı ve/veya yayınlanması ile ilgili potansiyel çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

MMY ve AA, araştırmayı tasarladı. MMY, makalenin metodoloji, biçimsel analiz, yazma-orijinal taslak, yazma-inceleme, düzenleme ve görselleştirmesine katkı sunmuştur. MK, istatistiksel analiz, yazma-orijinal taslak, yazma-inceleme ve düzenleme, görselleştirme açısından katkı sağlamıştır. AA, proje yönetimi, kavramsallaştırma, metodoloji, biçimsel analiz, yazma-orijinal taslak, yazma-inceleme ve düzenleme, görselleştirme ve danışman olarak

katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Anıl, M., Koca, A.F. (2006). Pirinç kalitesi üzerine farklı ambalaj tipi ve depolama süresinin etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye, s 883-886.

Anonymous (1972). Tahıl ve baklagiller 1000 dane ağırlığının tayini (TS 1136). Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous (1976). Makarna standardı (TS 1620). Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous (2013). Çeltik standardı (TS 3997). Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous (2011a). Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği (2010/60). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 7 Ocak 2011 tarih ve 27808 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonymous (2011b). 2011 yılı organik tarımsal üretim verileri. <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Bitkisel-Uretim/Organik-Tarim/Istatistikler> (Erişim tarihi: 18.12. 2013)

Anonymous (2011c). Module 06: Rice Grain Quality. <http://www.knowledgebank.irri.org/grainQuality/default.htm/> (Erişim tarihi: 18.12.2013)

Bajaj, M., Sidhu, J.S. (1989). Extended milling of Indian rice II. effect on cooking and sensory quality characteristics. *Chem Mikrobial Techn Lebensm*, 12: 46-51.

Beşer, N., Sürek, H., Karahan, A. (2012). Trakya tarımsal araştırma enstitüsü tarafından geliştirilen çeltik çeşitleri, bu çeşitlerin ıslah yöntemleri, kimi özellikleri ile tohumluk üretim ve pazarlama sorunları.

<http://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Deta.y.aspx?SayfaId=41> (Erişim tarihi: 16 Haziran 2018)

Bhonsle, S.J., Krishnan S. (2010a). Grain quality evaluation and organoleptic analysis of aromatic rice varieties of Goa, India. *J Agric Sci*, 2: 99-107.

Bhonsle, S.J., Krishnan S. (2010b). Grain quality evaluation of traditionally cultivated rice varieties of Goa, India. *Recent Res Sci Technol*, 2: 88-97.

Cagampang, G.B., Perez, C.M., Juliano, B.O. (1973). A gel consistency test for the eating quality of rice. *Food Agric*, 24: 1589-1594.

Cruz, N.D., Khush G.S. (2000). Rice grain quality evaluation procedures. In: *Aromatic rices* R.K. Singh, U.S. Singh and G.S. Khush(eds.), Oxford and IBH publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, Calcutta, pp. 15-28.

Danbaba, N., Anounye, J.C., Gana, A.S., Abo, M.E., Ukwungwu, M.N. (2011). Grain quality characteristics of ofada rice (*Oryza sativa* L.): Cooking and eating quality. *Int Food Res J*, 18: 629-634.

D'egidio, M.G., DE Stefanis, E., Fortini, S., Galterio, G., Nardi, S., Sgrulletta, D., Bozzini, A. (1982). Standardization of cooking quality analysis in macaroni and pasta products. *Cereal Foods World*, 27: 367-368.

Dipti, S.S., Bari, M.N., Kabir, K.A. (2003). Grain quality characteristics of some Beruin rice varieties of Bangladesh. *Pak J Nutr*, 2(4): 242-245.

Dipti, S.S., Hossain, S.T., Bari, M.N., Kabir, K.A. (2002). Physicochemical and cooking properties of some fine rice varieties. *Pak J Nutr*, 1(4): 188-190.

Fofana, M., Futakuchi, K., Manful, J.T., Yaou, I.B., Dossou, J., Bleoussi, R.T.M. (2011). Rice grain quality: A comparison of imported varieties, local varieties with new varieties adopted in Benin. *Food Control*, 22(12): 1821-1825.

ICC (2002). International Association for Cereal Science and Technology (ICC), Printed by ICC, Vienna, Edition 2002.

IGC (2019). International Grains Council. Supply & Demand, World Total-Rice Datas. <http://www.igc.int/en/markets/marketinfo-sd.aspx> (Erişim tarihi: 02.10.2019)

Juliano, B.O., Villareal, C.P. (1993). Grain quality evaluation of world rices. http://books.irri.org/9712200396_content.pdf (Erişim: 23.05.2018).

- Juliano, B.O. (1985). Criteria and test for rice grain qualities. In: *Rice Chemistry and Technology*, B.O. Juliano (ed.), 2nd ed., AACCC, St Paul, MN., pp. 443-524.
- Juliano, B.O. (1971). A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Science Today*, 16(10): 334-340.
- Khush, G.S., Paule, C.M., De La Cruz, N.M. (1979). Rice grain evaluation and improvement at IRRI. Pages 21-31 In: *Proceedings of the workshop on chemical aspects of rice grain quality*. International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna, Philippines.
- Koca, A.F., Anıl, M. (1997). Samsun ekolojik koşullarında yetiştirilen bazı çeltik çeşitlerinde kalite özellikleri. *OMÜ Zir Fak Dergisi*, 12(2): 61-71.
- Okon, A.O., Ubi, B.E., Dambaba, N. (2012). Rice cooking quality and physico-chemical characteristics: a comparative analysis of selected local and newly introduced rice varieties in Ebonyi State, Nigeria. *Food Public Health*, 2(1): 43-49.
- Parida, R.C., Mitra, G.N. (1989). Effect of genotype and environment on grain quality in rice. *Orissa J Agric Res*, 2(1): 74-77.
- Ravi, U., Menon, L., Gomathy, G., Parimala, C., Rajeshwari, R. (2012). Quality analysis of indigenous organic Asian Indian rice variety-Salem samba. *Indian J Tradit Know*, 11(1): 114-122.
- Singh, N., Kaur, L., Sodhi, N.S., Sekhon, K.S. (2005). Physicochemical, cooking and textural properties of milled rice from different Indian rice cultivars. *Food Chem*, 89(2): 253-259.
- Thomas, R., Wan-Nadiah, W.A., Bhat, R. (2013). Physicochemical properties, proximate composition, and cooking qualities of locally grown and important rice varieties marketed in Penang, Malaysia. *Int Food Res J*, 20(3): 1345-1351.
- TMO (2019). 2018 Grain report. Turkish Grain Board (TGB) General Directorate, Ankara, Turkey.



**ADAÇAYI EKSTRAKTLARININ FARKLI YÖNTEMLER İLE
KONSANTRASYONUNUN MATEMATİKSEL MODELLENMESİ VE KALİTE
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cüneyt Dinçer*

Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, 07058, Antalya, Türkiye
Akdeniz Üniversitesi Finike Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, 07740, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 29.04.2020; Kabul / Accepted: 14.07.2020; Online baskı / Published online: 04.08.2020

Dinçer, C. (2020). Adaçayı ekstraktlarının farklı yöntemler ile konsantrasyonunun matematiksel modellenmesi ve kalite özelliklerinin araştırılması. *GIDA* (2020) 45(4)736-747 doi: 10.15237/gida.GD20058.

Dinçer, C. (2020). Mathematical modeling of concentration of sage extract by different methods and investigation of quality properties. GIDA (2020) 45(4)736-747 doi: 10.15237/gida.GD20058.

ÖZ

Bu çalışmada adaçayı ekstraktlarının konsantrasyonunun modellenmesi ve konsantrasyon işleminin adaçayı ekstraktlarının kalite özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla uygulamalar termal vakum konsantrasyon (75, 80 ve 85 °C, 250 mbar basınç) ve mikrodalga vakum konsantrasyon (180, 300, ve 450W, 250 mbar basınç) olmak üzere iki farklı konsantrasyon sisteminde gerçekleştirilmiştir. Hedeflenen 40 °Bx konsantrasyon seviyesine en kısa sürede 450 W'ta gerçekleştirilen mikrodalga vakum konsantrasyon uygulamasıyla ulaşılmıştır. Örneklerin konsantrasyon kinetiğinin modellenmesinde 13 farklı model kullanılmıştır. Termal yöntem ile konsantre edilen adaçayı örnekleriyle en iyi uyumu Modifiye Henderson ve Pabis modeli gösterirken, mikrodalga yöntemiyle konsantre edilen örnekler için en iyi uyum gösteren model Midilli olmuştur. Konsantre edilen örneklerin fizikokimyasal özelliklerinde genel olarak önemli değişimler gözlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Adaçayı, *Salvia fruticosa*, mikrodalga vakum konsantrasyon, matematiksel modelleme.

**MATHEMATICAL MODELING OF CONCENTRATION OF SAGE EXTRACT
BY DIFFERENT METHODS AND INVESTIGATION OF QUALITY
PROPERTIES**

ABSTRACT

In this study, the modeling of the concentration of sage extracts and the effect of concentration on the quality properties of sage extracts were investigated. For this purpose, applications were performed in two different concentration systems: thermal vacuum concentration (75, 80 and 85 °C, 250 mbar pressure) and microwave vacuum concentration (180, 300, and 450W, 250 mbar pressure). The desired 40 °Bx concentration level in the shortest time was reached by the microwave vacuum concentration application at 450 W. 13 different mathematical models were used to describe the concentration kinetics. While the best fit with the sage samples concentrated by thermal method was the Modified Henderson and Pabis model, the model that showed the best fit for the samples concentrated by the microwave method was Midilli. It was observed that there was no significant difference in the physicochemical properties of the concentrated samples.

Keywords: Sage, *Salvia fruticosa*, microwave vacuum concentration, mathematical modelling.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: cdincer@akdeniz.edu.tr,

☎: (+90) 242 227 20 57/2598

☎: (+90) 242 310 65 06

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

GİRİŞ

Yüzyıllardır tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkiler “doğaya dönüş” akımının yaşandığı günümüzde yeniden önemli hale gelmiştir. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarla tıbbi ve aromatik bitkilerin içerdiği biyoaktif bileşenlerin sağlık açısından önemli faydaları olduğunun vurgulanması bu bitkilerin tüketimini ve değerini arttırmıştır. Tıbbi ve aromatik bitkiler içerisinde önemli bir yeri olan Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası, ülkemizde en yüksek endemizm oranına sahip familyaların başında gelmesi bakımından ayrı bir değere sahiptir (Arslan vd., 2000). Lamiaceae familyasının en önemli üyeleri arasında yer alan, ülkemizde adaçayı ismi ile bilinen *Salvia* cinsi bitkiler geleneksel olarak ilaç amaçlı kullanımının yanında, kozmetik, parfümeri ve kimya endüstrisinde de kullanılabilir. Ayrıca bu bitkiler özellikle et yemeklerinde aroma verici baharat olarak ve bitki çayı olarak da yaygın şekilde tüketilmektedir (Tunalı vd., 2002; Delamare vd., 2007; Yağcıoğlu, 2015; Gezek vd., 2019).

Salvia türleri farklı nitelikte dal, yaprak ve çiçeklere sahip tek veya çok yıllık ve 50–100 cm arasında boylanabilen bitkilerdir (Davis, 1982). Bu bitki türleri, rüzgardan korunan, sıcak ve güneşli, eğimli araziler üzerinde baskın olarak bulunur. Kış soğuklarına ve kuraklığa dayanıklı olan bu türler özellikle kireç içeriği bakımından zengin topraklarda iyi gelişir (Baydar, 2005). Latince kökenli bir kelime olan *Salvia* “iyileştirmek” veya “tedavi etmek” anlamlarını taşımaktadır. Kökeni ve yayılış alanı Akdeniz çevresi olan *Salvia* cinsinin en iyi bilinen türü ise tıbbi adaçayı olarak da tanınan *Salvia officinalis*'tir (Davis, 1982; Tepe, 2002; Baydar, 2005). Ancak *S. officinalis* ülkemizde doğal olarak yetişmemekte, kültür koşullarında yetiştirilmektedir. Türkiye’de yaygın olarak bulunan ve ticari öneme sahip *Salvia* türlerinin başında ise *Salvia fruticosa* (sinonim *S. triloba*) gelmektedir (Baser, 2002; Baydar, 2005). *S. fruticosa*'nın önemli miktarda fenolikler ve terpenoidler gibi biyoaktif bileşenler içerdiği, anti-enflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin de çoğunlukla rosmarinik asit (fenolik) ve 1,8-sineol (terpenoid) ile ilişkili olduğu

rapor edilmektedir (El-Sayed vd., 2001; Delamare vd., 2007; Şahin-Nadeem vd., 2013).

Geleneksel olarak, adaçayı yaprakları 3–5 dakika boyunca sıcak kaynamış suda demlenerek bitkisel çay olarak kullanılır. Son yıllarda öğütülmüş adaçayı süzen poşetler içerisinde de yaygın olarak tüketilmektedir. Ancak bu yöntemlerde ekstraksiyonun etkin bir şekilde gerçekleştirilememesi, atık problemi ve bu işlemlerin pratik olmaması nedeniyle, yenilikçi ekstraksiyon yöntemlerinin yanı sıra ekstraktların konsantrasyonu ve instant bitki çayı üretim çalışmaları da önem kazanmıştır (Torun vd., 2014; Şahin-Nadeem vd., 2013). Bitki çaylarının istenen amaca uygun olarak çözünebilir formda kurutulması amacıyla, genel olarak ekstraksiyon, aroma ayırma, konsantrasyon ve kurutma gibi işlemler uygulanması gerekmektedir. Konsantrasyon işlemi instant içecek tozu üretiminde kritik bir aşamadır ve uygun maliyetli bir kurutma işlemi elde etmek için püskürtmeli kurutucudan önce kurutucuya verilecek sıvı konsantre edilir (Torun vd., 2014; Tontul ve Topuz, 2017).

Konsantrasyon işlemi genellikle termal yöntemler ile gerçekleştirilir. Ancak bu işlemde özellikle sürenin uzamasına bağlı olarak ısıya hassas bileşenlerce zengin ürünlerde önemli kayıplar, renk ve aromada istenmeyen değişiklikler meydana gelebilmektedir. Bu kayıpların azaltılmasına yönelik olarak, termal yöntemle kombine olarak kullanılan sistemlerin yanı sıra alternatif konsantrasyon yöntemleri üzerine de çalışmalar yürütülmektedir. Bu kapsamda termal yöntemle kıyasla daha kısa sürede, enerji ve kütle transferine imkân tanıyan mikrodalga vakum konsantrasyonu gibi yöntemler ön plana çıkmaktadır (Bozkuş ve Baysal, 2017).

Mikrodalga ile ısıtma tekniğinde gıda maddesinde hacimsel ısıtma meydana gelmektedir. Hacimsel ısıtma, gıdaların mikrodalga enerjisini doğrudan ve dahili olarak emme ve ısıya dönüştürme yeteneği olarak ifade edilmektedir. Geleneksel ısıtmada ısı genellikle yüzeyden iç kısma doğru aktarılırken, mikrodalga ısıtmada ürün boyunca ısı üretilir. Bu nedenle, bir mikrodalga işleminde,

ısıtma oranları genellikle geleneksel ısıtmadan daha yüksektir (Chandrasekaran vd., 2013).

Diğer taraftan mikrodalga ısıtmanın sürekli modda uygulanması aşırı ve düzensiz ısınmaya dolayısıyla ürünün kalite özelliklerinde istenmeyen bazı değişikliklere neden olabilmektedir. Araştırmalar, aralıklı mikrodalga işleminin hem enerji verimliliğini hem de ürün kalitesini artırdığını göstermektedir (Kumar vd., 2016). Bu nedenle mikrodalga uygulamaları genelde kesikli uygulama modunda tercih edilmektedir. Mikrodalga ısıtmada dezavantajlardan biri de uygulamalarda elektromanyetik alan dağılımını ve etkisini izlemek veya kontrol etmek için yaygın ve basit bir yöntemin olmamasıdır (Vadivambal ve Jayas, 2007). Ancak, mikrodalga konsantrasyon işleminin modellenmesi, mikrodalga konsantrasyon işlemlerinin kontrolü ve optimizasyonunda fayda sağlayabilir. Ayrıca, matematiksel modellerin belirlenmesi mikrodalga konsantrasyon işlemlerinin verimliliğini artırabilir. Bu noktadan hareketle, bu çalışmanın amacı adaçayı ekstraktlarının mikrodalga ve termal yöntemler ile konsantrasyon karakteristiklerinin tanımlanmasında, matematiksel modellerin kullanılması ve ekstraktların fizikokimyasal özellikleri üzerine farklı konsantrasyon yöntem ve koşullarının etkilerinin değerlendirilmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada materyal olarak, yaklaşık 1.4 °Briks seviyesinde suda çözünür kuru madde içeriğine sahip adaçayı ekstraktı kullanılmıştır. Ekstraktı hazırlamak için Antalya'da faaliyet gösteren bir aktardan temin edilen adaçayı (*Salvia fruticosa*) bitkisinin kurutulmuş yaprakları kullanılmıştır. Örnekler blendırda (Beko BKK-2155 Maxi El Blendır, Türkiye) öğütüldükten sonra eleklerden (Retsch, Almanya) elenerek partikül büyüklüğünün 0.5-1 mm arasında olması sağlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi için öğütülmüş numuneden alınan yaklaşık 6 g örnek 250 mL'lik cam şişelere aktarılmış ardından, katı sıvı oranı 4/100 olacak şekilde üzerine (144 mL) ekstraksiyon sıcaklığındaki (80 °C) distile su ilave edilmiştir. Ekstraksiyon çalkalamalı su banyosunda (Memmert WNE 29, SV 2945

Almanya), 80 °C'de, 150 devir/dk çalkalama hızında ve yaklaşık 90 dk süreyle gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından süzöldükten sonra denemelere kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Yöntem

Termal vakum konsantrasyon

Termal vakum konsantrasyon işlemi rotary evaporatör (Heidolph Hei VAP Precision, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla elde edilen ekstraktan (1.4 °Bx) her bir deneme için 250 mL, cam balon içerisine aktarılmıştır. Ardından cam balonun sisteme bağlantısı gerçekleştirilerek örneklerin rotary evaporatörün su banyosunda 75 (T 75), 80 (T 80) ve 85 °C (T 85) olmak üzere, üç farklı sıcaklıkta 75 devir/dk döndürme hızında, 250 mbar mutlak basınç değerinde yaklaşık 40 °Bx'e kadar konsantrasyonu gerçekleştirilmiştir.

Mikrodalga vakum konsantrasyon

Mikrodalga vakum konsantrasyon işlemi, programlanabilir SAMSUNG ME86V mikrodalga fırın (100-800W 2450 MHz) ile evaporatör (Heidolph Hei VAP Precision, Almanya) entegre edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her bir deneme için 250 mL ekstrakt evaporatörün cam balonuna aktarılmış ve 30 cm uzunluğunda sıcaklığa dayanıklı şilifli (29/32) bir cam boru ile mikrodalga fırında açılan delikten evaporatöre entegre edilmiştir. Benzer sistemler nar (Yousefi vd., 2012) ve ananas sularının (Assawarachan ve Noomhorm, 2011) konsantrasyonlarında da kullanılmıştır. Örnekler (köpürme ve yanma gibi olumsuzlukların meydana gelmemesi için) ön denemeler ile belirlenen üç farklı güç seviyesinde (180 (MW 180, 8 sn açık 22 sn kapalı), 300 (MW 300, 12 sn açık 18 sn kapalı) ve 450 W (MW 450, 18 sn açık 12 sn kapalı)) ve 250 mbar mutlak basınç altında 40 °Bx'e kadar konsantre edilmiştir.

Konsantrasyonun Modellenmesi

Konsantrasyon prosesleri süresince ekstraktlardan düzenli aralıklarla (75 T ve MW 180 örneklerinde 20 dk, 80 T ve MW 300 örneklerinde 10 dk, 85 T ve MW 450 örneklerinde

7.5 dk) örnekleme yapılarak °Bx değerleri belirlenmiştir. Örnekleme yapılırken vakum sistemi durdurularak örnek alımı gerçekleştirilmiş ardından aynı şartlarda sistem yeniden

çalıştırılmıştır. Adaçayı ekstraktlarının konsantrasyon değişiminin tanımlanmasında Çizelge 1’de verilen modeller kullanılmıştır.

Çizelge 1. Adaçayı ekstraktlarının konsantrasyonu için uygulanan matematiksel modeller
Table 1. Mathematical models applied to concentration of sage extracts

Model adı <i>Model name</i>	Model eşitliği <i>Model equation</i>	Kaynak <i>Reference</i>
Lewis	$B-B_0 = \exp(-k.t)$	Goula vd., 2014
Henderson ve Pabis <i>Henderson and Pabis</i>	$B-B_0 = a.\exp(-k.t)$	Goula vd., 2014
Page	$B-B_0 = \exp(-k.t^n)$	Goula vd., 2014
İki-terimli <i>Two-term</i>	$B-B_0 = a.\exp(-k_0.t) + b.\exp(-k_1.t)$	Delgado vd., 2014
İki-terimli üssel <i>Two-term exponential</i>	$B-B_0 = a.\exp(-k.t) + (1-a).\exp(-k.a.t)$	Delgado vd., 2014
Logaritmik <i>Logarithmic</i>	$B-B_0 = a.\exp(-k.t) + c$	Delgado vd., 2014
Wang ve Singh <i>Wang and Singh</i>	$B-B_0 = 1 + a.t + b.t^2$	Goula vd., 2014
Modifiye Henderson ve Pabis <i>Modified Henderson and Pabis</i>	$B-B_0 = a.\exp(-kt) + b.\exp(-g.t) + c.\exp(-ht)$	Delgado vd., 2014
Midilli	$B-B_0 = a.\exp(-kt^n) + b.t$	Midilli vd., 2002
Verma	$B-B_0 = a.\exp(-kt) + (1-a).\exp(-g.t)$	Swain vd., 2012
Difüzyon yaklaşımı <i>Diffusion approach</i>	$B-B_0 = a.\exp(-kt) + (1-a).\exp(-k.b.t)$	Swain vd., 2012
B-B ₀ ’ın kökü <i>Root of B-B₀</i>	$B-B_0 = (n + k.t)^2$	Vega-Gálvez vd., 2008
Modifiye Page <i>Modified Page</i>	$B-B_0 = \exp(-(kt)^n)$	Delgado vd., 2014

t: konsantrasyon süresi (dk); B: ekstraktların herhangi bir süredeki çözünür katı konsantrasyonu (Briks), B₀: ekstraktların başlangıçtaki çözünür katı konsantrasyonu (Briks), k, a, b, c, g, h, n, k₀, k₁ model sabitleri.
t: concentration time (min); B: soluble solid concentration of the extracts at any time (Brix), B₀: soluble solid concentration of the extracts at initial (Brix), k, a, b, c, g, h, n, k₀, k₁ are model constants.

Tüm modellerdeki parametreler Sigma Plot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, A.B.D.) programı kullanılarak belirlenmiştir. Modellerin uygunluğu belirtme katsayısı (coefficient of determination, R²), azaltılmış kıkare (reduced chi-square, χ^2) ve hata kareler ortalamasının karekökü (Root mean square error, RMSE) ile değerlendirilmiştir. Bu üç parametre Assawarachan ve Noomhorm (2011)’in çalışmasında bildirdiği gibi aşağıdaki eşitliklerle hesaplanmıştır.

$$R^2 = 1 - (RSS) / (TSS) \quad (1)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum(\Delta B_{exp,i} - \Delta B_{pred,i})^2}{N - n_p} \quad (2)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\Delta B_{exp,i} - \Delta B_{pred,i})^2} \quad (3)$$

Burada,

RSS: Artık Kareler Toplamı

TSS: Ortalamadan Ayrılmış Kareler Toplamı

$\Delta B_{exp,i}$ ve $\Delta B_{pred,i}$ sırasıyla gözlenen ve tahmin edilen konsantrasyon değişimi (°Bx), N gözlem sayısı, n_p modeldeki sabit sayısıdır.

Yaklaşık 40 °Bx'e konsantre edilen örnekler analizler öncesi başlangıç konsantrasyonu olan 1.4 °Bx'e destile su ile seyreltilmiş ve analizler bu örneklerde gerçekleştirilmiştir.

Suda çözünür kuru madde tayini (SÇKM)

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

pH ve İletkenlik ölçümü

Örneklerin pH ve iletkenlik değerleri oda sıcaklığında dijital pH metre (Orion 4-Star pH meter, Thermo Scientific, ABD) ve iletkenlik ölçer (Mettler Toledo S230, Switzerland) kullanılarak ölçülmüştür.

Renk analizi

Örneklerin renk analizi Konica-Minolta CR-400 (Japonya) renk ölçer cihazı ve sıvı kabı kullanılarak yapılmıştır. Renk, L* (koyuluk-açıklık), a* (yeşillik-kırmızılık), b* (mavilik-sarılık) renk parametreleri cinsinden ifade edilmiştir. Ayrıca Hue açısı (h) ve Chroma (C) değerleri aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmıştır.

$$h^{\circ} = \frac{180}{\pi} \tan^{-1}(b/a) \quad (4)$$

$$C = \sqrt{(a^2 + b^2)} \quad (5)$$

Bulanıklık

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

Toplam Fenolik madde

Toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla, 0.5 mL örnek üzerine sırasıyla 2.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (saf su ile 10 kat seyreltilmiş) ve (0.5 ile 2 dk arasında bekleme süresinden sonra) 2 mL %7.5'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vorteksle karıştırıldıktan sonra 50°C'deki su banyosunda 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulurak spektrofotometrede

(Thermo Scientific Evolution 160 UV-Vis, ABD) 760 nm dalga boyunda, okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kurve yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L ekstrakta dönüştürülmüştür (Skerget vd., 2005).

İstatiksel analizler

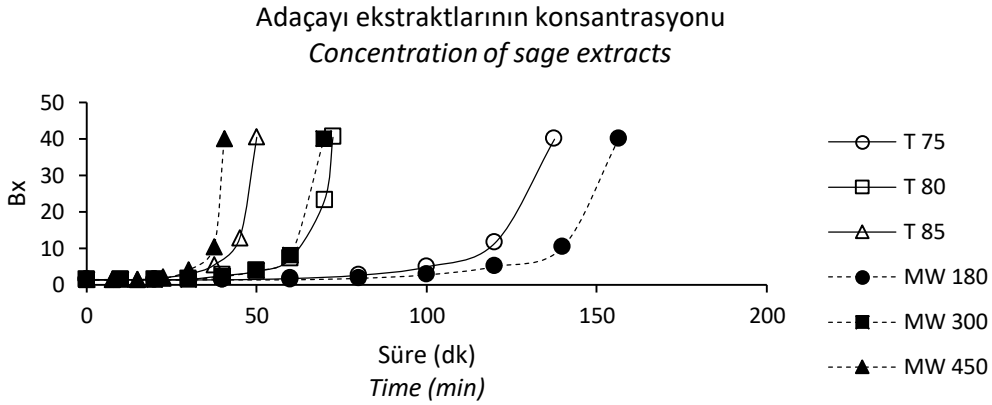
Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş analizler paralelli olarak yürütülmüştür. Ortalamalar varyans analizine tabi tutularak, önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya konulmuştur.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Adaçayı ekstraktlarının konsantrasyon kinetiği

Adaçayı ekstraktlarının farklı konsantrasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen konsantrasyon eğrileri Şekil 1'de sunulmuştur. Başlangıç seviyesi olan 1.4 °Bx'ten adaçayı ekstraktlarının 40 °Bx'e konsantrasyonu için gerekli süre, T75, T80 ve T85 örnekleri için sırasıyla 137.5, 72.5 ve 50 dk olarak belirlenirken, MW180, MW300 ve MW450 örnekleri için ise sırasıyla 156.5, 69.75 ve 40.5 dk olarak belirlenmiştir. Hedeflenen konsantrasyon değerine ulaşmak için gerekli sürenin sıcaklık (75°C'ten 85°C'ye) ve mikrodalga gücü (180W'tan 450W'a) artışıyla azaldığı görülmektedir.

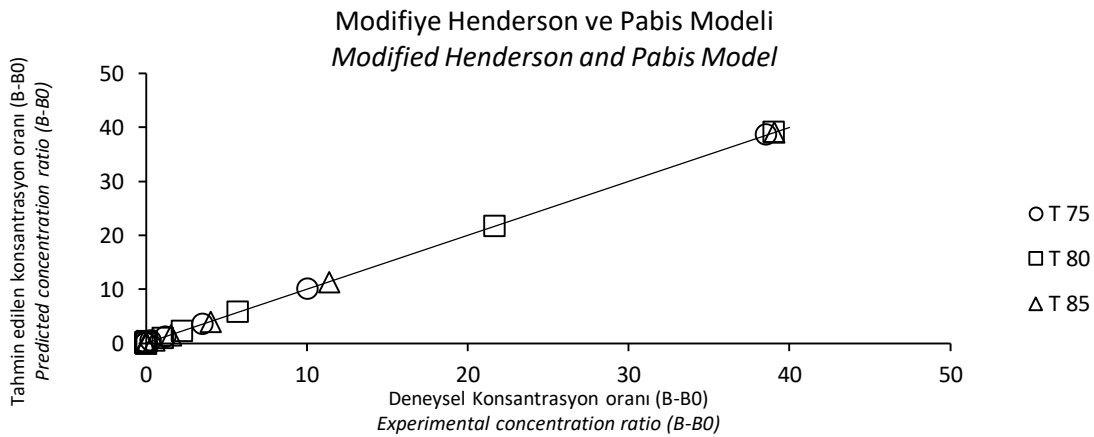
Vakum prosesi çözeltilerin kaynama noktasının düşmesine buna bağlı olarak hedeflenen konsantrasyon seviyesine daha kısa sürede ulaşılmasına imkan tanımaktadır. Diğer taraftan konsantrasyon sürecinde, çözeltilerin suda çözünür kuru madde artışına bağlı olarak kaynama noktası da yükselmektedir (Yousefi vd., 2012). Bununla birlikte çözeltilerin kaynama noktasındaki artışın suda çözünür kuru madde artışı yanında konsantrasyon yöntemi ile de ilişkili olduğu; nitekim mikrodalga vakum yöntemiyle konsantre edilen nar suyu örneklerinin kaynama noktalarının geleneksel vakum yöntemiyle konsantre edilenlerden daha fazla olduğu bildirilmektedir (Yousefi vd., 2012). Ayrıca bu farkın konsantrasyon aşamasının sonuna doğru daha belirgin olduğu ve bu olayın süper ısınma olgusundan kaynaklandığı rapor edilmektedir.



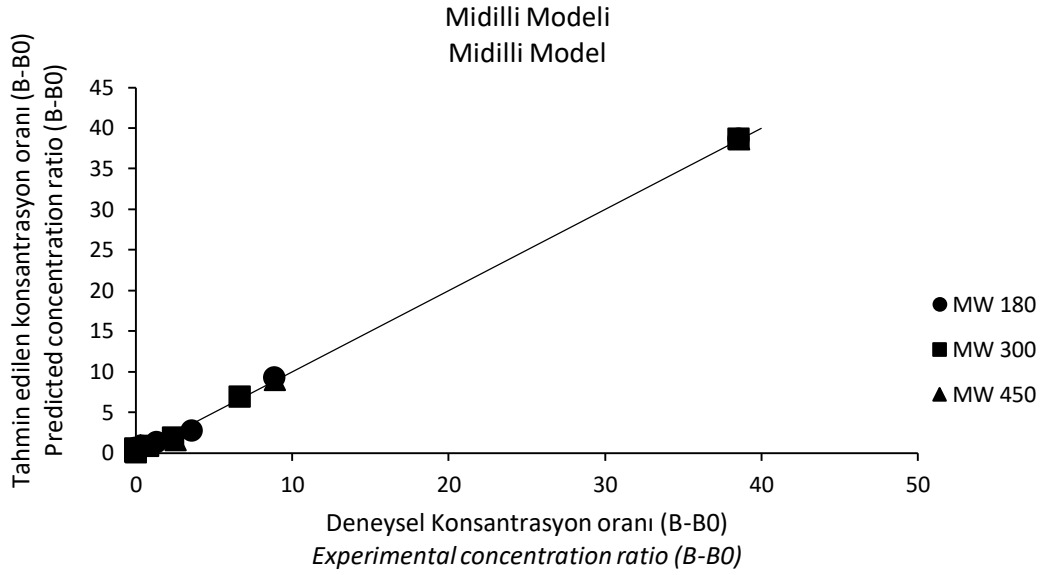
Şekil 1. Farklı yöntemler kullanılarak konsantre edilen adaçayı ekstraktlarının konsantrasyon kurvesi
Figure 1. The concentration curves for sage extracts concentrated using the various techniques

Modellerin adaçayı ekstraktlarından elde edilen verilere (Çizelge 1) uygunluğunu belirlemek için hesaplanan regresyon katsayıları (R^2), azaltılmış ki-kare (χ^2) ve hata kareler ortalaması (RMSE) değerleri, Çizelge 2’de sunulmuştur. Termal yöntem ile konsantre edilen adaçayı örneklerinde, modellerin hesaplanan R^2 değerleri 0.747 ile 1 arasında belirlenirken, χ^2 ve RMSE değerleri ise sırasıyla 0.0161 ile 53.699 ve 0.1269 ile 7.328 arasında tespit edilmiştir. Mikrodalga yöntemiyle konsantre edilen örnekler için R^2 , χ^2 ve RMSE değerleri ise sırasıyla 0.658 ile 0.9995, 0.1628 ile 83.0046 ve 0.4035 ile 9.1107 arasında hesaplanmıştır.

Yüksek R^2 ile düşük χ^2 ve RMSE değerleri, modellerin verilere uygunluğunu ifade etmektedir. Bu doğrultuda termal yöntem ile konsantre edilen adaçayı örneklerine en iyi uyumu Modifiye Henderson ve Pabis modeli ($R^2 \geq 0.9999$; $\chi^2 \leq 0.0443$; $RMSE \leq 0.2104$) gösterirken, mikrodalga yöntemiyle konsantre edilen örnekler için en iyi uyum gösteren model Midilli ($R^2 \geq 0.9985$; $\chi^2 \leq 0.6066$; $RMSE \leq 0.7789$) olmuştur (Çizelge 2). Ayrıca Şekil 2 ve Şekil 3’te sunulan deneysel veriler ile tahmin edilen veriler karşılaştırıldığında, Modifiye Henderson ve Pabis ile Midilli modellerinin adaçayı ekstraktlarının konsantrasyon karakteristiklerini tahmin etmede oldukça başarılı oldukları görülmektedir.



Şekil 2. Modifiye Henderson ve Pabis Modeli için adaçayı ekstraktlarındaki termal vakum konsantrasyonu değişiminin deneysel ve tahmin edilen değerleri.
Figure 2. Experimental and predicted values of thermal vacuum concentration change in sage extracts for Modified Henderson and Pabis Model



Şekil 3. Midilli Modeli için adaçayı ekstraktlarındaki mikrodalga vakum konsantrasyonu değişiminin deneysel ve tahmin edilen değerleri.

Figure 3. Experimental and predicted values of microwave vacuum concentration change in sage extracts for Midilli Model

Çizelge 2. Farklı yöntemler ile konsantr edilen adaçayı ekstraktlarının konsantrasyon verileri için kullanılan kinetik modellerin parametreleri

Table 2. Parameters of the kinetic models used to fit concentration data for sage extracts concentrated by various concentration techniques.

Matematiksel model Mathematical model	Parametreler Parameters	Konsantrasyon metodu Concentration method					
		T 75	T 80	T 85	MW 180	MW 300	MW 450
Lewis	R ²	0.7637	0.77	0.747	0.6774	0.7062	0.658
	χ ²	41.9819	42.8731	46.0277	51.3596	52.3378	69.1705
	RMSE	6.4793	6.5478	6.7844	7.1666	7.2345	8.3169
Henderson ve Pabis <i>Henderson and Pabis</i>	R ²	0.9984	0.9907	0.9954	0.9961	0.9985	0.9955
	χ ²	0.3375	1.988	0.9789	0.7035	0.3099	1.0869
	RMSE	0.5809	1.41	0.9894	0.8387	0.5567	1.0426
Page	R ²	0.9966	0.9958	0.9969	0.9924	0.9963	0.9893
	χ ²	0.7067	0.9015	0.6633	1.3886	0.7697	2.5994
	RMSE	0.8407	0.9495	0.8144	1.1784	0.8773	1.6123
İki-terimli <i>Two-term</i>	R ²	0.9984	0.9907	0.9954	0.9961	0.9985	0.9955
	χ ²	0.5062	2.7832	1.4684	0.9849	0.4648	1.8116
	RMSE	0.7115	1.6683	1.2118	0.9924	0.6818	1.3459
İki-terimli üssel <i>Two-term exponential</i>	R ²	0.9967	0.9924	0.9957	0.9951	0.9964	0.9955
	χ ²	0.6784	1.6249	0.9133	0.8861	0.7452	1.0835
	RMSE	0.8237	1.2747	0.9556	0.9413	0.8633	1.0409
Logaritmik <i>Logarithmic</i>	R ²	0.9987	0.9926	0.9965	0.9969	0.9988	0.9965
	χ ²	0.3278	1.8274	0.8865	0.6676	0.3095	1.0554
	RMSE	0.5726	1.3518	0.9416	0.817	0.5564	1.0273
Wang ve Singh <i>Wang and Singh</i>	R ²	0.8244	0.8275	0.8018	0.7579	0.7835	0.7221
	χ ²	36.4107	36.7478	42.0765	44.0582	45.0053	67.4573
	RMSE	6.0341	6.062	6.4866	6.6376	6.7086	8.2132

Adaçayı ekstraktlarının konsantrasyonunun matematiksel modellenmesi

Modifiye Henderson ve Pabis <i>Modified Henderson and Pabis</i>	R ²	1	0.9999	1	0.9961	0.9985	0.9955
	χ^2	0.0161	0.0443	0.0244	1.6415	0.9297	5.4347
	RMSE	0.1269	0.2104	0.1561	1.2812	0.9642	2.3312
Midilli	R ²	0.9995	0.9977	0.9989	0.9987	0.9995	0.9985
	χ^2	0.1503	0.6866	0.353	0.3237	0.1628	0.6066
	RMSE	0.3877	0.8286	0.5941	0.5689	0.4035	0.7789
Verma	R ²	0.9976	0.99	0.9946	0.9953	0.9977	0.9947
	χ^2	0.605	2.486	1.3747	0.9874	0.5719	1.6087
	RMSE	0.7778	1.5767	1.1725	0.9937	0.7562	1.2683
Difüzyon yaklaşımı <i>Diffusion approach</i>	R ²	0.9976	0.99	0.9946	0.9953	0.9977	0.9947
	χ^2	0.605	2.486	1.3747	0.9874	0.5719	1.6087
	RMSE	0.7778	1.5767	1.1725	0.9937	0.7562	1.2683
B-B0'nin kökü <i>Root of B-B0</i>	R ²	0.78	0.7899	0.7612	0.7099	0.7304	0.6767
	χ^2	45.6088	44.7391	50.6788	52.7933	56.0375	78.4657
	RMSE	6.7534	6.6887	7.1189	7.2659	7.4858	8.8581
Modifiye Page <i>Modified Page</i>	R ²	0.7637	0.77	0.747	0.6774	0.7062	0.658
	χ^2	48.9789	48.9978	53.699	58.6967	61.0608	83.0046
	RMSE	6.9985	6.9998	7.328	7.6614	7.8141	9.1107

Literatürde bitki çaylarının konsantrasyonunun modellendiği çalışmalara rastlanılmamıştır. Bununla birlikte benzer yöntemler ile meyve sularının konsantrasyonunun modellendiği sınırlı sayıda çalışmalar mevcuttur. Bu kapsamda Assawarachan ve Noomhorm (2011) ananas suyunun mikrodalga yöntem ile konsantrasyonunda deneysel verilere en uygun modelin modifiye Page olduğunu rapor etmiştir. Yousefi vd. (2012) nar suyunun mikrodalga ve geleneksel yöntem ile konsantrasyonunu tanımlamada birinci derece reaksiyon modelini kullandıklarını rapor ederken, Goula vd. (2014) nar suyunun termal yöntem ile konsantrasyonunda logaritmik modelin daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Dinçer vd. (2019) ve Sabancı ve İçier (2017) farklı yöntemler ile konsantre ettikleri meyve sularında, konsantrasyon karakteristiklerinin tanımlanmasında Midilli modelin en uyumlu model olduğunu rapor etmişlerdir.

Çizelge 3'te en uyumlu modeller olarak belirlenen Modifiye Henderson ve Pabis ile Midilli modellerine ait kinetik parametreleri sunulmuştur. Termal yöntem ile konsantre edilen adaçayı örneklerinde Modifiye Henderson ve Pabis modeli için hesaplanan k değerinin -0.2287 ile -

0.0729 arasında olduğu belirlenirken, mikrodalga yöntem ile konsantre edilen örneklerde Midilli model için hesaplanan k değeri ise -6.7307.10⁻⁶ ile -0.0003 arasında belirlenmiştir (Çizelge 3).

Fizikokimyasal özellikler

Sıvı gıdaların iletkenliğinin vitaminler, mineraller, yağ asitleri ve proteinler gibi besin maddelerinden kaynaklandığı ifade edilmekte (Aadil vd., 2013) ayrıca, iletkenliğin, ohmik ısıtma, ultrason, darbeli elektrik alanları, radyo frekanslı ısıtma veya mikrodalga ısıtma ile işlenmesi için önemli olduğu bildirilmektedir (Siguemoto ve Gut, 2016). Bununla birlikte Çizelge 4. incelendiğinde örneklerin iletkenlik değerlerinin 1518 ile 1723 $\mu\text{s}/\text{cm}$ arasında tespit edildiği, konsantrasyon işleminin örneklerin iletkenlik değerlerinde önemli bir değişime neden olmadığı görülmektedir. Konsantrasyon işlemlerinin adaçayı ekstraktlarının pH değerlerinde ise istatistiki açıdan önemli seviyede azalmaya neden olduğu ancak konsantrasyon yöntemleri arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Nitekim Onsekizoğlu (2013)'da nar suyu ile gerçekleştirdiği çalışmada pH ve titrasyon asitliği değerlerinde konsantrasyon yöntemine göre (termal ve membran konsantrasyon yöntemleri) önemli değişiklikler olmadığını rapor etmektedir.

Çizelge 3. Farklı yöntemler ile konsantrasyon edilmiş adaçayı ekstraktları için Midilli ve Henderson ve Pabis modellerinin kinetik parametreleri.

Table 3. Kinetic parameters of Midilli and Henderson and Pabis models for sage extracts concentrated by various techniques.

Matematiksel Model <i>Mathematical Model</i>	Konsantrasyon metodu <i>Concentration method</i>	Model sabitleri <i>Model constants</i>			
		a	k	n	b
Henderson ve Pabis <i>Henderson and Pabis</i>	T 75	0.0017	-0.0729		
	T 80	4.4859.10 ⁻⁵	-0.1883		
	T 85	0.0004	-0.2287		
	MW 180	8.6647.10 ⁻⁵	-0.0831		
	MW 300	0.0002	-0.1733		
	MW 450	1.3587.10 ⁻⁷	-0.4806		
Midilli	T 75	0.1058	-0.0004	1.9263	0.0045
	T 80	0.1696	-3.5871.10 ⁻⁶	3.3200	0.0261
	T 85	0.1136	-0.0005	2.3901	0.0302
	MW 180	0.1177	-6.7307.10 ⁻⁶	2.7035	0.0059
	MW 300	0.0902	-0.0003	2.3261	0.0074
	MW 450	0.0749	-4.7926.10 ⁻⁶	3.8025	0.0347

Çizelge 4. Adaçayı örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri

Table 4. Physicochemical analysis results of sage samples

	Kontrol <i>Control</i>	T 75	T 80	T 85	MW 180	MW 300	MW 450
pH	5.76±0.02	5.66±0.02	5.66±0.00	5.69±0.01	5.67±0.03	5.68±0.01	5.70±0.02
İletkenlik ($\mu\text{s}/\text{cm}$) <i>Conductivity</i>	1528±56	1648±15	1628±5	1518±179	1687±102	1608±79	1723±17
L*	18.36±0.10	17.72±0.55	18.15±0.06	18.23±0.13	18.02±0.02	17.96±0.05	18.07±0.03
a*	1.88±0.08	2.06±0.15	1.98±0.14	1.97±0.05	1.55±0.10	1.65±0.07	1.65±0.15
b*	1.92 ^{ab} ±0.16	2.04±0.02	1.81± ^{abc} 0.11	1.94± ^{ab} 0.19	1.52± ^c 0.04	1.52± ^c 0.07	1.62± ^{bc} 0.05
C	2.68± ^{abc} 0.17	2.92±0.14	2.68± ^{abc} 0.17	2.76± ^{ab} 0.16	2.17± ^d 0.09	2.24± ^{cd} 0.10	2.31± ^{bcd} 0.07
h	45.44±1.14	45.07±1.63	42.51±0.31	44.51±2.16	44.39±1.18	42.62±0.12	44.56±3.43
NTU	78.2±4.2	56.3±0.2	66.7±1.1	69.8±5.0	103.6±8.5	78.3±7.8	75.4±3.3
TFM (mg/L) <i>TPM</i>	3.73±0.03	3.54±0.10	3.55±0.15	3.62±0.04	3.67±0.02	3.66±0.04	3.66±0.01

T 75, T 80 ve T 85: 75°C, 80°C ve 85°C deki termal vakum konsantrasyon. MW 180, MW 300 ve MW 450: 180 W, 300 W ve 450W mikrodalga vakum konsantrasyon. Aynı satırdaki farklı harfler örnekler arası farkın istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğunu gösterir. Ortalama değer±standart hata.

T 75, T 80 and T 85: Thermal vacuum concentration at 75 °C, 80 °C and 85 °C. MW 180, MW 300 and MW 450: Microwave vacuum concentration at MW 180, MW 300 and MW 450. Different letters on the same line represent that the difference between the samples is statistically significant ($P<0.05$). Mean values ±standard error

Örneklerin L*, a* ve h açısı renk değerlerinin uygulanan konsantrasyon yöntemlerine göre önemli bir değişim göstermediği belirlenirken b* ve C (Chroma) değerinin istatistiki açıdan önemli seviyede değişim gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte b* ve C renk değerlerindeki bu değişimin kontrol örneğine kıyasla artış ya da

azalış şeklinde net bir eğilim göstermediği görülmektedir. Benzer şekilde örneklerin bulanıklık (NTU) değerlerinde de istatistiki açıdan önemli seviyede bir değişim belirlenirken, bu değişim artış ya da azalış şeklinde net bir eğilim göstermemiştir. Diğer taraftan Bozkir ve Baysal (2016) mikrodalga vakum evaporasyon (668 W,

500 mbar, 82 °C), rotary evaporasyon (500 mbar, 82 °C) ve yükselen film evaporator (500 mbar, 82 °C) olmak üzere üç farklı yöntem ile konsantre ettikleri elma sularının L* ve b* renk değerlerinin kontrol örneğine göre daha düşük bulunduğunu rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada mikrodalga vakum evaporasyon ve rotary evaporasyon ile konsantre edilen örneklerin a* değeri azalırken, yükselen film evaporator ile konsantre edilen örneklerin a* değerinin % 4.69 arttığı bildirilmiştir. Karadut suyu ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise ozmotik distilasyon ve termal evaporasyon (250 mbar, 80 °C) ile konsantre edilen örneklerin L ve a değerlerinde önemli bir değişim bildirilmezken, b değerinin arttığı rapor edilmiştir (Dinçer vd., 2016).

Biyoaktif maddelerce oldukça zengin olduğu ifade edilen adaçayı ekstraktlarında fenolik madde içeriği 3.54 ile 3.73 mg/L arasında tespit edilmiştir. Bununla birlikte uygulanan konsantrasyon işlemlerinin ekstraktların fenolik içeriğinde önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Bu fenolik madde sonuçları göz önüne alındığında; adaçayı ekstraktlarının içerdiği fenolik bileşenlerin genel olarak uygulanan 75-85 °C'deki termal vakum konsantrasyon ve 180-450 W mikrodalga vakum konsantrasyon şartlarına karşı dayanıklı olduğu değerlendirilebilir. Nitekim adaçayı fenoliklerinin, ekstraksiyon (Torun vd., 2015) ve püskürterek kurutma (Şahin-Nadeem vd., 2013) gibi farklı sıcaklıklarda (60-80 °C ve 145-165 °C) gerçekleştirilen proses şartlarında da önemli bir değişime uğramadığı rapor edilmektedir. Adaçayı ekstraktlarının ters ozmoz ve ardından ozmotik distilasyon yöntemi ile konsantre edildiği başka bir çalışmada ise ters ozmoz işleminin toplam fenolik madde içeriğinde önemli düzeyde azalmaya neden olduğu bununla birlikte ozmotik distilasyon yöntemi ile konsantre edilen adaçayı ekstraktlarında toplam fenolik bileşen analizinde geri kazanım oranının %95 gibi oldukça yüksek bir seyir izlediği bildirilmektedir (Torun vd., 2014).

SONUÇ

Bu çalışmada adaçayı ekstraktları (1.4 °Bx) 40 °Bx'e kadar termal ve mikrodalga yöntemleriyle başarıyla konsantre edilmiştir. Konsantrasyon

süresi, mikrodalga gücü (180W'dan 450W'a) ve sıcaklık (75 °C'den 85 °C'ye) artışıyla azaltılmıştır. Adaçayı ekstraktlarının konsantrasyonunun modellenmesinde 13 farklı matematiksel model kullanılmıştır. Termal yöntemle konsantre edilen örneklerde en iyi uyumu Modifiye Henderson ve Pabis modeli sergilerken, mikrodalga yöntemiyle konsantre edilen örnekler için en iyi uyum gösteren model Midilli olarak belirlenmiştir. Konsantrasyon işlemleri adaçayı ekstraktlarının fizikokimyasal özelliklerinde genel olarak önemli değişimlere neden olmamıştır. Özellikle fenolik bileşenlerin konsantrasyon şartlarında önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar, bu makalenin araştırılması, yazılışı ve/veya yayınlanması ile ilgili potansiyel çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Han, Z., Sun, D. W. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chem.* 141(3), 3201-3206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.008>
- Arslan, N., Yılmaz, G., Akınerdem, F., Özgüven, M., Kırıcı, S., Arıoğlu, H., Gümüşçü, A. Telci, İ. (2000). Nişasta-Şeker, tütün ve tıbbi-aromatik bitkilerin tüketim projeksiyonları ve üretim hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, 1. Cilt, 453-483 ss, 17-21 Ocak, Ankara.
- Assawarachan, R., Noomhorm, A. (2011). Mathematical models for vacuum-microwave concentration behavior of pineapple juice. *J. Food Process Eng.* 34(5), 1485-1505. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00536.x>
- Baser, K. H. C. (2002). Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure Appl. Chem.* 74(4), 527-545. <https://doi.org/10.1351/pac200274040527>
- Baydar, H. (2005). Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi 51, 216 ss, Isparta.

- Bozkir, H., Baysal, T. (2017). Concentration of apple juice using a vacuum microwave evaporator as a novel technique: Determination of quality characteristics. *J. Food Process Eng.* 40(5), e12535. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12535>
- Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., Basak, T. (2013). Microwave food processing—A review. *Food Res. Int.* 52(1), 243-261. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.033>.
- Davis, P. H. (1982). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 3. Edinburg University Press, Vol.7, 947 ss, Edinburg.
- Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L., Echeverrigaray, S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.* 100(2), 603-608. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.078>
- Delgado, T., Pereira, J. A., Baptista, P., Casal, S., Ramalhosa, E. (2014). Shell's influence on drying kinetics, color and volumetric shrinkage of *Castanea sativa* Mill. fruits *Food Res. Int.* 55, 426-435. doi:10.1016/j.foodres.2013.11.043
- Dinçer, C., Çam, İ. B., Torun, M., Gülmez, H. B., Topuz, A. (2019). Mathematical modeling of concentrations of grape, pomegranate and black carrot juices by various methods. *Gıda*, 44(6), 1092-1105. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19080>
- Dincer, C., Tontul, I., Topuz, A. (2016). A comparative study of black mulberry juice concentrates by thermal evaporation and osmotic distillation as influenced by storage. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 38, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.012>
- El-Sayed, N. H., Khalifa, T. I., Ibrahim, M. T., Mabry, T. J. (2001). Constituents from *Salvia triloba*. *Fitoterapia*, 72(7), 850-853. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(01\)00327-6](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00327-6)
- Gezek, G., Hashemi, P., Kalaycıoğlu, Z., Kaygusuz, H., Sarıoğlu, G., Döker, S., ... Erim, F. B. (2019). Evaluation of some Turkish *Salvia* species by principal component analysis based on their vitamin B2, mineral composition, and antioxidant properties. *LWT Food Sci. Technol.* 100, 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.066>
- Goula, A. M., Tzika, A., Adamopoulos, K. G. (2014). Kinetic models of evaporation and total phenolics degradation during pomegranate juice concentration. *Int. J. Food Eng.* 10(3), 383-392. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2014-0016>
- Kumar, C., Joardder, M. U. H., Farrell, T. W., Millar, G. J., Karim, M. A. (2016). Mathematical model for intermittent microwave convective drying of food materials. *Drying Technol.* 34(8), 962-973. <https://doi.org/10.1080/07373937.2015.1087408>
- Midilli, A., Kucuk, H., Yapar, Z. (2002). A new model for single-layer drying. *Drying Technol.* 20(7), 1503-1513. <https://doi.org/10.1081/DRT-120005864>.
- Onsekizoglu, P. (2013). Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *J. Membr. Sci.* 442, 264-271. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2013.03.061>
- Sabancı, S., Icier, F. (2017). Applicability of ohmic heating assisted vacuum evaporation for concentration of sour cherry juice. *J. Food Eng.* 212, 262-270. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.004>
- Siguemoto, É. S., Gut, J. A. W. (2016). Dielectric properties of cloudy apple juices relevant to microwave pasteurization. *Food Bioprocess Technol.* 9(8), 1345-1357. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1723-0>
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem.* 89(2), 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>
- Swain, S., Samuel, D. V. K., Bal, L. M., Kar, A., Sahoo, G. P. (2012). Modeling of microwave assisted drying of osmotically pretreated red sweet

- pepper (*Capsicum annum* L.). *Food Sci. Biotechnol.* 21(4), 969-978. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0127-9>
- Şahin-Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A., & Özdemir, F. (2013). Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying. *LWT Food Sci. Technol.* 52(1), 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.007>
- Tajchakavit, S., Boye, J. I., Bélanger, D., Couture, R. (2001). Kinetics of haze formation and factors influencing the development of haze in clarified apple juice. *Food Res. Int.* 34(5), 431-440. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00188-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00188-5)
- Tepe, B. (2002). Lamiaceae familyasına ait bazı bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi) 66 ss, Sivas.
- Tontul, I., Topuz, A. (2017). Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. *Trends Food Sci. Technol.* 63, 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.009>
- Torun, M., Rácz, G., Fogarassy, E., Vatai, G., Dinçer, C., Topuz, A., Özdemir, F. (2014). Concentration of sage (*Salvia fruticosa* Miller) extract by using integrated membrane process. *Sep. Purif. Technol.* 132, 244-251. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.05.039>
- Torun, M., Dincer, C., Topuz, A., Sahin-Nadeem, H., Ozdemir, F. (2015). Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (*Salvia fruticosa* Miller) leaves. *J. Food Sci. Technol.* 52(5), 2797-2805. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1308-8>
- Tunalier, Z., Öztürek, N., Koşar, M., Başer, K.H.C., Duman, H. ve Kırimer, N. 2002. Bazı Sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, bildiriler, 29-31 Mayıs, Eskişehir.
- Vadivambal, R., Jayas, D. S. (2007). Changes in quality of microwave-treated agricultural products—a review. *Biosyst. Eng.* 98(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.06.006>
- Vega-Gálvez, A., Puente-Díaz, L., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., & Torres, M. J. (2014). Mathematical Modeling of Thin-Layer Drying Kinetics of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *J. Food Process. Preserv.* 38(2), 728-736. Doi: 10.1111/jfpp.12024
- Yağcıoğlu, P. (2015). Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Adaçayı (*Salvia Officinalis* L.) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 95 s.
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M. A., Askari, G. R. (2012). Comparing the effects of microwave and conventional heating methods on the evaporation rate and quality attributes of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate. *Food Bioprocess Technol.* 5(4), 1328-1339. <http://doi.org/10.1007/s11947-011-0603-x>



**OHMİK DESTEKLİ VAKUM ALTINDA EVAPORASYON SİSTEMİ İLE
KONSANTRE EDİLEN NAR SUYUNUN REOLOJİK ÖZELLİKLERİNDEKİ
DEĞİŞİMİN İNCELENMESİ**

Mutlu Çevik^{1*}, Ömer Faruk Çokgezme², Serdal Sabancı¹, Filiz İçier²

¹Munzur Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Tunceli, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / *Received*: 09.04.2020; Kabul / *Accepted*: 14.07.2020; Online baskı / *Published online*: 04.08.2020

Çevik, M., Çokgezme, Ö.M., Sabancı, S., İçier, F.. (2020). Ohmik destekli vakum altında evaporasyon sistemi ile konsantre edilen nar suyunun reolojik özelliklerindeki değişimin incelenmesi. *GIDA* (2020) 45(4) 748-762 doi: 10.15237/gida.GD20049.

Çevik, M., Çokgezme, Ö.M., Sabancı, S., İçier, F.. (2020). Investigation of the changes in the rheological properties of pomegranate juice with ohmic assisted vacuum evaporation system. GIDA (2020) 45(4) 748-762 doi: 10.15237/gida.GD20049.

ÖZ

Bu çalışmada, nar suyunun ohmik destekli vakum altında evaporasyon (OAVE) yöntemi ile farklı voltaj gradyanları (7.5, 10 ve 12.5 V/cm) uygulanarak %40 suda çözünür kuru madde (SÇKM) içeriğine kadar konsantre edilmesi sırasında reolojik özelliklerindeki değişim incelenmiş ve vakum altında evaporasyon (VAE) yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Evaporasyon işlemi sırasında incelenen tüm SÇKM içeriklerinde nar suyu konsantrlerinin reolojik davranışını en iyi ifade eden modelin Üssel Model olduğu tespit edilmiştir. Bu model ile öngörülen görünür viskozite ($\mu_{\text{görünür}}$) ve akış davranış indeksleri (n) değerlerinin SÇKM içeriği arttıkça artma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Yüksek voltaj gradyanlarında (10 ve 12.5 V/cm) uygulanan OAVE işlemi ile yüksek kıvam katsayısına sahip nar suyu konsantrlerinin elde edilebileceği tespit edilmiştir. Ek olarak, VAE işlemine benzer karakterde kıvama sahip konsantre eldesi için ise düşük voltaj gradyanında uygulanan OAVE işleminin alternatif olarak uygulanabilir olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: elektriksel, kıvam, vakum, meyve suyu, kuru madde

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: mutlucevik3538@hotmail.com,

☎: (+90) 428 213 17 94/25 19

☎: (+90) 428 213 18 61

Mutlu Çevik; ORCID no: 0000-0003-4847-4910

Ömer Faruk Çokgezme; ORCID no: 0000-0001-9806-2282

Serdal Sabancı; ORCID no: 0000-0003-1630-0799

Filiz İçier; ORCID no: 0000-0002-9555-3390

INVESTIGATION OF THE CHANGES IN THE REOLOGICAL PROPERTIES OF POMEGRANATE JUICE WITH OHMIC ASSISTED VACUUM EVAPORATION SYSTEM

ABSTRACT

In this study, the change in rheological properties of the pomegranate juice during evaporation process up to 40% TSS content by the ohmic assisted vacuum evaporation (OAVE) method applied at different voltage gradients (7.5, 10 and 12.5V/cm) was examined and compared by vacuum evaporation (VAE) method. It was determined that the best model characterizing the rheological behavior of pomegranate juice concentrates for all TSS contents investigated during the evaporation process was the Power Law Model. It was determined that μ_{apparent} and n values predicted with this model tend to increase as TSS content increased. It has been determined that pomegranate juice concentrates having high consistency coefficient can be obtained with OAVE process applied in high voltage gradients (10 and 12.5 V/cm). In addition, it was concluded that the OAVE process in low voltage gradient could be applied as alternative method for concentrate production with a consistency similar to VAE process.

Keywords: electrical, consistency, vacuum, fruit juice, dry matter

GİRİŞ

Nar (*Punicagranatum* L. (Hicaznar)) Amerika, Orta Asya, Akdeniz ve Arap ülkelerinde yetiştiriciliği gerçekleştirilen önemli bir meyvedir (Al-Maiman ve Ahmad, 2002; Vardin ve Fenercioğlu, 2003; Maskan, 2006). Nar meyvesi yüzlerce küçük çekirdekten ve çekirdekleri saran kırmızı sert bir kabuktan oluşmaktadır. Nar meyvesinin yenilebilen kısımları küçük çekirdeklerdir. Bu çekirdekler önemli miktarda asit, vitamin, fenolik madde ve mineral madde içeriğine sahiptir (Al-Maiman ve Ahmad, 2002; Maskan, 2006; Ozgen vd., 2008). Genellikle nar meyvesi gıda sanayisinde meyve suyu, nar ekşisi, nar marmelatı ve kuru nar meyvesi şeklinde tüketilmektedir (Al-Said vd., 2009).

Sezonluk meyvelerden meyve suyu üretilmesinde kısıtlı sürede hasat edilen hammaddenin hızlı bir şekilde işlenerek depolanması gerekir. Üretilen meyve suyu, konsantre edilmeden depolanırsa bozulmaların minimize edilmesi için ısı işlem uygulaması ve yüksek depolama hacmi gerekmektedir. Dolayısıyla işleme ve depolama maliyeti yüksek olmaktadır (Cemeroğlu, 2010). Bu olumsuzlukları gidermek amacıyla meyve suları üretildikten sonra genellikle konsantre edilir. Konsantrasyon amacıyla gıda sanayinde vakum altında ısı evaporasyon uygulamaları kullanılmaktadır. Vakum altında evaporasyon işlemi su aktivitesi değerini düşürmekte, ağırlık ve

hacmin azalmasını başarıyla sağlamaktadır, ancak aroma ve uçucu yağ asitlerinin kayba uğraması ve atmosferik evaporasyon işlemine göre ek enerji gereksinimine sahip olması gibi dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle son yıllarda yeni ısıtma tekniklerinin (mikrodalga ısıtma ve ohmik ısıtma) vakumlu sistemlere entegre edildiği çalışmalar literatürde dikkati çekmektedir (Bozkır ve Baysal, 2017; Cokgezme vd., 2017; Icier vd., 2017a; Sabancı ve Icier, 2017).

Ohmik ısıtma, iki elektrot arasında bulunan gıda maddesi içerisinde alternatif akımın geçirilmesi ve gıda maddesi içerisinde meydana gelen ısı jenerasyonu ile gıda maddesinin ısıtılması prensibine dayanmaktadır. Sıvı gıda maddelerine uygulanan ohmik ısıtma işleminin hızlı ve homojen bir ısıtma sağlayan elektriksel bir ısıtma yöntemi olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Reznick, 1996; Sastry ve Salengke, 1998; İçier, 2003). Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda ohmik ısıtma işleminin gıda maddelerinin ısıtılmasında, pastörizasyonunda, sterilizasyonunda, pişirilmesinde, haşlanmasında ve çözündürülmesinde yaygın olarak kullanıldığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Ozkan vd., 2004; Sensoy ve Sastry, 2004; Bozkurt ve Icier, 2010a; b; Cho vd., 2016; Kaur ve Singh, 2016; Icier vd., 2017b; Sabancı ve Icier, 2017; Cevik ve Icier, 2018). Literatürde ohmik ısıtma yönteminin vakumlu sistemlere entegre edildiği

sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bahsi geçen bu çalışmalarda, gıda maddelerinin daha çok elektriksel iletkenlik değerlerindeki değişimin belirlendiği, kullanılan sistemlerin enerjetik ve ekserjetik performanslarının incelendiği ve ürünlerin kalite özelliklerindeki değişimin tespit edildiği dikkati çekmektedir (Cokgezme vd., 2017; İçier vd., 2017a; Fadavi vd., 2018; Darvishi vd., 2019; Sabancı ve İçier, 2017; 2019; Sabancı vd., 2019). Elektriksel iletkenlik değerlerinin incelendiği çalışmada (İcier vd., 2017), araştırmacılar sıcaklık ve uygulanan voltaj gradyanı değerlerinin artmasına bağlı olarak elektriksel iletkenlik değerlerinin kritik %SÇKM içeriğine kadar artış gösterdiğini ve daha sonra ise azaldığını bildirmişlerdir. Yapılan performans değerlendirme çalışmasında, ohmik ısıtma destekli vakum altında evaporasyon (OAVE) yöntemi ile konsantre edilen nar suyunun VAE yöntemi ile konsantre edilen nar suyu örneklerine kıyasla toplam harcanan enerji miktarının oldukça düşük olduğu rapor edilmiştir (Cokgezme vd., 2017). Yapılan diğer bir çalışmada (Sabancı ve İçier, 2020), vişne suyu %65 SÇKM içeriğine kadar konsantre edilmiş ve işlemin performans değerlendirilmesi yapılmıştır. OAVE işleminde toplam harcanan enerji miktarının 1533.37 ± 8.16 kJ (14 V/cm) olduğu ancak VAE işleminde ise 2815.06 ± 37.57 kJ olduğu rapor edilmiştir. Rapor edilen veriler karşılaştırıldığında, OAVE işleminin enerji verimliliği anlamında ciddi katkı sağladığı görülmektedir (Sabancı ve İçier, 2020). Diğer yandan, gelişen teknoloji ile birlikte daha düşük yatırım maliyetlerine sahip olan ve üretim sırasında yüksek enerji verimliliğinin sağlanabildiği ohmik ısıtma sistemlerinin endüstriyel boyutta kullanılması ile geleneksel evaporasyon yöntemlerine kıyasla daha düşük maliyetlerde ürün elde edilebileceği bildirilmiştir (Sastri vd., 2010). Ancak literatürde vakum altında ohmik ısıtma yöntemi kullanılarak konsantre edilen örneklerin reolojik özelliklerindeki değişimin incelendiği herhangi bir çalışmaya, yazarların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır.

Gelişen teknolojik koşullara bağlı olarak gıda maddelerinin fiziksel özelliklerinin belirlenmesi endüstriyel boyutta ürünlerin tasarımında oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu fiziksel özelliklerinden

biri de gıda maddelerinin reolojik karakteridir. Reoloji bilimi, maddenin akış ve deformasyonunu inceleyen bir bilim dalıdır. Genellikle sıvı gıdaların sınıflandırılması kayma hızının kayma gerilimindeki değişme göre Newtonian ve Non-Newtonian tipi akışkan olmak üzere iki tipe ayrılmaktadır. Gıda maddelerinin bu iki akış tipinden hangisine uyum gösterdiği ürünlerin raf ömürlerinin belirlenmesinde son derece öneme sahiptir (Steffe, 1996). Ayrıca gıda maddelerinin reolojik özelliklerinin belirlenmesi karıştırma ve proses kontrolü gibi parametrelerin belirlenmesinde son derecede kritik öneme sahiptir (Steffe, 1996; Krokida vd., 2001). Güncel bir teknolojinin sıvı gıdalara uygulanabilir olmasında en önemli belirleyici kriterlerden biri de reolojik özelliklerdeki değişimin etkisinin bilinmesidir. Literatürde, güncel ısıtma teknolojilerinden biri olan ohmik ısıtma işleminin sıvı gıdaların reolojik özellikleri üzerine etkisinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma olduğu dikkati çekmektedir. Yapılan bu çalışmalarda atmosferik koşullarda uygulanan ohmik ısıtma işleminin nar suyu, ayva suyu, süt, sıvı yumurta ve dondurmanın reolojik özelliklerindeki değişim incelendiği rapor edilmiştir (İcier ve Tavman, 2007; Yıldız vd., 2009; Bozkurt ve İçier, 2009; 2012; İçier ve Bozkurt, 2011). Ancak literatürde ohmik ısıtma destekli vakum altında evaporasyon işlemi ile farklı SÇKM içeriklerine konsantre edilen nar suyu örneklerinin reolojik davranışlarını inceleyen herhangi bir çalışmaya yazarların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır.

Bu çalışmanın temel amacı, farklı voltaj gradyanlarında uygulanan ohmik ısıtma destekli vakum altında evaporasyon işlemleri ile farklı SÇKM değerlerine konsantre edilen nar suyunun reolojik özelliklerindeki değişimin belirlenmesi ve vakum altında evaporasyon işlemi ile elde edilen nar suyu konsantreleri ile karşılaştırılmasıdır. Yapılan bu çalışmanın literatürde önemli bir boşluğun doldurulmasına katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

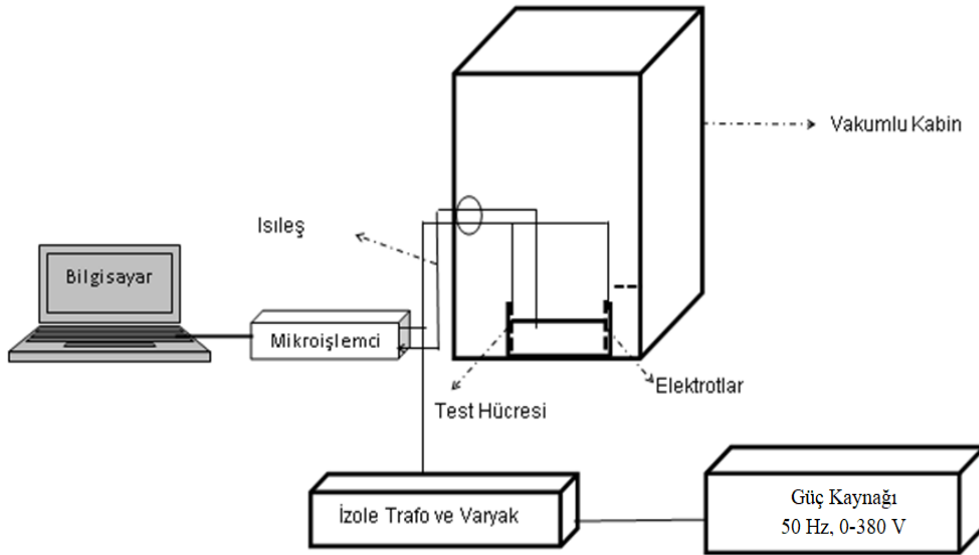
Çalışmada kullanılan nar (*Punicagranatum* L. (Hicaznar)) hammaddesi yerel bir firmadan temin

edilmiştir ve iklimlendirme kabiniinde 0-5°C sıcaklıkta %90-95 nisbi nemde depolanmıştır. Nar meyveleri yıkama ve daneleme işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen nar taneleri pilot çaplı hidrolik pres (Bucher, İsviçre) kullanılarak preslenmiş, kaba filtre kağıdı ile vakum uygulanarak süzölmüştür. Elde edilen süzöntüler hammadde farklılığından kaynaklanan hataları en aza indirmek ve homojen bir karışım elde etmek amacıyla harmanlanmış, karıştırılarak 300 ml plastik şişeler içerisine doldurulmuştur. Suda çözüner kuru madde (SÇKM) içeriğı %17.5±0.1 olan şişelenmiş nar suyu örnekleri hava akımlı -29°C soğutma ortamı sıcaklığına sahip dondurucu (Electrolux, İsviçre) içerisinde, şişelerin geometrik merkez noktaları -18°C olacak şekilde dondurma işlemine tabii tutulmuştur. Ardından dondurulmuş nar suyu örnekleri -18°C ortam sıcaklığında depolanmıştır.

Her bir evaporasyon işleminden önce dondurulmuş nar suyu şişeleri buzdolabı (+4°C soğutma ortamında) içerisinde geometrik merkez noktaları +4°C gelinceye kadar 24 saat boyunca çözüme işlemine tabii tutulmuştur. Çözöndürölmüş nar suyu örneklerine hemen evaporasyon işlemi uygulanmıştır.

Evaporasyon yöntemleri

Pilot ölçekli ohmik ısıtma sisteminin entegre edildiğı vakum altında evaporasyon sisteminde iki farklı evaporasyon yöntemi (ohmik ısıtma destekli vakum altında evaporasyon sistemi (OAVE) ve vakum altında evaporasyon yöntemi (VAE)) uygulanmıştır (Şekil 1). OAVE yönteminde; güç kaynağı/izole trafo (10 kW, 0-380 V), vakum kabini ve vakum sistemi, karıştırma sistemi, elektriksel işlem hücresi (0.156×0.075×0.07 m Teflon malzeme), elektrotlar (titanyum), sıcaklık ölçümü için Teflon kaplı T-tipi ısıleşler (Cole-Parmer, UK), özel olarak geliştirilmiş mikroişlemci sistemi (eş zamanlı sıcaklık, voltaj ve akım ölçebilen) ve bilgisayar üniteleri kullanılmaktadır (Şekil 1). Vakum kabini içerisindeki planlanan çalışma basıncı (180±2 mm Hg) sisteme bağı vakum pompası yardımıyla sağlanmıştır. OAVE işlemi 3 farklı voltaj gradyanında (7.5, 10 ve 12.5 V/cm) gerçekleştirilmiştir. VAE yönteminde ise farklı olarak, aynı evaporasyon sistemine entegre edilmiş olan ısıtıcı plaka (1.1 kW, Şanal, Türkiye) ve elektriksel işlem hücresi ile aynı iç boyutlara sahip işlem hücresi (paslanmaz çelik) kullanılmıştır.



Şekil 1. Ohmik ısıtma destekli vakum altında evaporasyon sisteminin şematik gösterimi (Icier vd., 2017)

Figure 1. Schematic illustration of the ohmic assisted vacuum evaporation system (Icier et al. 2017)

Her iki yöntemde de karıştırma işlemi 109 ± 1 rpm hızda gerçekleştirilmiştir. OAVE işleminde Teflon malzemedem özel olarak yapılmış, VAE işleminde ise paslanmaz çelikten özel olarak yapılmış aynı boyutlara sahip karıştırıcı uçları kullanılmıştır. Evaporasyon işlemleri sırasında nar suyu (400 ml) öncelikle 4°C 'den 65°C 'ye kadar 180 ± 2 mm Hg sabit mutlak basınç altında ısıtılmış, daha sonra $65 \pm 1^\circ\text{C}$ sabit sıcaklık değerinde %20, %30 ve %40 SÇKM içeriğine gelinceye kadar konsantrasyon işlemine tabii tutulmuştur. Mevcut çalışmada vakum altında ohmik evaporasyon işleminin meyve sularından konsantre eldesi için uygulanabilirliğinin test edilmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple hedef %SÇKM içeriği olarak, %65 SÇKM yerine orta düzeyde de olsa konsantre edebilme veya ön konsantre etme işlemi olarak uygulanabilirliğinin incelenmesi amaçlandığı için %40 SÇKM değeri belirlenmiştir.

Yazarların daha önce yayımlanan çalışmasında (Icier vd., 2017), aynı koşullarda nar suyu örneklerinin 7.5, 10 ve 12.5 V/cm voltaj gradyanı uygulanarak %40 SÇKM içeriğine kadar konsantre edilme sürelerinin sırasıyla 152, 78 ve 53 dak. olduğu rapor edilmiştir. SÇKM içeriğinin zamana bağlı değişimini belirlemek için her iki evaporasyon yönteminde, evaporasyon işlemi başladıktan sonraki her 10 dk. evaporasyon süresi artışı için, evaporasyon baştan başlatılarak ayrı ayrı yapılmıştır. İlgili sürelerde sonlandırılan işlemlerden alınan örneklerde SÇKM içeriği belirlenmiştir. Hedef %SÇKM içerikleri için gerekli evaporasyon süreleri belirlenerek evaporasyon işlemleri tekrar uygulanarak, işlem sonunda alınan örneklerde reolojik ölçümler yapılmıştır.

Reolojik ölçümler

Reolojik ölçümler Brookfield viskozimetresi (Model LVDV-II Pro, Brookfield Engineering Laboratories, U.S.A) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sırasında test hücresi içinde tekdüze bir kayma gerilimi-kayma hızı alanı oluşturabilmek adına cihazın "Küçük Ölçüm Adaptör"ü kullanılmıştır. Reolojik ölçümler $0-264 \text{ s}^{-1}$ kayma hızı değerleri arasında alınmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki nar suyu

örnekleri için Tork ölçüm hassasiyeti %10-100 aralığında olacak şekilde, en uygun spindle (spindle 18) kullanılmıştır. Kayma hızı ve kayma gerilimi değerleri ölçülmüş, akışkan tipinin belirlenmesi amacıyla reolojik modellerin (Newton, Üssel, Bingham, Herschel-Bulkley) deneysel verilere uygunluğu istatistiksel olarak belirlenmiştir (Eşitlik 1-4) (Çevik vd., 2016).

$$\tau = \eta * \dot{\gamma} \quad (1)$$

$$\tau = K * \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

$$\tau - \tau_0 = K * \dot{\gamma} \quad (3)$$

$$\tau - \tau_0 = K * \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

Burada kullanılan τ kayma gerilimi değerini (Pa), τ_0 değeri başlangıç kayma gerilimini (Pa), $\dot{\gamma}$ kayma hızı değerini (s^{-1}), K kıvam katsayısı (Pa.s^n), μ viskozite değerini (Pa.s) ve n ise akış davranış indeksini (birimsiz) ifade etmektedir.

Newton dışı akışkanlar için kayma gerilimi ve kayma hızı arasındaki değişim doğrusal değildir (Steffe, 1996). Bu çalışmada, belli bir kayma hızı (50 s^{-1}) seçilerek, elde edilmiş en uygun reolojik modeldeki reolojik sabitler Eşitlik (5)'te yerine konularak görünür viskozite değerleri hesaplanmıştır (Morell vd., 2014).

$$\eta_{\text{görünür viskozite}} = K * \dot{\gamma}^{n-1} \quad (5)$$

İstatistiksel analiz

Farklı SÇKM içeriğine konsantre edilen nar suyu örnekleri için farklı işlem koşullarının reolojik özellikler üzerine etkisi SPSS 14.0 paket programı (IBM, USA) kullanılarak ANOVA ve DUNCAN testleri ile belirlenmiştir. Güven seviyesi %95 olarak alınmıştır. Deneysel kayma gerilimi değerlerinin farklı reolojik modeller ile uyumluluğu doğrusal olmayan regresyon analizi kullanılarak test edilmiştir. İncelenen her bir

reolojik model için ilgili eşitlikler (hata kareleri ortalaması karekökü (HKOK), ki-kare (χ^2) ve R^2 değerleri) MATLAB paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda en uygun reolojik modelin değerlendirilmesinde en küçük hata kareleri ortalaması karekökü (HKOK) (Eş. 6) ve ki-kare (χ^2) (Eş. 7) değerleri ile en yüksek R^2 değerleri (Eş. 8) dikkate alınmıştır (Cevik vd., 2016). Tüm denemeler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

$$HKOK = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^n (TD_i - DD_i)^2 \right]^{0.5} \quad (6)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (TD_i - DD_i)^2}{N-n} \quad (7)$$

$$R^2 = \frac{N \sum_{i=1}^n TD_i DD_i - \sum_{i=1}^n TD_i \sum_{i=1}^n DD_i}{\sqrt{(N \sum_{i=1}^n TD_i^2 - (\sum_{i=1}^n TD_i)^2)(N \sum_{i=1}^n DD_i^2 - (\sum_{i=1}^n DD_i)^2)}} \quad (8)$$

TD teorik değer verisini, DD deneysel değer verisini, N gözlenen veri sayısını, n modeldeki katsayı sayısını ifade etmektedir.

TARTIŞMA ve SONUÇLAR

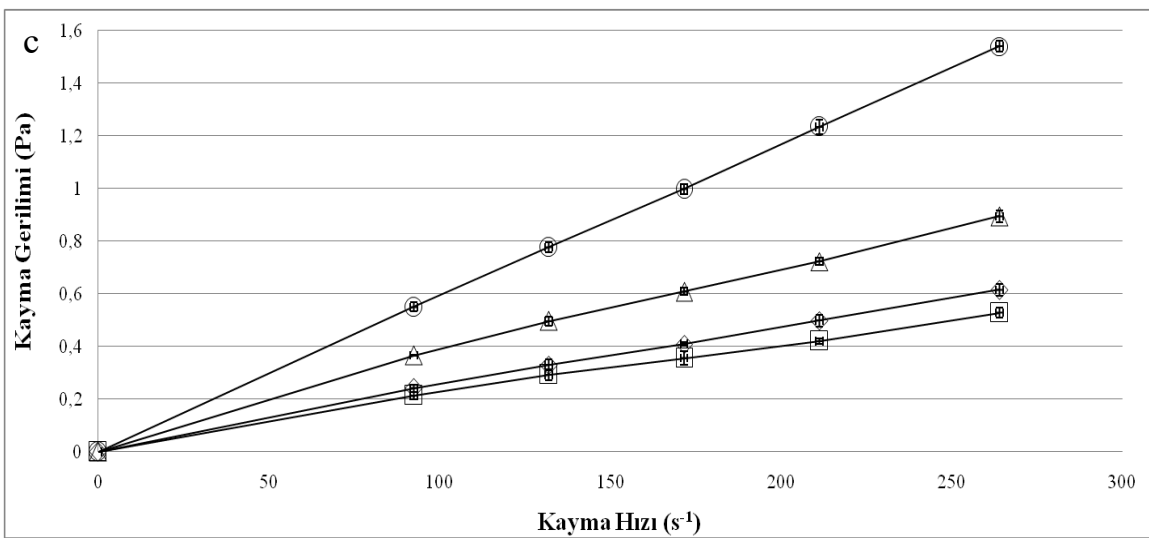
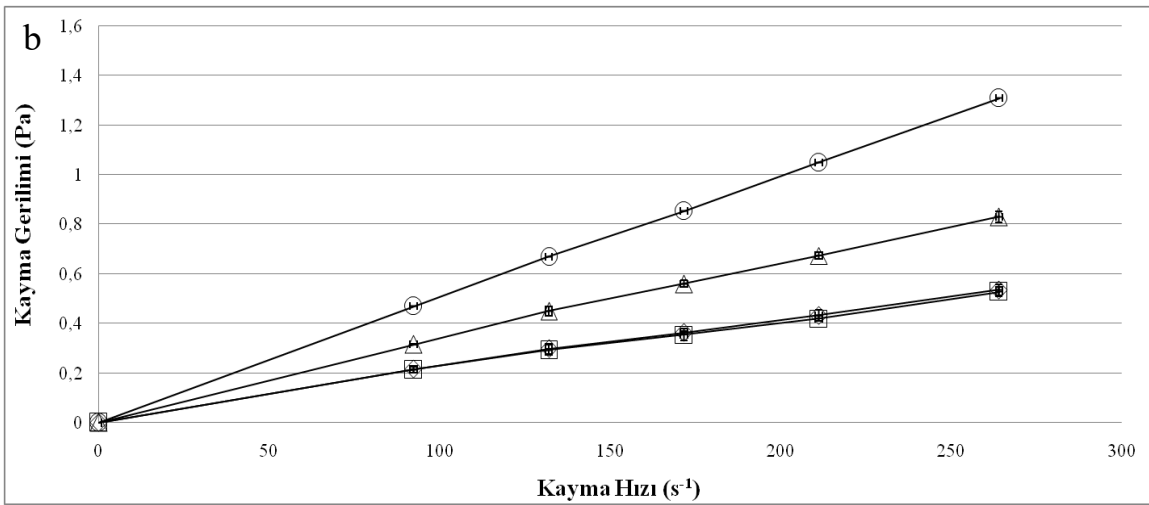
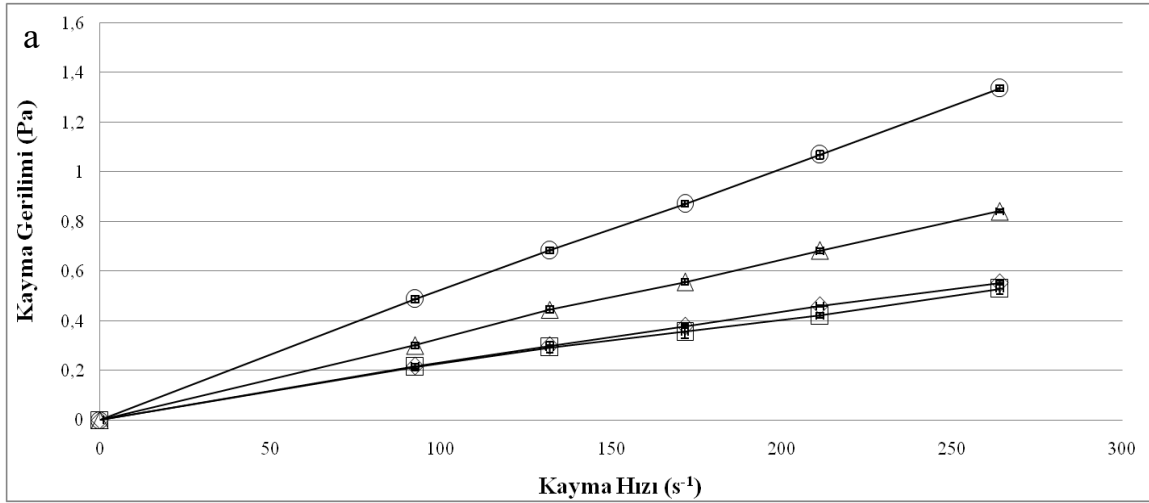
OAVE ve VAE işlemleri ile farklı suda çözünür kuru madde içeriğine konsantre edilen nar suyu örneklerinin reolojik ölçümleri ile elde edilen deneysel kayma gerilimi-kayma hızı değişimleri Şekil 2'de verilmiştir. Farklı işlem koşullarında çalışılan OAVE yönteminde uygulanan voltaj gradyanının artmasına bağlı olarak benzer kayma hızı değerlerinde kayma gerilimi değerlerinin artış gösterdiği belirlenmiştir ($P < 0.05$). Benzer şekilde, aynı kayma hızı değerlerinde SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinin arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Beklenildiği gibi artan SÇKM içeriğine bağlı olarak, ürünün serbest su miktarı azalmakta ve buna bağlı olarak hidroksil bağları oluşmaktadır. Oluşan bu hidroksil bağları sıvı ürünün hareketinin kısıtlanmasına neden olarak, aynı kayma hızı değerlerinde konsantrasyon arttıkça kayma gerilim değerleri artmasına neden olmaktadır (Constenla vd., 1989).

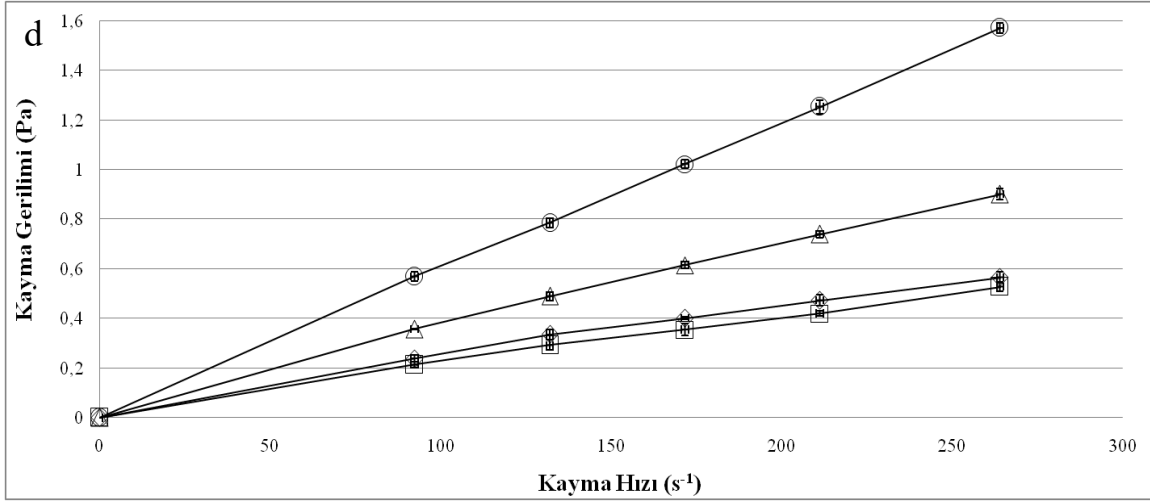
Farklı işlem koşulları uygulanarak aynı SÇKM içeriğine konsantre edilen nar sularında ise, aynı

kayma hızı değeri için kayma gerilimi değerlerinin istatistiksel olarak benzer olduğu tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Altan ve Maskan (2005) mikrodalga yöntemi ile konsantre ettikleri nar suyu örneklerinin reolojik davranışlarını inceledikleri çalışmalarında, SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinin artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, Cevik vd. 2014 farklı suda çözünür kuru madde içeriğine döner tip vakumlu evaporatörde konsantre edilen nar suyu örneklerinin aynı kayma hızında SÇKM içeriği arttıkça kayma gerilimi değerlerinin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Literatürde farklı meyve suları için yapılan çalışmalarda, Juszczak ve Fortuna (2004) konsantre ettikleri vişne suyu örneklerinde, Cevik vd. (2016) ise koruk suyu örneklerinde SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinin artış gösterdiğini benzer şekilde rapor etmişlerdir.

Literatürde rapor edilen çalışmalar incelendiğinde, vakum altında ohmik ısıtma yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen evaporasyon işlemleri sonucunda örneklerin reolojik özelliklerindeki değişimin incelendiği herhangi bir çalışmaya yazarların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır.

VAE ve OAVE işleminin reolojik özellikler üzerine etkisinin daha detaylı incelenebilmesi amacıyla farklı reolojik modellerin (Newton, Bingham, Üssel ve Herschel-Bulkley modeli) elde edilen deneysel kayma gerilimi (Pa)-kayma hızı (1/s) verilerine uyumluluğu doğrusal olmayan regresyon analizi kullanılarak test edilmiştir (Çizelge1-4). Genel olarak %17.5, 20 ve 30 SÇKM içeriğine sahip nar suyu örnekleri için en uygun reolojik modelin Üssel model olduğu tespit edilmiştir (Çizelge1-4). %40 suda çözünür kuru madde içeriğine sahip nar suyu örnekleri için ise en uygun reolojik modellerin Newton ve Üssel modeller olduğu ve uyum hatalarının istatistiksel olarak benzer olduğu tespit edilmiştir ($P > 0.05$) (Çizelge1-4). Tüm SÇKM içerikleri için reolojik özelliklerin ortak bir model ile karşılaştırılabilmesi amacıyla en uygun model olarak Üssel model seçilmiştir.





Şekil 2. Farklı evaporasyon işlemleri sırasında % SÇKM içeriğine bağlı olarak kayma gerilimi-kayma hızı ilişkileri

a) Vakum altında evaporasyon işlemi (VAE); b) Ohmik ısıtma destekli vakum altında evaporasyon işlemi (OAVE) 7.5V/cm voltaj gradyanı; c) OAVE 10 V/cm voltaj gradyanı; d) OAVE 13 V/cm voltaj gradyanı

—■— %17.5 —◆— 20% —▲— 30% —○— 40%

Figure 2. Shear stress-shear rate relationships depending on % TSS content during different evaporation processes

a) Vacuum evaporation (VAE) method; b) Ohmic assisted vacuum evaporation (OAVE) method applied at 7.5V/cm voltage gradients; c) OAVE at 10 V/cm voltage gradients; d) OVAE at 12.5 V/cm voltage gradients

—■— %17.5 —◆— 20% —▲— 30% —○— 40%

Benzer şekilde, taze sıkılmış nar suyu örneklerinin (%15.01 SÇKM) ohmik ısıtılması amacıyla yapılan bir çalışmada da (Yıldız vd., 2009), farklı sürelerde ısıtılan nar suyunun reolojik özelliklerini en iyi karakterize eden reolojik modelin Üssel model olduğu rapor edilmiştir. Altan ve Maskan (2005) ise farklı konsantrasyon yöntemleri (mikrodalga, döner evaporatör ve atmosferik basınç altında) kullanarak %75 SÇKM içeriğine kadar konsantre ettikleri nar suyu örneklerinin reolojik özelliklerinin Newton modeline göre uyumluluğunu test etmişler ve yüksek R² değerlerine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak bu araştırmacılar nar suyu konsantrasyonlarının reolojik özelliklerini Newton modeli dışındaki farklı reolojik modellere uyumluluğunu incelememişlerdir. Cevik vd. (2014) yaptıkları çalışmada, nar suyu örneklerini vakumlu döner evaporatörde (60°C) farklı SÇKM (20, 30, 40, 50°Briks) içeriklerine kadar konsantre etmişlerdir. Farklı SÇKM içeriğine konsantre edilen nar suyu örneklerinin deneysel kayma hızı-kayma gerilimi

değerlerinin Newton, Bingham, Üssel ve Herschel-Bulkley modellerine uyumluluğu test edilmiş, tüm farklı SÇKM değerleri için en iyi uyum gösteren modelin Üssel model olduğu rapor etmişlerdir.

Diğer yandan literatürde mango suyu (Dak vd., 2007), pomelo suyu (Chin vd., 2009), tarçın elması suyu (Quek vd., 2013) ve hurma şurubu (Gabsi vd., 2013) ile yapılan bazı çalışmalarda da yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda en uygun modelin Üssel model olarak rapor edildiği dikkati çekmektedir. Nar suyu ve diğer meyve sularının reolojik verilerinin farklı modellere uyumluluğu ile ilgili sonuçların, kullanılan meyvenin tipine, çeşidine, uygulanan işleme, sisteme ve işlem koşullarına göre değişebileceği bilinmektedir. Bu çalışmada da nar suyunun farklı SÇKM içeriklerinde reolojik özelliklerini en iyi ifade eden modelin Üssel model olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 1. VAE işlemi ile farklı % SÇKM değerlerine konsantre edilen nar suyunun deneysel kayma hızı-kayma gerilimi verilerinin reolojik modellere uygunluğunun istatistiksel değerlendirmesi
 Table 1. Statistical evaluation for rheological models applied to fit the experimental shear stress-shear rate data for pomegranate juice concentrated at different % TSS content by vacuum evaporation (VAE) method

% SÇKM	İstatistiksel kriter	Modeller			
		Newton modeli	Bingham modeli	Üssel model	Herschel-Bulkley modeli
17.5	R ²	0.959±0.022	0.992±0.001	0.99±0.002	0.993±0.002
	HKOK	0.025±0.008	0.046±0.012	0.018±0.008	0.024±0.001
	χ ²	0.0007±0.0005	0.0024±0.0015	0.0004±0.0003	0.0007±0.0001
20	R ²	0.975±0.005	0.995±0.003	0.995±0.002	ND*
	HKOK	0.036±0.003	0.018±0.006	0.039±0.026	ND*
	χ ²	0.0014±0.0002	0.0004±0.0003	0.0011±0.0009	ND*
30	R ²	0.99±0.005	ND*	0.991±0.006	ND*
	HKOK	0.042±0.006	ND*	0.024±0.016	ND*
	χ ²	0.0019±0.0005	ND*	0.0008±0.0008	ND*
40	R ²	0.997±0.001	0.998±0.002	0.998±0.001	ND*
	HKOK	0.019±0.008	0.014±0.002	0.023±0.006	ND*
	χ ²	0.0004±0.0004	0.0002±0.0001	0.0006±0.0003	ND*

ND*: Belirlenmemiştir. ND*: Not defined.

Çizelge 2. OAVE (7.5 V/cm) işlemi ile farklı % SÇKM değerlerine konsantre edilen nar suyunun deneysel kayma hızı-kayma gerilimi verilerinin reolojik modellere uygunluğunun istatistiksel değerlendirmesi

Table 2. Statistical evaluation for rheological models applied to fit the experimental shear stress-shear rate data for pomegranate juice concentrated at different % TSS content by obmic assisted vacuum evaporation (OAVE) method (7.5 V/cm)

% SÇKM	İstatistiksel kriter	Modeller			
		Newton modeli	Bingham modeli	Üssel model	Herschel-Bulkley modeli
17.5	R ²	0.959±0.022	0.992±0.001	0.99±0.002	0.993±0.002
	HKOK	0.025±0.008	0.046±0.012	0.018±0.008	0.024±0.001
	χ ²	0.0007±0.0005	0.0024±0.0015	0.0004±0.0003	0.0007±0.0001
20	R ²	0.97±0.003	0.995±0.002	0.994±0.002	ND*
	HKOK	0.025±0.009	0.034±0.009	0.026±0.005	ND*
	χ ²	0.0007±0.0005	0.0014±0.0006	0.0008±0.0003	ND*
30	R ²	0.991±0.004	0.994±0.005	0.995±0.005	ND*
	HKOK	0.039±0.013	0.019±0.014	0.035±0.015	ND*
	χ ²	0.0018±0.0011	0.0006±0.0008	0.0016±0.0010	ND*
40	R ²	0.998±0.001	ND*	0.999±0.001	ND*
	HKOK	0.014±0.003	ND*	0.037±0.027	ND*
	χ ²	0.0002±0.0001	ND*	0.0021±0.0024	ND*

ND*: Belirlenmemiştir. ND*: Not defined.

Vakum altında evaporasyon sistemi ile konsantre edilen nar suyunun reolojik özellikleri

Çizelge 3. OAVE(10 V/cm) işlemi ile farklı % SÇKM değerlerine konsantre edilen nar suyunun deneysel kayma hızı-kayma gerilimi verilerinin reolojik modellere uygunluğunun istatistiksel değerlendirmesi

Table 3. Statistical evaluation for rheological models applied to fit the experimental shear stress-shear rate data for pomegranate juice concentrated at different % TSS content by ohmic assisted vacuum evaporation (OAVE) method (10 V/cm)

% SÇKM	İstatistiksel kriter	Modeller			
		Newton modeli	Bingham modeli	Üssel model	Herschel-Bulkley modeli
17.5	R ²	0.959±0.022	0.992±0.001	0.99±0.002	0.993±0.002
	HKOK	0.025±0.008	0.046±0.012	0.018±0.008	0.024±0.001
	χ ²	0.0007±0.0005	0.0024±0.0015	0.0004±0.0003	0.0007±0.0001
20	R ²	0.979±0.018	0.996±0.004	0.996±0.004	ND*
	HKOK	0.071±0.018	0.025±0.007	0.023±0.011	ND*
	χ ²	0.0057±0.0030	0.0008±0.0004	0.0007±0.0005	ND*
30	R ²	0.981±0.001	0.997±0.001	0.998±0.001	ND*
	HKOK	0.08±0.008	0.029±0.004	0.024±0.007	ND*
	χ ²	0.0068±0.0014	0.0007±0.0005	0.0007±0.0004	ND*
40	R ²	0.998±0.001	0.999±0.001	0.999±0.001	ND*
	HKOK	0.03±0.015	0.045±0.026	0.035±0.013	ND*
	χ ²	0.0011±0.0010	0.0028±0.0022	0.0015±0.0011	ND*

ND*: Belirlenmemiştir. ND*: Not defined.

Çizelge 4. OAVE (12.5 V/cm) işlemi ile farklı % SÇKM değerlerine konsantre edilen nar suyunun deneysel kayma hızı-kayma gerilimi verilerinin reolojik modellere uygunluğunun istatistiksel değerlendirmesi

Table 4. Statistical evaluation for rheological models applied to fit the experimental shear stress-shear rate data for pomegranate juice concentrated at different % TSS content by ohmic assisted vacuum evaporation (OAVE) method (12.5 V/cm)

% SÇKM	İstatistiksel kriter	Modeller			
		Newton modeli	Bingham modeli	Üssel model	Herschel-Bulkley modeli
17.5	R ²	0.959±0.022	0.992±0.001	0.990±0.002	0.993±0.002
	HKOK	0.025±0.008	0.046±0.012	0.018±0.008	0.024±0.001
	χ ²	0.0007±0.0005	0.0024±0.0015	0.0004±0.0003	0.0007±0.0001
20	R ²	0.923±0.011	0.988±0.001	0.989±0.004	ND*
	HKOK	0.057±0.007	0.346±0.006	0.017±0.005	ND*
	χ ²	0.0035±0.0008	0.0014±0.0005	0.0003±0.0002	ND*
30	R ²	0.988±0.004	0.998±0.001	0.999±0.001	ND*
	HKOK	0.083±0.006	0.042±0.007	0.016±0.012	ND*
	χ ²	0.0073±0.0011	0.002±0.0006	0.0004±0.0006	ND*
40	R ²	0.996±0.002	ND*	0.998±0.002	ND*
	HKOK	0.022±0.008	ND*	0.031±0.01	ND*
	χ ²	0.0006±0.0004	ND*	0.0012±0.0007	ND*

ND*: Belirlenmemiştir. ND*: Not defined.

Farklı evaporasyon işlemi koşullarında konsantre edilen nar suyu örneklerinin %SÇKM içeriği arttıkça kıvam özelliklerindeki değişimin daha detaylı incelenebilmesi amacıyla en uygun reolojik model olarak tespit edilen Üssel model katsayıları belirlenmiştir (Çizelge 5). Bu katsayılar kullanılarak görünür viskozite değerleri ($\mu_{görünür}$) de hesaplanmıştır. % 40 SÇKM içeriğine sahip nar suyu konsantrelerinin n değerinin 1 olarak elde

edilmesi Newton modeline uyumun da bir göstergesidir, bu nedenle bu SÇKM değerinde Üssel model uygulanarak hesaplanan kıvam katsayısı (K) değerleri viskozite olarak değerlendirilebilir. %17.5 SÇKM (hammadde) değerine sahip nar suyu, OAVE ve VAE işlemleri ile %20, %30 ve %40 SÇKM değerine konsantre edilen nar suyu örneklerinin reolojik katsayı değerleri Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Hammadde nar suyu, OAVE ve VAE işlemleri ile farklı %SÇKM değerlerine konsantre edilen nar suyu örneklerinin reolojik katsayı değerleri

Table 5. Rheological coefficient values of pomegranate juice samples (raw materials) and concentrated at different % TSS content with OAVE and VAE processes

Uygulanan Evaporasyon Koşulu	% SÇKM	K×10 ³ *(Pa.s ⁿ)	n	$\mu_{görünür}$ ×10 ³ (Pa.s)
VAE	Hammadde (17.5)	5±1	0.844±0.047 ^a	2.3±0.1 ^a
	20	4±0.1	0.864±0.016 ^a	2.4±0.2 ^a
	30	4±1	0.984±0.044 ^b	3.2±0.2 ^b
	40	5±0.1	1±0.01 ^c	5±0.1 ^c
7.5 V/cm	Hammadde (17.5)	5±1	0.844±0.047 ^a	2.3±0.1 ^a
	20	5±1	0.854±0.008 ^a	2.5±0.2 ^a
	30	5±1	0.936±0.025 ^b	3.4±0.4 ^b
	40	5±0.1	1±0.01 ^c	5±0.1 ^c
OAVE 10 V/cm	Hammadde (17.5)	5±1	0.844±0.047 ^a	2.3±0.1 ^a
	20	5±1	0.884±0.044 ^a	2.8±0.1 ^a
	30	7±1	0.858±0.005 ^a	4±0.3 ^b
	40	6±0.1	1±0.01 ^b	6±0.1 ^c
12.5 V/cm	Hammadde (17.5)	5±1	0.844±0.047 ^b	2.3±0.1 ^a
	20	7±1	0.776±0.013 ^a	2.8±0.1 ^a
	30	6±1	0.891±0.023 ^b	3.9±0.3 ^b
	40	6±0.1	1±0.01 ^c	6±0.1 ^c

K: Kıvam katsayısı; n: Akış davranış indeksi; $\mu_{görünür}$: Görünür viskozite

*: Farklı % SÇKM içeriğine sahip nar konsantrelerinin K değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

^{a, b, c} Aynı işlem koşulunda farklı % SÇKM içeriğine sahip nar suyu konsantreleri arasında ilgili özellik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P < 0.05$).

K: Consistency coefficient; n: Flow behaviour index; $\mu_{apparent}$: Apparent viscosity

*: There was no statistically significant difference between the K values of pomegranate concentrates with different % TSS content.

^{a, b, c} There was a statistically significant difference between pomegranate juice concentrates at different % TSS content in the same process condition in terms of the relevant property ($P < 0.05$).

OAVE ile VAE işlemleri ile konsantre edilen nar suyu örneklerinin SÇKM içeriği arttıkça görünür viskozite ($\mu_{görünür}$) ve akış davranış indeksi (n) değerlerinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Özellikle akış davranış indeksinin SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak 1'e yaklaştığı

dikkati çekmektedir. Bu nedenle %40 SÇKM içeriğine sahip nar suyu örnekleri için hem Newton modelinin hem de Üssel modelin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa sahip olmadığı %40 SÇKM içeriğine sahip nar suyu örneklerinin her iki reolojik model ile de

açıklanabileceği belirlenmiştir. Nar suyunun % SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak serbest su içeriğinin azaldığı ve bu duruma bağlı olarak nar suyunun yapısında hidroksil bağlarının oluşması ile konsantre nar suyu örneklerinin daha düzenli bir yapıya sahip olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Yıldız vd. (2009) daneli preslenen nar suyunun akış davranış indeksinin 1'in altında iken bütün halde sıkılmış nar suyu örneklerinde ise akış davranış indeksinin 1'in üzerinde olduğu, farklı sürelerde ohmik ve geleneksel ısıtma (90°C'de 3, 6, 9 ve 12 dak. ısıtma) uygulanmış nar suyu örneklerinin ise akış davranış indekslerinin 1.3986-1.7322 aralığında olduğunu rapor etmiştir. Bir başka çalışmada ise (Cevik vd., 2014) nar suyu örnekleri vakumlu döner evaporatörde (60 °C) farklı SÇKM (%20, %30, %40 ve %50 SÇKM) içeriklerine kadar konsantre edilmiş, nar suyu örneklerinin SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak n değerinin de artış (0.836-1) gösterdiği rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada da uygulanan VAE ve OAVE işlemlerinin akış davranış indeksi üzerine etkilerinin istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Diğer yandan % SÇKM içeriğindeki değişim ve uygulanan işlem koşulu \times % SÇKM etkileşiminin de akış davranış indeksi üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Kıvam katsayısı (K) değerleri incelendiğinde ise, uygulanan işlem koşulu ve uygulanan işlem koşulu \times % SÇKM etkileşiminin etkisinin önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). OAVE işleminde voltaj gradyanı arttıkça kıvam katsayısı değerinin artış gösterdiği ($P < 0.05$), en düşük voltaj gradyanının VAE işlemi ile istatistiksel olarak benzer etki gösterdiği saptanmıştır ($P > 0.05$). Yüksek voltaj gradyanlarında (10 ve 12.5 V/cm) uygulanan OAVE işlemlerinde ise K değerlerinin diğer koşullardakine göre daha yüksek ancak n değerlerinin ise daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Diğer yandan, bu voltaj gradyanlarında uygulanan OAVE işlemlerinde, K ve n değerlerine bağımlı olarak hesaplanan görünür viskozite değerlerinin de 7.5 V/cm OAVE ve VAE işleminden daha yüksek olduğu

belirlenmiştir. Başka bir deyişle, yüksek voltaj gradyanlarında (10 ve 12.5 V/cm) uygulanan OAVE işleminin farklı yapısal değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir. Yüksek voltaj gradyanlarında (10 ve 12.5 V/cm) uygulanan OAVE işlemi ile VAE işlemine kıyasla daha yüksek kıvama sahip % 40 SÇKM içeriğine sahip konsantre nar suyu elde edilebilmektedir. Yoğun kıvamlı ürünlerin eldesi amaçlandığında, yüksek voltaj gradyanlarında uygulanan OAVE işleminin VAE işlemine kıyasla daha avantajlı olacağı düşünülmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada OAVE işlemi ile farklı SÇKM içeriğine konsantre edilen nar suyu örneklerinin reolojik özelliklerindeki değişim belirlenmiş ve VAE işlemi ile konsantre edilen nar suyu örneklerinin reolojik özelliklerindeki değişim ile karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda iki farklı yöntem ile konsantre edilen nar suyu örnekleri için en uygun reolojik modelin Üssel model olduğu tespit edilmiştir. Hem OAVE hem de VAE işlemi ile konsantre edilen nar suyu örneklerinin SÇKM içeriğinin artmasına bağlı olarak görünür viskozite ve akış davranış indekslerinin artma eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek voltaj gradyanlarında (10 ve 12.5 V/cm) uygulanan OAVE işleminde, düşük voltaj gradyanında (7.5 V/cm) uygulanan OAVE ve VAE işlemine kıyasla daha yüksek kıvam katsayısına sahip nar suyu konsantrelerinin elde edilebildiği tespit edilmiştir. Ancak vakum altında evaporasyon yöntemine benzer kıvamda nar suyu konsantresi eldesi için ise düşük voltaj gradyanında ohmik ısıtma desteğinin kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Evaporasyon sırasında ohmik ısıtma desteğinde uygulanan voltaj gradyanının, ısı etkiler dışında elektriksel etki nedeniyle de kıvamı değiştirebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın araştırmacıların bilgisi dahilinde literatürde eksikliği bulunan ohmik destekli vakum altında evaporasyon işlemi ile üretilen meyve suyu konsantrelerinin reolojik özelliklerindeki değişimlerin belirlenmesi konusunda gerekli bilgi eksikliğini dolduracağı düşünülmektedir. Ayrıca elde edilen çalışma sonuçlarının endüstriyel

boyutta evaporasyon sistemlerinin tasarımında değerli veriler sunacağı öngörülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK TOVAG 114O117 ve Ege Üniversitesi EBİLTEM2015/BİL/010nolu projeler kapsamında maddi olarak desteklenmiştir. Yazarlar maddi desteklerinden dolayı TÜBİTAK TOVAG Grubuna, Ege Üniversitesi BAP Koordinatörlüğüne ve ÇERTÜKLER MAKİNE MÜHENDİSLİK'e teşekkür ederler.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Al-Maiman, S.A., Ahmad, S. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punicagranatum* L.) fruit maturation. *Food Chem*, 76(4): 437-441.

Altan, A., Maskan, M. (2005). Rheological behavior of pomegranate (*Punicagranatum* L.) juice and concentrate. *J Texture Stud*, 36(1): 68-77.

Al-Said, F.A., Opara, L.U., Al-Yahyahi, R.A. (2009). Physico-chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punicagranatum* L.) grown in the Sultanate of Oman. *J Food Eng*, 90(1): 129-134.

Bozkir, H., Baysal, T. (2017). Concentration of apple juice using a vacuum microwave evaporator as a novel technique: Determination of quality characteristics. *J Food Process Eng*, 40(5): 1-9.

Bozkurt, H., İcier, F. (2009). Rheological characteristics of quince nectar during ohmic heating. *Int J Food Prop*, 12(4): 844-859.

Bozkurt, H., İcier, F. (2010a). Electrical conductivity changes of minced beef-fat blends during ohmic cooking. *J Food Eng*, 96(1): 86-92.

Bozkurt, H., İcier, F. (2010b). Ohmic cooking of ground beef: Effects on quality. *J Food Eng*, 96(4): 481-490.

Bozkurt, H., İcier, F. (2012). The change of apparent viscosity of liquid whole egg during ohmic and conventional heating. *J Food Process Eng*, 35(1): 120-133.

Cemeroğlu, B. (2010). Gıda analizleri (2nd ed.). Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları. Ankara.

Cevik, M., Sabancı, S., İcier, F., Yıldız H. (2014). Changes on rheological properties of pomegranate (*Punicagranatum* L. hicaznar) juices during concentration process. *Bulg Chem Commun*, 46 (Special issue B): 87-91.

Cevik, M., Tezcan, D., Sabancı, S., İcier, F. (2016). Changes in rheological properties of koruk (unripe grape) juice concentrates during vacuum evaporation. *Acad Food J*, 14(4): 322-332.

Cevik, M., İcier, F. (2018). Effects of voltage gradient and fat content on changes of electrical conductivity of frozen minced beef meat during ohmic thawing. *J Food Process Eng*, 41(4): e12675.

Chin, N.L., Chan, S.M., Yusof, Y.A., Chuah, T.G., Talib, R.A. (2009). Modelling of rheological behaviour of pummelo juice concentrates using master-curve. *J Food Eng*, 93(2): 134-140.

Cho, W.I., Yi, J.Y., Chung, M.S. (2016). Pasteurization of fermented red pepper paste by ohmic heating. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 34: 180-186.

Cokgezme, O.F., Sabancı, S., Cevik, M., Yıldız, H., İcier, F. (2017). Performance analyses for evaporation of pomegranate juice in ohmic heating assisted vacuum system. *J Food Eng*, 207(4): 1-9.

Constenla, D.T., Lozano, J.E., Crapiste, G.H. (1989). Thermophysical properties of clarified apple juice as a function of concentration and temperature. *J Food Sci*, 54(3):663-668.

Dak, M., Verma, R.C., Jaaffrey, S.N.A. (2007). Effect of temperature and concentration on rheological properties of "Kesar" mango juice. *J Food Eng*, 80(4): 1011-1015.

- Darvishi, H., Mohammadia, P., Fadavi, A., Koushesh Saba, M., Behroozi-Khazaei, N. (2019). Quality preservation of orange concentrate by using hybrid ohmic-Vacuum Heating. *Food Chem*, 289: 292-298.
- Fadavia, A., Yousefi, S., Darvishi, H., Mirsaedghazi, H. (2018). Comparative study of ohmic vacuum, ohmic, and conventional-vacuum heating methods on the quality of tomato concentrate. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 47: 225-230.
- Gabsi, K., Trigui, M., Barrington, S., Helal, N.A., Taherian, A.R. (2013). Evaluation of rheological properties of date syrup. *J Food Eng*, 117: 165-172.
- İçier, F. (2003). Gıdaların ohmik ısıtılmasının deneysel ve kuramsal olarak incelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 245s.
- Icier, F., Tavman, S. (2007). Ohmic heating behaviour and rheological properties of ice cream mixes. *Int J Food Prop*, 9(4): 679-689.
- Icier, F., Bozkurt, H. (2011). Ohmic heating of liquid whole egg: rheological behavior and fluid dynamics. *Food Bioprocess Tech*, 4(7): 1253-1263.
- Icier, F., Yıldız, H., Sabancı, S., Cevik, M., Cokgezme, O.F. (2017a). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 39: 241-246.
- Icier, F., Cokgezme, O.F., Sabancı, S. (2017b). Alternative thawing methods for the blanched/non-blanched potato cubes: microwave, ohmic, and carbon fiber plate assisted cabin thawing. *J Food Process Eng*, 40(2): e12403.
- Juszczak, L., Fortuna, T. (2004). Effect of temperature and soluble solids content on the viscosity of cherry juice concentrate. *Int Agrophys*, 18: 17-21.
- Kaur, N., Singh, A.K. (2016). Ohmic Heating: Concept and Applications-A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(14): 2338-2351.
- Krokida, M.K., Maroulis, Z.B., Saravacos, G.D. (2001). Rheological properties of fluid fruit and vegetable puree products: Compilation of literature data. *Int J Food Prop*, 4(2): 179-200.
- Maskan, M. (2006). Production of pomegranate (*Punicagranatum* L.) juice concentrates by various heating methods: colour degradation and kinetics. *J Food Eng*, 72(3): 218-224.
- Morell, P., Fiszman, S.M., Varela, P., Hernando, I. (2014). Hydrocolloids for enhancing satiety: Relating oral digestion to rheology, structure and sensory perception. *Food Hydrocoll*, 41: 343-353.
- Ozgen, M., Durgac, C., Serce, S., Kaya, C. (2008). Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in Mediterranean region of Turkey. *Food Chem*, 111(3): 703-706.
- Ozkan, N., Ho, I., Farid, M. (2004). Combined ohmic and plate heating of hamburger patties: quality of cooked patties. *J Food Eng*, 63(2): 141-145.
- Quek, M.C., Chin, N.L., Yusof, Y.A. (2013). Modelling of rheological behaviour of soursop juice concentrates using shear rate-temperature-concentration superposition. *J Food Eng*, 118: 380-386.
- Reznick, D. (1996). Ohmic heating of fluid foods. *Food Tech*, 50(5): 250-251.
- Sabancı, S., Icier, F. (2017). Applicability of ohmic heating assisted vacuum evaporation for concentration of sour cherry juice. *J Food Eng*, 212: 262-270.
- Sabancı, S., Icier, F. (2019). Effects of Vacuum Ohmic Evaporation on Some Quality Properties of Sour Cherry Juice Concentrates. *Int J Food Eng*, 15 (9): 20190055.
- Sabancı, S., Cevik, M., Cokgezme, O.F., Yıldız, H., Icier, F. (2019). Quality characteristics of pomegranate juice concentrates produced by ohmic heating assisted vacuum evaporation. *J Sci Food Agri*, 99 (5): 2589-2595.
- Sabancı, S., Icier, F. (2020). Enhancement of The Performance of Sour Cherry Juice Concentration Process In Vacuum Evaporator By Assisting Ohmic Heating Source. *Food Bioprod Process*, 122: 269-279.

Sastry, S.K., Salengke, S. (1998). Ohmic heating of solid–liquid mixtures: A comparison of mathematical models under worst-case heating conditions. *J Food Process Eng*, 21: 441-458.

Sastry, S.K., Heskitt, B.F., Sarang, S.S., Somavat, R., Ayotte, K. (2010). Why Ohmic Heating? Advantages, Applications, Technology, and Limitations. Chapter 2, Ohmic Heating in Food Processing, Boca Raton, CRC Press.

Sensoy, I., Sastry, S.K. (2004). Ohmic blanching of mushrooms. *J Food Process Eng*, 27: 1-15.

Steffe, J.F. (1996). Rheological Methods in Food Process Engineering. 2nd Edition, Freeman Press, East Lansing.

Vardin, H., Fenercioğlu, H. (2003). Study on the development of pomegranate juice processing technology, Clarification of pomegranate juice. *Nahrung/Food*, 47(5), 300-303.

Yildiz, H., Bozkurt, H., İçier, F. (2009). Ohmic and conventional heating of pomegranate juice: effects on rheology, color, and total phenolics. *Food Sci Technol Int*, 15(5): 503-512.



**THE EFFECT OF GLYCEROL ON THE FORMATION OF
CHITOSAN/POLYCAPROLACTONE AND CHITOSAN/CYCLOOLEFIN
COPOLYMER BILAYER FILMS**

Ece Söğüt*, Atıf Can Seydim

Suleyman Demirel University, Food Engineering Department, Isparta, Turkey

Received / Geliş: 21.04.2019; Accepted / Kabul: 14.07.2020; Published online / Online baskı: 04.08.2020

Söğüt, E., Seydim, A.C.. (2020). The effect of glycerol on the formation of chitosan/polycaprolactone and chitosan/cycloolefin copolymer bilayer films. *GIDA* (2020) 45 (4): 763-773 doi: 10.15237/gida.GD20054

Söğüt, E., Seydim, A.C.. (2020). Gliserolün kitosan bazlı iki katmanlı filmler üzerine etkisi. *GIDA* (2020) 45 (4): 763-773 doi: 10.15237/gida.GD20054

ABSTRACT

Chitosan (CH) films were prepared with/without glycerol as a plasticizer and coated with polycaprolactone (PCL) and cycloolefin copolymer (COC) to form bilayer films. The effect of the second layer coating on the physicomechanical properties of CH films was determined. The adhesion of PCL and COC solutions, when coated on CH film, was investigated by contact angle measurement. The contact angle of PCL film solutions was lower than COC film solutions ($P < 0.05$). Scanning electron microscopy analysis revealed better compatibility between CH and PCL, while a phase separation was observed for CH/COC bilayers. Bilayers showed higher resistance to water when compared to neat CH film samples ($P < 0.05$), while a reduction was found in tensile properties for bilayer films. Bilayer films had similar transmittance values with monolayer films ($P > 0.05$). The physicomechanical properties of CH films significantly influenced by the addition of glycerol and application of the second layer.

Keywords: Polycaprolactone, cycloolefin copolymer, chitosan, bilayer film, glycerol

GLİSEROLÜN KİTOSAN BAZLI İKİ KATMANLI FİMLER ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Kitosan (CH) filmler, bir plastikleştirici olarak gliserol ile ve gliserolsüz hazırlanmış ve iki katmanlı filmler oluşturmak için polikaprolakton (PCL) ve sikloolefin kopolimer (COC) ile kaplanmıştır. İkinci bir katman olarak PCL ve COC uygulamasının CH filmlerinin fiziko-mekanik özellikleri üzerine etkileri belirlenmiştir. CH film üzerine kaplandığında PCL ve COC film çözeltilerinin yüzey adezyonu temas açısı ile araştırılmıştır. PCL film çözeltilerinin temas açısı COC film çözeltilerinden daha düşük bulunmuştur ($P < 0.05$). Taramalı elektron mikroskopi analizi, CH ve PCL arasında daha iyi bir adezyon olduğunu gösterirken, CH/COC iki katmanlı filmlerde faz ayrımı gözlenmiştir. İki katmanlı filmler, CH filmlere oranla suya karşı daha yüksek direnç gösterirken ($P < 0.05$), iki katmanlı filmlerin mekanik özelliklerinde bir azalma gözlenmiştir. İki katmanlı filmler, tek katmanlı filmler ile benzer optik özellikler göstermiştir ($P > 0.05$). CH filmlerin fizikomekanik özellikleri, gliserol ilavesinden ve ikinci katmanın uygulanmasından önemli ölçüde etkilenmiştir.

Anahtar kelimeler: Polikaprolakton, sikloolefin kopolimer, kitosan, iki katmanlı film, gliserol

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ ececagdas@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 17 37

☎ (+90) 246 237 08 59

Ece Söğüt; ORCID no: 0000-0003-4052-993X

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

INTRODUCTION

Bio-based plastics have gained more attention because of their promising attributes, such as being alternative to conventional petroleum-based plastics, which have detrimental effects on the environment, as well as meeting the consumer demands for high-quality foods by edible films and coatings. Bio-based plastics have been widely used as edible films (Hassan et al., 2018). Among these bio-based plastics, chitosan (N-acetyl-D-glucosamine), which is naturally occurring biodegradable and biocompatible material, shows better properties such as being antimicrobial, having better resistance to water and mechanical stress (Bonilla et al., 2014). Nevertheless, chitosan presents good film-forming ability; its water resistance and tensile properties are not comparable with conventional synthetic polymers (Kurita, 2001). Chitosan films have also shown high brittleness due to the cohesive forces. Thus, food-grade plasticizers such as polyols have been added to chitosan films to decrease intermolecular forces and to increase mobility, leading to enhanced flexibility and toughness (Sothornvit and Krochta, 2005). Glycerol is one of the most common plasticizers used in biopolymer formulations. Suyatma et al. (2005) studied the effect of different hydrophilic plasticizers on the physicomechanical properties of chitosan films. They found that glycerol at 20% (w/w) is more suitable as a chitosan plasticizer to obtain flexible films. Besides, Lavorgna et al. (2010) reported that the addition of glycerol with fillers presented the best mechanical properties in chitosan films. Therefore, in this study, glycerol was chosen as a plasticizer to improve the flexibility of chitosan films.

The blending of hydrophilic polymers with hydrophobic ones has also been accepted as a way to enhance these limited properties of bio-based plastics. Chitosan has been blended with starch (Tuhin et al., 2012), beeswax (Velickova et al., 2013), polyvinyl alcohol (Bonilla et al., 2014), and gelatin (Shahbazi et al., 2017) to increase the resistance of polymers involved in a blend. Nevertheless, the blending strategy is not adequate to obtain stable composite films since low affinity between polymers results in phase

separation due to lower adhesion between polymers, leading to a decrease in properties of films (Avella et al., 2000; Armentano et al., 2015). Fabrication of multilayer films composed of both bio-based and synthetic polymers is another strategy, which allows better adhesion between polymers at the interface region (Matzinos et al., 2002; Ortega-Toro et al. 2015). Researchers have shown that formation of multilayer films composed of chitosan and bio-based plastics such as beeswax (Velickova et al., 2013), carboxymethyl cellulose (Arnon et al., 2014), cassava starch (Valencia-Sullca et al., 2018), and multilayer films composed of chitosan and synthetic plastics such as polycaprolactone (Sharmin et al., 2012; Sogut and Seydim, 2018a; Sogut and Seydim, 2020), cycloolefin copolymer (Sogut and Seydim, 2018b) have enhanced the tensile properties of chitosan.

Polycaprolactone is a synthetic biodegradable polymer that shows high elasticity and low gas permeability (Sharmin et al., 2012). Researchers have identified the potential of polycaprolactone to be used as food packaging materials. Swapna et al. (2011) blended chitosan and poly(ϵ -caprolactone) to increase tensile strength and lower the permeability of chitosan to be used for vegetables and fruits. On the other hand, cycloolefin copolymer is another synthetic thermoplastic that has superior properties such as high transparency, low barrier permeability, and high chemical resistance (Liu et al., 2007).

A multilayer packaging material is a single-layered structure including two or more polymer with desired properties. Petroleum-based multilayer packaging materials are already used in the food industry (Mensitieri et al., 2011). Up to now, bilayer films were obtained by using both bio-based sources (Ferreira et al., 2016; Liu et al., 2017; Valencia-Sullca et al., 2018) or a combination of synthetic biodegradable polymers with bio-based ones (Sharmin et al., 2012; Ortega-Toro et al., 2015). However, the studies about the combination of synthetic non-biodegradable with bio-based sources have been limited. The fabrication of bilayer films, including chitosan and polycaprolactone and chitosan and cycloolefin

copolymer layers, could have the potential to be used as alternatives to petroleum-based polymers. Therefore, in the present study, coating chitosan films in the presence or absence of a plasticizer with other polymer matrices, polycaprolactone, and cycloolefin copolymer, has been proposed to enhance the properties of chitosan films. Resulting bilayer films were then compared with self-standing chitosan and plasticized chitosan films based on the morphological, barrier, mechanical, and optical properties.

MATERIAL AND METHODS

Materials

Chitosan (CH) (850000 Daltons, high molecular weight) and Polycaprolactone (PCL) (molecular weight of 80000 Daltons) were purchased from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain). Cycloolefin copolymer (COC) was kindly provided by TOPAS Advanced Polymers (Frankfurt-Höchst, Germany). All chemicals were of analytical grade and supplied from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain).

Film preparation

CH film solution at 1.5% (w/w) was obtained after dissolving CH powder in aqueous acetic acid solution (3%, w/w). Two groups of CH films were prepared: plasticized (CH-gly) and non-plasticized (CH). Glycerol at 30% (w/w, based on the weight of CH powder) was added to CH film solution to form plasticized CH film group (CH-gly). The air bubbles in CH film solutions were removed by a vacuum pump, and then film solutions were cast onto a Teflon coated plate (40 g/Petri). CH films were dried under ambient conditions. Dried CH films were treated with potassium sorbate solution (0.1 g of potassium sorbate/g CH film) to improve the layer adhesion when coated with the second layer. The aqueous potassium sorbate solution might modify the surface tension of CH films (Ortega-Toro et al., 2015). PCL and COC film solutions at 5% (w/w) were dissolved in chloroform. PCL and COC film solutions were used to form bilayer films, whereas PCL and COC based monolayer films were formed by the casting method. Bilayer films were fabricated by pouring PCL and COC film solutions on the surface of dried CH films. Uniform film distribution was obtained by a coating rod (bar thickness 200 μm), which passed

over the film surface for once. The amount of glycerol was selected as 30% because film samples became weaker and unstable above the saturation value for plasticizer. In our preliminary studies, coating of CH surface was performed by using PCL, and COC film-forming solutions with different concentrations and 5% of film solutions showed better results when compared to the results obtained for film solutions having higher or lower concentrations. The thickness of all film samples was controlled with a digital micrometer (Palmer-Cometa, Spain, ± 0.001 mm) by measuring the thickness at random positions. All film samples were conditioned for one week at 25°C inside a desiccator having 53% relative humidity (RH). The film preparation steps are shown in Figure 1.

Morphological properties of film samples

Conditioned film samples were stored at a desiccator containing P_2O_5 to remove the residual moisture and then were fractured under cryogenic temperatures by using liquid nitrogen. Cross-section images of film samples were obtained by a scanning electronic microscope (JEOL, JSM-5410, Japan) using a magnification of 500-2000x with an accelerating voltage of 10 kV. Copper stubs were used to adjust film samples for coating with gold.

Contact angle

The suitability of CH based film surface to be coated with PCL and COC based film solutions were determined by contact angle measurements. After mounting the air contact side of CH films on a glass slide by facing up, PCL and COC film solutions were dropped on the CH film surface and waited for a proper contact (< 20 s) between surfaces. The images of every drop (0.015 mL) were obtained by the sessile drop fitting method. A video-based contact angle meter (OCA 20 Dataphysics, Filderstadt, Germany) and SCA20 software were used to analyze the images.

Moisture content and barrier properties of film samples

The residual moisture content of film samples was determined at 60°C by using a vacuum oven (J.P. Selecta, S.A., Barcelona, Spain) until constant weight reached.

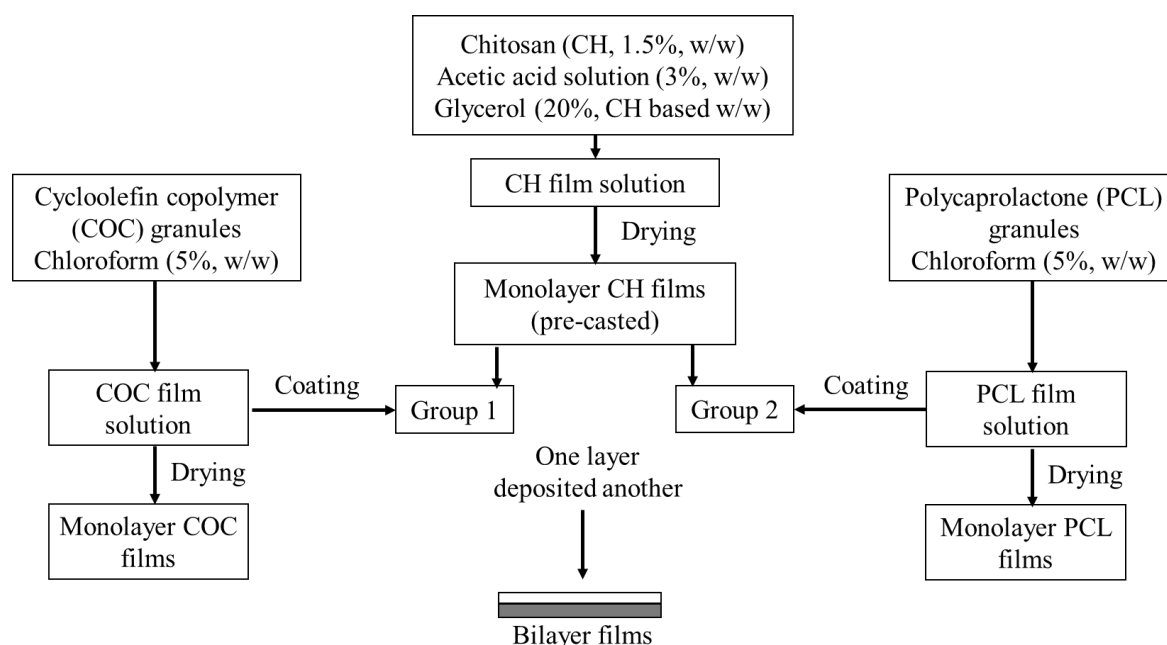


Figure 1. Schematic representation of film preparation

The gravimetric method of ASTM (E96-95) was used to measure the water vapor permeability (WVP) of film samples (ASTM, 1995). Film samples were placed onto permeability cups (Payne-Elcometer, Manchester, UK), including 5 mL of bidistilled water for the weight loss measurements under 53% RH. The measurements were performed periodically during 48 h.

The oxygen permeability (OP) of film samples was determined according to ASTM D3985-95 standard method (ASTM, 2002) using Oxtran1/50 (Mocon, Minneapolis, USA) at 25°C and 53% RH. The measurements with an exposure area of 50 cm² were performed every 20 min until the equilibrium.

Mechanical properties of film samples

The tensile strength (TS) and elongation (E) at breakpoint were estimated by the stress-strain curves obtained from a universal test Machine (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Haslemere, England) using ASTM standard method D882 (ASTM, 2001). These values were measured by stretching the film samples (2.5 cm wide and 5 cm long) at 50 mm/min using an appropriate preload.

Optical properties of film samples

A Minolta spectro-colorimeter (CM-3600d model, Minolta Co., Tokyo, Japan) was used to determine the internal transmittance (T_i) values of the films. The transparency was measured with a reflectance spectrum between 400-700 nm using both white and black backgrounds.

The gloss values of the film surface were determined according to the D523 standard method (ASTM, 1999) with a surface gloss meter (Multi Gloss 268, Minolta, Germany) at 60° incidence angle and results were expressed as gloss units (GU).

Statistical analysis

The results were evaluated through an analysis of variance (ANOVA) and compared with Tukey's multiple comparison tests at a 95% confidence level using Minitab 17 software (Minitab Inc., Brandon, UK). Experiments were replicated two times with six observations, at least.

RESULTS AND DISCUSSION

Morphological properties of film samples

The adhesion between layers of each film on a microscopic scale was observed by SEM analysis

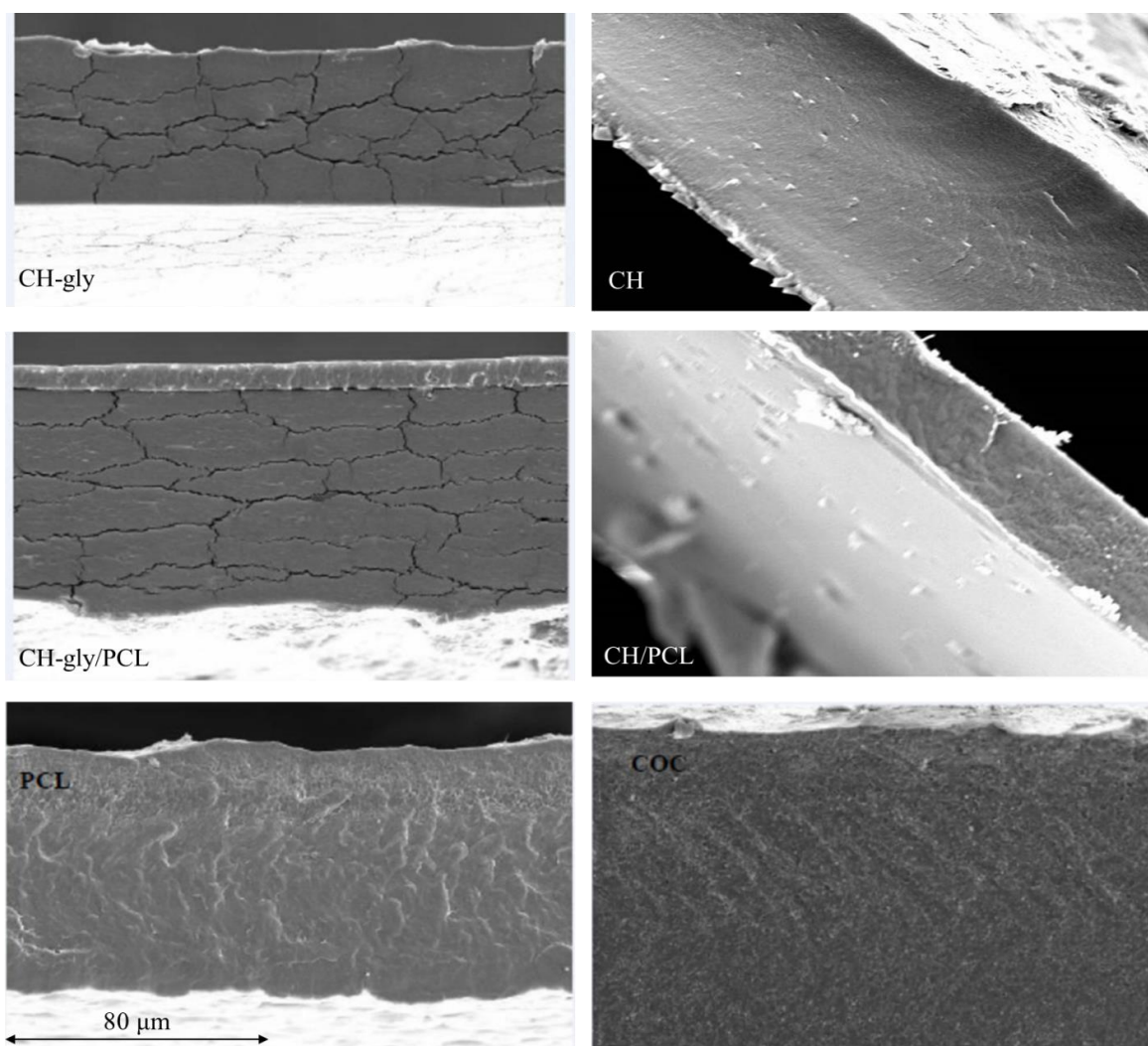


Figure 2. SEM micrographs of the cross section of film samples (500-2000X magnification) (The SEM images of COC based films were not obtained because of layer separation)

The resulting CH films were translucent with a yellowish color, and CH-gly films had more rubbery structure than CH films. CH-gly monolayer films had a more cracked region when compared to CH films. Glycerol affected the structure of CH films. On the other hand, PCL and COC monolayers presented a well dispersed, porous structure, which may be due to the rapid solvent evaporation during drying. In the bilayer films, each layer presented its structure, where CH-gly exhibited homogeneous characteristics with cracked regions, COC showed more porous structure, and PCL presented well-dispersed characteristics. The second layer (PCL and COC) was thinner than that of CH layers. PCL layers

exhibited better adhesion, whereas COC layers separated during observation. The presence of the second layer caused some discontinuities on the film structure consistent with the film opacity. The coating CH films with PCL and COC as film solutions might alter the film structure at the interface due to the volatile form of chloroform and its migration through layers. In the formation of bilayer films, the adhesive-cohesive forces between layers should be considered. Similar structures were observed for CH monolayer films (Vargas et al., 2009) and starch-PCL (Ortega-Toro et al., 2015) bilayer film structures by other researchers.

Contact angle

The contact angle values of PCL and COC film solutions on the surface of CH and CH-gly films are shown in Figure 3.

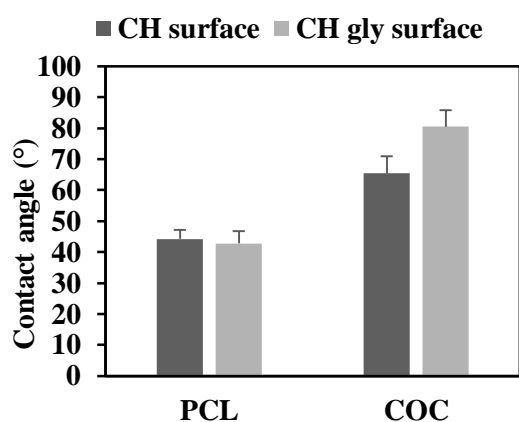


Figure 3. Contact angle values of PCL and COC solutions on the surface of CH and CH-gly films.

The compatibility between PCL and CH and COC and CH films were studied with the contact angle analysis, and it was observed that all values were below 90° as an indication of surface compatibility between PCL and COC film solutions and CH films (Farris et al., 2011). The application of potassium sorbate solution on the surface of CH films might change the cohesive forces leading to better adhesion, or the functional groups of CH might have increased the

spreadability of second film solution on the surface of CH films. The surface smoothness of plasticized and non-plasticized CH films was not the same, thus affecting the adhesion of coating solutions when contacting (Farris et al., 2011). PCL and COC film solutions showed significantly different behaviors consistent with SEM analysis. Higher contact angle values were found in the CH film surface when compared to the CH-gly surface for PCL film solutions ($P > 0.05$). However, higher values were obtained for CH-gly surfaces for COC film solutions ($P < 0.05$). The contact angle values for PCL solutions on the CH-gly surface were found to be lower than those of COC solutions on both CH and CH-gly surfaces. The addition of glycerol might have changed the physical properties of CH, such as the orientation of molecules, especially in the upward surface (Ferreira et al., 2009). However, no direct conclusion could be drawn from surface analysis for the physical state of polymers. PCL film solutions had the lowest contact angle values; thus, PCL film solutions could be more suitable to coat CH film surface to form bilayer films. Similarly, Kurek et al. (2014) observed contact angle values lower than 90° for the CH film surface. Ferreira et al. (2016) also reported an increase in contact angle upon the addition of glycerol into chitosan-based bilayers.

Moisture content and barrier properties of film samples

Table 1 shows the moisture content, thickness, WVP, and OP values of film samples.

Table 1. Thickness (μm), moisture content (%), water vapor permeability (WVP), and oxygen permeability (OP) values of film samples

Film samples	Thickness (μm)	Moisture (%)	WVP ($\text{g mm}/(\text{kPa h m}^2)$)	OP $\times 10^{13}$ ($\text{cm}^3/(\text{m s Pa})$)
CH	42 \pm 2 ^e	11.93 \pm 0.41 ^c	3.96 \pm 0.36 ^b	3.05 \pm 0.21 ^b
CH-gly	49 \pm 4 ^c	23.45 \pm 0.98 ^a	8.68 \pm 2.80 ^a	3.14 \pm 0.06 ^b
PCL	108 \pm 2 ^b	0.56 \pm 0.21 ^d	0.18 \pm 0.01 ^c	>D.L.*
COC	153 \pm 6 ^a	9.37 \pm 0.20 ^c	0.05 \pm 0.01 ^c	>D.L.*
CH/PCL	67 \pm 2 ^d	7.97 \pm 0.85 ^c	0.67 \pm 0.10 ^c	3.38 \pm 0.13 ^b
CH/COC	88 \pm 4 ^c	10.70 \pm 0.54 ^c	0.15 \pm 0.09 ^c	4.40 \pm 0.20 ^a
CH-gly/PCL	70 \pm 1 ^d	19.41 \pm 0.71 ^b	0.87 \pm 0.07 ^c	3.57 \pm 0.24 ^b
CH-gly/COC	69 \pm 5 ^d	18.87 \pm 0.17 ^b	0.24 \pm 0.02 ^c	4.46 \pm 0.15 ^a

Any two means in the same column followed by the same letter were not significantly different ($P > 0.05$) by Tukey's multiple range test.

*D.L.: 0.1-300 cc/(m² day) (>D.L., out of sensitivity limit)

Even though the same amount of PCL and COC solutions were used to coat the surface of CH films, the thickness values of bilayer films varied. The differences in the thickness of the coatings might be attributed to the differences in homogeneity between film solutions and uncontrolled evaporation of the second layer. Similar behavior was observed by Ortega-Toro et al. (2015) when fabricating bilayer films of starch and PCL. The CH-gly film showed the highest moisture content, while PCL film had the lowest value ($P < 0.05$). Generally, CH-gly based films presented higher moisture contents ($P < 0.05$), which could be due to a higher affinity of glycerol to water molecules. Besides, the moisture content of CH films was higher than PCL and COC monolayers ($P < 0.05$), since CH has more hydration layers than PCL and COC, leading to highly retained water molecules (Kurek et al., 2014). Suyatma et al. (2005) also found higher moisture content in CH films when plasticized with 40% of glycerol (based on CH content). Bilayer films showed lower moisture content when compared to CH monolayers, contrary to the results obtained by Ortega-Toro et al. (2015) for starch-PCL bilayer films, which might be due to the differences between bilayer formation type.

The barrier properties of a food packaging material are fundamental however, WVP of CH films is high, which making them inappropriate for several applications. CH-gly films showed higher WVP values than that of CH films because of the plasticization effect of glycerol. The negative effect of glycerol is attributed to the significant interaction (H-bonding) between glycerol and water. Glycerol might also soften the structure leading to chain mobility and an increase in water molecule transfer through the film matrix (Bertuzzi et al., 2007). These values are also consistent with moisture contents of films, which are higher in films having higher moisture contents; since higher water content resulted in higher molecular mobility and permeability values. Similar results were reported by other researchers (Xu et al. 2005; Bourtoom and Chinnan, 2008; Bonilla et al., 2013) for CH films. PCL and COC films are hydrophobic materials known as impermeable to water vapor; thus, the

application of PCL and COC positively affected the WVP of coated CH films. Bilayer films presented significantly lower WVP values when compared to CH and CH-gly films ($P < 0.05$), and these values were similar to PCL and COC monolayer films ($P > 0.05$). Similarly, Sogut and Seydim (2018b) observed lower WVP values for bilayer films when compared to their relative monolayer films. However, Priyadarshi et al. (2018) observed a reduction in moisture content and WVP values of glycerol plasticized CH films. The differences in the results might be due to differences in film preparation steps, such as using different weak acids for protonation of CH.

OP values of CH-gly films were higher than CH films, which might be related to the higher moisture content leading to an increase in mobility and solubility of gas molecules (Kurek et al., 2014). Besides, the oxygen barrier properties of bilayers were slightly decreased, exhibiting higher OP values. There were no significant differences between PCL based bilayer films and CH monolayers; however, COC based bilayer films showed significantly higher OP values. Among the same bilayer films, glycerol, including films, also had higher OP values ($P > 0.05$). The coating of CH surface with a film-forming solution including chloroform might have caused a deformation on the surface of the whole film, and rapid evaporation of chloroform might have produced larger voids on the surface of the second layer allowing the oxygen transfer easily. Similarly, Liu et al. (2017) reported higher oxygen permeability for polyvinyl alcohol (PVA)/CH bilayer films when PVA coated with higher CH contents. On the contrary, Valencia-Sullca et al. (2018) reported an improved OP for chitosan-starch bilayer films concerning monolayers.

Mechanical and optical properties of film samples

The TS and E values and strain-stress curve of plasticized and non-plasticized films are shown in Table 2 and Figure 4, respectively.

The highest TS values were observed in CH films, and the inclusion of glycerol reduced the TS of CH films ($P < 0.05$). Besides, the coating of CH

with PCL and COC led to a decrease in tensile strength ($P < 0.05$) for all film samples. The weakened cohesion forces, and less compatibility and weak interfacial interaction between layers might have caused a decrease in rigidity. The

application of chloroform-based film solutions might have increased the cavitation leading to the formation of cracks and damaged surfaces, as in the case of barrier properties. Thus, the tensile properties of bilayer films resulted in lower values.

Table 2. Mechanical and optical properties of film samples

Film samples	TS (MPa)	ϵ (%)	T_i^{**} (%)	Gloss** (60°)
CH	48.5±5.6 ^a	12.7±4.6 ^{cd}	78.91±0.27 ^{bc}	29±4 ^b
CH-gly	25.7±5.5 ^b	40.5±4.5 ^{ab}	78.44±2.07 ^{bc}	9±1 ^c
PCL*	-	-	76.75±0.93 ^{bc}	7±1 ^{cd}
COC	16.9±3.3 ^c	3.8±0.6 ^d	82.77±1.43 ^a	43±1 ^a
CH/PCL	37.0±2.0 ^b	20.0±2.0 ^c	79.59±0.23 ^{ab}	7±1 ^{cd}
CH/COC	29.0±4.0 ^b	29.0±1.0 ^{bc}	76.56±0.36 ^{bc}	7±2 ^{cd}
CH-gly/PCL	18.8±3.8 ^c	35.2±4.2 ^b	77.38±0.09 ^{bc}	5±1 ^d
CH-gly/COC	18.9±2.3 ^c	46.6±3.1 ^a	75.83±3.07 ^c	8±1 ^c

Any two means in the same column followed by the same letter were not significantly different ($P > 0.05$) by Tukey's multiple range test.

*PCL film did not break at determined conditions (because of high deformability)

**Bilayer face was used for the experiments

On the other hand, each layer might have shown different deformation behaviors during tests, due to the lack of compatibility between layers. However, the addition of glycerol and coating application improved the flexibility of CH films ($P < 0.05$). The highest elasticity was observed in CH-gly/COC films, followed by CH-gly films ($P < 0.05$). Film samples, including more water, showed higher elongation at break values. Non-plasticized CH was more brittle than CH-gly films, which might be due to the stronger cohesive energy (Sothornvit and Krochta, 2005).

Glycerol might have reduced the interaction between polymer chains, causing more deformation without breaking during stretching tests (Kurek et al., 2014). Similar to these results, Priyadarshi et al. (2018) also reported a decrease in tensile strength and an increase in elasticity for glycerol plasticized CH films. Moreover, Ferreira et al. (2016) and Sharmin et al. (2012) have found similar tensile properties for FucoPol and CH based bilayer films and CH-PCL based trilayer films, respectively.

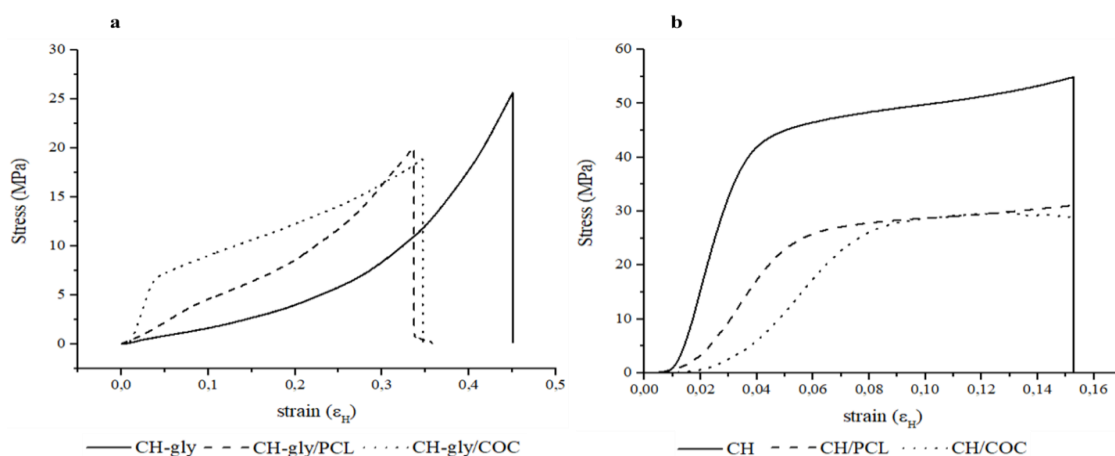


Figure 4. Strain-stress curves of film samples (a=plasticized films, b=non-plasticized films)

Table 2 presents the internal transmittance (T_i) and gloss values of film samples. The highest T_i value was observed in COC monolayer films ($P < 0.05$), whereas the addition of glycerol and application of the second layer resulted in lower T_i values. CH and COC monolayer films showed a more transparent structure ($P < 0.05$), whereas CH-gly, PCL, and bilayer films showed more opaque structure. However, films had transmittance values around 80%, which can be considered as transparent films. Valencia-Sullca et al. (2018) also found a decrease in transmittance for bilayer films composed of cassava starch-CH bilayer films.

Gloss values were consistent with T_i results and significantly influenced by the presence of glycerol and application of the second layer. The highest gloss value was observed in the COC monolayer, followed by CH film ($P < 0.05$). Generally, bilayer films and CH-gly film showed significantly lower gloss values indicating that the application of the second layer and glycerol promotes a rougher surface, thus decreasing gloss. Similar gloss values were observed by Bonilla et al. (2011) for CH film samples.

CONCLUSION

Results indicated a possibility for the production of CH based PCL and COC bilayer films with enhanced physicomechanical properties. On a microscopic scale, better adhesion was observed for CH and PCL layer, and lower contact angle values were obtained. On the contrary, contact angle values of COC solutions shifted to a higher value, and phase separation was observed during SEM analysis. In general, bilayer films prepared with CH and PCL showed better potential applications than CH based COC bilayer films. The application PCL and COC as a second layer and the inclusion of glycerol as a plasticizer implied undesirable changes in the tensile properties of film samples. These applications made CH films more stretchable but less resistant to fracture with similar optical properties. Generally, PCL based bilayer films showed better properties when compared with COC based bilayer films. In conclusion, the fabrication of a bilayer film, including a synthetic polymer layer on

the surface of a bio-based polymer increased the possible use of CH for food packaging applications, which can be an alternative to commonly used synthetic multilayer films.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Author Contributions

Ece Sogut: Formal analysis, Conceptualization, Investigation, Methodology, Writing - original draft, Writing - review & editing. Atif Can Seydim: Writing- Reviewing and Editing.

REFERENCES

- Armentano, I., Fortunati, E., Burgos, N., Dominici, F., Luzi, F., Fiori, S., Jiménez, A., Yoon, K., Ahn, J., Kang, S., Kenny, J. M. (2015). Bio-based PLA-PHB plasticized blend films: Processing and structural characterization. *LWT - Food Sci Technol*, 64(2): 980-988.
- Arnon, H., Zaitsev, Y., Porat, R., Poverenov, E., Poverenov, E. (2014). Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. *Postharvest Biol Tech*, 87: 21–26.
- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials: E96/E96M-16. In Annual book of American Society for Testing and Materials Standards (Vol. 04.06, pp. 14). West Conshohocken, PA: ASTM.
- ASTM. (1999). Standard test method for specular gloss. Standard designation: D523. In annual book of American Society for Testing and Materials Standards, 06.01. Philadelphia: ASTM.
- ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting: D882. In Annual book of American Society for Testing and Materials standards (Vol. 08.01, pp. 12). PA: ASTM.
- ASTM (2002). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Standard Designations: 3985-95. In Annual book of American Society for Testing and Materials Standards. Philadelphia, PA: ASTM.

- Avella, M., Errico, M. E., Laurienzo, P., Martuscelli, E., Raimo, M., Rimedio, R. (2000). Preparation and characterization of compatibilised polycaprolactone/starch composites. *Polymer*, 41: 3875–3881.
- Bertuzzi, M.A., Armada, M., Gottifredi, J.C. (2007). Physicochemical characterization of starch-based films. *J Food Eng*, 82: 17–25.
- Bonilla, J., Atares, L., Vargas, M., Chiralt, A. (2013). Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. *J Food Eng*, 114(3): 303–312.
- Bonilla, J., Fortunati, E., Atares, L., Chiralt, A., Kenny, J.M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food Hydrocoll*, 35: 463-470.
- Bonilla, J., Vargas, M., Atares, L., Chiralt, A. (2011). Physical properties of chitosan-basil essential oil edible films as affected by oil content and homogenization conditions. *Proc Food Sci*, 1: 50-56.
- Bourtoom, T. Chinnan, M.S. (2008). Preparation and properties of rice starch–chitosan blend biodegradable film. *LWT-Food Sci Technol*, 41: 1633–1641.
- Farris, S., Introzzi, L., Biagioni, P., Holz, T., Schiraldi, A., Piergiovanni, L. (2011). Wetting of biopolymer coatings: Contact angle kinetics and image analysis investigation. *Langmuir*, 27: 7563–7574.
- Ferreira, A.R.V., Torres, C.A.V., Freitas, F., Sevri, C., Grandfils, C., Reis, M.A.M., Alves, V.D., Coelho, I.M. (2016). Development and characterization of bilayer films of FucoPol and chitosan. *Carbohydr Polym*, 147: 8-15.
- Ferreira, C.O., Nunes C.A., Delgadillo, I., and Lopes-da-Silva, J.A. (2009). Characterisation of chitosan-whey protein films at acid pH. *Food Res Int*, 42: 807-813.
- Hassan, B., Chatha, S.A.S., Hussain, A.I., Zia, K.M., Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *Int J Biol Macromol*, 109: 1095-1107.
- Kurek, M., Galus, S., Debeaufort, F. (2014). Surface mechanical and barrier properties of bio based composite films based on chitosan and whey protein. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(1): 56-67.
- Kurita, K. (2001). Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Prog Polym Sci*, 26: 1921-1971.
- Lavorgna, M., Piscitella, F., Mangiacapra, P., Buonocore, G. (2010). Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydr Polym*, 82(2): 291-298.
- Liu, Y., Wang, S., Lan, W., Qin, W. (2017). Fabrication and Testing of PVA/Chitosan Bilayer Films for Strawberry Packaging. *Coatings*, 7: 109-125.
- Liu, M.O., Lin, H.F., Yang, M.C., Lai, M.J., Chang, C.C., Shiao, P.L. Chen, I.M. Chen, J.Y. (2007). Thermal, dynamic mechanical and rheological properties of metallocene-catalyzed cycloolefin copolymers (mCOCs) with high glass transition temperature. *Mater Lett*, 61: 457-462.
- Matzinos, P., Tserki, V., Kontoyiannis, A., & Panayiotou, C. (2002). Processing and characterization of starch/polycaprolactone products. *Polym Degrad Stabil*, 77: 17–24.
- Mensitieri, G., Di Maio, E., Buonocore, G. G., Nedi, I., Oliviero, M., Sansone, L., et al. (2011). Processing and shelf life issues of selected food packaging materials and structures from renewable resources. *Trends Food Sci Tech*, 22: 72–80.
- Ortega-Toro, R., Morey, I., Talens, P., Chiralt, A. (2015). Active bilayer films of thermoplastic starch and polycaprolactone obtained by compression molding. *Carbohydr Polym*, 127: 282–290.
- Priyadarshi, R., Sauraj, Kumar, B., Negi, Y.S. (2018). Chitosan film incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. *Carbohydr Polym*, 195(1): 329-338.
- Shahbazi, Y. (2017). The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red

- grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil as biodegradable materials for active food packaging. *Int J Biol Macromol*, 99: 746-753.
- Sharmin, N., Khan, R.A., Salmieri, S., Dussault, D., Lacroix, M. (2012). Effectiveness of Silane Monomer on Chitosan Films and PCL-Based Tri-Layer Films. *J Appl Polym Sci*, 125: 224–232.
- Sogut, E., Seydim A.C. (2020). Development of Chitosan and Polycaprolactone Based Trilayer Biocomposite Films for Food Packaging Applications. *Politeknik Dergisi*, *(*) : *, (*) (in-press).
- Sogut E., Seydim A.C. (2018b). Characterization of cyclic olefin copolymer-coated chitosan bilayer films containing nanocellulose and grape seed extract. *Packag Technol Sci*, 31: 499–508.
- Sogut E., Seydim A.C. (2018a). Development of Chitosan and Polycaprolactone based active bilayer films enhanced with nanocellulose and grape seed extract. *Carbohydr Polym*, 195: 180–188.
- Sothornvit, R., Krochta, J. M. (2005). Plasticizers in edible films and coatings (Chapter 23). In: *Innovations in Food Packaging, Food Science and Technology*, Han, J. H., (ed.), Academic Press, Amsterdam, pp. 403-433.
- Suyatma, E.N., Tighzert, L., Copinet, A. (2005). Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical, Thermal, and Surface Properties of Chitosan Films. *J Agric Food Chem*, 53: 3950-3957.
- Swapna, J.C., Prashanth, H., Rastogi, N.K., Indiramma, A.R., Reddy, Y., Raghavarao, K.S.M.S. (2011). Optimum blend of chitosan and poly-(ϵ -caprolactone) for fabrication of films for food packaging applications. *Food Bioprocess Tech*, 4: 1179–1185.
- Tuhin, M.O., Rahman, N., Haque, M.E., Khan, R.A., Dafader, N.C., Islam, R., Nurnabi, M., Tonny, W. (2012). Modification of mechanical and thermal property of chitosan–starch blend films. *Radiat Phys Chem*, 81(10): 1659-1668.
- Valencia-Sullca, C., Vargas, M., Atares, L., Chiralt, A. (2018). Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocoll*, 75: 107–115.
- Vargas M., Albors A., Chiralt A., Gonzalez-Martinez C. (2009). Characterization of chitosan–oleic acid composite films. *Food Hydrocoll*, 23: 536–547.
- Velickova E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Moldao-Martins, M., Alves, V.T. (2013). Characterization of multilayered and composite edible films from chitosan and beeswax. *Food Sci Technol Int*, 21(2): 83–93.
- Xu, Y.X., Kim, K.M., Hanna, M.A., Nag, D. (2005). Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Ind Crops Prod*, 21: 185–192.



GIDA ENDÜSTRİSİNDE EKSTRÜZYON TEKNOLOJİSİNİN KULLANIMI VE YAPILAN OPTİMİZASYON ÇALIŞMALARI

Ayşe Merve Büyükyazı^{1*}, Şebnem Tavman²

¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 04.03.2020; Kabul / Accepted: 14.07.2020; Online baskı / Published online: 08.08.2020

Büyükyazı, A.M., Tavman, Ş. (2020). Gıda endüstrisinde ekstrüzyon teknolojisinin kullanımı ve yapılan optimizasyon çalışmaları. *GIDA* (2020) 45(4) 774-785 doi: 10.15237/gida.GD19140.

Büyükyazı, A.M., Tavman, Ş. (2020). *Application of extrusion technology and optimization studies in the food industry*. *GIDA* (2020) 45(4) 774-785 doi: 10.15237/gida.GD19140.

ÖZ

Gıda endüstrisinde ekstrüzyon pişirme; enerji tüketiminin az olması, üretimin verimli ve son ürünün ucuz olması, yeni teknolojilerden olması, yüksek sıcaklık-kısa süreli işleme yöntemi olmasından dolayı tercih edilen ve kullanımı gittikçe artan bir yöntemdir. Ekstrüzyon pişirme esnasında ekstrüdere giren hammaddenin özellikleri (nişasta tipi, protein, yağ, su içeriği, formülasyon vd.), proses değişkenleri (vida hızı, besleme hızı, kalıp şekli ve sıcaklığı gibi) ve ürün karakteristikleri (besinsel, fiziksel ve kimyasal özellikler gibi) arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Değişkenleri doğru analiz edebilmek ve yapılacak deney sayısını en uygun şekilde azaltabilmek için optimizasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Mühendislik açısından optimizasyon, prosesleri etkileyen bağımsız değişkenler ve yanıt olarak adlandırılan bağımlı değişkenler arasındaki ilişkileri değerlendirerek optimum verilerin oluşmasını sağlamaktadır. Bu derlemenin amacı, ekstrüzyon tekniği ile üretilmiş ürünlerle ilgili yanıt-yüzey yöntemiyle yapılan optimizasyon çalışmaları bir arada değerlendirmektir.

Anahtar kelimeler: Gıda endüstrisi, ekstrüzyon, ekstrüde ürün, optimizasyon

APPLICATION OF EXTRUSION TECHNOLOGY AND OPTIMIZATION STUDIES IN THE FOODINDUSTRY

ABSTRACT

Extrusion cooking is preferred due to its low energy consumption, efficient production and cheap end products, adaptability to new technologies, high temperature-short-term processing method and it is increasingly used in the food industry. There is an important relations between raw material entering the extruder (starch type, protein, oil, water content, formulation etc.), process variables (such as screw speed, feed rate, barrel shape and temperature) and product characteristics (such as nutritional, physical and chemical properties) during the extrusion cooking and many factors come into play to reach the desired product. Optimization studies are required to analyze these factors well and to decrease the number of experiments in the most logical way. In terms of engineering, optimization ensures optimum data by evaluating the relationships between independent variables that affect processes and dependent variables called responses. The purpose of this review is to evaluate the optimization studies carried out using the response-surface method for products produced by extrusion technique.

Keywords: Food industry, extrusion, extruded product, optimization

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉:bykyz.merveayse@gmail.com

☎:(+90)544 964 6411

☎:(+90)232 311 4831

Ayşe Merve Büyükyazı; ORCID no: 0000-0003-4942-5897

Şebnem Tavman; ORCID no: 0000-0002-3069-1709

GİRİŞ

Toplumun yaşam tarzındaki değişiklikler, beslenme alışkanlıklarının değişmesine ve dolayısıyla tüketime hazır, kolay taşınabilen, çabuk tüketilebilen gıdalara yönelimi artırmıştır. Günümüzde teknoloji ve buna bağlı olarak gıda işleme tekniklerindeki gelişmeler değişik gıda ürünlerinin tüketicilere sunulmasına neden olmuştur (Maskan ve Altan, 2012). Bu tarz gıdalara yönelim ise beraberinde ekstrüzyon teknolojisinin gıda işleme endüstrisinde önemli bir paya sahip olmasını getirmiştir. Ekstrüde ürünlerle ilgili olarak yapılan çalışmalarda, ekstrüzyon sırasında hammaddelerin kimyasal, mikrobiyolojik ve yapısal değişimlerden geçtiği (nişasta jelatinizasyonu, protein denatürasyonu, enzim inaktivasyonu, mikrobiyel sayımda düşüş vb.) ve son ürünün özelliklerini etkileyen besinsel içerik, organoleptik özellikler, kalite kriterleri gibi pek çok faktörün bulunduğu görülmüştür (Sawant vd., 2015). Proses sırasında en etkili ve verimli üretimi gerçekleştirmek gıda endüstrisinin önemli bir hedefidir (Yolmehve Jafari, 2017). Dolayısıyla istenilen en iyi özelliğe sahip ekstrüde ürünü üretebilmek, prosesi daha verimli hale getirebilmek ve kaliteyi iyileştirebilmek için ise optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Optimizasyon; bir proseste istenen ürüne ait özellikler yani yanıtlara ulaşılması amacı ile, bağımsız değişkenlerin kendi aralarındaki etkileşimlerinin ve hedefe (yanıt) olan etkilerinin bir arada değerlendirilmesi işlemidir (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010). Optimizasyonda kullanılan yöntemlerden yanıt yüzey metodu genel olarak; problemin tanımı, bağımsız değişkenler ve derecelerinin belirlenmesi, doğru tasarım seçimi ve sonucunda modelin oluşturulması, optimizasyonu ve değerlendirilmesi aşamalarından oluşmaktadır. Daha az sayıda deneme oluşturulması için tasarımlar arasında eleme yapılmalı ve bağımsız değişkenlerin optimum noktaya en yakın sonuç verdiği tasarım araştırılmalıdır (Aydar, 2018).

Bu derlemede, ekstrüzyon tekniği, ekstrüzyon tekniğinin gıda işleme endüstrisinde kullanım alanları ve ekstrüzyon tekniği ile elde edilen

ürünlerde yapılan optimizasyon çalışmaları ile bu çalışmaların sonuçlarından bahsedilecektir.

EKSTRÜZYON TEKNİĞİ VE KULLANIM ALANLARI

Ekstrüzyon, 20.yüzyılın en önemli yeniliklerinden biri olmakla beraber, genellikle polimer ve plastikler, gıda ve yem, kağıt-değirmencilik endüstrileri gibi pek çok farklı işleme endüstrilerinde tercih edilmektedir. Gıda endüstrisinde bir pişirme işlemi olarak ekstrüder kullanımının, ilk defa 1940'lı yıllarda aperatif gıda üretmek için olduğu bilinmektedir. Ekstrüzyon teknolojisi çeşitli gıda proseslerine uygulanabilen bir yöntem olup, endüstride olduğu gibi akademik çalışmalarda da yerini önemli derecede almıştır (Tiğa, 2018).

Ekstrüzyon Teknolojisi

Ekstrüzyon işlemi karıştırma, ısıtma, kesme gibi birçok işlemin birleştirildiği, hamurun kalıptan itildiği bir proses olarak tanımlanmakta olup, sistem içindeki materyallerin akışı, bu materyallerin kendi aralarındaki termal enerji aktarımları ve prosteki kütle aktarımlarından oluşan bir taşıma işlemidir (Ajita, 2018). Gıda uygulamalarında vidalı ekstrüzyon baskın olmakla beraber, ekstrüderler çift vidalı ve tek vidalı olarak ikiye ayrılmaktadır. Çift vidalı ekstrüderler daha karmaşıktır fakat tek vidalı ekstrüderlere göre daha kontrollü bir üretim yapılmasına olanak sağlarlar (Tiğa, 2018). Bir ekstrüder besleme haznesi, ön ısıtıcı, ısıtma bölgesi ve kalıp bölmelerinden oluşmaktadır. Ekstrüderde dönen vida tarafından kayma enerjisi oluşturulur, kovanın da ısıtılması ile birlikte gıda maddesi erime noktasına getirilir ve yüksek basınç altında kalıptan geçirilerek son halini almış olur. Sonuçta ekstrüzyon pişirme esnasında, gıda hammaddeleri nem, basınç, sıcaklık faktörlerinin etkisi ile birkaç dakika içerisinde pişirilir, bu durum ise moleküler dönüşüm ve kimyasal reaksiyonlarla sonuçlanır (Navale vd., 2015).

Ekstrüzyon Tekniğinin Kullanım Alanları

Diğer gıda işleme teknolojilerine oranla ekstrüzyon teknolojisi çok yönlülüğü, yüksek verimliliği, düşük maliyeti, enerji verimliliği ve az miktarda atık su oluşumu gibi özellikleri sayesinde son yıllarda çok tercih edilen bir teknoloji haline

gelmiştir. Ekstrüzyon pişirme teknolojisi sayesinde makarna, bebek mamaları, kahvaltılık tahıllar, atıştırmalık gıda ürünleri, şekerlemeler, tekstüre edilmiş proteinli gıda ürünleri, evcil hayvan mamaları gibi geniş çeşitlilik aralığında gıda ürünlerinin üretimi daha kolaylaşmıştır (Tiğa, 2018). Fakat ekstrüzyon pişirmede ürünlerin besin değerinde azalma görülmektedir ve bu nedenle gıda işleme esnasında lif ve biyoaktif bileşen açısından zenginleşmeye yardımcı olacak ürünler ilave edilmektedir. Ekstrüzyon yöntemi ile pişirilmiş ürünleri bu yönde zenginleştirmek için Ovando-Martinez vd. (2009) ham muz tozu, Silva vd. (2013) brokoli tozu, Rajesvari vd. (2013) soğan tozu, Lu vd. (2018) mantar tozunu çalışmalarına dahil etmişlerdir. Son zamanlarda çok dikkat çeken amarant ve kinoa da besinsel değerlerinden dolayı Cardenes-Hernandez vd. (2016) ile Bastos vd. (2016) tarafından tercih edilmiştir. Glütensiz ürün üretiminde de bu teknoloji tercih edilmekte olup birçok baklagil unu, enginar, havuç, brokoli, ayçekirdeği, sarı biber, kırmızı biber gibi sebze tozları, soya ile zenginleştirilmiş pirinç unu, patates püresi/unu ile ilgili çalışmalar olmuştur (Maskan ve Altan, 2012). Giuberti vd. (2015) pirinç unu ve farklı oranlarda bezelye unları ile, Cappa vd. (2017) patates ve patates türevleri ile, Patino-Rodriguez vd. (2018) ise olgunlaşmamış muz, mısır ve nohut unları ile çalışmış ve çölyak hastaları için ekstrüzyon teknolojisi kullanarak glütensiz ürün üretmeyi amaçlamışlardır.

Ayrıca kırmızı/beyaz et, süt ve süt ürünleri, meyve/sebze ve balık endüstrisinde işleme esnasında oluşan yan ürün ve atıkların değerlendirilmesinde de ekstrüzyon teknolojisi ciddi derecede katkı sağlamaktadır (Waldron, 2007). Gıda yan ürün/atıklarının ekstrüzyon tekniğinde değerlendirilme sebepleri olarak; gıda endüstrisinin insan sağlığına zararlı etkileri olan fazla miktarda yan ürün/atık oluşturması (Helkar ve Sahoo, 2016), hızlı nüfus artışının sonucunda atıkların oluşumunun da artması ve bu durumun çevreye zarar vermesi, açlığın yüksek olduğu ülkelerde insanlara zenginleştirilmiş ürünler verebilme isteği (Torres-Leon vd., 2018) gösterilmektedir. Surasani (2016) balık endüstrisi, Sharma vd. (2016) pirinç endüstrisi yan ürünleri ile çalışmışlardır. Meyve sebze endüstrisinde elma, seftali, portakal, domates, muz posası ve kabuğu,

soğan kabuğu, kayısı, üzüm, nar çekirdeği ve posalarının ekstrüdere girecek olan karışıma belli oranlarda ilaveleri ile çeşitli ürünler elde edilmektedir (Maskan ve Altan, 2012).

Ancak Ackar vd. (2018), yaptıkları çalışmada ekstrüzyon tekniği ile üretilen ve gıda yan ürünleri ile zenginleştirilen ürünlerde zayıf genişleme (ürünün kesit alanı ile kalıp alanı arasındaki oran) etkisi görüldüğünden bahsetmiş ve bu nedenle çalışmalarına bira posası, şeker pancarı pulpu ve elma posasını atıştırmalık ürün üretiminde kullanmışlar ve zayıf genişleme problemini çözmek amaçlı ise %0.5 ve %1 oranlarında pektin ilavesi yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda ürünlerde kabul edilebilir seviyede genişleme sağlandığı görülmüştür. Ayrıca Rizvi ve Paraman (2015) yaptıkları patent çalışmasında ekstrüzyon tekniği ile peynir altı suyu proteini ve meyve posasını (elma ve üzüm) birlikte değerlendirerek sağlıklı atıştırmalık üretmek istemişlerdir. Ekstrüde ürünlerde antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarını koruyabilmek için sistemi süper kritik akışkanı ile desteklemişler ve sonuç olarak ürünlerde antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarının korunması sağlanmıştır. Yapılan bu çalışmalarda ise sonuç üzerinde etkili olan faktörleri en iyi şekilde yorumlayabilmek amacıyla optimizasyon çalışmaları bir araç olmuştur.

EKSTRÜZYON TEKNOLOJİSİ İLE ÜRETİLEN ÜRÜNLERDE YAPILAN OPTİMİZASYON ÇALIŞMALARI

Son yıllarda gıda teknolojisinde, yanıt yüzey yöntemi çok ihtiyaç duyulan bir uygulama alanı olarak yerini almıştır. Yanıt yüzey yöntemi, bağımsız değişken olarak adlandırılan faktörlerin hem kendi aralarındaki etkileşimlerinin hem de birden çok yanıt üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine ve sonuçta optimum sonuç elde edilmesine olanak verir (Aydar, 2019). Ekstrüzyon işlemi ile üretilen gıda ürünleri ile ilgili yapılan optimizasyon çalışmalarında yanıt yüzey metodu, CCRD (Merkezi Tümlleşik Tasarım) metodu ve D-Optimal Karışım tasarımı en ideal araçlar olarak görülmektedir (Danbaba vd., 2016). Çizelge.1' de bazı ekstrüzyon araştırmalarında uygulanan optimizasyon çalışmaları tablo haline getirilmiştir.

Çizelge 1. Bazı ekstrüzyon çalışmalarında yapılmış optimizasyon uygulamaları

Çalışılan Ürün	Bağımsız Değişkenler / Yanıtlar	Optimizasyon tasarımı/ Optimum sonuçlar	Kaynak
Arpa unu-üzüm posası ekstrüde ürünü	Kalıp sıcaklığı (140-160°C), vida hızı (150-200 dev/dk), posa oranı (%2-10 k.b.) Görünüm, tat, tekstürel özellikler	CCRD deneme tasarımı 155-160°C kalıp sıcaklığı, %4.47-6.57 oranında posa ve 150-187 dev/dk vida hızı	Altan vd., 2008
Ekstrüde keten tohumu	Vida hızı (70-270 dev/dk), nem içeriği (%4-28), sıcaklık (84-180°C), besleme oranı (25.4-113.4 kg/s) Ürünün protein sindirilebilirliği	CCRD deneme tasarımı 120 dev/dk vida hızı, %10 nem içeriği, 120°C kalıp sıcaklığı ve 91.4 kg/s besleme hızı	Wang vd., 2008
Darı-bakla ekstrüdatları	Vida hızı, nem içeriği, kalıp sıcaklığı, karışımdaki baklagil oranı Gevreklik, su absorplama indeksi, yanal genleşme ve yoğunluk	CCRD deneme tasarımı %23.2 ıslak bazda nem içeriği, %19.9 baklagil oranı, 121.1°C kalıp sıcaklığı ve 123 dev/dk vida hızı	Chakraborty vd., 2011
Bezelye nişastası eriştesi	Nem içeriği (%30-40), sıcaklık (85-100°C) ve vida hızı (100-200 dev/dk) L, a, b değeri, genleşme oranı, nişasta jelatinizasyonu, yüzey yapışkanlığı	CCRD deneme tasarımı %35 besleme nem içeriği, 95°C kalıp sıcaklığı, 150 dev/dk vida hızı	Wang vd., 2012
Buğday-maş fasulyesi-yer fıstığı ekstrüde ürünleri	Besleme nem içeriği (%12.6-19.4), kalıp sıcaklığı (116-184°C) ve vida hızı (349-601 dev/dk) Mekanik enerji, genleşme oranı, yoğunluk, su absorplama indeksi ve suda çözünübilirlik indeksi	CCRD deneme tasarımı %14.8 nem içeriği, 521 dev/dk vida hızı, 140°C kalıp sıcaklığı	Pathania vd., 2013
Çin pirinç şarabı	Nem içeriği (%33-43), kalıp sıcaklığı (95-105°C), amilaz konsantrasyonu (%0-1.8) Çin pirinç şarabında maksimum etanol verimi	CCRD deneme tasarımı 100.14°C kalıp sıcaklığı, %43 nem içeriği, %1.45 amilaz konsantrasyonu	Li vd., 2014
Buğday kepeği ekstrüde ürünü	Kalıp sıcaklığı (165,175,185°C), nem içeriği (20,25,30 g/100g k.b.), vida hızı (180,190,200 dev/dk) SDF (çözünebilir diyet lifi) fraksiyonu	Box-Behnken deneme tasarımı 185°C kalıp sıcaklığı, 24g/100g besleme nemi, 192 dev/dk vida hızı	Long vd., 2014

Pirinç, manyok (ekvatorial ortamlarda yetişen patates tipi yumru bitki türü) ve yerfıstığı unlarından ekstrüde ürün	Besleme nem içeriği, vida hızı ve kalıp sıcaklığı Yanal genişleme ve raf ömrü	CCRD deneme tasarımı 20g/100g nem içeriği, 97°C sıcaklık ve 12 dev/dk vida hızı	Awolu vd., 2015
Keten tohumu atıştırma kalınlıkları	Ekstrüzyon sıcaklığı (100-160°C), vida hızı (60-180 dev/dk), besleme hızı (%18.35-54.95 kg/s), nem içeriği (%14-30 w/w) invitro protein sindirilebilirliği, genişleme indeksi, yığın yoğunluğu ve tekstürel özellikleri	Genel dört faktörlü karesel tasarım %20 keten tohumu içeriği %17.37-22.43 nem içeriği 134.3-156.1°C sıcaklık 114-165.7 dev/dk vida hızı 34.38-45.95 kg/s besleme hızı	Min vd., 2015
Fasulye ile zenginleştirilmiş atıştırma kalınlıkları	Fasulye unu içeriği (%0-16-30-40), kalıp sıcaklığı (120-170 °C), vida hızı (50-240 dev/dk) Genişleme oranı, sertlik, antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde içeriği, melanoidin içeriği	CCRD deneme tasarımı Mısır:fasulye (100:0) için 159°C, 214 dev/dk; Mısır:fasulye (84:16) için 164°C, 187 dev/dk; Mısır:fasulye (70:30) için 163°C, 165 dev/dk 50g atıştırma kalınlık üründe optimum sonuçlar; 1.86-2.29 genişleme oranı, 4.85-6.88 N sertlik, 139-162 mg gallik asit eşdeğeri, 205-232 mg melanoidin içeriği, 3574-4180 µmol Trolox eşdeğeri.	Felix-Medina vd., 2020

Tüketime Hazır ve Atıştırma Kalınlık Gıda Ürünlerinde Yapılan Çalışmalar

Tüketiciler tarafından gündelik yaşamın koşuşturmasında hızlı tüketilebilen ürünler çok tercih edilmekte olup ekstrüzyon pişirme bu konuda önemli bir teknoloji olarak endüstride yerini almıştır.

Shaviklo vd. (2015) yaptıkları çalışmada, ekstrüde edilmiş mısır ve karidesli atıştırma kalınlık ürününün üretiminde optimum koşulları incelemiştir. Bağımsız değişkenler olarak mısır ezmesi, karides tozu ve şeker; yanıt olarak ise duyu kaliteyi etkileyen koku, lezzet, doku seçilmiştir. Ürünlerin formülasyonunu optimize etmek için üç bileşenli bir D-optimal Karışım tasarımı uygulanmış ve 13

deney oluşturulmuştur. Yüzey kontur grafiklerinde üç faktörün de yanıtları önemli derecede etkilediği görülmüştür. Sonuç olarak 96 g/100g mısır ezmesi, 3 g/100g karides tozu ve 1 g/100g şeker içeren karışımın optimum koşullar olduğu ve yanıt değerlerinin ise 6.405 koku, 8.417 lezzet, 8.640 doku olarak tespit edildiği belirtilmiştir.

Alam vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada düşük maliyetli ve besleyici ekstrüde aperatif ürün üretmek için pirinç, yağsız soya fasulyesi unu, havuç posası tozu ve karnabahar tozları içeren karışım hazırlanmıştır. 17 deneysel çalışma sağlayan Box-Behnken yanıt yüzey tasarımı uygulanmıştır. Elde edilen veriler ikinci dereceden

polinomiyal denkleme uyacak şekilde analiz edilmiştir. Varyans analizi sonucunda kalıp sıcaklığının yanıt üzerindeki en etkili parametre olduğu görülmüştür. Yanıt yüzey grafiklerinde gözlemlenen sonuçlara göre %76 oranında kabul edilebilir ekstrüde ürün eldesi için optimum koşulların 164°C kalıp sıcaklığı, 313 dev/dk vida hızı ve 85: 7.5: 3.35: 3.25 oranlarında pirinç: yağsız soya unu: havuç püresi unu: karnabahar tozu olduğu bildirilmiştir. Bu şekilde yapılan üretim sonucunda ürünlerin besleyiciliği artmış ve üründe 10.25 g/100 g protein, 0.84 g/100g lif tespit edilmiştir.

Gbenyi vd. (2016) belli oranlarda hazırlanan sorgum ve börülce un karışımlarını tek vidalı ekstrüder kullanarak %20, %22.5, %25 nem değerlerinde ve 120, 140, 160°C kalıp sıcaklıklarında işleme tabi tutmuşlar ve faktörlerin ekstrüde sorgum-börülce atıştırma ürünleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Ürünlerin viskozite, su absorpsiyon indeksi, suda çözünürlüğü, yanal genişleme ve yığın yoğunluğu değerlerini modellemek için CCRD tasarımı kullanılmıştır. Besleme kompozisyonunun sonuç üzerindeki en etkili faktör olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmada, her bir yanıt için değişkenlerin optimum sonuçları ayrı ayrı verilmiş olup; besleme kompozisyonu %11-20.4 arasında, besleme nemi % 21.5-25 arasında, ekstrüzyon sıcaklığı 120-150 °C aralığında bulunmuştur. Optimizasyon grafikleri optimum sonuçların 5.8 g H₂O/g ürün su absorpsiyon indeksi, %14 suda çözünürlük indeksi, 3.6 yanal genişleme, 0.24 g/cm³ yığın yoğunluğu, 10 Ns/m²viskosite olduğunu göstermiştir.

Bir başka çalışmada yulaf, bezelye, çemen tohumu unundan oluşan sağlıklı ekstrüde atıştırma ürünleri üretilmek istenmiştir. Wanive Kumar (2016), bu çalışmada besleme nemi, kalıp sıcaklığı ve vida hızının ekstrüde ürünün yanal genişleme, yığın yoğunluğu, su absorplama indeksi, suda çözünürlüğü ve sertliğine olan etkisi araştırılmıştır. Nem içeriği, sıcaklık ve vida hızı olarak seçilen bağımsız değişkenler için CCRD tasarımı seçilmiştir ve 20 deneme oluşturulmuştur. Üç faktörlü tasarım için ikinci dereceden polinomiyal

modeli uygulanmıştır. Yüksek kaliteye sahip ürünü; %12 nem, 110 °C ekstrüzyon sıcaklığı ve 200 dev/dk vida hızı değerlerinde üretildiği tespit edilmiş olup, yapılan optimizasyon sonucunda yanıt değerleri; %112.7 yanal genişleme, 3.9 g/g kuru bazda su absorplama kapasitesi, 15.89 g/g su absorplama indeksi, 0.22 g/cm³ yığın yoğunluğu ve sertlik 10.15 N olarak bulunmuştur.

Xu vd. (2016), ısıya dayanıklı α -amilaz ve ekstrüde edilmiş pirinç unu ile yaptıkları çalışmada enzim konsantrasyonu, kalıp sıcaklığı, nem içeriği ve vida hızı olarak belirlenen bağımsız değişkenlerin; üretilen ürünlerin sıcaklığı, hamur basıncı ve mekanik enerji gibi proses parametreleri ile jelatinizasyon derecesi, toplam fenolik içeriğinin tutulma oranı değerleri üzerindeki etkisini yanıt yüzey metodu aracılığı ile incelemişlerdir. Bağımsız değişkenler için CCRD tasarımı kullanılmış olup yüzey kontur grafikleri oluşturulmuştur. Çok faktörlü optimizasyona göre; istenilen özelliklere sahip olan ürün özellikleri 10 kJ/kg mekanik enerji, %100 jelatinizasyon derecesi ve %85 oranında toplam fenolik maddenin korunması olup optimum koşullar; %1.37 enzim konsantrasyonu, 93.01°C kalıp sıcaklığı, %44.30 nem içeriği ve 171.66 dev/dk vida hızı olarak bulunmuştur.

Jozinovic vd. (2017)'nin yaptıkları çalışmanın amaçları; süperkritik CO₂ekstraksiyonu tekniği ile tamamen yağsız kenevir keki üretebilmek, ekstrüzyon karışımına yağsız kenevir keki ilavesi ve proses parametrelerinin atıştırma ürünler üzerindeki etkisini incelemek ve yanıt-yüzey metodu kullanarak ekstrüzyon koşullarında istatistiksel optimizasyonu sağlamaktır. Box-Behnken tasarımı, değişkenleri optimize etmek ve sonuçta üründe en yüksek genişleme oranı (2.77), düşük sertlik (24.95 N), yüksek kırılma (10.19 mm) ve çok düşük derecede renk değişimine (14.27) ulaşmak için kullanılmıştır. Mısır irmiğine eklenen yağsız kenevir keki, ekstrüzyon öncesi besleme nem içeriği ve ekstrüzyon sıcaklığı olarak belirtilen her bir faktör için üçer farklı seviye kullanılmıştır. Optimizasyon sonucunda elde edilen veriler; %5 kenevir keki, %15 nem içeriği, 150°C ekstrüzyon sıcaklığı olarak tespit edilmiştir.

Lohani ve Muthukumarappan (2017) yaptıkları çalışmada, sıcak ekstrüzyonla elde edilen ürünlerdeki besinsel ve biyoaktif bileşenlerin kaybını önlemek amacı ile mısır unu, sorgum unu ve elma püresi karışımına ekstrüzyon esnasında CO₂ püskürtmesi uygulamışlardır. Box-Behnken tasarımı ile 29 deney oluşturulmuştur. Optimum koşullar %30 elma posası, 25 g/100g nem içeriği, 97°C ekstrüder sıcaklığı, 100 dev/dk vida hızı olarak belirlenmiştir. Kontrol ekstrüdatları ile karşılaştırıldığında, CO₂ ile ekstrüde edilmiş ürünlerin, sistemin soğutma etkisinden ötürü toplam fenolik madde içeriği (%12 daha fazla) ve aktioksidan aktivitesi (%7 daha fazla) açısından son üründe daha iyi korunduğu görülmüştür.

Topuz vd. (2017) yaptıkları çalışmada yanıt yüzey metodunu kullanarak karides-mısır atıştırma ürünü üretmek istemişlerdir. Yanıt-yüzey metodu kullanılarak ekstrüzyon sıcaklığı (110-150°C), vida hızı (200-500 dev/dk) ve besleme nem değerleri (17-23 g/100g) olarak seçilen bağımsız değişkenlere 3'er seviyede Box-Behnken tasarımı uygulanmış ve atıştırma ürünlerin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ekstrüzyon sıcaklığının ürünlerin sertlik, omega-3 yağ asidi ve duyuşal özellikleri üzerindeki en etkili faktör olduğu bulunmuştur. 127.2°C sıcaklık, 393.4 dev/dk vida hızı ve 21.6 g/100g nem içeriğinin genel anlamda en kabul edilen ürün için optimum koşullar olduğu bulunmuştur.

Mısır nişastasından çabuk sebze çorbası üretmede ekstrüzyon teknolojisinin kullanım olanağı hakkında çalışma yürüten Gandhi vd. (2018), yanıt yüzey metodu-CCRD tasarımı ile 5 seviyede 20 deney gerçekleştirmişlerdir. Besleme nem içeriği, kalıp sıcaklığı ve vida hızının kalite açısından yanıtları incelenmiş olup matematiksel modellerin deneysel verilere uymasına için regresyon analizi yapılmıştır. Tüm bağımsız değişkenlerin ekstrüde ürün üzerinde önemli bir etkiye neden olduğu görülmüştür. Optimum sonuçlar %16.13-18 besleme nem içeriği, 400-429 dev/dk vida hızı ve 125-137°C kalıp sıcaklığı olarak; her bir yanıtın minimum ve maksimum değer aralığı; 66.05-111.51 g/cm³ yığın yoğunluğu, 3.02-4.39 genişleme oranı, %2.39-3.79 g/g su absorplama

indeksi, %47.12-58.59 suda çözünürlük indeksi, % 59.99-71.17 jelatinizasyon derecesi ve 17.80-20.96 nişasta sindirilebilirliği olarak bulunmuştur.

Nakhon vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada optimizasyon, yanıt yüzey yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup, çimlenmiş kahverengi pirinç ve balkabağı unu ile sağlıklı atıştırma üretimi amaçlanmıştır. Çalışmada üç farklı balkabağı unu oranı (%10, 20, 30) ve üç besleme nem içeriği (%13, 16, 19) bağımsız değişkenler olarak seçilmiş ve bu değişkenlerin etkisini incelemek için tamamen rastgele bir tasarımda 3*3 faktöriyel deney tasarımı uygulanmıştır. Sistemde yanıt olarak toplam fenol miktarı ile görünüm ve sertlik gibi duyuşal özellikler seçilmiştir. Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki için ikinci dereceden polinomiyal model kullanılmıştır. 350 dev/dk vida hızı ve 140°C ekstrüzyon sıcaklığı koşullarında; %10-13 balkabağı unu, %13-14 besleme nem içeriği optimum koşullar olarak bulunmuştur.

Sukumar ve Athmaselvi (2019) temelı darı olan atıştırma ürünü muz tozu ile zenginleştirmişler ve pirinç unu, mısır unu ve peynir ile kombine edilerek ekstrüde etmişlerdir. Kalıp sıcaklığı (118-122°C), vida hızı (345-355 dev/dk) ve muz tozu konsantrasyonunun (1-4 g) ekstrüde ürünün fiziksel ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkileri, yanıt-yüzey metodu ve CCRD kullanılarak 3 faktör için 3'er derecede incelenmiştir. Her bir yanıt için regresyon analizi ikinci dereceden polinom modeli kullanılarak yapılmıştır. Bağımsız değişkenlerin yanıtlar üzerinde önemli etkilerinin olduğu tespit edilmiş ve yanıt yüzey grafikleri sonucunda optimum koşulların 119°C kalıp sıcaklığı, 346 dev/dk vida hızı ve 3.67 g muz unu konsantrasyonu olduğu bildirilmiştir.

Twum ve Pare (2018) mısır, kahverengi pirinç, tam yağlı soya fasülyesi ve ananas posasının elde edilen ekstrüde ürünlerin fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini nasıl etkilediğini incelemek amacıyla optimizasyon çalışması yapmışlardır. Ekstrüder koşulları sabit tutulmuş ve D-Optimal Karışım metodu yardımıyla 20 çalışma deneyi sağlanarak hamur karışımındaki hammadde oranları optimize edilmiştir. ANOVA ile elde edilen *p*-değerlerine

bakıldığında soya fasulyesinin fiziksel ve fonksiyonel özellikler üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, kahverengi pirinç, mısır ve ananas posalarının son ürün üzerinde fiziksel ve fonksiyonel açıdan daha etkili değişkenler olduğu bulunmuştur.

Bebek ve Çocuk Gıdalarında Yapılan Çalışmalar

Son yıllarda bebek gıdaları hakkında da çalışmalar artmış olup, Ali vd. (2016) ekstrüzyon yöntemi ile yüksek kaliteli ve düşük maliyetli hammaddelerden bebeklerde katı gıda başlangıcı için ürün üretmeyi amaçlamışlardır. Çift vidalı ekstrüdere girecek karışımda maş fasulyesi ve mısır unu (30:70) kullanılmıştır. Nem içeriği, vida hızı ve kalıp sıcaklığı bağımsız değişken olarak seçilmişken, spesifik mekanik enerji, yığın yoğunluğu, su absorpsiyon indeksi, suda çözünürlük indeksi ve jelatinizasyon derecesi bağımlı değişken olarak belirlenmiş ve CCRD tasarımında 5'er seviyede çalışılmıştır. 0.065-0.071 g/cm³ yığın yoğunluğu, 4.03-4.06 g/g su absorplama indeksi, %29.86-31.67 suda çözünürlük indeksi, %84.82-91.92 jelatinizasyon dereceleri istenen fonksiyonel özellikler olarak belirlenmiştir. Yanıt yüzey metodu ile hedef ürün için elde edilen optimum koşullar; %14.33 besleme karışımı nem içeriği, 524 dev/dk vida hızı, 174°C kalıp sıcaklığı olarak tespit edilmiştir.

Atukuri vd. (2018) yüksek protein içeriği ve yüksek protein sindirilebilirliği, düşük yığın yoğunluğu ve düşük viskoziteye sahip bir ürünle ekstrüzyon çalışması yapmak istemişlerdir. Bu amaçla, duyuşal açıdan da kabul edilebilirliği yüksek olan amarantı çalışmalarında kullanmak üzere seçmişler ve bu ürünün tamamlayıcı gıda olarak kullanılabilmesi için optimum ekstrüzyon şartlarını araştırmışlardır. CCRD tasarımı kullanılmış, veriler ikinci dereceden polinomial denkleme işlenmiş ve bağımsız değişkenlerin fonksiyonu yanıt olarak açıklanmıştır. Bağımsız değişkenlerin yanıtlar üzerinde önemli lineer, kuadratik ve interaktif etkilere sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Optimizasyon sonucunda; 150°C ekstrüder sıcaklığı, 50 Hz vida hızı, %14.41 nem içeriği optimum koşullar olarak bulunmuş ve elde

edilen verilerin %71 oranı ile kabul edilebilirliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Mangaraj vd. (2018), 9-18 yaş arasındaki çocuklarda hastalık kaynaklı beslenme yetersizliği ile mücadele etmek için zenginleştirilmiş ekstrüde ürün üretmişlerdir. Bu amaçla mısır ve pirinç unu bazlı üründe yağsız soya unu, soya protein izolatu, kahve beyazlatıcısı, mango ve ıspanak ürünleri ile çalışmışlardır. Hammaddelerin beslemeye giren karışımdaki oranları ve bu hammaddelerin kendi aralarındaki etkileşimlerinin, atıştırmalık ürünlerin beslenme kriterleri üzerindeki etkilerini değerlendirebilmek için yanıt yüzey metodu kullanılmıştır. Protein ve yağ içeriği en yüksek ürün, 35:35:15:10:5 oranlarındaki mısır: pirinç: yağsız soya unu: kahve beyazlatıcısı: soya protein izolatu ile sağlanmıştır. Tat, koku, renk, görünüm ve genel olarak kabul edilebilirlik gibi duyuşal özellikler açısından en yüksek değeri, 10 üzerinden 7.46 puanı ile mango içeren ürün vermiştir. Duyuşal açıdan 0.88 değeri ile kabul edilebilirlik açısından en yüksek sonucu, %10 yağsız soya unu ve %5 soya protein izolatu vermiş ve soya bazlı ürünlerin anlamlı sonuç verdiği görülmüştür. Tüm ürünler için değişkenler ve yanıtlar arasında iyi bir uyum olduğu görülmüştür.

Makarna Ürünlerinde Yapılan Çalışmalar

Wang vd. (2016)'nin yaptıkları çalışmada ekstrüzyon sıcaklığı ve vida hızının, temel bileşeni kahverengi pirinç unu olan glutensiz makarna ürününe etkisini yanıt-yüzey metodu kullanarak bulmayı amaçlamışlardır. Bağımsız değişkenlerin ürünün pişme ve tekstürel kalitesi üzerinde önemli derecede etkili olduğu fakat eğilimlerin farklı olduğu belirlenmiştir. 120°C ve 120 dev/dk vida hızına sahip ekstrüder koşullarında üretilen ürünlerin diğer glutensiz ürünlere kıyasla benzer özelliklere sahip olduğu ve kahverengi pirincin bu sektörde kullanılabileceği görülmüştür. Ayrıca yapılan optimizasyon sonucunda %6.7 pişme kaybı, 2387.2 g sertlik, -7 g.s yapışkanlık değerleri bulunmuştur.

Sobowale vd. (2018) yaptıkları çalışmada cocoyam (tropik bölgelerde yetişen nişasta içeriği yüksek sebze) eriştelere kalite özelliklerinde besleme nem içeriği, vida hızı ve kalıp sıcaklığının etkilerini

yanıt yüzey metodu-CCRD deneme tasarımı ve 20 deney ile açıklamışlardır. Sonuçta; karışım kompozisyonu, termo-fiziksel ve fizikokimyasal özellikler ve eriştilerin renkleri ekstrüzyon parametrelerinden önemli derecede etkilenmiştir. %47.5 besleme nem içeriği, 700 dev/dk vida hızı ve 55°C kalıp sıcaklığı olarak elde edilen optimum koşullarla üretilen eriştilerin, duyuşal açıdan da en kabul edilebilir özelliklere sahip ürünler olduğu bulunmuştur.

Spinelli vd. (2019), yaptıkları çalışmada gıda yan ürün/atıkları ile zenginleştirilmiş makarna üretmeyi hedeflemişlerdir. Bu amaçla mısır kepeği, üzüm posası tozu, bira endüstrisinde yan ürün olan tahıl unu olmak üzere 3 farklı yan ürün/atık kullanılmıştır. Yöntem, toplam kalite indeksinin optimizasyonu olarak açıklanmıştır. Toplam fenolik madde içeriği bakımından %15 tahıl unu ya da %15 üzüm posası; duyuşal özellik bakımından 10 g/100g tahıl unu, 8.5 g/100 g üzüm posası ya da 11 g/100 g mısır kepeği en yüksek sonucu vermiştir. Toplam kalite indeksinin maksimumunda olduğu değerler ise yaklaşık %10 tahıl unu, %9 üzüm posası tozu ya da %10 mısır kepeği olarak bulunmuştur. Sonuçlar, üründe hem duyuşal hem de besinsel özellikleri yüksek tutarak zenginleştirilmiş makarna üretilebileceğini göstermiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Gıda ekstrüzyon teknolojisi son yıllarda atıştırmalık gıda ürünleri, tüketime hazır çabuk çorba, erişte ürünleri, bebek ve çocuk gıdaları vb. gibi pek çok ürün grubunda tercih edilmektedir. Bu durumda, hem yaşam koşullarının tüketicileri hızlı ve çabuk gıdalara yönlendirmesi hem de ekstrüzyonun enerji tüketiminin az olması, üretimin verimli ve son ürünün ucuz olması, yeni teknolojilerden olması, yüksek sıcaklık-kısa süreli işleme yöntemi olması gibi diğer teknolojilere göre olumlu özelliklerinin olması etkilidir. Ekstrüzyon yönteminde ürün özelliklerine etkide bulunan birden çok faktör bulunmaktadır. Dolayısıyla istenilen özelliklere sahip ürünü elde etmek için fazlasıyla deney gerekmektedir. Bu nedenle deney sayısını azaltmaya yardımcı, optimum bağımsız değişken verilerini bulabilen optimizasyon yöntemine başvurulmaktadır. Bu derlemede

ekstrüzyon yöntemi ile üretilmiş ürünlerdeki optimizasyon çalışmaları araştırılmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmalarında yanıt yüzey metodları kullanılarak CCRD, Box-Behnken, D-Optimal Karışımı gibi deney tasarımları yapılması, regresyon analizlerinin gerçekleştirilmesi ve ANOVA ile değerlendirme neticesinde hedeflenen ürünlere ulaşmada olumlu sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

AMB, derlemenin araştırma, yazma-orijinal taslak, görselleştirme ve incelemesine katkıda bulunmuştur. ŞT, yazma-orijinal taslak ve inceleme-düzenleme aşamalarında danışman olarak katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Ackar, D., Jozinovic, A., Babic, J., Milicevic, B., Balentic, J.P., Subaric, D. (2018). Resolving the problem of poor expansion in corn extrudates enriched with food industry by-products. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 47:517-524.

Ajita, T. (2018). Extrusion Cooking Technology: An Advance Skill for Manufacturing of Extrudate Food Products. In: *Extrusion of Metals, Polymers and Food Products*, Qamar, S. Z. (chief ed.), pp. 197-210. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.73496>. ISBN: 978-953-51-3838-9.

Alam, M.S., Pathania, S., Sharma, A. (2016). Optimization of the extrusion process for development of high fibre soybean-rice ready-to-eat snacks using carrot pomace and cauliflower trimmings. *Food Sci. Technol.*, 74:135-144.

Ali, S., Singh, B., Sharma, S. (2016). Response surface analysis and extrusion process optimisation of maize-mungbean-based instant weaning food. *Food Sci. Technol.*, 51: 2301-2312.

Altan, A., McCarthy, K.L., Maskan, M. (2008). Twin-screw extrusion of barley-grape pomace blends: Extrudate characteristics and

- determination of optimum processing conditions. *J. Food Eng.*, 89:24-32.
- Atukuri, J., Odong, B.B., Muyonga, J.H. (2018). Multi-response optimization of extrusion conditions of grain amaranth flour by response surface methodology. *Food Sci. Nutr.*, 7:4147-4162, doi:10.1002/fsn3.1284.
- Awolu, O.O., Oluwaferanmi, P.M., Fafowora, O.I., Oseyemi, G.F. (2015). Optimization of the extrusion process for the production ready-to-eat snack from rice, cassava and kersting's groundnut composite flours. *Food Sci. Technol.*, 64:18-24.
- Aydar, A.Y. (2018). Utilization of Response Surface Methodology in Optimization of Extraction of Plant Materials. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.73690>.
- Aydar, A.Y. (2019). Statistical Methods in Optimization of Food Materials. *European Int J. Sci Technol*, 8(3): 33-40. <https://orcid.org/0000-0001-9780-0917>
- Bastos, G.M., Junior, M.S.S., Caliar, M., Araujo Pereira, A.L., Morais, C.C., Campos, M.R.H. (2016). Physical and sensory quality of gluten-free spaghetti processed from amaranth flour and potato pulp. *Food Sci. Technol.*, 65:128-136.
- Cappa, C., Franchi, R., Bogó, V., Lucisano, M. (2017). Cooking behavior of frozen gluten-free potato-based pasta (gnocchi) obtained through turbo cooking technology. *Food Sci. Technol.*, 84:464-470.
- Cardenes-Hernandez, A., Beta, T., Loarca-Pina, G., Castano-Tostado, E., Nieto-Barrera, J. O., Mendoza, S. (2016). Improved Functional Properties of Pasta: Enrichment with amaranth seed flour and dried amaranth leaves. *J. Cereal Sci.*, 72: 84-90.
- Chakraborty, S.K., Singh, D.S., Kumbhar, B.K., Chakraborty, S. (2011). Millet-legume blended extrudates characteristics and process optimization using RSM. *Food Bioprod. Process.*, 89:492-499. doi:10.1016/j.fbp.2010.10.003.
- Danbaba, N., Iro, N., & Mamudu, H. B. (2016). Application of Response Surface Methodology (RSM) for the production and optimization of extruded instant porridge from broken rice fractions blended with Cowpea. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 5: 105-116.
- Felix-Medina, J.V., Montes-Avila, J., Reyes-Moreno, C., Perales-Sanchez, J. X. K., Gomez-Favela, M. A., Aguilar-Palazuelos, E., Gutierrez-Dorado, R. (2020). Second-generation snacks with high nutritional and antioxidant value produced by an optimized extrusion process from corn/common bean flours mixtures. *Food Sci. Technol.*, 124: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109172>.
- Gandhi, N., Singh, B., Sharma, S., Kapoor, S. (2018). Extrusion process optimization of corn starch to develop instant vegetable soup mix. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 7(2):2886-2910.
- Gbenyi, D.I., Nkama, I., Badau, M.H. (2016). Physical and Functional Properties of Extruded Sorghum-Cowpea Blends: A Response Surface Analysis. *Food Sci. Qual. Manag.*, Vol50. ISSN 2224-6088 (Paper), ISSN 2225-0557 (Online).
- Giuberti, G., Gallo, A., Cerioli, C., Fortunati, P., Masoero, F. (2015). Cooking quality and starch digestibility of gluten free pasta using new bean flour. *Food Chem.*, 175:43-49.
- Helkar, P.B., Sahoo, A. (2016). Review: Food industry by-products used as a functional food ingredients. *Int. J. Waste Resour.*, 6(3): 1-6.
- Jozinovic, A., Ackar, D., Jokic, S., Babic, J., Balentic, J.P., Banozic, M., Subaric, D. (2017). Optimisation of extrusion variables for the production of corn snack products enriched with defatted hemp cake. *Czech J. Food Sci.*, 35(6):507-516. doi:10.17221/83/2017-CJFS.
- Koç, B., Kaymak-Ertekin, F. (2010). Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. *GIDA*, 35(1):1-8.
- Li, H., Wei, B., Wu, C., Zhang, B., Xu, X., Jin, Z., Tian, Y. (2014). Modelling and optimisation of enzymatic extrusion pretreatment of broken rice for wine manufacture. *Food Chem.*, 150:94-98.
- Lohani, U.C., Muthukumarappan, K. (2017). Process optimization for antioxidant enriched sorghum flour and apple pomace based extrudates using liquid CO₂ assisted extrusion. *Food Sci. Technol.*, 86:544-554.

- Long, D., Ye, F., Zhao, G. (2014). Optimization and characterization of wheat bran modified by in situ enhanced CO₂ blasting extrusion. *Food Sci. Technol.*, 59:605-611.
- Lu, X., Brennan, M.A., Serventi, L., Liu, J., Guan, W., Brennan, C.S. (2018). Addition of mushroom powder to pasta enhances the antioxidant content and modulates the predictive glycaemic response of pasta. *Food Chem.*, 264:199-209, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.04.130.
- Mangaraj, S., Swain, S., Deshpande, S.S. (2018). Development of Extruded Functional Snack Foods from Plants and Dairy Ingredients Employing Response Surface Methodology. *J. Dairy Vet. Sci.*, ISSN:2573-2196. V:7, Issue4.
- Maskan, A. (ed.), Altan, A. (ed.). (2012). *Advances In Food Extrusion Technology*. CRC Press, 412 p. ISBN:13:978-1-4398-1521-2 (e-Book Pdf), Version date: 20110829.
- Min, W., Yi, L., Lijun, W., Dong, L., Zhihuai, M. (2015). Effects of extrusion parameters on physicochemical properties of flaxseed snack and process optimization. *Int. J. Agric. and Biol. Eng.*, 8(5):121-131.
- Nakhon, P.P.S., Jangchud, K., Jangchud, A., Charunuch, C. (2018). Optimization of pumpkin and feed moisture content to produce healthy pumpkin-germinated brown rice extruded snacks. *Agric. Nat. Resour.*, 52:550-556.
- Navale, S.A., Swami, S.B., Thakor, N.J. (2015). Extrusion Cooking Technology for Foods: A Review. *J. Ready Eat Food*, 2(3): 66-80.
- Ovando-Martinez, M., Sayago-Ayerdi, S., Agama-Acedo, E., Goni, L., Bello-Perez, L.A. (2009). Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chem.*, 113: 121-126.
- Pathania, S., Sing, B., Sharma, S., Sharma, V., Singla, S. (2013). Optimization of extrusion processing conditions for preparation of an instant grain base for use in weaning foods. *Int. J. Eng. Res. Appl.*, 3(3):1040-1049.
- Patino-Rodriguez, O., Bello-Perez, L.A., Flores-Silva, P.C., Sanchez-Rivera, M.M., Romero-Bastida, C.A. (2018). Physicochemical properties and metabolomic profile of gluten-free spaghetti prepared with unripe plantain flours. *Food Sci. Technol.*, 90:297-302.
- Rajesvari, G., Susanna, S., Prabhasankar, P., Venkateswara-Rao, G. (2013). Influence of onion powder and its hydrocolloid blends on pasta dough, pasting, microstructure, cooking and sensory characteristics. *Food Biosci.*, 4:13-20, doi: 10.1016/j.fbio.2013.07.004.
- Rizvi, S.H., Paraman, I. (2015). Extrusion of Agro-food industry byproducts and protein concentrates into value-added foods. United States Patent Application Publication, Pub.No.: US 2015/0282507 A1., Pub. Date: Oct 8, 2015.
- Sawant, S.S., Thakor, N.J., Swami, S.B. (2015). Application of Extrusion Cooking Technology In Food Industry. *Int. J. Process. Postharvest Technol.*, 6(2):177-183, doi: 10.15740/HAS/IJPPHT/6.2/177-183.
- Sharma, R., Srivastava, T., Saxena, D. C. (2016). Development of nutritious snack from rice industry waste using twin screw extrusion. *MATEC Web of Conferences* 57,04006.
- Shaviklo, A.R., Azaribeh, M., Moradi, Y., Zangeneh, P. (2015). Formula optimization and storage stability of extruded puffed corn-shrimp snacks. *Food Sci. Technol.*, 63:307-314. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.093>
- Silva, E., Sagis, L.M.C., Van der Linden, E., Scholten, E. (2013). Effect of matrix and particle type on rheological, textural and structural properties of broccoli pasta and noodles. *J. Food Eng.*, 119: 94-103.
- Sobowale, S.S., Animashaun, O.H., Mulaba-Bafubandi, A.F., Abidoye, T.S., Kewuyemi, Y.O., Adebo, O.Y. (2018). Process optimization of extrusion variables and its effect on properties of extruded cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) noodles. *Food Sci. Nutr.*, 1-17.
- Surasani, V.K.R. (2016). Application of food extrusion process to develop fish meat-based extruded products. *Food Eng. Rev.*, 8:448-456. doi:10.1007/s12393-016-9148-0.
- Spinelli, S., Padalino, L., Costa, C., Nobile, M.A.D., Conte, A. (2019). Food by-products to

fortified pasta:A new approach for optimization.*J. Cleaner Pro.*, 215:985-991.

Sukumar, A., Athmaselvi, K.A. (2019). Optimization of process parameters for the development of finger millet based multigrain extruded snack food fortified with banana powder using RSM.*J. Food Sci. Technol.*, 56(2):705-712.

Tiğa, B. H. (2018). Düşük Yağ İçerikli Tüketime Hazır Erişte Üretimi ve Teknolojik Özelliklerinin İncelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 100 s.

Topuz, O.K., Gokoğlu, N., Jouppila, K., Kirjoranta, S.(2017). Development of Extruded Shrimp-Corn Using Response Surface Methodology.*Turk J. Fish. Aquat. Sci.*, 17:333-343.

Torres-Leon, C., Ramires-Guzman, N., Londono-Hernandez, L., Martinez-Medina, G.A., Diaz-Herrera, R., Navarro-Macias, V., Alvarez-Perez, O.B., Picazo, B., Villarreal-Vazquez, M., Ascacio-Valdez, J., Aguilar, C.N. (2018). Food waste and by-products: an opportunity to minimize malnutrition an hunger in developing countries.*Front. Sustain. Food Syst.*, 2(52): 1-17, doi: 10.3389/fsufs.2018.00052.

Twum, L.A., Pare, A. (2018). Development and Optimization of the Physical and Functional Properties of Extruded Products.*Curr. J. Appl. Sci. Technol.*, 29(2): 1-11. ISSN: 2457-1024.

Waldron, K. (2007). *Handbook of Waste Management and Co-product in Food Processing*. 305-377, eBook

ISBN: 9781845692520, Published Date:31.03.2007.

Wang, Y., Li, D., Wang, L.J., Chiu, Y.L., Chen, X.D., Mao, Z.H., Song, C.F. (2008). Optimization of extrusion of flaxseeds for in vitro protein digestibility analysis using response surface methodology.*J. Food Eng.*, 85: 59-64.

Wang, N., Maximiuk, L., Toews, R. (2012). Pea starch noodles: Effect of processing variables on characteristics and optimisation of twin-screw extrusion process.*Food Chem.*, 133:742-753.

Wang, L., Duan, W., Zhou, S., Qian, H., Zhang, H., Qi, X. (2016). Effects of extrusion conditions on the extrusion responses and the quality of brown rice pasta.*Food Chem.*, 204: 320-325.

Wani, S.A., Kumar, P. (2016). Development and parameter optimization of health promoting extrudate based on fenugreek oat and pea.*Food Biosci.*, 14:34-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2016.02.002>.

Xu, E., Pan, X., Wu, Z., Long, J., Li, J., Xu, X., Jin, Z., Jiao, A. (2016). Response surface methodology for evaluation and optimization of process parameter and antioxidant capacity of rice flour modified by enzymatic extrusion.*Food Chem.*, 212:146-154.

Yolmeh, M., Jafari, S.M. (2017). Applications of Response Surface Methodology in the Food Industry Processes.*Food Bioprocess Tech.*, 10: 413-433, doi: 10.1007/s11947-016-1855-2.

TARHANADAN İZOLE EDİLEN LAKTOBASİLLER TARAFINDAN ÜRETİLEN BAKTERİYOSİNLERİN KARAKTERİZASYONU

Halil İbrahim Kaya^{1*}, Ömer Şimşek²

¹Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bayburt, Türkiye

²Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli, Türkiye

Geliş / Received: 10.02.2020; Kabul / Accepted: 20.07.2020; Online baskı / Published online: 08.08.2020

Kaya, H. İ., Şimşek, Ö. (2020). Tarhanadan izole edilen laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin karakterizasyonu. GIDA (2020) 45(4)786-799 doi: 10.15237/gida.GD20027

Kaya, H. I., Şimşek, Ö. (2020). Characterization of bacteriocins produced by lactobacilli isolated from tarhana. GIDA (2020) 45(4)786-799 doi: 10.15237/gida.GD20027

ÖZ

Tarhana Anadolu'da kış için hazırlanan ve sık tüketilen fermente bir gıdadır. Fermente tarhana hamuru laktik asit bakterileri (LAB) ve maya türlerinden oluşan mikrofloraya sahiptir. Bu florada bazı LAB'de bakteriyosin üretimiyle antimikrobiyal aktivite gösterirler. Çalışmamızın amacı tarhanadan izole edilmiş *L. namurensis* PFC70, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının bakteriyosinlerinin belirlenmesi ve karakterizasyonudur. PFC70, PFC74 ve PFC97 suşlarının *Micrococcus luteus* DSM1790 suşuna karşı 400, 1600, 1600 AU/mL antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Suşların kültür üst sıvılarından metabolitlerin yüksek sıcaklığa ve proteaz enzimlerine karşı hassas, düşük pH koşullarında stabil, bakteriyosin tabiatında olduğu anlaşılmıştır. Üretici hücrelerin genomunda yapılan PZR taramasında, PFC74 bakteriyosininin plantarisin benzeri olduğu belirlenmiştir. Bakteriyosinler, amonyum sülfat çöktürmesi, katı faz ekstraksiyonu ve ters faz sıvı kromatografisi ile saflaştırılmış ve trisin-SDS PAGE ile moleküler büyüklükleri 5 kDa altında olduğu tespit edilmiştir. PFC70 ve PFC74 bakteriyosini bakteriyosidal, PFC97 ise bakteriyostatik etkili bulunmuştur. Bu sonuçlar PFC70 suşunun yeni bir bakteriyosin üreticisi olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Tarhana, laktik asit bakterisi, bakteriyosin, antimikrobiyal

CHARACTERIZATION OF BACTERIOCINS PRODUCED BY LACTOBACILLI ISOLATED FROM TARHANA

ABSTRACT

Tarhana is a fermented food that has been consumed often, produced for winter in Anatolia. Fermented tarhana dough microflora includes lactic acid bacteria (LAB), yeast species and some LAB exhibit antimicrobial activity due to bacteriocin production. The purpose of study was determination and characterization of bacteriocins of *L. namurensis* PFC70, *L. plantarum* PFC74, *L. paralimentarius* PFC97 strains which were isolated from tarhana. Strains had 400, 1600, 1600 AU/mL antimicrobial activity against *Micrococcus luteus* DSM1790 respectively. The relevant methabolites of strains at the culture supernatant was to be bacteriocin nature with low pH stability, high temperature and protease enzymes sensitivity. Producer cell genome showed that PFC74 bacteriocin was similiar with plantaricin. Bacteriocins were purified by ASP, SPE, RPLC and thereby molecular weights were determined under 5 kDa with Tricine-SDS-PAGE. PFC70 and PFC74 bacteriocin were found to be bacteriocidal, while PFC97 was bacteriostatic. Results indicated that PFC70 was novel bacteriocin producer.

Keywords: Tarhana, Lactic acid bacteria, bacteriocin, antimicrobial

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author;

✉ drhikaya@gmail.com

☎ (+90) 458 211 1152 / 1688

☎ (+90) 485 211 1178

Halil İbrahim Kaya; ORCID no: 0000-0002-1837-5682

Ömer Şimşek; ORCID no: 0000-0003-0624-9352

GİRİŞ

Gıdaları mikrobiyal bozulmalara karşı korumak, insan sağlığının korunması ve ekonomik kayıpların önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bunun sağlanabilmesi de ancak mükemmel sıhhi şartların sağlanması veya gıda üretiminde çeşitli koruyucuların kullanılması ile mümkündür. Gıda üretiminde en yüksek seviyede sağlıklı koşullar sağlansa da gıda sistemlerinde mikrobiyal risk olasıdır. Diğer taraftan, gıdaların üretim süreçlerinde çeşitli koruyucu kimyasalların kullanılması ise sağlık riskleri taşıması sebebiyle tüketicilerin tepkisine neden olmakta ve tercih edilmemektedir. Bu durumda gıdaların üretiminde doğal antimikrobiyal bileşiklerin kullanılması ve bunlara dair araştırmaların gerçekleştirilmesi kaçınılmazdır (Delves-Broughton vd., 1996).

Laktik asit bakterileri (LAB) fermente gıdaların temel florasını oluşturan mikroorganizmalardır. Bu bakteriler fermente gıdaların yapısal ve aromatik özelliklerinin oluşumunda rol alsın da bu familyaya ait bazı üyeler çeşitli antimikrobiyal metabolitler üreterek gıda ürünlerinin korunmasına da katkıda bulunur (de Vuyst ve Leroy, 2007).

LAB'in bazı üyelerinde antimikrobiyal özelliğin ortaya çıkmasını sağlayan en temel metabolit bakteriyosinlerdir (Klaenhammer, 1993). Bakteriyosinlerin veya üretici LAB'in fermente gıdaların üretiminde kullanılması, gıda güvenliğinin ve raf ömrünün uzatılması yönünde önemli bir katkı sağlamaktadır (O'Shea ve diğ. 2013).

Tarhana buğday unu, yoğurt, maya ve çeşitli sebzeler ile baharatların (domates, kırmızı biber, soğan, nane ve tuz) karışımıyla hazırlanan hamurun, fermente edilmesi ve ardından kurutma ve toz haline getirme aşamalarından geçirilmesi neticesinde elde edilen geleneksel fermente bir gıda maddesidir (Dağlıoğlu, 2000). Tarhana hamuru fermentasyonunda LAB ve mayaların yer aldığı kompleks bir mikroflora yer almaktadır. Bu florada mayalar CO₂ ve alkol üretimi ile aromanın gelişimine katkı sağlarken, LAB organik asit üretimiyle asitliğin artmasına neden olmaktadır (Şengün vd. 2009, Settanni vd. 2011, Şimşek vd.

2017). LAB organik asit üretimiyle asitliği artırmasının yanısıra laktik asit, H₂O₂, diasetil ve özellikle bakteriyosin üretimi neticesinde antibakteriyel etkiye sahiptir (Gálvez vd. 2007).

Bakteriyosinler, bazı bakteri türleri tarafından ribozomal olarak sentezlenen peptit tabiatında moleküllerdir (Delves-Broughton vd., 1996, Zou vd., 2018). Bu yapılar üretici bakterilerin yakın akraba türleri üzerinde hücre duvarında por oluşturarak, hücre duvar sentezini durdurarak ve daha birçok farklı mekanizmayla etki gösterirler ve hedef hücrenin ölümüne neden olurlar (Ahmad vd., 2017). LAB familyası içerisinde birçok tür önemli bakteriyosin üreticisi olarak bilinmektedir. Örneğin, bazı laktokokların nisin ve laktisin, bunun dışında pediokokların pediosin, laktobasillerin plantarisin gibi bakteriyosinler ürettikleri detaylı bir şekilde karakterize edilmiştir. Ancak bunlar arasından sadece nisin Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kullanımına izin verilmiş ve nisin günümüzde birçok gıdanın üretiminde kullanılmaktadır (Juturu ve Wu. 2018, Zou vd., 2018). Bakteriyosinlerin önemli karakteristiklerinden birisi ise üretici çeşitliliğine göre yapısal değişkenlikler göstermesi ve buna bağlı olarak da farklı antimikrobiyal etki spektrumununa sahip olmasıdır (Hill vd., 2011). Dolayısıyla halen yeni bakteriyosinlerin araştırılması ve karakterize edilmesine gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışmada tarhana fermentasyonundan daha önce izole edilerek 16S rRNA analizi ile tanımlanmış (Özel, 2012) *Lactobacillus* spp. suşlarının antimikrobiyal özelliği araştırılmış, ürettiği bakteriyosinlerin antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş, ardından enzim, pH ve sıcaklık uygulamalarının antimikrobiyal aktiviteye etkisi tespit edilmiştir. Ayrıca söz konusu bakteriyosinlerin moleküler büyüklükleri ve konakçı ilişkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan bakteriler, besiyerleri ve çalışma koşulları

Çalışmada kullanılan tarhana izolatu LAB ve referans suşları Çizelge 1'de verilmiştir. Söz konusu tüm suşlar Pamukkale Üniversitesi, Gıda

Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonundan (PUFECC) sağlanmıştır. LAB'ın geliştirilmesinde MRS (de Man, Rogosa and Sharpe, Merck, Almanya), referans suşların geliştirilmesi için ise BHI (Brain Heart Infusion, Merck, Almanya) ve LB (Luria-Bertani, Merck, Almanya) sıvı ve katı besiyerleri kullanılmıştır. Tüm suşlar son konsantrasyonu % 30 olan Gliserol (Bioshop,

Kanada) içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiştir. Tarhana izolatları, tarhana hamurundan fermentasyonun sonunda izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan izolatların seçimi antimikrobiyal aktivite testleri neticesinde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan laktik asit ve referans bakterileri
Table 1. Lactic acid and reference bacteria used in the study

Suş Kodu Strain Code	Mikroorganizma Adı Micoorganism	Özelliği Characteristic
PFC70	<i>Lactobacillus namurensis</i>	Antimikrobiyal aktiviteye sahip tarhana izolatu
PFC74	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Antimikrobiyal aktiviteye sahip tarhana izolatu
PFC97	<i>Lactobacillus paralimentarius</i>	Antimikrobiyal aktiviteye sahip tarhana izolatu
PSC1	<i>Micrococcus luteus</i> DSM1790	İndikatör bakterisi
PSC16	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC7644	İndikatör bakterisi
PSC18	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	İndikatör bakterisi
PSC19	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	İndikatör bakterisi
PSC22	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	İndikatör bakterisi
PSC23	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC14028	İndikatör bakterisi
PSC26	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	İndikatör bakterisi
PSC31	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC19433	İndikatör bakterisi

LAB'ın antimikrobiyal etki spektrumunun belirlenmesi

Antimikrobiyal aktiviteye sahip suşların bakteriyosin üretim özelliğinin tanımlanması amacı ile agar noktalama ve kuyu difüzyon testleri kullanılmıştır. Agar noktalama testinde LAB suşları 30 °C'de 18 saat geliştirildikten sonra, MRS agar plaklarına sürme ekim yapılmıştır. Gelişen kolonilerden MRS agar ortamına, bir petride 3 farklı suş olacak şekilde nokta ekim yapılmış ve 30 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besiyerlerinde geliştirilen indikatör bakteriler, % 0.7 oranında agar (Agar agar, Merck, Almanya) içeren 5 mL yumuşak agar besiyerlerine inoküle edilerek, nokta ekim yapılan MRS agar plaklarının üzerine ikinci tabaka halinde dökülmüş ve homojen bir şekilde yayılmıştır. Uygun sıcaklıkta 18-24 saat inkübasyon sonunda, suşların indikatör bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon zonları kaydedilmiştir (van Belkum vd., 1989).

Kuyu difüzyon testinde ise 30 °C'de 18 saat geliştirilen kültürler, 6000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj (Hettich, Universal 30 RF, Almanya) işlemine tabi tutulmuştur. Üst sıvı, çöken katı fazın karışmamasına dikkat edilerek 6N NaOH (Sigma, Almanya) kullanılarak pH 6'ya ayarlanmış ve 0,45 µm por çaplı membran filtreden (Millex-Millipore, ABD) geçirilerek sterilize edilmiştir. İndikatör bakteriler, % 0.7 oranında agar içeren 7 mL yumuşak agar besiyerlerine inoküle edilerek MRS agar plaklarının üzerine ikinci bir tabaka halinde, homojen şekilde yayılmıştır. MRS agar plakları üzerinde steril bir şekilde 5 mm çapında kuyucuklar açılarak bakteri üst sıvıları kuyucuklara 100 µL aktarılmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda kuyucukların etrafında inhibisyon zonu oluşumu incelenerek sonuçlar kaydedilmiştir (Tagg ve McGiven, 1971).

Antimikrobiyal metabolitin aktivitesi üzerine pH, sıcaklık ve enzim uygulamalarının etkisi
Antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB suşlarında kültür üst sıvılarında bakteriyosin varlığının tespiti için, 30 °C'de 18 saat geliştirilen bakteri kültürleri, 6000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve kültür üst sıvılarının pH'ları 6 N NaOH veya 6N HCl (Merck, Almanya) kullanılarak 2.0-11.0 değerleri arasına ayarlanmıştır. pH'ları ayarlanan kültür üst sıvıları 0.45 µm por çaplı membran filtrelerden geçirilerek sterilize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan besiyerleri +4 °C'de 24 saat bekletilmiştir. Kontrol olarak hiçbir işleme tabi tutulmayan kültür üst sıvıları kullanılmıştır. Antimikrobiyal metabolit aktivitesi kritik dilüsyon yöntemine göre, inhibisyon zonu alınan en yüksek dilüsyon oranının, 1000/aktarılan hacim ile çarpımından elde edilen arbitrary ünite (AU) cinsinden hesaplanmıştır (Franz vd., 1997).

Sıcaklığın etkisi, kültür üst sıvılarının 80, 90, 100 °C'de 5, 10, 15 dakika ve 121 °C'de 15 dakika süreyle ısıtılmasına tabi tutulmasından sonra belirlenmiştir. Kontrol olarak ısıtılmamış kültür üst sıvıları kullanılmıştır. Sıcaklığın antimikrobiyal metabolitin aktivitesi üzerine etkisi, kritik dilüsyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Franz vd., 1997).

Antimikrobiyal metabolitin aktivitesi üzerine değişik enzimlerin etkisinin belirlenmesi amacıyla, nötralize edilmiş kültür üst sıvılarına, son enzim konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde tripsin (pH 7.0, Merck, Almanya), α-kemotripsin (pH 7.0, Sigma, ABD), proteinaz K (pH 7.0, Sigma, ABD), pepsin (pH 3.0, Sigma, ABD), α-amilaz (pH 7.0, Sigma, ABD), lipaz (pH 7.0, Sigma, ABD), katalaz (pH 7.0, Sigma, ABD) ve lizozim (pH 7.0, Sigma, ABD) enzimleri ilave edilerek, 30 °C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Enzim aktiviteleri, 100 °C'de 5 dakika ısıtılma ile sonlandırılmıştır. Antimikrobiyal metabolitin aktivitesi, kritik dilüsyon yöntemi esas alınarak belirlenmiştir (Franz vd., 1997).

Bakteriyosinlerin saflaştırılması

Bakteriyosin üreticisi kültürlerden, 500 mL MRS sıvı besiyerine % 1 oranında ekim yapılmış ve 30 °C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen kültürler 9000

rpm'de 30 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Çöken katı fazın karışmamasına dikkat edilerek kültür üst sıvısının küçük bir hacmine son konsantrasyonu % 40-80 olacak şekilde amonyum sülfat (Merck, Almanya) ilavesi yapılmış ve bakteriyosinin çökmesini sağlayan optimum amonyum sülfat konsantrasyonu belirlenmiştir. Takiben en verimli amonyum sülfat konsantrasyonu kültür üst sıvısına ilave edilerek +4°C'de 24 saat karıştırılmıştır (WiseShake, SHO-1D, BK). Bu sürenin sonunda örnekler +4°C'de 14000 rpm'de bir saat süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bitiminde üst faz dökülmüş ve çökelti 0,005 M sodyum fosfat (pH 6,0, Sigma, Almanya) tamponu içerisinde çözülmüştür. (Moreno vd., 2003). Bu çözelti daha sonra Strata (5g, 20 ml, Phenomenex, ABD), C18-E SPE kolondan geçirilmiştir. Öncelikle söz konusu kolonlar % 30 etanol (Sigma, Almanya) ile iyice yıkanmış ardından bakteriyosin içeren çözelti kolona yüklenmiştir. Bakteriyosinler kolondan % 70 izopropanol (Sigma, Almanya) ve % 0,1 TFA (Merck, Almanya) ile geri kazanılmıştır (Mills vd., 2011). İzopropanol rotari evaporatör (Buchi, Rotavapor R-114, İsviçre) ile uzaklaştırılmış ve geri kazanılan bakteriyosin ters faz HPLC sisteminde (Shimadzu, LC-20AD, Japonya) ileri düzeyde saflaştırılmıştır. Bu sistemde bakteriyosin çözeltisi HPLC üzerinde takılı olan C18 (Nükleosil, Supelco, ABD) kolondan gradient koşullarda geçirilmiştir. Sistemde mobil faz olarak % 0.1 TFA içeren ultra saf su (A) ve % 0.1 TFA içeren % 60 asetonitril (B), (Sigma, Almanya) kullanılmıştır. HPLC sisteminde 1 ml akış hızı ve 0-5. dakika % 70 A, % 30 B, 5-40. dakika % 30 A, % 70 B, 40-50. dakika % 100 B, 50-60. dakika % 100 A programı uygulanmıştır. Dedektörde (SPD-M20A, Shimadzu, Japonya) okuma 220 nm dalgaboyunda gerçekleştirilmiştir (Simha vd., 2012).

Bakteriyosinlerin moleküler büyüklüğünün tespit edilmesi

LAB'in kültür üst sıvısından kısmen saflaştırılan bakteriyosinlerin moleküler büyüklükleri, trisin-sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez (Trisin-SDS-PAGE) sistemi kullanılarak belirlenmiştir.

Trisin-SDS-PAGE uygulamasında, Schagger ve von Jagow (1987), tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Jel sistemine; yağma jelde (% 4) göç için 75 V, ayırıcı jelde (% 12) göç için ise 100 V akım uygulanmıştır. Yaklaşık 2 saat ayırıcı jelde yürütülen örnekler jelin son kısmına ulaştığında sistem durdurulmuştur. Sistemden çıkarılan jel, boyama çözeltisinde 45 dakika, ardından boya giderme çözeltisinde 45 dakika tutulmuştur. Beyaz ışık kaynağı üzerine yerleştirilerek alınan jel fotoğraflarında proteinlerin moleküler büyüklükleri, marker proteinlerin (Thermo, Spectra Multi Color Low Range, ABD) bağlı hareketlilik (Rf) değerleri ve moleküler büyüklüklerinin logaritmalardan yararlanılarak çizilen standart eğri kullanılmak suretiyle belirlenmiştir.

Bakteriyosin üretimiyle ilişkili temel genlerin belirlenmesi

LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin tanımlanması; üretimle ilişkili temel genlerin varlığı araştırılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle DNA izolasyon kiti (Invitrogen, PureLink Genomic DNA Purification, ABD) kullanılarak bakteriyosin üretici hücrelerin genomik DNA'sı izole edilmiştir. Takiben referans genler üzerinden hazırlanan primerler (Macwana ve Muriana, 2012., Çizelge 2) kullanılarak PZR (Polimerize zincir reaksiyonu) aracılığıyla bakteriyosin üretimiyle ilişkili genlere ait kısa bölgeler çoğaltılmıştır. PZR, toplam 40 µL hacimde, 4 µL master mix (5*FIREPol[®] Master mix, SOLIS/Bio Dyne, ABD), 1 µL primer (Macrogen, Hollanda) ve 2 µL genomik DNA'dan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR'de 95° C'de 5 dakika ön denaturasyon, 30 çevrim 95° C 30 saniye, 55° C 30 saniye, 72° C 1 dakika ve 72° C'de 10 dakika son uzama süre ve sıcaklık kombinasyonundan oluşan program kullanılmıştır (Techne, BK). Bağlanma sıcaklığı her bir primere uygun sıcaklıklar (45-60° C aralığında) belirlenerek uygulanmıştır. PZR ile çoğaltılan fragmentler agaroz jel elektroforez sisteminde (Thermo, ABD) % 1 agaroz (Sigma, Almanya) ve 100 baz marker (Fermentas, ABD) kullanılarak 100 V'da 30 dakika yürütülmüştür. Jel üzerinde DNA fragmentleri jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Fransa) kullanılarak izlenmiştir.

Bakteriyosinlerin antimikrobiyal etki şeklinin belirlenmesi:

Çalışmada saflaştırılan bakteriyosinlerin indikatör mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etki şekli Multiscan FC (Thermo, ABD) spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için *M. luteus* DSM1790 indikatör suşu LB sıvı besiyerinde 30 °C'de iki kez aktifleştirilmiş, ardından 5 mL LB sıvı besiyerine % 1 oranında tekrar aşılacaktır. Daha sonra indikatör mikroorganizma aşılacaktır besiyerinden 250 µL alınarak 96 kuyuluk plakalara doldurulmuş ve üzerine, bakteriyosinin etkisini incelemek üzere son konsantrasyonu 200 AU/mL olacak şekilde, 50 µL LB sıvı besiyeri içinde bulunan bakteriyosin ilavesi yapılmıştır. Antimikrobiyal etkinin anlaşılması için, 50 µL bakteriyosin içermeyen LB sıvı besiyeri ilave edilen kontrol kuyuları da hazırlanmıştır. 30 °C'de inkübe edilen 96 kuyucuklu plakalarda indikatör mikroorganizma gelişimi için 2 saatte bir 600 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümü yapılmıştır (Barbosa vd., 2016).

SONUÇ VE TARTIŞMA

LAB'in antimikrobiyal etki spektrumu

Tarhanadan izole edilen LAB suşlarının indikatör mikroorganizmalara karşı göstermiş oldukları antimikrobiyal etki Çizelge 3'de gösterilmiştir. Agar noktalama testi sonuçlarına göre, çalışmada laktik suşların tümünün *M. luteus* DSM1790, *S. aureus* ATCC29213 ve *S. aureus* ATCC25923 suşlarına karşı orta ve yüksek seviyede antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının benzer şekilde *L. monocytogenes* ATCC7644 ve *E. faecalis* ATCC19433 suşlarına karşı etkili oldukları belirlenmiştir. Gram negatif *E. coli* ATCC25922 ve *S. Typhimurium* ATCC14028 suşlarına karşı ise *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının orta ve yüksek seviyede etkili oldukları saptanmıştır (Çizelge 3).

Agar noktalama analizinde olduğu gibi, laktik suşların kültür üst sıvısı da kuyu difüzyon testiyle *M. luteus* DSM1790 suşuna karşı oldukça etkili bulunmuştur (Çizelge 3 ve Şekil 1). *L. paralimentarius* PFC97 suşunun kültür üst sıvısı *L.*

Laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin karakterizasyonu

monocytogenes ATCC7644 ve *E. faecalis* ATCC19433 suşlarını inhibe edebilmiştir. *S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* ATCC29213 ve *B. cereus* ATCC11178 suşlarına karşı ise *L. namurensis* PFC70 suşu antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçları toplu olarak değerlendirildiğinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip suşların *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 olduğu görülmektedir (Çizelge 3). Farklı kaynaklardan izole edilen LAB'in ürettikleri çeşitli metabolitlerin arasında

bakteriyosinler, LAB'in antimikrobiyal aktiviteye sahip olmasında en önemli bileşiklerden birisidir (Parente ve Ricciardi, 1999; Takala ve Saris, 2007). Çalışmada dikkati çeken önemli hususlardan birisi *L. namurensis* PFC70 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarının belirlenmesidir. Nitekim *L. namurensis* PFC70 suşunun antimikrobiyal özellikleri yönünde daha önce ifade edilmiş bir çalışma bulunmamaktadır.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan bakteriyosin genlerine özgül primerler (Macwana ve Muriana, 2012)

Table 2. Primers specific to bacteriocin genes used in the study (Macwana and Muriana, 2012)

Organizma	Gen	İleri Yönlü Primer	Geri Yönlü Primer	Büyükük kb
Microorganism	Gene	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')	Size kb
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	lclA	aaaccaagtctctcgattggc	ggcacgttggtatccttacct	200
<i>Lactococcus lactis</i>	Ltn A	ccagttacatgggtggaagaag	tttacaccaagccatacattca	150
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	lcnB	agttaatggaggaagcttgacag	tagtggaaatgttttccccatc	156
<i>Lactococcus lactis</i>	LtnB	caattgggaaaataccttgaaga	caagcacgtgtacattttgtgt	152
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	LacA	agtgctattcaaaattctggcg	taatccaacctccggaataaga	217
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	IcpJ	tggacctatttttaggtgcaaaa	gagcagcaagtaatacaaaagtcc	100
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	papA	ttacttgggcaaacattcctg	tgattaccttgatgccaccag	106
<i>Pediococcus acidilactici</i>	ped A	ctgccgaagaaacaagattct	ctattggctaggccacgtattg	110
<i>Lactobacillus plantarum</i>	plnc8A	ctagaaaagatctctggcggtg	catatgggtgctttaaatcca	100
<i>Lactobacillus plantarum</i>	plnc8B	ggcaagagtagctgtctcaaa	caatcgtttgcgatgcttat	106
<i>Lactobacillus curvatus</i>	cur A	acagaattacaaacaattaccggc	cattccagctaaaccactagcc	150
<i>Lactobacillus plantarum</i>	plaA	aaaaattaactgaaaagaatggc	actttccatgaccgaagttagc	150
<i>Lactobacillus sakei</i>	sakA	acagaattacaaacaattaccggc	cattccagctaaaccactagcc	150
<i>Lactobacillus salivarius</i>	abp118 α	agtttagcaaaggtgatgggtg	aacaagtaagtctccgctac	156
<i>Lactobacillus salivarius</i>	abp118 β	aatggtgtaaaaatggttatgg	ttaacggcaactgtgaaaacca	150
<i>Lactobacillus plantarum</i> C11	pln A	agcaacttagtaataaggaatgcaaa	acagttctttacctgttaattgcag	102
<i>Lactobacillus plantarum</i> TMW1.25	pln B	tagcattgattgatggaggaaa	gcatgccgtgtaagttgtaga	176
<i>Lactococcus lactis</i>	NisZ	atgagtacaaaagatttaactgg	ttatttgcttacgtaactaca	174
<i>Lactobacillus gasseri</i> ATCC33323	helveticin	atgattggaaaagaactcaatac	aataaaggcaatcaccagttactt	919
<i>Lactobacillus brevis</i>	breB	atggagaaattccagtgattac	tgttatttaggcagctaattgca	217
<i>Lactobacillus brevis</i>	breC	atgtataagaattaacagttgatgaatt	gtgcatgccgtgtaagttgt	207
<i>Lactobacillus curvatus</i> K12-3	curvacin A	atgaataatgtaaaagaattaagtatgaca	tccagctaaaccactagccc	174

Çizelge 3. LAB'ın antimikrobiyal etki spektrumu
Table 3. Antimicrobial spectrum of LAB

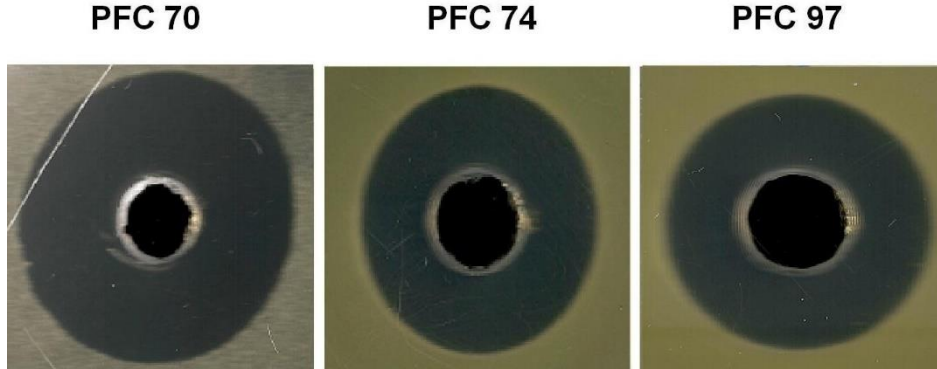
İndikatör Suşlar Indicator Strains	LAB İzolatları LAB Isolates					
	PFC70		PFC74		PFC97	
	Agar	Kuyu	Agar	Kuyu	Agar	Kuyu
	Agar	Well	Agar	Well	Agar	Well
<i>Micrococcus luteus</i> DSM1790	+++	+++	++	+	++	+
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC7644	-	-	+++	-	+++	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	++	+	++	-	++	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	++	+	++	-	++	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-	-	++	+	++	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC14028	-	-	++	-	+++	-
<i>Bacillus cereus</i> ATCC11178	++	+	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC19433	-	-	++	-	++	+

*İnhibisyon zon çapları: - = < 1mm (etkisiz) + = 1-5 mm (düşük etkili) ++ = 5-10 mm (orta etkili)

+++ = > 15 mm (yüksek etkili), Agar: Agar noktalama, Kuyu: Kuyu Difüzyon

*Inhibition zone diameter: - = < 1mm (no effect) + = 1-5 mm (low effect) ++ = 5-10 mm (medium effect)

+++ = > 15 mm (high effect), Agar: Agar plotWell: Well diffusion



Şekil 1. LAB suşlarının kültür üst sıvılarının *M. luteus* DSM1790'a karşı antimikrobiyal etkisi
Figure 1. Antimicrobial effect of culture supernatants of LAB strains against *M. luteus* DSM1790

Söz konusu çalışmada laktik suşların kültür üst sıvılarının antimikrobiyal etkiye sahip bulunması neticesinde, bu sıvılar içerisindeki antimikrobiyal bileşimin aktivitesi kritik dilüsyon yöntemiyle *M. luteus* DSM1790 bakterisine karşı belirlenmiştir. Buna göre antimikrobiyal aktivite testleri ile paralel bir şekilde en yüksek aktivite 1600 AU/mL ile *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarında saptanmıştır. *L. namurensis* PFC70 suşunda ise aktivite 400 AU/mL olarak tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında yer alan PFC 70 ve 97 suşlarının bakteriyosin üretim oranları ile alakalı herhangi bir literatür verisi yer almamaktadır. Bu sonuçlar *L. namurensis* PFC70

suşunun bakteriyosin üretimiyle alakalı rapor edilen ilk veri niteliğindedir.

Bakteriyosin aktivitesi üzerine pH, sıcaklık ve enzim uygulamalarının etkisi

Çalışma kapsamında kullanılan laktik suşların kültür üst sıvısındaki antimikrobiyal aktivitelerinin farklı pH koşullarındaki değişimi Çizelge 4'te verilmiştir. Buna göre tüm suşların kültür üst sıvısındaki antimikrobiyal etkinin pH'nın düşüşü ile birlikte arttığı gözlenmiştir. Aksine ortam pH'sının alkali değerlere ayarlanması durumunda ise söz konusu antimikrobiyal aktivite hızla azalmıştır. Bu sonuçlar kültür üst sıvısındaki antimikrobiyal metabolitin asidik koşullarda

Laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin karakterizasyonu

çözünürlüğünün ve stabilitesinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde nisin, pediyosin ve plantarisin gibi birçok LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerde de aktivitenin ve stabilitenin asidik pH koşullarında

yüksek olduğu çalışmalarda rapor edilmiştir (Parente ve Ricciardi, 1999; O'Sullivan vd., 2002; Twomey vd., 2002; Beasley ve Saris, 2004; Jozala vd., 2005)

Çizelge 4. LAB'den elde edilen kültür üst sıvılarının farklı pH, sıcaklık ve enzim uygulaması sonucunda antimikrobiyal aktivitesi (AU ml⁻¹).

Figure 4. Antimicrobial activity of LAB cultured supernatants as a result of different pH, temperature and enzyme treatment

		PFC70	PFC 74	PFC 97
Kontrol Control		400	1600	1600
pH Uygulaması pH treatment	2	800	3200	3200
	3	400	3200	3200
	4	400	3200	3200
	5	400	1600	1600
	6	200	1600	1600
	7	100	800	800
	8	0	800	400
	9	0	0	400
	10	0	0	0
	11	0	0	0
Sıcaklık Uygulaması Heat treatment	80°C, 5 dakika 80°C, 5 minute	400	1600	1600
	80°C, 10 dakika 80°C, 10 minute	400	1600	1600
	80°C, 15 dakika 80°C, 15 minute	400	1600	1600
	90°C, 5 dakika 90°C, 5 minute	400	1600	1600
	90°C, 10 dakika 90°C, 10 minute	400	1600	1600
	90°C, 15 dakika 90°C, 15 minute	400	1600	1600
	100°C, 5 dakika 100°C, 5 minute	400	1600	1600
	100°C, 10 dakika 100°C, 10 minute	0	0	0
	100°C, 15 dakika 100°C, 15 minute	0	0	0
	121°C, 15 dakika 121°C, 15 minute	0	0	0

Enzim Uygulaması	Enzyme treatment	Katalaz	400	1600	1600
		Catalase			
		Lizozim	400	1600	1600
		Lysozyme			
		α Amilaz	400	0	0
		α Amylase			
		Lipaz	400	0	0
		Lipase			
		Proteinaz-K	0	0	1600
		Proteinase-K			
		Tripsin	0	0	1600
		Trypsin			
		Pepsin	400	0	0
		Pepsin			
α Kemotripsin	400	0	0		
α Chymotripsin					

Tarhana izolatu laktik suşların kültür üst sıvısındaki metabolitin, 80, 90, 100 ve 121°C sıcaklıklarda ve farklı süre kombinasyonlarında antimikrobiyal aktivite değişimleri Çizelge 4'de verilmiştir. Buradan da izlenebildiği gibi *L. namurensis* PFC70, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının kültür üst sıvısındaki antimikrobiyal metabolitler 100 °C altındaki tüm sıcaklık, süre kombinasyonlarına ve 100 °C'de ise sadece 5 dakikalık ısıl işleme karşı stabilken, 100 °C'de 10 dakika ısıl işlem ve üzerinde uygulanan tüm sıcaklık ve süre kombinasyonları sonunda aktivitesi kaybolmuştur.

Çalışma kapsamında, kullanılan laktik suşlar tarafından üretilen antimikrobiyal metabolitin, farklı enzimlerle muamelesi sonundaki aktivite değişimleri Çizelge 4'de gösterilmiştir. Buna göre tüm suşların kültür üst sıvısının antimikrobiyal aktivitesinin, proteolitik enzimlerin bir veya birkaçı ile muamele edildiğinde kaybolduğu görülmüştür. Bunun aksine, tüm suşların kültür üst sıvısındaki antimikrobiyal aktivite, katalaz ve lizozim enzimi uygulamasından sonra devam etmiştir. Diğer taraftan, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının kültür üst sıvısının antimikrobiyal aktivitesi α -amilaz ve lipaz enzimlerinin muamelesinden sonra izlenmemiştir. α -amilaz ve lipaz enzimleriyle muamele sonucunda aktivite kaybının olmaması bu bakteriyosinlerin peptid ve proteinler dışında lipid yada karbonhidrat gruplarını ihtiva etmediğine

işaret etmektedir. Özellikle proteinaz K enziminin kültür üst sıvıdaki antimikrobiyal aktivitenin giderilmesi yönünde etkili olması, söz konusu antimikrobiyal metabolitin protein tabiatında olduğuna işaret etmiştir. Aynı şekilde, pepsin, tripsin ve α -kemotriptripsinin de bazı kültür üst sıvılardaki antimikrobiyal etkinliğin kaybolmasına neden olması da bu hipotezi desteklemiştir. Çeşitli çalışmalarda bakteriyosin karakterizasyon basamaklarında bakteriyosinlerin proteolitik enzimlere karşı hassas oldukları ve özellikle proteolitik enzimlerle muamele edildiklerinde antimikrobiyal aktivitede azalmanın olduğu ve hatta aktivitenin kaybolduğu bildirilmiştir (Lü vd., 2014a, Lü vd., 2014b, Zhu vd., 2014, Woraprayote vd., 2015, Hu vd., 2017). Sonuçlar literatür verileriyle birlikte değerlendirildiğinde, elde edilen kültür üst sıvılarında yer alan metabolitlerin peptid yada protein tabiatında olan bakteriyosinler olduğunu desteklemektedir.

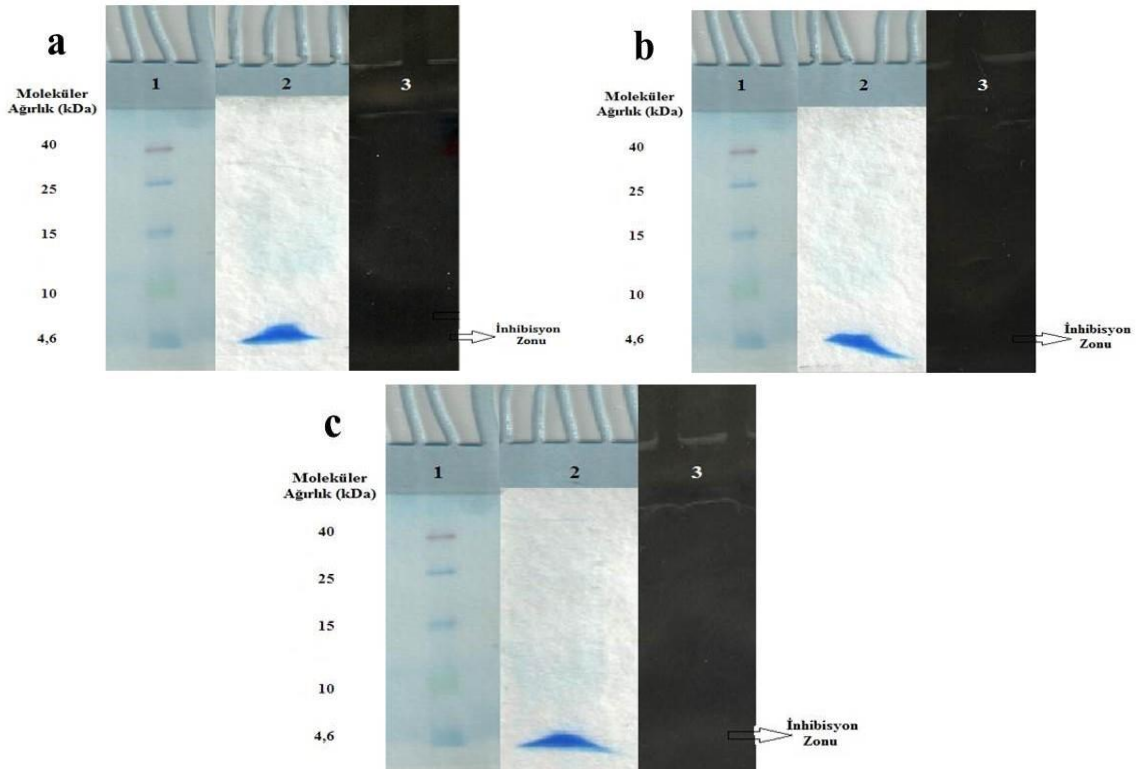
Bakteriyosinlerin saflaştırılması ve moleküler büyüklükleri

L. namurensis PFC70, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının kültür üst sıvılarından ilişkili bakteriyosinlerin saflaştırılması iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Buna göre kültür üst sıvısındaki protein fraksiyonu % 60 oranında amonyum sülfat ile çöktürülerek toplanmıştır. Daha sonra protein çökeltisi katı faz ekstraksiyon kolonundan geçirilmiş ve safsızlıkların önemli bir kısmı uzaklaştırılmıştır. Amonyum sülfat ve katı faz ekstraksiyonu bakteriyosinlerin

saflaştırılmasında sıklıkla kullanılan ve verimli çalışan sistemlerdir. Söz konusu bu sistemlerin kullanılmasıyla birçok yeni bakteriyosin veri tabanına (BAGEL, <http://bagel.molgenrug.nl>) kazandırılmıştır (Saavedra ve Sesma, 2011).

Saflaştırılan *L. namurensis* PFC70, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 bakteriyosinlerin Trisin-SDS-PAGE sistemi kullanılarak yapılan analizleri sonucu; moleküler büyüklükleri 5 kDa'dan küçük olduğu tespit

edilmiştir (Şekil 2). Bu sonuçlar *L. plantarum* suşları tarafından üretildiği rapor edilen 5 kDa'dan küçük bakteriyosinlerin moleküler büyüklüğü ile yakın sonuçlar olduğunu göstermektedir (Atrih vd., 2001, Chen vd., 2014). Lakin *L. namurensis* PFC70 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının ürettiği bakteriyosinler için karşılaştırma yapılamamakla birlikte, laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlere benzer sonuçlar olduğu ifade edilebilir (Wang vd., 2019).



Şekil 2. a) *L. namurensis* PFC70 bakteriyosininin moleküler büyüklüğü (1: Marker, 2: PFC70, 3: PFC70 İnhibisyon Zonu), b) *L. plantarum* PFC74 bakteriyosininin moleküler büyüklüğü (1: Marker, 2: PFC74, 3: PFC74 İnhibisyon Zonu), c) *L. paralimentarius* PFC97 bakteriyosininin moleküler büyüklüğü (1: Marker, 2: PFC97, 3: PFC97 İnhibisyon Zonu).

Figure 2. a) Molecular size of *L. namurensis* PFC70 bacteriocin (1: Marker, 2: PFC70, 3: PFC70 Inhibition Zone), b) Molecular size of *L. plantarum* PFC74 bacteriocin (1: Marker, 2: PFC74, 3: PFC74 Inhibition Zone), c) Molecular size of *L. paralimentarius* PFC97 bacteriocin (1: Marker, 2: PFC97, 3: PFC97 Inhibition Zone).

Suşların genomunda bakteriyosin üretimiyle ilişkili temel genler

L. namurensis PFC70, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşları tarafından üretilen bakteriyosinlerin nihai tanımlaması içerdikleri

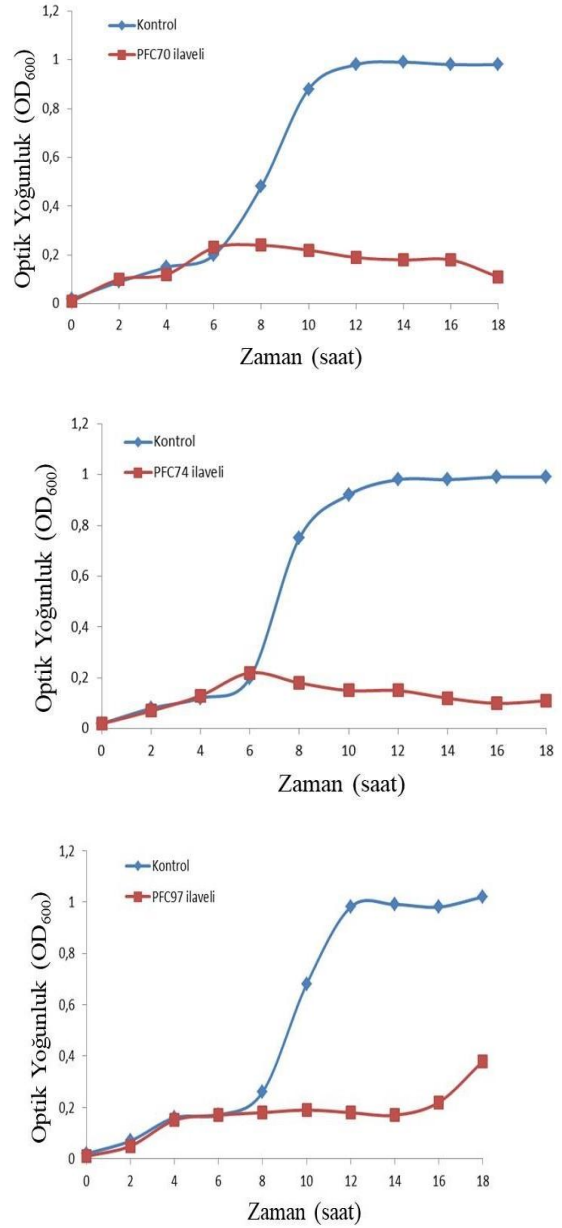
bakteriyosin üretiminden sorumlu genin araştırılması ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda genomlarında, LAB'lerde sıklıkla tespit edilen bakteriyosin temel genleri üzerinden hazırlanan 22 farklı primer çifti kullanılarak, geniş

çaplı tarama gerçekleştirilmiştir (Macwana ve Muriana, 2012., Çizelge 2). Yapılan PZR taraması sonucunda *L. plantarum* PFC74 suşunun genomunda *plnA* geninin varlığına işaret eden DNA fragmenti çoğaltılmıştır. Bu sonuçlar, PFC74 suşunun beklenildiği gibi plantarisin olduğunu göstermiştir. Çalışmada ulaşılan ilginç sonuç ise, *L. namurensis* PFC70 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının genomunda 22 farklı primer çiftinden herhangi birisi çoğaltılmamıştır. Dolayısıyla çalışmada elde edilen bu bulgu, bu bakteriyosinlerin yeni birer bakteriyosin olduğuna işaret etmektedir.

Bakteriyosinlerin antimikrobiyal etki şeklinin belirlenmesi

Çalışmada bakteriyosinlerin *M. luteus* DSM1790 üzerindeki etki şeklinin belirlenmesi amacı ile kısmi saflaştırılmış bakteriyosin preparatları, logaritmik fazın başlangıcına kadar geliştirilmiş söz konusu bu bakterinin gelişme ortamına ilave edilmiş ve ardından 18 saat boyunca, hücre gelişimi iki saatte bir optik yoğunluk ölçülerek izlenmiştir. Şekil 3'de görüldüğü gibi 200 AU/mL konsantrasyonda bakteriyosin ilavesi ile birlikte *M. luteus* DSM1790 gelişimi *L. namurensis* PFC70 ve *L. plantarum* PFC74 bakteriyosinleri ile 6. saat sonunda *L. paralimentarius* PFC97 bakteriyosini ile ise 4. saat sonunda durdurulmuştur. *M. luteus* DSM1790 suşunun, *L. paralimentarius* PFC97 dışındaki tüm bakteriyosinlerin gelişme ortamına ilave edilmesi durumunda fermentasyon sonuna kadar gelişimi durdurulmuştur. Söz konusu bu bakteriyosin fermentasyon başında *M. luteus* DSM1790 suşunun gelişimini yavaşlatmasına rağmen, 16. saatten sonra bu indikatör bakterinin gelişiminin tekrar artmaya başladığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar *L. namurensis* PFC70 ve *L. plantarum* PFC74 bakteriyosinlerinin bakteriyosidal etkide bulunduğunu *L. paralimentarius* PFC97 bakteriyosininin ise bakteriyostatik etkili olduğuna işaret etmiştir. Bunların dışında *L. plantarum* PFC74 bakteriyosini ilavesinden sonra, *M. luteus* DSM1790 suşlarının optik yoğunluğunun düşmesi, bakteriyolitik bir etkiyi de göstermiştir. Literatürde yer alan çalışmalarda plantarisinlerin bakteriyostatik ve bakteriyosidal etkili olabildikleri bildirilmiş ve bakteriyostatik etkili olduğuna dair birçok çalışma yer almaktadır (Todorov 2009,

Arief vd., 2015, Milioni vd., 2015, Barbosa vd., 2016).



Şekil 3. *L. namurensis* PFC70, *L. plantarum* PFC74 ve *L. paralimentarius* PFC97 bakteriyosinlerinin *M. luteus* DSM1790 suşuna karşı antimikrobiyal etki şekli

Figure 3. Antimicrobial effect of *L. namurensis* PFC70, *L. plantarum* PFC74 and *L. paralimentarius* PFC97 bacteriocins against *M. luteus* DSM1790 strain

SONUÇ

Bu çalışmayla birlikte tarhana fermentasyonundan bakteriyosin üreticisi LAB'in karakterizasyonu ilk defa başlanmıştır. Özellikle *L. namurensis* PFC70 ve *L. paralimentarius* PFC97 suşlarının daha önce karakterize edilmemiş bakteriyosinleri ürettikleri gösterilmiştir. Tarhana fermentasyonundan izole edilmiş yeni bakteriyosin üreticileri kazanılmıştır. Çalışma kapsamında araştırılan bakteriyosin üreticisi laktobasiller başta gıda güvenliğinin sağlanması olmak üzere, patojenlerle mücadele de kullanılabilir önemli mikroorganizmalardır. Her ne kadar tarhana asidik ve kurutulmuş bir gıda olması nedeniyle fermentasyonunda ciddi patojen riski taşımaya da özellikle son yıllarda tüketicilerin aromatik özelliklerinden dolayı yaş tarhanaya yönelmesi nedeniyle de söz konusu suşlar starter kültür olarak geleneksel gıdamız tarhananın üretimi için önerilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2010 BSP 021 proje numarası ile destekleyen Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

ÖŞ araştırmayı tasarladı. HİK analizleri gerçekleştirdi. HİK ve ÖŞ makaleyi yazdı. HİK ve ÖŞ makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Ahmad, V., Khan, M.S., Jamal, Q.M.S., Alzohairy, M.A., Karaawi, M.A.A., Siddiqui, M.U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *Int J Antimicrob Agents*, 49,1–11.

Arief, I., Budiman, C., Jenie, B., Andreas, E., Yuneni, A. (2015). Plantaricin IIA-1A5 from *Lactobacillus plantarum* IIA-1A5 displays bactericidal activity against *Staphylococcus aureus*. *Benef Microbes* 6:603-613.

Atrih, A.; Rekhif, N.; Moir, A.; Lebrihi, A.; Lefebvre, G. (2001) Mode of action, purification

and amino acid sequence of plantaricin C19, an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19. *Int J Food Microbiol.* 660, 68, 93-104.

Barbosa, M.S., Todorov, S.D., Ivanova, I.V., Belguesmia, Y., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J.M., Haertlé, T., Franco, B.D.G.M. (2016). Characterization of a two-peptide plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* MBSa4 isolated from Brazilian salami. *Food Control.* 60:103-112.

Beasley, S. S. ve Saris, P. E. J. (2004). Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains from human milk. *Appl Environ Microbiol.* 70:5051-5053.

Chen, Y. S.; Wang, Y. S.; Chow, Y. S.; Yanagida, F.; Liao, C. C.; Chiu, C. M. (2014) Purification and characterization of plantaricin Y, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 510. *Arch Microbiol.* 196, 193-199.

Dağhoğlu, O. (2000). Tarhana as a traditional Turkish fermented cereal food. its recipe, production and composition. *Nahrung*, 44, 85-8.

de Vuyst, L. ve Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification and food applications. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 13:194–199.

Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R.J., Hugenholtz, J. (1996). Applications of the bacteriocin, nisin". *Antonie Van Leeuwenhoek.* 69,(2),193-202.

Franz, C.M. A. P., Du Toit, M., von Holy, A., Schillinger, U., Holzapfel, W. H. (1997). Production of nisin-like bacteriocins by *Lactococcus lactis* strains isolated from vegetables. *J. Basic Microbiol.* 37:197-196.

Gálvez, A.; Abriouel, H.; López, R.L.; Omar, N.B. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol*, 120, 51 –70.

Hill, C., Nes, I.N., Ross, R.P. (2011). Bacteriocins. The 10th LAB Symposium: Thirty years of Research on Lactic acid bacteria, August 28-September 1, 2011, Netherlands, 37-56p.

Hu, Y., Liu, X., Shan, C., Xia, X., Wang, Y., Dong, M., Zhou, J. (2017). Novel bacteriocin produced by *Lactobacillus alimentarius* FM-MM4 from a

- traditional Chinese fermented meat Nanx Wudl: Purification, identification and antimicrobial characteristics. *Food Control*. 77:290-297.
- Jozala, A. F., Novaes, L. C. L., Cholewa, O., Moraes, D., Penna, T. C. V. (2005). Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media. *African J Biotechnol*. 4:262-265.
- Juturu, W. ve Wu, J.C. (2018). Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. *Biotechnol Adv*. 36,2187–2200.
- Klaenhammer, T.R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev*. 12,39-85.
- Lü, X., Hu, P., Dang, Y., Liu, B. (2014a). Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* TN-2 isolated from fermented camel milk (Shubat) of Xinjiang Uygur Autonomous region, China. *Food Control*. 43:276-283.
- Lü, X., Yi, L., Dang, J., Dang, Y., Liu, B. (2014b). Purification of novel bacteriocin produced by *Lactobacillus coryniformis* MXJ 32 for inhibiting bacterial foodborne pathogens including antibiotic-resistant microorganisms. *Food Control*. 46:264-271.
- Macwana, S.J. ve Muriana, P.M. (2012). A 'bacteriocin PCR array' for identification of bacteriocin-related structural genes in lactic acid bacteria. *J Microbiol Methods*. 88:197–204.
- Milioni, C., Martínez, B., Degl'innocenti, S., Turchi, B., Fratini, F., Cerri, D., Fischetti, R. (2015). A novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LpU4 as a valuable candidate for biopreservation in artisanal raw milk cheese. *Dairy Sci Technol*. 95 (4):479-494.
- Mills, S., Serrano, L.M., Griffin, C., O'Connor, M.P., Schaad, G., Bruining, C., Hill, C., Ross, R.P., Meijer, W.C. (2011). Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG p-26358 against *Listeria innocua* when used as an adjunct starter in the manufacture of cheese. *Microb Cell Fac*.10(1):7.
- Moreno, F.M.R., Callewaert, R., Devreese, B., van Beeumen, J., de Vuyst, L. (2003). Isolation and biochemical characterization of enterocins produced by enterococci from different sources. *J Appl Microbiol*. 94: 214-229.
- O'Shea, E.F., Cotter, P.D., Ross, R.P., Hill, C. (2013). Strategies to improve the bacteriocin protection provided by lactic acid bacteria. *Curr Opin Biotechnol*. 24,130–134.
- O'sullivan, L., Ross, R.P., Hill, C. (2002). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria improvements in food safety and quality. *Biochimie*. 84:593-604.
- Özel, S. (2012). Tarhana hamuru fermantasyonunun mikrobiyal taksonomik yapısının ve populasyon dinamiğinin belirlenmesi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 153s.
- Parente, E. ve Ricciardi, A. (1999). Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*. 52:628-638.
- Saavedra, L. ve Sesma, F. (2011). Purification techniques of bacteriocins from lactic acid bacteria and other gram-positive bacteria. In: Prokaryotic antimicrobial peptides: from genes to applications. Djemal Drider, Sylvie Rebuffat (Editors). Springer, New York, Chapter 7:99-115.
- Schagger, H ve von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulphate-poly-acrylamide gel electrophoresis for the separation of protein in the range from 1 to 100 kDa. *Anal Biochem*. 166:368-379.
- Settanni, L.; Tanguler, H.; Moschetti, G.; Reale, S.; Gargano, V.; Erten, H. (2011). Evolution of fermenting microbiota in tarhana produced under controlled technological conditions. *Food Microbiol*, 28, 1367-1373.
- Simha, B.V., Sood, S.K., Kumariya, R., Garsa, A.K. (2012). Simple and rapid purification of pediocin PA-1 from *Pediococcus pentosaceus* NCDC 273 suitable for industrial application. *Microbiol Res*. 167:544-549.
- Şengün, İ.Y.; Nielsen, D.S.; Karapınar, M.; Jakobsen, M. (2009). Identification of lactic acid bacteria isolated from tarhana, a traditional

- Turkish fermented food. *Int J Food Microbiol*, 135, 105–111.
- Şimşek, Ö.; Özel, S.; Çon, A.H. (2017). Comparison of lactic acid bacteria diversity during the fermentation of tarhana produced at home and on a commercial scale. *Food Sci Biotechnol*, 26, 181-187.
- Tagg, J.R. ve McGiven, A.R. (1971). Assay system for bacteriocins. *Appl Microbiol.*, 21:943.
- Takala, T. M. ve Saris, P. E. J. (2007). Nisin: Past, present and future. In: Research and Applications of Bacteriocins, Margaret A. Riley, and Osnat Gillor, (Editors) Horizion Bioscience, Wymondham, 181-213.
- Todorov, S.D. (2009). Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum*-production, genetic organization and mode of action. *Braz J Microbiol.* 40:209–221.
- Twomey, D., Ross, R.P., Ryan, M., Meaney, B., Hill, C. (2002). Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. In: Lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications, R.J. Sizezen, J. Kok, T. Abee, G. Schaafsma (Editors), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 165-185.
- Van Belkum, M.J., Hayema, B.J., Geis, A., Kok, J., Venema, G. (1989). Cloning of two bacteriocin genes from a lactococcal bacteriocin plasmid. *Appl Environ Microbiol.* 55: 1187-1191.
- Wang, J., Zhang, S., Ouyang, Y., Li, R. (2019). Current developments of bacteriocins, screening methods and their application in aquaculture and aquatic products. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* 22,101395.
- Woraprayote, W., Pumpuang, L., Tosukhowong, A., Roytrakul, S., Pres, R.H., Zendo, T., Kenji, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2015). Two putatively novel bacteriocins active against Gram-negative food borne pathogens produced by *Weissella hellenica* BCC 7293. *Food Control.* 55: 176-184.
- Zhu, X., Zhao, Y., Sun, Y., Gu, Q. (2014). Purification and characterisation of lantarinin ZJ008, a novel bacteriocin against *Staphylococcus* spp. from *Lactobacillus plantarum* ZJ008. *Food Chem.* 165:216-223.
- Zou, J., Jiang, H., Cheng, H., Fang, J., Huang, G. (2018). Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *Int J Biol Macromol.* 117,781–789.



TEREYAĞI OLARAK SATILAN YAĞLARDA BAZI HİLELER VE KALİTE ÖZELLİKLERİNİN TESPİTİ: ERZURUM ÖRNEĞİ

Songül Çakmakçı^{1*}, Kübra Çelik², Hatice Ertem², Halenur Çalışkan²

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Geliş / Received: 18.04.2020; Kabul / Accepted: 14.07.2020; Online baskı / Published online: 08.08.2020

Çakmakçı, S., Çelik, K., Ertem, H., Çalışkan, H. (2020). Tereyağı olarak satılan yağlarda bazı hileler ve kalite özelliklerinin tespiti: Erzurum örneği. *GIDA* (2020) 45(4) 800-813 doi: 10.15237/gida.GD20053.

Çakmakçı, S., Çelik, K., Ertem, H., Çalışkan, H. (2020). Determination of some adulterations and quality properties of fats sold as butter: Erzurum example. *GIDA* (2020) 45(4) 800-813 doi: 10.15237/gida.GD20053.

ÖZ

Bu çalışmada, Erzurum'da ulusal büyük firma tereyağları hariç, tereyağı olarak satılan yağları, bazı hileler ve kalite özellikleri bakımından inceleyerek, tüketici şüphelerine ve konunun önemine dikkat çekmek istenmiştir. Bu amaçla, 2020 Şubat-Mart ayları içinde 34 adet yağ incelenmiştir. Örneklerin yağ oranları %72.5 ile %86 arasında değişmiş ve sadece 16 adedi tam yağlı tereyağı tipine girmiştir. Reichert Meissl sayıları 4.35 ile 47.30 olarak geniş bir aralıkta değişmiş, çoğunun başka yağlarla/katkılarla karıştırıldığı anlaşılmıştır. Örneklerin kurumadde miktarları %75.92-90.86, yağsız kurumadde oranları mevzuatın üzerinde bulunmuş, kilogram fiyatları 25-49.5 TL arasında değişmiştir. En düşük ve en yüksek maya ve küf ile koliform bakteri sayıları sırasıyla 5.60-8.04 ve <1-5.09 log KOB/g olarak saptanmış, mevzuatta bilgi bulunmadığı ancak sağlık ve kalite açısından bu değerlerin kabul edilemez olduğu görülmüştür. Çok sayıda yağın rengi, kontrolsüz katkıların katılmış olabileceğini göstermiştir. Bu araştırma sonuçları, mevzuatta karışıklığa neden olan hususlar ve açık bırakılmış eksikliklerin acilen giderilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Tereyağı, Hile, Tüketici, Analiz, Gıda kontrolü, Erzurum

DETERMINATION OF SOME ADULTERATIONS AND QUALITY PROPERTIES OF FATS SOLD AS BUTTER: ERZURUM EXAMPLE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to draw attention to consumer doubts and the importance of the subject by determining the fats sold as butter in Erzurum, excluding the national big firm butter, in terms of some adulterations and quality properties. For this purpose, 34 fats were investigated in February-March 2020. Fat ratios of the samples varied between 72.5% and 86%, and only 16 of them were in the form of full-fat butter. Reichert Meissl numbers ranged from 4.35 to 47.30 in a wide range, and it was understood that most of them were mixed with other fats/additives. The dry matter amounts of the samples were found to be 75.92-90.86%, and the fat-free total solids rates were higher than the legislation, the kilogram prices varied between 25-49.5 Turkish lira. The lowest and highest yeast

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: cakmakci@atauni.edu.tr;

☎: (+90) 442 231 2491

☎: (+90) 442 231 7858

Songül Çakmakçı; ORCID no: 0000-0003-0334-5621

Kübra Çelik; ORCID no: 0000-0003-4828-3671

Hatice Ertem; ORCID no: 0000-0002-0365-9535

Halenur Çalışkan; ORCID no: 0000-0002-9952-8133

and mold and coliform bacteria numbers were determined as 5.60-8.04 and <1-5.09 log cfu/g, respectively, and there was no information in the butter legislation, but these values were unacceptable in terms of health and quality. The color of a large number of fats showed that uncontrolled additives were added. The results of the research showed that the subject matter that cause confusion in the butter legislation and the deficiencies that were left open should be eliminated urgently.

Keywords: Butter, Adulteration, Consumer, Analysis, Food control, Erzurum

GİRİŞ

Tereyağı, alternatifi olmayan kendine özgü hoş bir lezzete sahip olmasının yanı sıra, vücut sıcaklığında eriyebilen, kolay sindirilebilen ve önemli bir enerji kaynağı olması nedeniyle insan beslenmesinde oldukça önemli yere sahip bir süt ürünüdür. Tereyağı A vitamini ve/veya β -karoten ve esansiyel yağ asitlerince de zengin bir yağ çeşididir. Süt yağının konjuge linoleik asit bakımından zengin olması tereyağının önemini artırmaktadır. Ancak, hakkı olarak, diğer yağlara göre ekonomik değerinin yüksek oluşu nedeniyle; kötü niyetli/haksız kazanç sağlamak isteyen kesimler tarafından her fırsatta yapılan hile ve tağşişlerden dolayı (daha çok margarin ilavesi), tüketici yıllardır mağdur olmuş ve aldatılmıştır. Ülkemizde bu konu her zaman güncelliğini sürdürmesine rağmen, özellikle son yıllarda tüketicilerde bu kaygıların arttığı görülmektedir. Bu fırsatçılık ve kötü niyete, yağın fiziksel durumunun tağşişe açık olması da kolaylık sağlamaktadır. Dolayısıyla üstün besin değeri, kahvaltı ve bazı yemeklerin vazgeçilmez lezzeti olan ve diğer yağlara göre pahalı olan tereyağından hakkıyla yararlanılamamaktadır.

Konuyla ilgili olarak; Erzurum Ticaret Borsası tarafından da; ilgili kurumlarca yapılan çok sayıda denetime rağmen vatandaşın sağlığını hiçe sayan ve saf süt yağı ile tereyağı üreten üreticilerin rekabet şansını azaltan bazı çevreler tarafından, tereyağına hile yapıldığı ve içeriğinde değişiklik yapılarak satıldığı belirtilmiştir. Bu ürünlere karşı, süt sanayicilerinin talepleri doğrultusunda ilgili resmî kurumlara girişimlerde bulunacakları bildirilmiş ve "tüketicilerin de aldıkları tereyağlarının etiketlerini dikkatle okumaları tavsiye edilmiş, etiketli ürünlerin üzerinde ne kadar bitkisel, ne kadar sütyağı içerdiği mutlaka yazılmalıdır" denilmiştir (Anonymous, 2019). Halbuki sorunun asıl kaynağı da budur. Tereyağı olarak satılan yağların büyük

çoğunluğu açık yığın olarak satılmakta, üzerlerinde etiket bulunmamaktadır. Uygun olmayan ambalaj malzemelerine sarılan yağlara yapıştırılan etiketlerde de bilgiler eksik olmaktadır.

Tağşişin tespit edilmesinde tereyağını diğer yağlardan ayıran bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin farklılığı ile kalitatif sonuçlar elde edilmeye çalışılmaktadır. Bunlardan en yaygın kullanılan Reichert-Meissl (R.M.) sayısını belirlemektir. R.M. sayısı bütirik asit (C4:0) ve kaproik asit (C6:0) gibi sadece süt yağında bulunan kısa zincirli yağ asitlerini tespit etme esasına dayanmaktadır (Metin ve Öztürk, 2002; Pradhan, 2016). Tereyağı hilelerini belirlemede R.M. sayısı, günümüzde halen geçerliliği olan, hızlı ve ucuz bir yöntemdir (Altun vd., 2017). Katkı oranı fazlaştıkça güvenilirliği artmaktadır (Pradhan, 2016; Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2016). Daha ileri yöntemlerle de (ATR-MIR) tereyağı hileleri belirlenmektedir (Koca vd., 2010). Triasilgiserol (TAG) profillerini belirleyerek tağşiş belirleme yöntemi de yağların bileşenlerine ayrılmasını ve yüksek performanslı sıvı kromatografisinde bu bileşenlerin analiz edilmesini içermektedir. Bu teknik hem oldukça uzun sürede sonuç vermekte hem de sadece yağın çok az bileşeni analiz edilebilmektedir. Yine, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC), kısa sürede sonuç vermesi ve kantitatif veriler elde edilebilmesi bakımından önemli avantajlar sağlamakta (Lambelet ve Ganguli, 1983; Tan ve Man, 2000; Marikkar vd., 2002), ancak tüketicinin endişelerini gidermek için kısa sürede sonuç veren, ucuz ve pratik analizler de önemini korumaktadır. Bu konuda yağ sabitlerinden ve özellikle R.M. sayısından faydalanılarak çıkarılan formül işe yaramaktadır (Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2018). Tereyağında tağşişin kaynağı genellikle ucuz yemeklik margarinlerdir. Margarinler, daha fazla *trans* yağ asidi içermektedir (margarin %10-35; tereyağı %3-8) (Dıraman,

2006). *Trans* yağ asitleri doğada bulunmayıp, daha çok bitkisel kaynaklı yağların ısıtılması, hidrojenasyonu ve işlenmesi sırasında oluşmaktadır. *Trans* yağ asitleri, ruminal aktiviteden dolayı süt kaynaklı yağlarda az miktarda ve çoğunlukla hidrojenasyonla oluşmaktadır. *Trans* yağ asitlerinin bütün özellikleri *cis* formundan farklı olup özellikle erime özellikleri *cis* formunda yaklaşık 13-14 °C, *trans* formunda 44-45 °C'dir (Tekin, 2007). Bu bileşikler, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL kolesterol, kötü kolesterol) miktarını artırırken, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL kolesterol, iyi kolesterol) miktarını düşürmekte ve kalp hastalıkları riskini artırmaktadır (Taşan ve Dağlıoğlu, 2005; Bhardwaj vd., 2011; Çakmakçı ve Tahmas Kahyaoglu, 2012). Bu nedenle, yüksek miktarda *trans* yağ asidi tüketimi insan sağlığını olumsuz etkilediğinden tereyağına margarin katılması ile sadece tüketicinin maddi olarak aldatılması değil, sağlığı da tehlikeye atılmaktadır. Tereyağlarında %10'un üzerinde *trans* yağ asidi belirlenmesinin margarin ile yapılmış bir yağışın göstergesi olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir (Dıraman, 2006). Bu durum tüketicilerin aldatılmasına neden olmakta ve tüketici fazla para harcadığı halde yeterince beslenemediği gibi şüphe durumunda çoğu zaman çaresiz kalmaktadır.

Tereyağına hile yapılması yaygın bir uygulama olup, tüketicileri endişelendirmektedir. Bu nedenle orijinalliği garantili ürünlere olan talep gittikçe artmaktadır (Karoui ve De Baerdemaeker, 2007). Tereyağına yapılan hilelerin kontrolüne duyulan ihtiyacın artmasına rağmen, spesifik cihaz ve analiz yöntemleri nedeniyle daha çok araştırmalarda kullanılan teknikler yerine; bu araştırmada, bazı basit belirleyicilerle toplumu rahatlatmak ve Erzurum özelinde, tereyağı olarak satılan yağların mevcut durumunu belirlemek, yine büyük bir problem olan ve kaynağı bilinmeyen boya ile tereyağına sarıya boyama alışkanlığını göstermek, hiç gerek olmayan bu uygulamanın 2 aylık kış periyodunda bile ne kadar büyük varyasyon gösterdiğini sergilemek amaçlanmıştır. Tüketicilere saf ve sağlıklı tereyağı sunmak önemli bir sorumluluk olup bu konuda ambalaj, etiketleme ve etiket bilgilerinin

güvenilirliği büyük önem taşımaktadır. Bu araştırma; tüketicinin sağlığını korumaya yönelik olarak maddi ve manevi açıdan aldatılmasını önlemeye ve haksız rekabet ortamında işini düzgün yapan tereyağı üreticisini korumaya katkıda bulunabilmek için yapılmıştır. Bu nedenle, Ulusal büyük firma tereyağları hariç, Erzurum İli özelinde yerel üretici firma, market ve satış noktalarından 14 adedi ambalajlı, 20 adedi de açık olarak ve sadece "tereyağı" olarak satışa sunulan yağların TS 1331 (Anonymous, 2015) ve "Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği-Tebliğ No: 2005/19 (Anonymous, 2005) ve genel bazı kriterlere uygunluğu araştırılmıştır. Böylece, tereyağı olarak satışa sunulan yağların mevcut durumunu ve bazı hileleri ortaya koyarak, hem tüketicileri bilgilendirmek hem de sonuçlara göre ilgili makamların dikkatini çekerek önerilerde bulunmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bu araştırmada, 2020 Yılı Şubat ve Mart ayları içinde Erzurum İli merkezinde farklı üretici firma/market/satış yerlerinde "tereyağı" olarak satışa sunulan yağlardan toplam 34 adet örnek alınmıştır. Haftalık arayla 4 grup halinde (9+9+8+8 adetlik gruplar) 14 adedi ambalajlı (500 gramlık) ve 20 adedi de açık yağ olarak pazarlanan yağlardan (300-400 g) satın alınmıştır. Alınan örneklerden öncelikle mikrobiyolojik analizler için yağı temsil edecek şekilde, steril cam kavanozlara konulmuştur (örnek alınımında satıcıların daha az miktarda yağ alınımında, kontrol edilme şüphesi nedeniyle satış yapmak istememelerinden dolayı, tüketici gibi almak zorunda kalınmıştır). Örnekler soğuk şartlarda laboratuvara getirilmiş ve analizler süresince 4±1°C'de muhafaza edilmiştir.

Yöntem

Alınan yağ örneklerinde, önce mikrobiyolojik analizler [koliform bakteri ile maya ve küf], sonra diğer analizler [peroksit sayısı, R.M. sayısı, kurumadde, yağ, yağsız kurumadde, renk analizleri (hem analitik hem de duyuşal olarak)] yapılmıştır. Tereyağı olarak satışa sunulan yağların satış fiyatı da verilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

10 g tereyağı örneği, içerisinde 90 mL steril fizyolojik çözelti (%0.85 NaCl) bulunan steril cam kavanozlara aseptik koşullarda tartılarak 5 dakika homojenize edilmiştir. Böylece ilk dilüsyon (10^{-1}) hazırlanmıştır. Bu dilüsyondan 1 mL alınarak içerisinde 9 mL steril dilüsyon sıvısı bulunan tüplere aktarılmıştır. Bu şekilde desimal seyreltmelerle dilüsyonlar hazırlanmıştır. Daha sonra uygun dilüsyonlardan metotlarda verilen normlara uygun olarak petri kutularına ekim yapılmıştır. Sayım sonuçları dilüsyon faktörü göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. Metot detayları aşağıda verilmiştir.

Koliform grubu bakteri sayımı

Violet Red Bile agar (VRBA) (Merck) kaynatılıp 45°C 'a soğutulduktan sonra, uygun dilüsyonlardan çift petri plağına 1'er mL ilave edilmiş, soğutulmuş agardan 13-15 mL dökülmüş ve homojen olarak karışması sağlanmıştır. Katılaştıktan sonra tekrar üzerine agardan 10 mL kadar dökülerek katılaşması beklenmiştir. Katılan petri ters çevrilerek $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat kadar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası oluşan çapı 0.5 mm'den daha büyük olan pembe/ kırmızı koloniler sayılmıştır (Harrigan, 1998).

Maya ve küf sayımı

Potato Dextrose agar (PDA) (Merck) ile hazırlanan besiyeri sterilize edildikten sonra, %10'luk steril tartarik asit çözeltisi kullanılarak asitlendirilmiş ($\text{pH } 3.5 \pm 0.1$) ve petrilere 15 mL kadar dökülmüştür. Besiyeri katılaştıktan sonra uygun dilüsyonlardan ekim yapılarak oda sıcaklığında ($20-25^{\circ}\text{C}$) 5-7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan koloniler sayılmıştır (Harrigan, 1998).

Fiziksel ve kimyasal analizler

Yağ örneklerinde; kurumadde miktarı gravimetrik yöntemle, yağ miktarı Gerber yöntemiyle Kurt vd. (2012)'de verilen yöntemlere göre yapılmıştır. Yağsız kurumadde oranı hesapla bulunmuştur. Peroksit sayısı Atamer (1993) ile Öztürk ve Çakmakçı (2006)'nın verdikleri yöntemle göre, R.M. sayısı Atamer (1993) ile Metin ve Öztürk (2002) tarafından verilen yöntemle, renk analizleri

ve duyu analizler de aşağıda ayrıntıları verilen yöntemlerle yapılmıştır.

Renk analizleri

Tereyağı örneklerinin renk değerleri (L^* , a^* , b^* ve H° ve C^* değerleri) Minolta Colorimeter CR-200 (Minolta Camera Co., Osaka, Japan) ile Konica Minolta (2007)'da belirtildiği gibi ölçülmüştür. CIE L^* , a^* , b^* renk değerleri olarak: L^* parlaklığı göstermekte olup $L=0$ siyah ve $L=100$ beyaza karşılık gelmektedir. $+a$ değeri kırmızılığı, $-a$ değeri yeşilliği, $+b$ değeri sarılığı ve $-b$ değeri de maviliği göstermektedir (Savaş Bahçeci ve Acar, 2020). C^* değeri; renk (Chroma) değeri olup, silindirin merkezinden dışa doğru artan değeri ($0 \dots 60$) gösterir. H° değeri (açı) ise renk canlılığını ifade eder ve birimi derece ($^{\circ}$) olup $+a^*$ ile başlar. Açı ve renk ilişkisi şöyledir: 0° : $+a^*$ (kırmızı), 90° : $+b^*$ (sarı), 180° : $-a^*$ (yeşil), 270° : $-b^*$ (mavi) (Konica Minolta, 2007; Keskin vd., 2017). Örneklerde ölçümler, üç farklı noktadan okunan renk değerlerinin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Ölçümler yapılmadan önce cihaz beyaz kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiş ve bütün ölçümler beyaz bir zemin üzerinde düzgün yüzeyli kaplara yerleştirilen örnekler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Duyusal analizler

Yağ örneklerinde renk ve görünüş, tat ve koku özellikleri Tereyağı Standardı - TS 1331 (Anonymous, 2015) ve Türk Gıda Kodeksi - Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği -Tebliğ No: 2005/19 (Anonymous, 2005)'da belirtilen "Ürünler, kendine has tat, koku, görünüm ve yapıda olmalı, yabancı tat ve koku ihtiva etmemelidir" şeklindeki açıklamalara göre, tereyağını seven, deneyimli 8 kişilik panelist grubu tarafından değerlendirilmiştir. Bu kriterler açısından değerlendirme için; örnek alınırken da belirtildiği gibi, partiler halinde alınan tereyağı örnekleri Şekil 1'de görüldüğü gibi plastik küçük kaplara her panelist için 2'şer adet aynı miktar ve özenle yerleştirilip ağızları kapatılıp buzdolabına konulmuştur (1 adedi, tüm örnek alımları tamamlandığında renk ve görünüş açısından toplu değerlendirme yapmak için buzdolabında muhafaza edilmiştir). Daha sonra, örneklerden 1'er adedi buzdolabından çıkarılmış ve 1 dakika

sonra (donuk rengin yanılmaya neden olmaması için), karşılaştırma amacıyla partide toplu olarak renk, görünüm ve koku değerlendirmesi yapılmış, daha sonra plastik çay kaşıklarıyla karıştırılarak tekstür ve daha sonra da aynı kaşıkla lezzet ile yabancı tat açısından tecrübeye dayalı değerlendirilmiştir. Tüm örnek alımı tamamlandığında da tüm örneklerin renk ve görünüş değerlendirmesi kontrol edilmiştir. Örnekler arasında panelistlere sade ekme ve ılık

su verilmiştir. Duyusal analiz oda sıcaklığında ve floresan lamba altında yapılmıştır.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Toplam 34 adet tereyağı örneğinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları ve yağların belirli kriterlere göre yapılıp yapılmadığını belirlemek, tüketicilerin merak ettikleri/şüphe duydukları ve tereyağlarına güvenlerini sarsan düşüncelerine ışık tutmak amacıyla yapılan bazı kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1’de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 1. Tereyağı olarak satılan yağların kimyasal, mikrobiyolojik özellikleri ve fiyatları
Table 1. Chemical, microbiological properties and prices of fats sold as butter

Örnekler Samples	KM ¹ (%) DM ^{1a} (%)	Yağ (%) Fat (%)	Yağsız KM (%) Non-fat DM (%)	Peroksit Sayısı (meq O ₂ /kg) Peroxide value (meq O ₂ /kg)	R.M. Sayısı ² R.M. Number ^{2a}	Maya ve küf sayısı (log KOB/g) Yeast and mold count (log cfu/g)	Koliform bakteri (log KOB/g) Coliform bacteria count (log cfu/g)	Fiyatı (kg) (TL) (Price) (kg) (Turkish lira)
1	86.68	81.2	5.48	1.05	4.35	6.67	4.31	38
2	81.22	79.5	1.72	1.12	11.94	6.54	4.53	40
3	81.34	78.0	3.34	1.35	15.40	5.73	3.74	40
4	75.92	72.5	3.42	0.87	31.57	6.46	4.02	33
5	79.58	76.2	3.38	1.56	28.49	6.31	3.08	36
6	85.07	82.7	2.37	1.07	37.62	6.42	<1	48
7	76.98	75.0	1.98	0.82	36.69	6.44	2.15	36
8	78.91	76.0	2.91	0.80	38.23	6.41	2.39	36
9	83.06	80.5	2.56	1.02	25.63	6.50	4.32	35
10	83.03	78.5	4.53	1.01	22.00	6.53	4.27	38
11	77.57	76.7	0.87	1.12	30.69	6.46	<1	40
12	77.35	74.2	3.15	0.89	39.60	6.50	<1	40
13	87.51	81.2	6.31	0.82	37.95	5.60	<1	45
14	86.88	83.2	3.68	1.01	37.62	7.08	4.78	39
15	85.41	83.2	2.21	1.02	33.55	6.45	3.18	40
16	87.61	80.2	7.41	0.95	21.23	6.53	3.43	42
17	83.61	79.5	4.11	0.92	41.47	5.97	<1	40
18	81.84	79.2	2.64	1.00	26.40	6.76	<1	39.5
19	82.64	81.7	0.94	0.90	38.06	6.93	3.69	38
20	80.10	77.5	2.60	1.27	47.30	6.87	<1	-
21	85.43	83.2	2.23	1.20	44.55	7.84	5.09	40
22	81.61	79.5	2.11	1.09	28.60	6.63	<1	40
23	82.62	81.2	1.42	1.04	28.27	6.50	<1	38
24	78.06	76.0	2.06	1.41	19.36	7.73	<1	40
25	90.86	83.2	7.66	1.35	6.33	7.41	4.44	35
26	87.24	86.0	1.24	1.74	7.59	6.82	<1	33
27	88.46	83.0	5.46	1.42	4.62	6.98	4.32	25
28	77.32	75.8	1.52	1.29	22.44	6.59	2.23	46
29	81.04	78.8	2.24	1.11	26.07	6.87	<1	44
30	83.12	80.2	2.92	0.99	28.22	6.89	3.29	45
31	85.34	83.5	1.84	1.51	27.34	8.04	3.45	45
32	82.11	79.2	2.92	1.10	27.17	7.72	<1	38
33	82.09	79.0	3.09	1.13	28.16	7.12	<1	49.5
34	86.24	82.2	4.04	1.33	24.31	6.21	2.21	47.5
En düşük/Min	75.92	72.5	0.87	0.80	4.35	5.60	<1	25
En yüksek/Max	90.86	86.0	7.66	1.74	47.30	8.04	5.09	49.5

TS 1331 (Anonymous, 2015) “tereyağı süt ve/veya süt ürünlerinin tekniğine uygun olarak işlenmesi sonucunda elde edilen, gerektiğinde mevzuatına uygun katkı maddeleri, çeşni maddeleri ve diğer katkı maddeleri de katılabilen süt mamulü” olarak tanımlanmaktadır. Altı tipe ayrılmış tereyağlarının hiçbirinde bitkisel yağ bulunmamalı hükmü yer almakta ve yağ oranlarına göre tereyağları isimler almaktadır. Buna göre incelenen 34 adet tereyağı örneğinin 16 adedinde yağ oranı %80.2 ile %86 arasında bulunmuş olup %80 ile %90 yağ içeren tip olan “tam yağlı tereyağı” tipine girmektedir. İncelenen diğer 18 adet tereyağı örneğinde ise %72.5 ile %79.5 yağ oranı ile Tereyağı Standardında sadece süt yağı içeren (çeşnısiz) tiplerden herhangi birine girmemektedir (yağı azaltılmış tereyağı: %60-62 süt yağlı ve yarım yağlı tereyağı: %39-41 süt yağlı) (TS 1331). Standartta, çeşnili tereyağları olarak 2 farklı tip ismi verilen ve çeşni maddelerinin (baharat, meyve ve sebzeler, bal ve/veya diğer gıda maddeleri) bir veya birkaçının katılması ile elde edilen tereyağlarında da yağ oranları çok farklıdır (çeşnili tam yağlı: ≥ 75 süt yağı içeren ve çeşnili yağı azaltılmış: %62-75 süt yağı içeren). Standartta dipnot olarak verilen “Süt yağı oranı Çizelgede verilen değer aralıkları dışında olması halinde tereyağı en yakın alt tipe dahil edilir” ifadesi kafaları çok karıştırmaktadır. En yakın alt tip “yağı azaltılmış tereyağı” (%60-62 süt yağlı) mı? yoksa en yakın tip mi (tam yağlı tereyağı, %80-90 süt yağlı) tam olarak anlaşılamamaktadır. Bu çalışmada 18 adet örnekte belirlenen yağ oranları tam yağlı tipe girmediği halde ya tam yağlı olarak veya yarım yağlı olarak değerlendirilecek demektir. Bu durum, dürüst üretim yapan üreticilerin maddi olarak çok zarar görmesine ve tüketicilerin de daha fazla süt yağı içeren tereyağına göre yetersiz beslenmesine, aldatılmasına ve fazla para ödemesine neden olacaktır. Ayrıca kitlede eksik süt yağı olması demek, diğer hilelerin yapılmasına kapı aralayacak, margarin gibi diğer yağların katılma şüphesini kuvvetli hale getirecek ve kontrolü zorlaştıracaktır. Bu bakımdan başta Erzurum’daki süt sanayicileri olmak üzere, işini düzgün yapan süt sanayicilerimizin yakarıklarının, sadece yağ oranları bakımından bile, ne kadar haklı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle tereyağının

“tereyağı” olarak adlandırılması ve süt yağı oranının en az %80 olmasında fayda olduğu; haksız rekabet ve tüketici sağlığı ve aldatılmaması bakımından çok önemlidir. Resmî kontrollerde, Tereyağı Standardından 10 yıl önce çıkarılan “Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliğinin (Anonymous, 2005) dikkate alındığı göz önünde bulundurulduğunda da; Tebliğde süt yağı esaslı sürülebilir ürün “Sadece süt ve/veya süt ürünlerinden elde edilen, ana bileşeni yağ olan, temel olarak yağ içinde su emülsiyonu tipinde, şekillendirilebilir, 20 °C sıcaklıkta katı yapıda olan ürünü” kastetmektedir. Süt yağı esaslı sürülebilir ürünler de piyasaya sunuluş ve bileşimlerine göre sınıflandırılmakta ve bu sınıflandırmada “Tereyağı, ağırlıkça en az %80, en fazla %90 oranında süt yağı, en fazla %2 oranında yağsız süt kuru maddesi ve en fazla %16 oranında su içeriğine sahip ürün” olarak tarif edilmektedir. Buna göre, bu çalışmada incelenen yağların, Tereyağı Standardı (Anonymous, 2015)’nda olduğu gibi %47’si (16 adet) “tereyağı” sınıfına girmektedir (Çizelge 1). Yine 22 adet örnekte su oranı %16’dan fazla olduğu için Tebliğ (Anonymous, 2005) uymamaktadır (Çizelge 1). Tebliğ (Anonymous, 2005)’e göre incelenen yağlar içinde “Dörtte üç yağlı tereyağı” (ağırlıkça ≤ 60 ve ≥ 62 süt yağı içeren), “Yarım yağlı tereyağı” (≤ 39 ve ≥ 41 süt yağı içeren) sınıfına giren yağ bulunmamaktadır. Ancak, 18 adet örnek $\% > 62$ ile < 80 yağ içeriği ile “süt yağı esaslı sürülebilir ürün” sınıfına girmektedir. Aynı Tebliğ, anlaşılması zor ve karmaşık ifadeleri de kapsamaktadır. Örneğin, süt yağı içeriği %41 den fazla, %62 den düşük olan ürünlerde “yağı azaltılmış” ifadesi, süt yağı içeriği %41 veya daha düşük olan ürünlerde “düşük yağlı” veya “az yağlı” veya benzeri ifadeler, yer alabilir denilmektedir. Ancak bu ifadeler aynı Tebliğin Eki olan Çizelgedeki (EK 1) oranları tam olarak tutmamaktadır. Bu çalışmada alınan numuneler zaten tek bir isimle ve “tereyağı” olarak satıldığı için Tebliğ’de geçen diğer sınıflandırmalara göre yağ örneği yoktur. Tebliğ’de de sütyağı sınırları belirtilmiş, ancak Standartta olduğu gibi başka yağların da olabileceği “Ürün Özellikleri” (Madde 5, g) bölümünde “Ürünlerde tuz hariç kuru maddede süt yağı en az 2/3 oranında olmalıdır”

(Anonymous, 2005) ifadesinden anlaşılmaktadır. Bu bakımdan incelenen 34 adet yağın 33 adedi tereyağı olarak satıldığına göre (1 adet örnek bitkisel katkılı tereyağı olarak satıldığından), bunlardan sadece 16 adedi gerçek tereyağı olarak değerlendirilebilir.

Konuyla ilgili olarak tereyağı örneklerinin kilogram fiyatları da 25 ile 49.5 Türk Lirası arasında geniş bir aralıkta değişmiştir (Çizelge 1). Örneklerden sadece 1 adedinin bitkisel katkılı olduğu belirtilerek 25 TL fiyatla satıldığı görülmüştür. Halbuki Tereyağı Standardı (Anonymous, 2015)'nda bitkisel yağ bulunmamalı hükmü bulunmaktadır. Ne yazık ki bu örneğin yağ oranı %83 olarak tespit edilmiş ve tam yağlı tereyağı tipine girmektedir. Bu durum da, tereyağı olarak satılan yağların, yağ oranlarının süt yağı olarak hilesiz olduğunu belirlemede tam bir çözüm olmayacağını ortaya koymaktadır. Bu nedenle her ne kadar yeni Tereyağı Standardı (Anonymous, 2015) ve Tebliğ (Anonymous, 2005)'de olmasa da tereyağına diğer yağların katılıp katılmadığını belirlemede R.M. sayısı, halen geçerliliği olan, hızlı ve ucuz bir yöntemdir (Pradhan, 2016; Altun vd., 2017). Örneğin katkı oranı fazlaştıkça güvenilirliği de artmaktadır (Pradhan, 2016; Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2016). Bu nedenlerle de tereyağında R.M. sayısının da belirlenerek daha emin olunması yarar sağlayacaktır. Yağlarda R.M. sayısı su buharı ile uçan, suda eriyen bütirik, kaproik, kaprilik ve az miktarda kaprik asitleri gösterir. Süt yağının R.M. sayısının ortalama 27 olduğu ve 23-33 arasında değiştiği (Metin ve Öztürk, 2002), inek yağlarında 19-34 arasında değiştiği ve iç, kuyruk ve böbrek yağları ile katkılı yağlarda genellikle 24' ün altında bulunduğu belirtilmektedir (Kurt vd., 2012). Bu çalışmada, incelenen yağlarda belirlenen R.M. sayıları Çizelge 1'de verilmiştir. Örneklerin R.M. sayıları 4.35 ile 47.30 olarak geniş bir aralıkta değişmiştir. Pradhan (2016) ise standart (kontrol) tereyağında ortalama R.M. sayısının 27.65 olduğunu tespit etmiştir. Hayaloğlu (1999) tarafından Malatya piyasasından toplanan hem yoğurt tereyağlarında tespit edilen en düşük (20.84) ve en yüksek (28.98) R.M. sayıları hem de krema tereyağlarında 23.70 ve 28.30 arasında değişen değerler ile yine aynı çalışmada

laboratuvarında üretilen yoğurt ve krema tereyağlarında tespit edilen R.M. sayıları (25.64 ve 29.93 arası) göz önünde bulundurulduğunda, saf süt yağından yapılan tereyağlarının R.M. sayılarının 20-30 arasında değişebileceği anlaşılmaktadır. Bu literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında Erzurum'da satışa sunulan yağların çoğunun hileli olduğu ortaya çıkmaktadır. Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı (2018) da inek, koyun ve keçi sütünden üretilen 90 gün süresince buzdolabında muhafaza ettikleri tereyağı örneklerinde 15'er günlük periyotlarda belirlenen en düşük ve en yüksek R.M. sayılarını sırasıyla 25.21-25.83; 26.50-26.87 ve 26.08-26.42 olarak bulmuşlardır. Yine Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı (2016) tarafından tereyağına kontrollü oranlarda margarin katılarak matematiksel bir formül geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmada, saf inek sütü kremasından yapılan kontrol tereyağının R.M. sayısı 26.17 olarak bulunmuştur. Buna karşılık margarin fabrikasından alınan saf margarin ve pastacılıkta kullanılan margarinlerin R.M. sayıları sırasıyla 12.80 ve 13.61 olarak saptanmıştır (Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2016). Bu araştırma sonuçlarından da görüldüğü gibi margarinlerin R.M. sayısı tereyağlarından çok düşüktür. Kontrol örneklerinin sonuçlarını veren literatür bilgileri, bu çalışmada incelenen yağların 6 adedine kesin olarak ve yüksek oranda başka yağların karıştırıldığını gösterirken (R.M. aralıkları: 4.35-15.40), 6 adedinin yine aynı şekilde şüpheli olduğunu (R.M. aralıkları: 38.06-47.30) ve toplamda 12 adet örneğin katkılı olduğu söylenebilir. Ancak inek tereyağında en yüksek R.M. sayısı (34) ile karşılaştırıldığında (Kurt vd., 2012) 10 adet örneğe ne karıştırıldığı bu teknikle anlaşılmayacak kadar şüpheli olduğunu göstermektedir (R.M. sayı aralığı: 36.69-47.30) (Çizelge 1). Daha önce Erzurum sütlerinden kontrol olarak üretilen ve hilesiz olduğu kesin bilinen tereyağı araştırma sonuçlarından R.M. sayısının genellikle 24-28 aralığında olduğu sonucundan (Pradhan, 2016; Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2016, 2018), bu çalışmada incelenen 34 örnekten yalnız 6 adedinin bu sınır içinde olduğu, yakın değerler de sayıldığında (5 adet) toplam 11 adedinin (%32.4) sadece süt yağı içerdiği söylenebilir.

Tereyağı Standardı (Anonymous, 2015) ve Tebliğ (Anonymous, 2005)'de, tereyağlarda yağsız kurumadde oranı ağırlık olarak en fazla %2 olarak sınırlandırılmıştır. Tereyağında aroma maddesi olan diasetil, yıkamanın sayısına ve yoğunluğuna bağlı olarak %30-50 oranında yağdan uzaklaşmakta ve tereyağı aroması azalmaktadır (Atamer ve Şenel, 2014). Bu nedenle tereyağının az yıkanması durumunda protein oranı artmakta ancak toplam yağsız kurumadde sınırı %2'yi geçmemelidir. Bu çalışmada ise incelenen örneklerde yağsız kurumadde oranları %0.87 ile %7.66 arasında değişmiş, 26 adet örnekte %2'den yüksek değer tespit edilmiş (%76.5) ve mevzuata uygun bulunmamıştır (Çizelge 1). Özellikle 8 örnekte en yüksek değer izin sınırının 2 katından daha yüksek, 5 örnekte 2.5 katından daha yüksek yağsız kurumadde bulunması (Çizelge 1), üretim sırasında bu tereyağların iyi yıkanmaması nedeniyle protein oranının yüksekliği dışında, yağ dışında olabilecek diğer hileleri akla getirmektedir.

Yağların bir başka kalite özelliği taze olması/uygun şartlarda korunup korunmadığıdır. Yağ ve yağlı gıdalarda raf ömrünü sınırlayan en önemli faktör oksidasyondur. Oksidasyonun derecesine göre yağın renk, lezzet ve besleyici değeri zarar görmekte, tüketim tercihi etkilenmekte ve raf ömrü azalmaktadır. Daha da önemlisi ileri derecede okside olmuş yağların sağlığa olumsuz etkileri olduğuna dair çok sayıda makale yayınlanmıştır (Kanner, 2007; Asha vd., 2015; Vieira vd., 2017). Oksidasyon üzerine yağın depolama sıcaklığı, süresi ve ambalaj önemli etkili faktörler olarak sayılabilir (Öztürk ve Çakmakçı, 2006; Asha vd., 2015). Nitekim Tebliğde "satış noktalarındaki muhafaza sıcaklığı 4 °C' den yüksek olmamalıdır" hükmüne rağmen, örneklerden yığın olarak satılanların çoğunun satış yerinin normal sıcaklığında olduğu görülmüştür (>4°C). Peroksit sayısı yağlarda primer oksidasyon ürünlerinin derecesini gösteren bir indikatördür ve oksidasyon seviyesini belirlemede kullanılır (Anwar vd., 2007; Asha vd., 2015). Bu çalışmada, incelenen yağların peroksit sayıları 0.80 ile 1.74 meq O₂/kg arasında değişmiştir. Bu sonuçlar, Malatya piyasasında satılan yoğurt tereyağlarındaki peroksit sayıları (0.50-5.0 meq O₂/kg) ile krema tereyağlarında saptanan

değerlere (1.0-7.0 meq O₂/kg), örneğe bağlı olarak benzer ve/veya farklı olduğu görülmüştür. Laboratuvarında üretilen her iki tereyağında da peroksit sayısının 0.0 meq O₂/kg olarak bulunması (Hayaloğlu, 1999), kontrollü üretim ve depolamanın önemini göstermesi bakımından önemlidir. Yokuş vd. (2019) de Şanlıurfa'dan aldıkları 15'er adet koyun ve inek Şanlıurfa Sadeyağı örneğinin peroksit sayılarını sırasıyla, 0.122 - 0.338 meq O₂/kg yağ arasında ve 0.012 - 0.385 meq O₂/kg yağ arasında bulmuşlardır. Bu sonuçlar, yapılan bu araştırma bulgularından çok düşük olup, üretimde uygulanan işlemlerin etkisi, süt çeşidi ve diğer bazı faktörlerin etkili olduğu anlaşılmaktadır. Bu çalışmada bulunan değerler, Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı (2018) tarafından koyun, keçi ve koyun kontrol tereyağlarının 90 günlük periyotta tespit edilen en düşük (tespit edilememiş) ve en yüksek (0.55 meq O₂/kg) peroksit sayılarından da çok yüksek olarak tespit edilmiştir. Araştırmada bulunan en düşük değer (0.80 meq O₂/kg) (Çizelge 1), Öztürk ve Çakmakçı (2006)'nın 4 °C'de 6 ay süresince depolayıp her ay inceledikleri kontrol tereyağlarda tespit edilen ortalama değere (0.78) benzer bulunmuştur. Dağdemir vd. (2009) de, 90 gün 4 °C'de ve Gündoğdu (2012) da, 4 °C'de 60 gün depoladıkları kontrol inek sütü tereyağlarında depolama süresince daha düşük peroksit sayıları tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Bakırcı vd. (2002) de çeşitli kültürlerle üretilen 4 ve -18 °C'de depoladıkları tüm tereyağı örneklerinin ilk 60 gündeki peroksit sayılarını bu araştırma sonuçlarından daha düşük bulmuşlardır. Araştırmada bulunan en yüksek değer (Çizelge 1), Şenel vd. (2011)'nin inek ve koyun yoğurdundan yaptıkları tereyağlarında 30 günlük depolama süresinde tespit ettikleri ortalama peroksit sayılarından (sırasıyla 0.50 ve 1.10 meq O₂/kg) yüksek bulunurken, keçi yoğurdundan düşük bulunmuştur. Yürürlükteki Tereyağı Standardı (Anonymous, 2015)'nda peroksit sayısı ile ilgili bir hüküm bulunmadığı için bir karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak, daha önce yapılan ve kontrol örneklerin peroksit sayılarının araştırıldığı araştırma sonuçlarının tüm değerleri göz önüne alındığında; bu çalışmada çoğu örnekte bulunan peroksit sayılarının çok yüksek olduğu söylenebilir (Çizelge 1). İncelenen örneklerden 25 adedinin

1.0'dan fazla, 16 örneğin 1.1'den, 11 örneğin 1.2'den, 8 örneğin 1.3'den, 5 örneğin 1.4'den, 2 örneğin 1.5'den ve 1 örneğin de 1.7 meq O₂/kg'dan fazla peroksit sayısı bulunmuştur (Çizelge 1). Daha önce yapılan araştırmalarda inek, koyun ve keçi sütü kaynaklı ve buzdolabında farklı sürelerde (6 ay dahil) depolanan kontrol tereyağlarında bile 1.1 meq O₂/kg'dan büyük peroksit sayısı bulunmadığı göz önüne alındığında, 16 örneğin peroksit sayısının yüksek olduğu ve peroksit sayısının 1'den fazla olduğu örneklerde duyuşsal olarak da ransit tat hissedildiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, tereyağı örneklerinin çoğunun taze olmadığını, uygun sıcaklıkta depolanmadığını, açıkta veya az bir kısmının da ışık geçiren streç film benzeri ambalaja sarılarak pazarlandığından kaynaklanmıştır olabilir.

Erzurum piyasasından alınan örneklerde tespit edilen koliform bakteri ve maya ve küf sayıları Çizelge 1'de görülmektedir. Tereyağlarında bulunması istenmeyen bu mikroorganizmaların geniş bir aralıkta değiştiği ve nispeten sevindirici bir sonuç olarak 14 adet örnekte (%41.2) koliform bakteri tespit edilmezken (<1 log KOB/g), ne yazık ki 5.09 log KOB/g seviyesinde olan örnek de bulunmaktadır. Tereyağı örneklerinde önemli bir sorun da küf gelişimidir. Her ne kadar Tereyağı Standardı (Anonymous, 2015)'nda ve Tebliğ (Anonymous, 2005)'de büyük bir eksiklik olarak, bu konuda bir hüküm bulunmasa da araştırmalar ve Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (Anonymous, 2011)'nde tereyağı olmasa da diğer yağlar için en fazla 10² KOB/g'dan fazla olmaması belirtilmiştir. Örneklerde 5.60 ile 8.04 log KOB/g arasında maya ve küf tespit edilmiş olup hiçbir örnek bu bakımdan kabul edilebilir sınırlarda değildir. Tereyağı örneklerinin 1/3' ünün satış noktasındaki ortam sıcaklığında yığın şeklinde, diğer kısmın da ticari buzdolabında satışa sunulduğu gözlenmiştir. Özellikle açık olarak satılan örneklerde ambalaj olmadığı için üretim zamanı ve üretim yerinden satış noktasına hangi şartlarda getirildiğinin bilinmediği gözlenmiştir. Bu nedenlere bağlı olarak maya ve küf sayısının yüksek olduğu söylenebilir.

Renk, tereyağının önemli kalite/güvenilirlik özelliklerinden biri olup elde edildiği hayvan türü ve beslenmeye bağlı olarak hafif değişiklik gösterebilmektedir. Koyun ve keçi sütlerinden yapılan tereyağlarında sadece A vitamini olduğundan beyaz, inek sütü tereyağlarında ise hem A vitamini hem de β-karoten olduğundan krem rengimsi, hafif sarımsı olmaktadır (Tahmas Kahyaoglu ve Çakmakçı, 2018). İncelenen yağ örneklerine ait renk parametreleri (*L**, *a**, *b**, *H^o* ve *C**) Çizelge 2'de verilmiştir. Rengin açıklık ve koyuluk özelliklerini ifade eden *L** değeri, renk açıldıkça 100'e yaklaşmaktadır (parlaklık; 0: siyah, 100: beyaz). Araştırmada elde edilen *L** değeri 79.76-86.51 aralığında değişim göstermiştir. Bu durum, Şekil 1'de verilen yağ örneklerine ait fotoğrafların incelenmesiyle de görülmektedir.

En düşük ve en yüksek *a** değerleri sırasıyla -5.21 (6 numaralı örnek) ve -2.15 (22 numaralı örnek) arasında bulunmuştur. *a** değerinin pozitif (+) olması kırmızı, negatif (-) olması yeşil olduğuna göre; ölçülen *a** değerlerinin tüm örneklerde “-” olması, rengin açık olduğunu göstermektedir. Örneklerin *b** değerleri ise 13.80 ile 42.18 aralığında değişim göstermiştir. *b** değerinin pozitif (+) olması sarı, negatif (-) olması mavi olduğuna göre; sarı, sarımsı, *L** değerlerini de dikkate alarak beyaz, beyaza yakın olduğunu göstermektedir. İncelenen tüm yağ örneklerinin *H^o* değerleri (93.7-100.6) beyaz-sarı bölgedeki bir renk tonunu temsil etmektedir. Rengin doygunluk derecesini, saflığını veya yoğunluğunu ifade eden *C** değeri ise 13.96-42.31 aralığında değişim göstermiştir. Tahmas Kahyaoglu ve Çakmakçı (2018) inek, koyun ve keçi tereyağlarında ortalama *L** değerlerini, sırasıyla 84.63; 83.53; 84.50, *a** değerlerini -3.80, -3.77 ve -3.76, *b** değerlerini de 19.21, 10.90 ve 8.35 tespit etmişlerdir. Ayrıca taze tereyağı ile 90 günlük depolama süresi arasında renk değerlerinde değişim olmakla birlikte değerler türler içinde benzer değerler arasındadır. Buna göre, bu araştırmada ölçülen değerler inek tereyağı değerleri ile karşılaştırıldığında; 12 adet örneğin doğal/saf olarak inek sütü tereyağı olarak değerlendirilebileceği söylenebilir. Çizelge 1 ve Şekil 1'in birlikte incelenmesinden de görüleceği gibi, bazı örneklere fazla miktarda renk maddesi/boya katıldığı ve çoğu örneğin de tam

beyaza yakın olması; aynı mevsimde, aynı yörede satılan ve inek sütü tereyağı olarak değerlendirilmesi durumunda, çok sarı olanlara boya katıldığını, beyaz olanların da (bu araştırmanın bazı analizleri için gerekli olan eritme basamakları sırasında da hissedilen margarin veya yabancı kokudan anlaşıldığı gibi), margarin ve başka yağ ve/veya katkıların katıldığını göstermektedir. Tereyağına renk maddesi katılmasına neden olarak, toplumda oluşmuş olan “sarı renkli yağların hakiki tereyağı olarak algılanması” gibi yanlış bir yargı yatmaktadır. Bu algı hiç de gerekli olmayan bir katkının kullanılmasına yol açmıştır. Halbuki bu durum ancak laboratuvarında analizle anlaşılır. İnek sütü tereyağı, yukarıda da bahsedildiği gibi hem renksiz

olan A vitamini ve sarı renkli β -karoten varlığı nedeniyle beslemeye de bağlı olarak sarı, sarımsı, kremi renklerde olmaktadır. Ancak bu araştırmada özellikle 26 ve 33 numaralı örnekler başta olmak üzere 5, 9, 25, 26 ve 33 numaralı örneklerle normalin üzerinde boya katıldığı görülmektedir. Bu örneklerden 4'ünün açık yığın olarak, 1 örneğin de şeffaf streç film benzeri bir malzeme ile ambalajlanmış olması ve etiketinde bu konuda bir bilgi olmadığı göz önünde bulundurulduğunda, kontrolün ne kadar zor olacağı ortaya çıkmaktadır. Bunun yerine tüketici, tereyağının rengi konusunda bilimsel eğitim programları ile bilgilendirilmeli ve tereyağına renk maddesi katılmamalıdır.



Şekil 1. Yağ örneklerinin renk ve görünüş fotoğrafları

Figure 1. Color and appearance photos of fat samples

Tüketicilerin/okuyucuların meraklarını gidermek için, bu araştırmada incelenen tereyağların renk ve görünüşlerini yansıtan fotoğrafları Şekil 1 ve örnekler arasındaki renk farklılığı Şekil 2’de verilmiştir. Fotoğraflardan da görüleceği gibi 26 ve 33 numaralı örnekler başta olmak üzere 5, 6, 9, 25, 26 ve 33 numaralı yağ örneklerinin çok sarı olduğu panelistlerce de belirtilmiştir. Ayrıca 11, 12, 16, 17, 18, 22, 30 ve 32 numaralı örneklerin de tereyağında olmayacak margarinimsi, ransit tat ve kokuda ve tam beyaz olduğu belirtilmiştir. Bu

sonuçlar da tereyağı olarak satışa sunulan yağlarla ilgili sorunlar olduğunu göstermektedir. Her ne kadar Tebliğ ve Standartta süt yağı oranları farklı yağlar, farklı isimlerle ifade edilse de ve çeşnili tereyağı çeşitleri olsa da, bu araştırmada olduğu gibi çoğunun ambalajsız olması, sarılan ve etiket yapıştıırılanlarda da eksik bilgiler olması, bu yağların çoğunun hileli olduğunu göstermektedir. Çünkü 1 adet örnek hariç, 33 adet örnek tüketiciye “tereyağı” olarak sunulmakta ve fiyatları da tereyağı olanlara benzer fiyatlarla satılmaktadır.

Çizelge 2. Tereyağı olarak satılan yağların renk değerleri
 Table 2. Color values of fats sold as butter

Örnekler Samples	L^*	a^*	b^*	C^*	H°
1	84.20	-3.25	+26.89	27.08	96.8
2	84.28	-3.01	+25.05	25.22	96.8
3	84.05	-4.00	+24.86	25.17	99.1
4	86.29	-2.31	+21.92	22.04	96.0
5	84.15	-2.58	+31.20	31.30	94.7
6	82.91	-5.21	+27.80	28.28	100.6
7	86.06	-2.64	+22.09	22.24	96.8
8	86.51	-2.51	+23.75	23.88	96.0
9	84.76	-2.88	+29.25	29.39	95.6
10	84.15	-2.98	+28.13	28.28	96.0
11	83.59	-3.57	+22.89	23.16	98.8
12	85.63	-3.35	+20.34	20.61	99.3
13	79.76	-2.78	+28.42	28.55	95.5
14	82.07	-2.91	+18.40	18.62	98.9
15	83.37	-3.58	+19.57	19.89	100.3
16	83.32	-2.78	+17.15	17.37	99.2
17	86.04	-2.92	+16.42	16.67	100.0
18	84.51	-3.43	+20.23	20.51	99.6
19	83.93	-3.07	+25.60	25.78	96.8
20	84.21	-3.10	+24.66	24.85	97.1
21	81.69	-3.26	+22.87	23.09	98.0
22	86.12	-2.15	+13.80	13.96	98.8
23	84.73	-2.45	+21.13	21.27	96.6
24	86.32	-2.95	+21.94	22.13	97.6
25	83.45	-3.93	+30.46	30.71	97.3
26	79.90	-3.37	+42.18	42.31	94.5
27	83.40	-3.48	+21.78	22.05	99.0
28	85.83	-2.64	+24.01	24.15	96.2
29	84.59	-2.79	+23.18	23.35	96.8
30	84.36	-2.53	+17.15	17.33	98.4
31	83.14	-4.09	+25.60	25.92	99.1
32	83.71	-2.56	+16.82	17.01	98.6
33	83.05	-2.56	+38.91	38.99	93.7
34	83.35	-3.62	+26.38	26.62	97.8
En düşük/ <i>Min</i>	79.76	-5.21	+13.80	13.96	93.7
En yüksek/ <i>Max</i>	86.51	-2.15	+42.18	42.31	100.6



Şekil 2. Yağların renk ve görünüş farklılık aralığı
Figure 2. Color and appearance difference range of fats

SONUÇ

Son yıllarda tereyağına hile yapılması yaygınlaşmış olup bu durum, haklı olarak tüketicileri ve işini düzgün yapan tereyağı üreticilerini ilgilendirmekte/endişlendirmektedir. Tereyağı hileleri tüketicinin sağlığı ve beslenmesinde risk oluşturduğu gibi yağın lezzet kalitesini düşürdüğü için gündemdeki yerini korumaktadır. Bu konudaki şüpheler nedeniyle özellikle tereyağı, en fazla hile yapılan süt ürünü şüphesini üzerinde taşımaktadır. Bu bakımdan orijinallığı garantili tereyağına talep gittikçe artmaktadır. Bunun için, tüketicilere saf süt yağı içeren ve sağlıklı tereyağı sunmak önemli bir konu olarak ele alınmalıdır. Bu araştırmada elde edilen sonuçlar, bazı hükümler bakımından yürürlükteki Tebliğ ve Standarda, bazı özellikler bakımından da bilimsel gerçekler ve pratikteki değerlendirmelere bakılarak, genel olarak değerlendirildiğinde; örneklerin çoğunun çok şüpheli olduğu (yağ, R.M. sayısı, yağsız kurumadde, renk, fiyat açısından) görülmüştür. Örneklerin tamamında fazla sayıda maya ve küf belirlenmesi, yine çoğunda koliform bakteri bulunması; pastörize kremadan üretiminin ve hijyenik şartlara dikkat edilmesinin önemi ile ambalaj ve muhafaza sıcaklıklarının en uygun olarak sağlanmasının önemini ortaya koymuştur. Bu araştırma sonuçları, tereyağının üretim, muhafaza ve satış aşamalarındaki problemlerin artarak devam ettiğini, bu nedenle her aşamadaki kritik kontrol noktaları belirlenerek hijyenik şartların tam olarak sağlanması gerektiğini göstermiştir. Daha da önemlisi, yasa koyucu makamların bu konuya tam olarak eğilmeleri,

standart veya tebliğ ikileme kargaşasını teke indirmeleri, Tebliğ (Anonymous, 2005) ve Standarttaki (Anonymous, 2015) belirsizlikler, olması gerekenler ve fazlalıklar düzeltilmeli, hile yapmaya açık hususlar netleştirilmelidir. Mevcut haliyle hem kontrolün zor olduğu hem de tüketici ve tüketici yanında olan işini layıkıyla yapan üreticinin korunmasının mümkün olmayacağı ortaya çıkmıştır.

TEŞEKKÜR

Renk değerlerinin ölçülmesinde laboratuvar desteği veren Prof. Dr. M. Murat Karaoğlu'na teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKILARI

SÇ, araştırmanın planlanması, yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yazımını sağlamıştır. KÇ, örneklerin alınması ve analizlerin yapılmasına büyük katkı sağlamıştır. HE ve HÇ, analizlerin yapılmasına katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

Altun, S.K., Savrunlu, M., Paksoy, N. (2017). Şanlıurfa ilinde üretilen sadeyağların Reichert Meissl sayılarının tespiti. *Mehmet Akif Ersoy Üniv Vet Fak Derg*, 2(2): 109-115. DOI: 10.24880/maevufd.344667

Anonymous (2005). Türk Gıda Kodeksi. Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği (Tebliğ No: 2005/19). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 12 Nisan 2005 tarih ve 25784 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

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

Anonymous (2015). Tereyağı Standardı (2. Baskı) (TS 1331). ICS 67.100.20; 67.200.10, Türk Standardları Enstitüsü, Necatibey Caddesi No. 112, Bakanlıklar, Ankara.

- Anonymous (2019). <http://www.erzurumgazetesi.com.tr/haber/Erzurum-sut-ureticilerinden-tereyaği-tepkisi/129371> (Erişim tarihi: 08.03.2020).
- Anwar, F., Siddiq, A., Iqbal, S., Asi, M.R. (2007). Stabilization of sunflower oil with Moringa oleifera leaves under ambient storage. *J Food Lipid*, 14: 35-49. DOI:org/10.1111/ j.1745-4522.2006.00069.x
- Asha, A., Manjunatha, M., Rekha, R.M., Surendranath, B., Heartwin, P., Rao, J., Magdaline, E., Sinha, C. (2015). Antioxidant activities of orange peel extract in ghee (butter oil) stored at different storage temperatures. *J Food Sci Technol*, 52(12): 8220-8227. DOI: 10.1007/s13197-015-1911-3
- Atamer, M. (1993). *Tereyağı Teknolojisi Uygulama Klavuzu*. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 1314.
- Atamer, M., şenel, E. (2014). *Tereyağı Teknolojisi*. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Süt Teknol. Böl. Ankara.
- Bakırcı, İ., Çelik, ř., Özdemir, C. (2002). The effects of commercial starter culture and storage temperature on the oxidative stability and diacetyl production in butter. *Int J Dairy Technol*, 55(4): 177-181. DOI: 10.1046/j.1471-0307.2002.00056.x
- Bhardwaj, S., Passi, S.J., Misra, A. (2011). Overview of trans fatty acids: Biochemistry and health effects. *Diabetes Metab Syndr*, 5(3): 161-164. DOI: 10.1016/j.dsx.2012.03.002
- Çakmakçı, S., Tahmas Kahyaoglu, D. (2012). Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkilerine genel bir bakış. *Akademik Gıda*, 10(1): 103-113.
- Dıraman, H. (2006). Tereyağı ve zeytinyağında muhtemel tağışışlerin kapiler kolon gaz kromatografisi yöntemi kullanılarak *cis-trans* yağ asitleri düzeyi ile belirlenmesi üzerine bir çalışma. *Akademik Gıda*, 4(23): 3-10.
- Gündoğdu, E. (2012). Yoğurttan ve kremadan üretilen tereyağlarının aroma profili ve bazı kalite özellikleri üzerine kültür kullanımının ve muhafaza süresinin etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye.
- Harrigan, W.F. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Academic Press, San Diego, USA. 532 p.
- Hayaloğlu, A.A. (1999). Malatya yöresinde kremadan ve yoğurttan elde edilen çeşitli tereyağlarının fizikokimyasal mikrobiyolojik ve duyuşal nitelikleri üzerine karşılaştırma bir araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye.
- Kanner, J. (2007). Dietary advanced lipid oxidation endproducts are risk factors to human health. *Mol Nutr Food Res*, 51: 1094-1101. DOI: 10.1002/mnfr.200600303
- Karoui, R., De Baerdemaeker, J. (2007). A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products. *Food Chem*, 102: 621-640. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.05.042
- Keskin, M., Setlek, P., Demir, S. (2017). Use of color measurement systems in food science and agriculture. International Advanced Researches and Engineering Congress 2017 (IAREC' 17) Proceeding Book ISBN: 978-605-245-037-6, pp. 2350-2359.
- Koca, N., Kocaoglu-Vurma, N.A., Harper, W.J., Rodriguez-Saona, L.E. (2010). Application of temperature controlled attenuated total reflectance-mid-infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration. *Food Chem*. 121:778-82.
- Konica Minolta, (2007). Precise color communication. Konica Minolta Photo Sensing Inc., Japan. https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color_communication.pdf(Erişim tarihi: 10.04.2020).
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (2012). *Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi* (Genişletilmiş 10. Baskı). Atatürk Üniv. Yay. No: 252/d, Ziraat Fak. Yay. No: 18, Erzurum.
- Lambelet, P., Ganguli, N.C. (1983). Detection of pig and buffalo body fat in cow and buffalo ghees by differential scanning calorimetry. *J Am Oil*

Chem Soc, 60: 1005-1008. DOI: [org/10.1007/BF02660216](https://doi.org/10.1007/BF02660216)

Marikkar, J.M.N., Ghazali, H.M., Man, Y.B.C., Lai, O.M. (2002). The use of cooling and heating thermograms for monitoring of tallow, lard and chicken fat adulterations in canola oil. *Food Res Int*, 35: 1007-1014. DOI: [org/10.1016/S0963-9969\(02\)00162-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00162-X)

Metin, M., Öztürk, G.F. (2002). *Süt ve Mamulleri Analiz Yöntemleri*. Ege Üniv. Ege Meslek Yüksekokulu Yay. No: 24, Bornova-İzmir.

Öztürk, S., Çakmakçı, S. (2006). The effect of antioxidants on butter in relation to storage temperature and duration. *Eur J Lipid Sci Technol*, 108: 951-959. DOI: [10.1002/ejlt.200600089](https://doi.org/10.1002/ejlt.200600089)

Pradhan, P. (2016). Effect of addition of palm oil, rapeseed oil, soyabean oil on reichert meissl value of cow milk fat. Ph.D. Dissertation, West Bengal University, Kolkata, India, 54 p.

Savaş Bahçeci, K., Acar, J. (2020). Renk analizi. http://web.hitit.edu.tr/dosyalar/duyurular/hulya_cakmak@hititedutr011220189A6L8V9X.pdf (Erişim tarihi: 08.04.2020).

Şenel, E., Atamer, M., Öztekin, F.Ş. (2011). The oxidative and lipolytic stability of Yayık butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt. *Food Chem*, 127(1): 333-339. DOI: [org/10.1016/j.foodchem.2011.01.012](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.012)

Tahmas Kahyaoglu, D., Çakmakçı, S. (2016). Determination of adulteration of butter with

margarine by using fat constants. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences*, 22(1): 1-8.

Tahmas Kahyaoglu, D., Çakmakçı, S. (2018). A comparative study on some properties and oxidation stability during storage of butter produced from different animals' milk. *Gıda*, 43(2): 283-293. DOI: [10.15237/gida.GD17081](https://doi.org/10.15237/gida.GD17081)

Tan, C.P., Man, Y.B.C. (2000). Differential Scanning Calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition. *J Am Oil Chem Soc*, 77: 143-155. DOI: [org/10.1007/s11746-000-0024-6](https://doi.org/10.1007/s11746-000-0024-6)

Taşan, M., Dağlıoğlu, O. (2005). *Trans* yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla alınması. *Tekirdağ Ziraat Fak Derg*, 2(1): 79-88.

Tekin, A. (2007). Margarin üretimi ve trans yağ asitleri. Bilinmeyen Yönleriyle Margarin ve Beslenmedeki Rolü (Konferans Notları, 29 Haziran,2007, İstanbul). MÜMSAD Yay. No: 1.

Vieira, S.A., Zhang, G., Decker, E.A. (2017). Biological implications of lipid oxidation products. *J Am Oil Chem Soc*, 94:339-351. DOI: [10.1007/s11746-017-2958-2](https://doi.org/10.1007/s11746-017-2958-2)

Yokuş, D., Karakuş, M.Ş., Atasoy, A.F. (2019). Koyun ve inek sütlerinden üretilen Şanlıurfa Sadeyağlarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Derg*, 23(4): 463-476. DOI: [10.29050/harranziraat.538220](https://doi.org/10.29050/harranziraat.538220)

INVESTIGATION OF PRODUCTION AND CHARACTERISTICS OF HOMEMADE YOGURT BY USING A COMMERCIAL PROBIOTIC CULTURE

Özüm Özoğlu^{1*}, Rukiye Çolak Şaşmaz¹, Zerrin Erginkaya², Mihriban Korukluoğlu¹

¹Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Bursa Uludağ University, Bursa, Turkey

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

Received / Geliş: 12.02.2020; Accepted/ Kabul: 29.06.2020; Published online / Online baskı: 11.08.2020

Özoğlu, Ö., Çolak Şaşmaz, R., Erginkaya, Z., Korukluoğlu, M. (2020). Surveying production and characteristics of homemade yogurt by using a commercial probiotic culture. *GIDA* (2020) 45(4) 814-824 doi: 10.15237/gida.GD20028

Özoğlu, Ö., Çolak Şaşmaz, R., Erginkaya, Z., Korukluoğlu, M. (2020). Ticari probiyotik kültür kullanılan ev yapımı yoğurt üretiminin ve özelliklerinin araştırılması. *GIDA* (2020) 45(4) 814-824 doi: 10.15237/gida.GD20028

ABSTRACT

In this study, probiotic homemade yogurt was made by using a commercial probiotic culture and its quality parameters were investigated on the 1st, 5th, 10th and 15th days of storage. For this purpose, probiotic and non-probiotic commercial yogurts were also investigated as control groups. According to the results obtained; level of total lactic acid bacteria, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* and pH values were not significantly changed in storage time for all samples (P >0.05). Any significant number of coliforms, mould or/and yeast were not observed in all samples (<10 CFU/g). Dry matter values were found similar among the milks used in yogurt makings, while fat and protein values showed difference. The homemade yogurt was not highly preferred by the panellists; however, it did not show any significant difference in the evaluation compared to the other yogurts (P >0.05).

Keywords: Homemade yogurt, probiotic, starter culture

TİCARİ PROBİYOTİK KÜLTÜR KULLANILAN EV YAPIMI YOĞURT ÜRETİMİNİN VE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZ

Bu çalışmada ticari probiyotik kültür kullanılarak probiyotik ev yapımı yoğurt yapılmış ve kalite parametreleri depolamanın 1., 5., 10. ve 15. günlerinde araştırılmıştır. Bu amaçla probiyotik ve probiyotik olmayan ticari yoğurtlar da kontrol grubu olarak araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; toplam laktik asit bakterisi, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* ve pH değerleri, tüm numuneler için saklama süresinde önemli ölçüde değişmemiştir (P >0.05). Tüm örneklerde önemli sayıda koliform, küf ve/veya maya gözlenmemiştir (<10 KOB/g). Yoğurt yapımında kullanılan sütler arasında kuru madde değerleri benzer bulunurken; yağ ve protein değerleri farklılık göstermiştir. Ev yapımı yoğurt, panellistler tarafından çok tercih edilen olmamıştır, ancak değerlendirmede diğer yoğurtlarla kıyaslandığında önemli ölçüde farklılık göstermemiştir (P >0.05).

Anahtar kelimeler: Ev yapımı yoğurt, probiyotik, starter kültür

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉ : ozoglu@uludag.edu.tr

☎ (+90) 224 294 1402

☎ (+90) 224 294 1509

Özüm Özoğlu ORCID ID: 0000-0003-3600-142X

Rukiye Çolak Şaşmaz ORCID ID: 0000-0002-1828-1205

Zerrin Erginkaya ORCID ID: 0000-0001-6208-2927

Mihriban Korukluoğlu ORCID ID: 0000-0003-3043-1904

INTRODUCTION

Yogurt is a traditional fermented dairy product that has been widely consumed for a long time (Herdem, 2006; Durak et al., 2008; Demirkaya and Ceylan, 2013; Çelik et al., 2016). Traditionally, yogurt is made by adding a part of the previous yogurt to milk (Durak et al., 2008). On the other hand, in commercial production of yogurt is made with milk fermentation by using two major lactic acid bacteria (LAB) symbiotic cultures which are *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*) and *Streptococcus thermophilus* (*St. thermophilus*). Fermentation of lactose by these bacteria produces lactic acid, which acts on milk protein to give texture and characteristic flavour of the yogurt (Aslim et al., 2006; Çayır and Şahan, 2007; Anonymous, 2009; Akpınar et al., 2011; Shima et al., 2012; Hakimi et al., 2013). Besides, yogurt is the most consumed dairy product due to the fact that it is suitable for lactose-intolerance people because of fermentation, desirable taste, wealthy nutrition contents and being more resistant to pathogen microorganisms (Herdem, 2006; Durak et al., 2008; Akpınar et al., 2011; Shima et al., 2012; Demirkaya and Ceylan, 2013; Çelik et al., 2016). Additionally, yogurt is a significant vehicle for probiotic microorganisms (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001; Shima et al., 2012; Batista et al., 2015; Shori, 2015). Probiotic microorganisms are living microorganisms containing *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and non-pathogenic yeasts which have beneficial effects on the host, especially the gastrointestinal system. Also, they should be found at least 10^6 CFU/g-mL in the products for admitting of the products as probiotics (Isolauri et al., 2001; Reid et al., 2003; Çayır and Şahan, 2007; Quigley, 2010; Lee et al., 2013; Quin et al., 2018). People tend to consume probiotic products because of their benefits on health. Thus, there has been an important increase in the production and consumption of probiotic food products especially dairy probiotic products like probiotic yogurts (Reid, 2015; Shori, 2015).

Consumers prefer to make their yogurt at home instead of buying commercial ones due to the admirable taste of homemade yogurt and the common thought that homemade yogurt is healthier than commercial yogurts (Herdem,

2006; Kaya et al., 2016). As a consequence of eating habits and trends on probiotic foods and homemade yogurts, commercial probiotic cultures used for making homemade yogurts have been started to be produced. In view of these considerations, the purpose of this study was to make homemade probiotic yogurt by using one of these cultures at home conditions and to compare some microbiological, physicochemical and sensory properties at 5-day intervals from 1st day to 15th day with commercial probiotic and without probiotic content (non-probiotic) yogurts which were obtained by the producer company (Bursa, TURKEY) in order to determine characteristics of the homemade probiotic yogurt.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of yogurt samples

Homemade probiotic yogurt was made under home conditions by using starter culture which was bought from a supermarket in Bursa-TURKEY based on the directions written on the package. Then, the milk (1 Lt) to be used for yogurt preparation were boiled for 10-15 minutes. Furthermore, to activate the culture contents in the sachet, it was emptied into one glass of the warm milk, mixed well and then left for activation for 15-20 min. Then, the activated starter culture was added to the milk cooled down to 45°C and mixed well. Following this, the milk was left for incubation at room temperature for 7-8 hours. Then, the prepared yogurt was stored at 4°C. Regarding to label information of the commercial starter culture; it was contained *St. thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*), *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (*B. animalis* ssp. *lactis*) and lactose.

Commercial probiotic and non-supplement probiotic yogurts were supplied from production lines of a company in Bursa, TURKEY. According to informing of the company, the yogurt samples were prepared based on the following instructions. After pasteurization of milk at 90°C for 7-8 minutes, the cultures (in the ratio of 1.5-2 %) were added to milk cooled down up to 42°C and mixed well. After that, they were left for incubation for 4 hours. Then, the prepared

yogurts were stored at 4°C. Besides, *B. animalis* subsp. *lactis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *St. thermophilus* culture composition was used as probiotic microorganisms on the commercial probiotic yogurt sample.

All yogurt samples were prepared by using commercial homogenized and UHT (Ultra High Temperature) milks in the same amount (1 Lt). Although all milk samples belonged to the same company, they had different lot numbers due to the production process of the company. In addition, all yogurt samples were stored at 4°C after production during the 15-day period.

Microbiological analyses

Microbiological analyses were performed by using some reference methods for milk products which were detailed below. Inoculations were performed by Pour Plate Technique for all protocols in proper incubation conditions for each of them. Besides, all analyses were done in triplicate. Furthermore, all samples were checked every 5 days during the 15-day period (ISO 6611:2004; ISO 20128:2006; ISO 4832:2006; Moreno et al., 2006; ISO 29981:2010).

Number of *St. thermophilus* and *L. bulgaricus* were calculated and gathered for determination of total LAB. Inoculation was done from the 3rd, 4th and 5th dilutions of five-fold serial dilutions at a sterile UV cabinet. In line with this purpose, M17 Agar (Oxoid) and MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) Agar (Oxoid) were used as media for *St. thermophilus* and *L. bulgaricus*, respectively. Meanwhile Petri Dishes containing M17 Agar were incubated at 37°C for 48 hours and opaque colonies in diameter of 3-4mm were calculated. Similarly, Petri Dishes containing MRS Agar were incubated at 37°C for 72 hours and opaque colonies were calculated (Moreno et al., 2006).

With the addition of 5 ml of CyHCl (Merck 2839) stock solution and 2.5 ml Mupirocin (LGC promochem, art no. EPM3806000) stock solution per liter of the medium, MRS (Difco 288210) Agar was prepared as a medium for enumeration of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*. Inoculation was performed from 3rd, 4th and 5th dilutions of

five-fold serial dilutions. Then, incubation was ensured at 37°C for 72 hours under anaerobic conditions. At the end, all colonies were counted as *B. animalis* ssp. *lactis* (ISO 29981:2010).

With addition of 0.5 ml of clindamycin (Sigma C5269) stock solution per liter of the medium, MRS (Difco 288210) Agar was prepared as a medium for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Inoculation was done from 3rd, 4th and 5th dilutions of five-fold serial dilutions. Moreover, anaerobic incubation was performed at 37°C for 72 hours. Finally, all colonies are counted as *L. acidophilus* (ISO 20128:2006).

To determine the number of coliforms, samples were diluted in ways that been five-fold serial dilutions and inoculation was done from all dilutions to Petri Dishes containing VRBL (Violet Red Bile Lactose) Agar (Oxoid). Then, incubation was performed at 30°C for 24 hours. After the incubation process, dark red coloured colonies, which were minimum 0.5 mm in diameter, were counted (ISO 4832:2006).

For the enumeration of yeasts and/or moulds, samples were inoculated to Malt Extract Agar (Oxoid) and aerobically incubated at 25°C for 5 days. Then, colonies were counted. Also, samples were renewed in each analysis day (ISO 6611:2004).

Physico-chemical analyses

Determination of dry matter, fat and protein in the milk sample used to make the homemade probiotic yogurt were done by some reference methods which were the same as the methods applied on milks using for commercial yogurts. Determination of dry matter on milks was done according to AOAC 1990 Methods by using a drying oven (Nüve KD 200) (Helrich, 1990). Fat and protein in milk were determined regarding to Gerber Method and Kjeldahl Method (Foss Kjeltac 8000), respectively (Helrich, 1990; Kleyn et al., 2001). pH values were measured in triplicate directly using hand type pH meter with a standard pH probe (Mettler Toledo- SG2-FK).

Sensory analysis

Sensory analysis of the yogurt samples were done with 9 trained panellists by using the 9-point hedonic scale (Lawless and Heymann, 2003). The panellists scored the yogurt samples in terms of flavour, odour, colour and consistency properties.

Statistical analysis

Data that collected in the context of the study were statistically analysed by IBM SPSS Software (Version 2.1.) and Minitab ANOVA. Results were double checked with these programmes. Additionally, the statistically significant differences between the values were determined by Tukey's test ($P < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological evaluations

Number of total LAB, *B. animalis* ssp. *lactis* and *L. acidophilus* in the yogurt samples, which were stored at 4°C, on the 1st, 5th, 10th and 15th days were shown in Figures 1, 2 and 3, respectively.

As seen in the figures, level of the LAB in the homemade probiotic, commercial probiotic and commercial non-probiotic yogurt samples were found roughly 9, 8 and 7 log CFU/g, respectively. Similar results were obtained by the studies of Moreno et al. (2006) and Sarica et al. (2019). Similar to other fermented samples in the study of Moreno et al. (2006), number of LAB was observed higher than 7 log CFU/g in probiotic and traditional yogurt samples in this study. In the study of Sarica et al. (2019), numbers of LAB (*Lactococcus* and *Lactobacillus*) were found approximately 9 and 8 log CFU/g in homemade yogurts made by buffalo and cow milks during 28-day storage (Sarica et al., 2019). Then, the level of *B. animalis* ssp. *lactis* in the homemade probiotic and commercial probiotic yogurt samples were almost 8 and 6, respectively. Besides, the level of *L. acidophilus* in the samples were roughly 7 log CFU/g. Also, enumeration of bifidobacteria and *L. acidophilus* was not needed for commercial non-probiotic yogurt due to the fact that no supplemented probiotic microorganisms, when the yogurt was produced. Additionally, in terms of bacterial counts there was not any significant

difference ($P > 0.05$) among the storage periods of the samples.

According to Figure 2, the level of *B. animalis* ssp. *lactis* in the homemade probiotic and commercial probiotic yogurt samples changed from 8.21 to 8.04 and from 6.52 to 6.29 between 1st and 15th storage days respectively. Also, as seen in Figure 3, the level of *L. acidophilus* in the homemade probiotic and commercial probiotic yogurt samples decreased from 7.36 to 7.17 and from 7.79 to 7.62 between the 1st and 15th storage days respectively. Furthermore, a food matrix should contain a minimum of 10^6 CFU/g-mL (≥ 6 log CFU/g) viable probiotic microorganism in order for it to be accepted as a probiotic food (Yerlikaya, 2014; Mohammadi et al., 2017). Thus, in the study it was observed that amounts of probiotic cultures protected their 6, 7 and 8 log CFU/g level during the 15-day investigation period. Therefore, the probiotic yogurt products in this study certainly showed probiotic characteristics. In the study of Cruz et al. (2012), probiotic yogurts that containing different ratios of glucose oxidase (0 to 1000 mg/kg) were investigated during 30 days with 15-day intervals. Levels of *St. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. longum*, and *L. acidophilus* which changed from 9 to 6 log CFU/g were saved during storage time (Cruz et al., 2012). Their results were similar to the current study.

In the current study, number of coliforms, mould and yeast were found below 1 log CFU/g (< 10 CFU/g) on the 1st, 5th, 10th and 15th days in all yogurt samples. Even though homemade probiotic yogurt was prepared under home conditions, making point of working sterile and using UHT milk should affect that not to seen any coliforms and mould or/and yeast growth as well as the commercial yogurts. Besides, probiotic microorganisms and some LAB have inhibition effects on pathogen microorganisms including coliforms, mould and yeast (Dias et al., 2013; Simone et al., 2014; Tripathi and Giri, 2014; Tatsadjieu et al., 2016; Abhisingha et al., 2018).

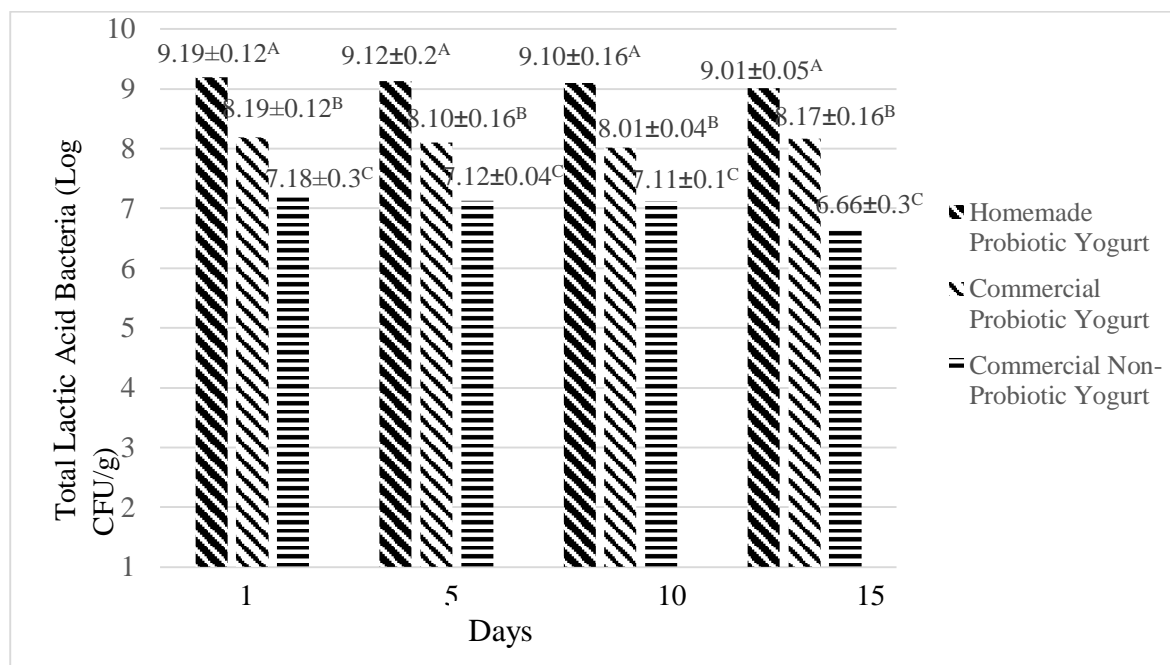


Figure 1. The number of total LAB in homemade probiotic, commercial probiotic and non-probiotic yogurts. (Values followed by the same capital letters in bars are not significantly different (P < 0.05).)

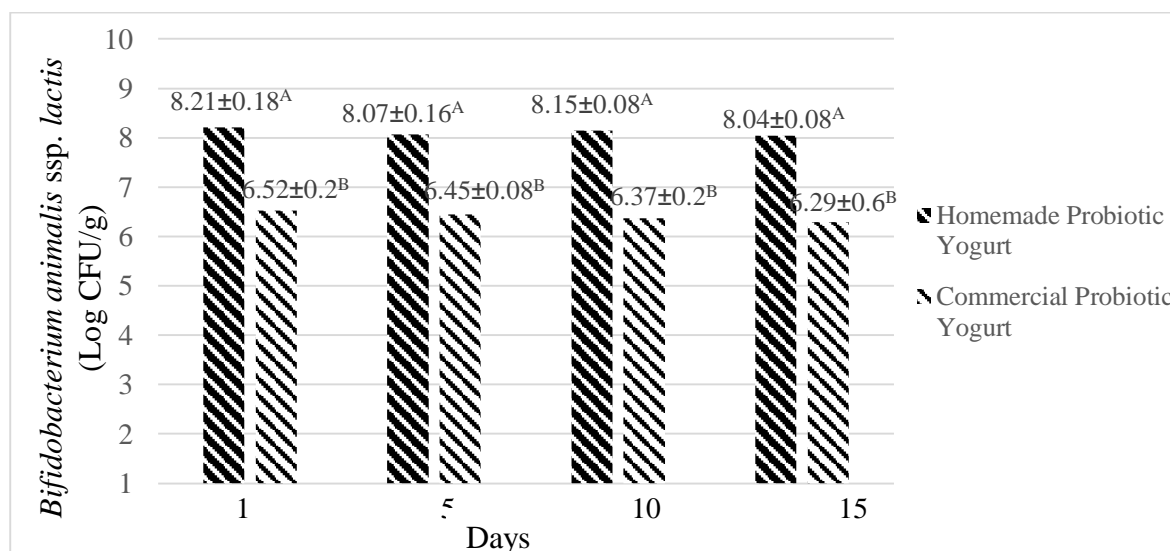


Figure 2. The number of *B. animalis ssp. lactis* in homemade probiotic and commercial probiotic yogurts. (Values followed by the same capital letters in bars are not significantly different (P < 0.05).)

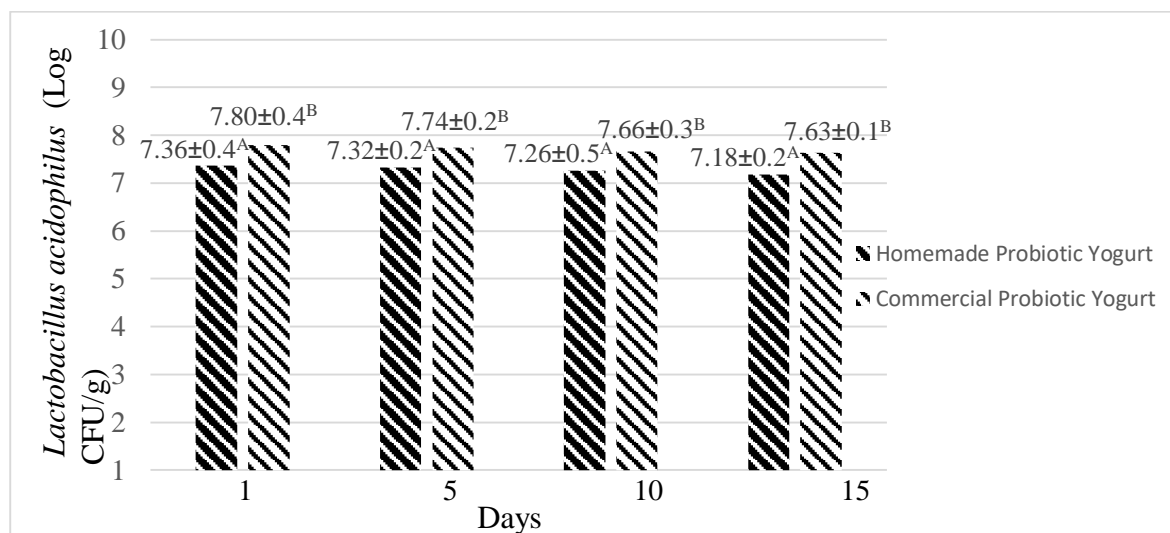


Figure 3. The number of *L. acidophilus* in homemade probiotic and commercial probiotic yogurts. (Values followed by the same capital letters in bars are not significantly different ($P < 0.05$).

Similar to this study, in the study of Dias et al. (2013) done with symbiotic fermented drink; growth of any coliforms and *Salmonella* spp. was not observed as a result of sterile working and inhibition effect of symbiotic.

Physico-chemical changes

Amounts of dry matter, protein and fat in milk samples used for producing probiotic homemade, commercial non-probiotic and commercial probiotic yogurts were demonstrated at Table 1 in percentages. The values for the commercial yogurts were taken from the producing company.

As seen in Table 1, dry matter contents of all milks were similar. Also, protein and fat contents of milks used for homemade probiotic yogurt and commercial non-probiotic yogurt were close to each other. On the other hand, these values were higher than that of the milk used for the commercial probiotic yogurt. However, the differences among the milks did not affect the pH values and sensory properties of the yogurt samples (as seen in Table 2 and Table 3 respectively). In addition, contents of dry matter, fat and protein of the milk samples were similar to the milks used for producing yogurts in the studies of Çayır and Şahan (2007) and Sarıca et al. (2019).

pH values of all three yogurt samples were measured in triplicate at 5-day intervals between the 1st day and 15th day. Changes on the values were indicated with mean values and standard deviations at Table 2.

It is obviously seen in Table 2 that, any significant decrease in pH values of all yogurt samples was not observed during the 15-day study period. The result was similar to the study of Mohammadi et al. (2017) focusing on probiotic fermented composite drink; in that study, major decreases were not observed on pH values of the fermented probiotic drink samples (Mohammadi et al., 2017). Besides, there was not any statistical difference between pH properties of yogurt samples. Additionally, pH values of the yogurts slightly decreased during storage due to the higher amount of LAB that were produced acids (Cruz et al., 2012; Dias et al., 2013; Turgut and Cakmakci, 2018). In terms of the 1st day, pH value results were similar to results of the study of Turgut and Cakmakci (2018); however, compared to the current study, much more decrease were observed in pH values (from 4.415 to 4.180) on the other 14-day period in that study. The reason of that, probiotic strawberry yogurt was investigated in the mentioned study. That is, fruits could have an effect on the dropping of pH values because of the acid content of them (Kandyliş et al., 2016).

Table 1. Amounts of dry matter, protein and fat in milks used making the yogurt samples.

Samples	Dry Matter (%)	Protein (%)	Fat (%)
Homemade Probiotic Yogurt	11.25	2.95	3.05
Commercial Probiotic Yogurt	11.15	4.00	3.70
Commercial Non-Probiotic Yogurt	11.45	3.01	3.01

Table 2. pH values of the yogurt samples at the 1st, 5th, 10th and 15th days.

Sample/ Days	Homemade Probiotic Yogurt	Commercial Probiotic Yogurt	Commercial Non-Probiotic Yogurt
1	4.45±0.005 ^{A,a}	4.48±0.005 ^{A,a}	4.48±0.009 ^{A,a}
5	4.36±0.005 ^{B,a}	4.36±0.005 ^{B,a}	4.41±0.017 ^{B,a}
10	4.34±0.008 ^{B,a}	4.34±0.008 ^{B,a}	4.33±0.012 ^{C,a}
15	4.30±0.005 ^{C,a}	4.30±0.012 ^{C,a}	4.32±0.005 ^{C,a}

* Values followed by the same capital letters in columns are not significantly different (P <0.05).

*Values followed by the same small letters in rows are not significantly different (P <0.05).

Evaluation of sensory analysis

The yogurt samples were evaluated by 9 trained panellists in terms of four different sensory characteristics (flavour, odour, colour and consistency). The results related to the panellists'

evaluation scores which were ranked from 1 to 9 (1: extremely dislike and 9: extremely like) were given in Table 3.

Table 3. Sensory analysis results of the yogurt samples based on the evaluation scores of the 9 panellists (mean and standard deviation).

Samples	Days	Flavour	Odour	Colour	Consistency
Homemade Probiotic Yogurt	1	7.00±1.25 ^{AB}	7.56±1.06 ^{AB}	7.56±1.16 ^A	6.44±1.71 ^B
	5	7.56±0.68 ^{AB}	7.89±0.73 ^{AB}	7.78±0.79 ^A	7.22±1.31 ^B
	10	7.44±0.68 ^{AB}	7.78±0.63 ^{AB}	7.78±0.63 ^A	7.00±1.15 ^B
	15	6.80±0.98 ^{AB}	7.00±1.55 ^{AB}	7.60±0.49 ^A	7.20±1.83 ^B
Commercial Probiotic Yogurt	1	7.30±1.10 ^{AB}	7.85±0.98 ^{AB}	7.72±1.07 ^A	7.30±1.06 ^B
	5	7.82±0.76 ^{AB}	7.80±0.77 ^{AB}	7.80±0.83 ^A	7.15±1.21 ^B
	10	7.73±0.89 ^{AB}	7.69±1.38 ^{AB}	7.80±0.81 ^A	7.43±1.29 ^B
	15	6.80±1.23 ^{AB}	6.80±1.15 ^{AB}	7.53±0.80 ^A	7.22±1.43 ^B
Commercial Non-Probiotic Yogurt	1	8.11±0.87 ^{AB}	8.00±0.82 ^{AB}	8.11±0.88 ^A	7.78±1.03 ^B
	5	8.22±1.23 ^{AB}	8.00±0.82 ^{AB}	8.11±0.88 ^A	8.11±1.10 ^B
	10	7.22±1.40 ^{AB}	7.67±1.05 ^{AB}	8.11±0.88 ^A	7.56±1.34 ^B
	15	6.80±1.47 ^{AB}	8.33±0.47 ^{AB}	7.40±0.80 ^A	6.80±0.98 ^B

* Values followed by the same capital letters in columns are not significantly different (P <0.05).

According to the results evaluating general admiration for the 15-day period, while commercial non-probiotic yogurt was the yogurt most liked by the panellists, homemade probiotic yogurt was the least desired. Also, when the evaluation results of 9 panellists were compared

statistically with each other for three replicates; it was observed that variations were not significant among the panellists' surveys (P >0.05) although the properties were changed day by day (P <0.05).

Nevertheless, when the sensory characteristics of the yogurt samples were tested by untrained panellists (the results were not given), it was seen that homemade commercial probiotic yogurt was highly preferred.

According to the table, the overall acceptability of the yogurt samples was higher than 7.0 (moderately like) which means all of the samples have a good overall acceptability. Also, it could be deduced that to guarantee consumers' admiration, a 10-day storage period was better for the yogurt samples.

When the results were compared with the study of Akalın et al. (2012) investigating probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate, it was seen that alterations of the scores were roughly the same as the current study. Furthermore, sensory characteristics of the sample were evaluated by every two weeks in a 28-day period and as in the current study, scores of admiration were observed to decrease slowly by time as roughly from 5 to 4 on the basis of 5 like the recent study. Moreover, the yogurts were generally found desirable as in the current study. Besides, according to the study of Kailasapathy (2006) conducted with probiotic yogurts that were included free and encapsulated probiotics, the panellists found the yogurt samples moderately desirable. The reason for this was that consuming probiotic products was not as common as known and people could not like the taste of these yogurts because they did not familiar with the taste of them. Moreover, it might also have been related to using different probiotic culture (*L. acidophilus* and *B. lactis*) instead of common substrain (*B. animalis* ssp. *lactis* and *L. acidophilus*).

CONCLUSION

The results of this study indicated that the homemade probiotic yogurt sample made by using commercial probiotic culture did not show any significant variation ($P > 0.05$) in terms of microbiological, physicochemical and sensory properties compared to the commercial yogurt samples (probiotic and non-probiotic). The level of probiotic microorganisms was appropriate for

the product to be accepted as probiotic and was stable during storage. Besides, any growth of mould, yeast and coliforms was not observed. Also, the yogurt maintained its pH and sensory characteristics during 15-day storage however, it was concluded that for a better acceptable taste, the yogurt should be consumed within 10 days. Recently, people tend to consume either homemade or probiotic products due to health benefits of probiotics and popular thought that homemade yogurt was healthier than commercial ones. Therefore, consuming commercial products are safety by taking into consideration however, homemade probiotic yogurts are prepared with commercial probiotic cultures can be a good alternative to consume probiotic products.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interests.

AUTHOR CONTRIBUTION

ÖÖ and RÇŞ performed all of the analyses. ÖÖ wrote the paper. RÇŞ provided the milk and yogurt samples. MK designed the research. MK and ZE evaluated the results. All authors have read and agreed to the published version of the paper.

REFERENCES

- Abhisingha, M., Dumnil, J., Pitaksutheepong, C. (2018). Selection of potential probiotic *Lactobacillus* with inhibitory activity against *Salmonella* and fecal coliform bacteria. *Probiotics Antimicrob Proteins* 10(2): 218-227. doi:10.1007/s12602-017-9304-8.
- Akalın, A. S., Unal, G., Dinkci, N., Hayaloglu, A. A. (2012). Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *J Dairy Sci* 95(7): 3617-3628. doi:10.3168/jds.2011-5297.
- Akpinar, A., Yerlikaya, O., Kiliç, S. (2011). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish homemade yoghurts. *African J Microbiol Res* 5(6): 675-682. doi:10.5897/AJMR10.835.

- Anonymous (2009). Türk gıda kodeksi. Fermente süt ürünleri tebliği (2009/25). Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı. 16 Şubat 2009 tarih ve 27143 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Aslim, B., Beyatli, Y., Yuksekdağ, Z. N. (2006). Productions and monomer compositions of exopolysaccharides by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from traditional home-made yoghurts and raw milk. *Int J Food Sci Technol* 41(8): 973–979. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.01155.x.
- Batista, A. L. D., Silva, R., Cappato, L. P., Almada, C. N., Garcia, R. K. A., Silva, M. C., et al. (2015). Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses. *Food Res Int* 77: 627-635. doi:10.1016/j.foodres.2015.08.017.
- Cruz, A. G., Castro, W. F., Faria, J. A. F., Lollo, P. C. B., Amaya-Farfán, J., Freitas, M. Q., et al. (2012). Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production of organic acid and aroma compounds. *J Dairy Sci* 95(5): 2261–2269. doi:10.3168/jds.2011-4582.
- Çayır, M. S., Şahan, N. (2007). Probiyotik kültür kullanılarak üretilen kayısı katkılı yoğurtların fizikokimyasal özellikleri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 75 s.
- Çelik, H., Durak, Y., Uysal, A. (2016). Bazı ticari ve ev yapımı yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıkları. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Derg* 42(2): 149-160.
- Demirkaya, A. K., Ceylan, Z. G. (2013). Bilecik'te tüketime sunulan yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 8(3): 202-209.
- Dias, M. de L. L. A., Salgado, S. M., Guerra, N. B., Livera, A. V. S., Andrade, S. A. C., Ximenes, G. N. da C. (2013). Phisicochemical, sensory, and microbiological evaluation and development of symbiotic fermented drink. *Food Sci Technol* 33(4): 805–811. doi:10.1590/S0101-20612013000400030.
- Durak, Y., Keleş, F., Uysal, A., Aladağ, M. O. (2008). Konya yöresi taze ev yapımı yoğurtların mikrobiyolojik özelliklerinin araştırılması. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg* 22(44): 113-117.
- Hakimi, S., Rohani, J. bin M., Hemmatboland, M. (2013). *Application of design of experiments to homemade yogurt production process. International Conference on Robust Quality Engineering*, Taguchi, S. (chief ed.), Volume 1, UTM Razak School, the Malaysia, pp.75-79. doi:10.1016/S0090-8258(15)01318-9.
- Helrich, K. (1990). *AOAC: official methods of analysis*. 15th Edition, Association of Official Agricultural Chemists, Virginia, the USA, 552 p. doi:10.1371/journal.pone.0013135.
- Herdem, A. (2006). Farklı yörelerden toplanan geleneksel yöntemle üretilen yoğurt örneklerinin bazı niteliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 85 s.
- ISO 20128:2006 - Milk products - Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium - Colony-count technique at 37 degrees C. <https://www.iso.org/standard/35292.html> (Accessed 31 August 2018).
- ISO 29981:2010 - Milk products - Enumeration of presumptive bifidobacteria - Colony count technique at 37 degrees C. <https://www.iso.org/standard/45765.html> (Accessed 31 August 2018).
- ISO 4832:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony-count technique. <https://www.iso.org/standard/38282.html> (Accessed 31 August 2018).
- ISO 6611:2004 - Milk and milk products - Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds - Colony-count technique at 25 degrees C. <https://www.iso.org/standard/40473.html> (Accessed 31 August 2018).
- Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H., and Salminen, S. (2001).

- Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 73(2): 444-450.
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT - Food Sci Technol* 39(10): 1221-1227. doi:10.1016/j.lwt.2005.07.013.
- Kandyliş, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M. and Koutinas, A. A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Curr Opin Food Sci*. 7: 58-6. doi: 10.1016/j.cofs.2015.11.012.
- Kaya, Z., Yiğit, Ö., Erol, M., Gayret, Ö. B. (2016). Altı-yirmi dört ay arası yaş grubunda beslenmeyle ilgili anne ve babaların bilgi ve deneyimlerinin değerlendirilmesi. *Haseki Tıp Bul* 54(2): 70-75. doi:10.4274/haseki.2756.
- Khan, S. U. (2014). Probiotics in dairy foods: a review. *Nutr Food Sci* 44(1): 71-88. doi:10.1108/NFS-04-2013-0051.
- Kleyn, D. H., Lynch, J. M., Barbano, D. M., Bloom, M. J., and Mitchell, M. W. (2001). Determination of fat in raw and processed milks by the gerber method: collaborative study. *J AOAC Int* 84(5): 1499-1508.
- Lawless, H. T., Heymann, H. (2003). *Sensory Evaluation of Food*. 2nd Edition, Springer Science+Business Media, New York, the USA, 596p. ISBN: 9781441964878 doi:10.1007/978-1-4419-6488-5.
- Lee, P. R., Boo, C. X., Liu, S. Q. (2013). Fermentation of coconut water by probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. *Ann Microbiol* 63(4): 1441-1450. doi:10.1007/s13213-013-0607-z.
- Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J* 11(1-2): 1-17. doi:10.1016/S0958-6946(01)00036-X.
- Mohammadi, R., Yousefi, M., Sarlak, Z., Shah, N. P., Mortazavian, A. M., Sadeghi, E., et al. (2017). Influence of commercial culture composition and cow milk to soy milk ratio on the biochemical, microbiological, and sensory characteristics of a probiotic fermented composite drink. *Food Sci Biotechnol* 26(3): 749-757. doi:10.1007/s10068-017-0097-z.
- Moreno, Y., Collado, M. C., Ferrús, M. A., Cobo, J. M., Hernández, E., and Hernández, M. (2006). Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4 °C using LIVE/DEAD® BacLight™ staining and conventional plate counts. *Int J Food Sci Technol* 41(3): 275-280. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.01060.x.
- Quigley, E. M. M. (2010). Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. *Pharmacol Res* 61(3): 213-218. doi:10.1016/j.phrs.2010.01.004.
- Quin, C., Estaki, M., Vollman, D. M., Barnett, J. A., Gill, S. K., Gibson, D. L. (2018). Probiotic supplementation and associated infant gut microbiome and health: A cautionary retrospective clinical comparison. *Sci Rep* 8(1): 1-16. doi:10.1038/s41598-018-26423-3.
- Reid, G., Sanders, M. E., Gaskins, H. R., Gibson, G. R., Mercenier, A., Rastall, R., Roberfroid, M., Rowland, I., Cherbut, C., and Klaenhammer, T. R. (2003). New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 37(2): 105-118.
- Reid, G. (2015). The growth potential for dairy probiotics. *Int Dairy J* 49: 16-22. doi:10.1016/j.idairyj.2015.04.004.
- Shima, R., Salina, H. F., Masniza, M., Atiqah, H. (2012). Viability of lactic acid bacteria in home made yogurt containing sago starch oligosaccharides. *Int J Basic Appl Sci* 12(1): 58-62.
- Shori, A. B. (2015). The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. *Biocatal Agric Biotechnol* 4(4): 423-431. doi:10.1016/j.bcab.2015.09.010.
- Simone, M., Gozzoli, C., Quartieri, A., Mazzola, G., Di Gioia, D., Amaretti, A., et al. (2014). The probiotic bifidobacterium breve B632 inhibited the growth of *Enterobacteriaceae* within colicky infant microbiota cultures. *Biomed Res Int* 2014. doi:10.1155/2014/301053.
- Tatsadjieu, L. N., Tchikoua, R., Funtong, C. M. M. (2016). Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria against Molds Isolated from Corn and Fermented Corn Paste. *Am J Microbiol Res Vol. 4*,

2016, *Pages 90-100* 4, 90-100. doi:10.12691/AJMR-4-4-1.

Tripathi, M. K., Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: survival of probiotics during processing and storage. *J Funct Foods* 9(1): 225-241. doi:10.1016/j.jff.2014.04.030.

Turgut, T., Cakmakci, S. (2018). probiotic strawberry yogurts: microbiological, chemical and

sensory properties. *Probiotics Antimicrob Proteins* 10(1): 64-70. doi:10.1007/s12602-017-9278-6.

Yerlikaya, O. (2014). Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. *Food Sci Technol* 34(2): 221-229. doi:10.1590/fst.2014.0050.



RESIDUAL NITRITE CONTENT OF HEAT-TREATED SUCUK AS AFFECTED BY CHARD POWDER INCORPORATION AND PROCESSING

Burcu Öztürk-Kerimoğlu*, Meltem Serdaroğlu

Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, 35100, Bornova, Izmir, Turkey

Received/ Geliş: 04.05.2020; Accepted/ Kabul: 20.07.2020; Published online/ Online baskı: 11.08.2020

Öztürk-Kerimoğlu, B., Serdaroğlu, M. (2020). Residual nitrite content of heat-treated sucuk as affected by chard powder incorporation and processing. *GIDA* (2020) 45(4) 825-835 doi: 10.15237/gida.GD20064

Öztürk-Kerimoğlu, B., Serdaroğlu, M. (2020). Pazı tozu ilavesi ve üretim faktörlerinin ısı işlem görmüş fermente sucuklarda kalıntı nitrit miktarı üzerine etkisi. *GIDA* (2020) 45(4) 825-835 doi: 10.15237/gida.GD20064

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the utilization of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) powder (CP) as a natural nitrate source in heat-treated sucuk (fermented Turkish sausage). Control (CN) sample was formulated with 150 ppm sodium nitrate, whereas CP1 sample was formulated with 75 ppm sodium nitrate plus 75 ppm-nitrate containing CP, and CP2 sample was formulated with 150 ppm-nitrate containing CP. No differences were obtained in chemical composition ($P > 0.05$). Increased CP level resulted in increased pH and decreased acidity and L^* , a^* , and b^* values ($P < 0.05$). The highest residual nitrite concentrations were recorded in CN samples in the dough and after fermentation ($P < 0.05$). Heat treatment affected residual nitrite levels of CP1 and CP2 samples, and in final products, CP2 samples had the highest residual nitrite content ($P < 0.05$). Consequently, utilization of additional ingredients and/or innovative applications would be necessary in combination with naturally nitrate-containing sources.

Keywords: Sodium nitrate, residual nitrite, healthier meat products, heat-treated sucuk, chard

PAZI TOZU İLAVESİ VE ÜRETİM FAKTÖRLERİNİN ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ FERMENTE SUCUKLARDA KALINTI NİTRİT MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışma, ısı işlem görmüş sucuklarda doğal bir nitrat kaynağı olarak pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) tozunun (PT) kullanımını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Kontrol (KN) örneği 150 ppm sodyum nitrat; PT1 örneği 75 ppm sodyum nitrat ve 75 ppm-nitrat içeren PT; PT2 örneği ise 150 ppm-nitrat içeren PT ile hazırlanmıştır. Örneklerin kimyasal kompozisyonu arasında farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). PT konsantrasyonlarının artması; pH değerinin yükselmesi, asitliğin azalması ve L^* , a^* ve b^* değerlerinin düşmesine neden olmuştur ($P < 0.05$). Sucuk hamuru ve fermentasyon sonrasında en yüksek kalıntı nitrit konsantrasyonları KN örneklerinde kaydedilmiştir ($P < 0.05$). Isıl işlem, PT1 ve PT2 örneklerinin kalıntı nitrit düzeylerini önemli ölçüde etkilemiş; son ürün örnekleri arasında PT2 grubunun en yüksek kalıntı nitrit miktarına sahip olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Doğal nitrat içeren kaynaklarla birlikte ek bileşenlerin ve/veya yenilikçi uygulamaların kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Sodyum nitrat, kalıntı nitrit, sağlıklı et ürünleri, ısı işlem görmüş sucuk, pazı

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: burcu.ozturk@ege.edu.tr

☎: +90 232 311 3026

☎: +90 232 311 3048

Burcu Öztürk Kerimoğlu ORCID ID: 0000-0001-9777-8510

Meltem Serdaroğlu ORCID ID: 0000-0003-1589-971X

INTRODUCTION

Sucuk is a Turkish type dry-fermented meat product that is an important part of the cultural food heritage. The traditional manufacture of sucuk mainly covers mixing the meat source and fat with curing agents and characteristic spices, stuffing the dough into casings, and thereafter a ripening process until a dry/semi-dry product is obtained (Kaban, 2013). On the other hand, latterly heat treatment is also applied as a common process in sucuk manufacture which eliminates the foodborne pathogens, shortens production time, and reduces product costs (Öztürk-Kerimoğlu et al., 2019).

One of the most widely used food additives in the production of muscle foods is sodium nitrate/nitrite that has multi-functional impacts on product quality. Sodium or potassium salts of nitrate and nitrites are incorporated into meat products to provide characteristics cured color and flavor, to inhibit the growth of pathogen bacteria (especially *Clostridium* spp. and *C. botulinum* in particular) and to retard oxidative deterioration (Bázan-Lugo et al., 2012; Hayes et al., 2013; Alahakoon et al., 2015; Öztürk et al., 2015). Despite these favorable contributions, since these additives are strongly correlated with potential health risks, international food safety authorities have recommended the reduction of nitrates and nitrites used in food products (Bakhtiary et al., 2018). International Agency for Research on Cancer (IARC) emphasized that the daily consumption of nitrates increases colorectal cancer risk by 18% (Hamdi et al., 2018). The formation of carcinogenic nitrosamines which are formed by the reactions of nitrite and amines under low pH and high temperature is also a serious risk for meat products (Bázan-Lugo et al., 2012; Hayes et al., 2013).

In recent years, the development of "clean-label" meat product formulations has been needed due to increased consumer demands for healthier foods. In this context, several studies have been carried out regarding the reduction of synthetic additives used in meat products by the inclusion of natural ingredients. Natural compounds extracted from fruits and vegetables are essential

sources of phenolic compounds and nitrates (Martínez et al., 2019). Thus, an effective reformulation strategy for healthier meat products is the utilization of natural nitrate sources to reduce the addition of synthetic nitrite levels. Alahakoon et al. (2015) stated that leafy green vegetables such as celery, spinach, radish, and lettuce could be potential alternatives in various meat product formulations to replace synthetic nitrate and nitrites.

Chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) is a highly nutritive vegetable from Chenopodiaceae family that is a rich source of nitrate, sodium, ascorbic acid, vitamin A, fatty acids, folic acid, flavonoids (apigenin), phenolic acids, and betalains (Alibas and Okursoy, 2012; Shin et al., 2017; Mzoughi et al., 2019). Thereby this plant has a considerable role in the Mediterranean diet and has widespread use in many traditional dishes (Mzoughi et al., 2019). Chard is widely spread in Turkey and used as an antidiabetic in traditional medicine (Sacan and Yanardag, 2010), besides both in-vivo and in-vitro studies have indicated that chard extracts have high antioxidant capacity (Oztay et al., 2015; Mzoughi et al., 2019). A recent study has addressed the use of Swiss chard powder as a pre-converted nitrite source and mentioned this ingredient as a potential nitrite replacer in pork patties (Shin et al., 2017). To our knowledge, no study has evaluated the impacts of using chard powder to substitute nitrate in heat-treated sucuk (fermented Turkish sausage). The present study targeted to report the quality parameters of heat-treated sucuk containing chard powder as synthetic nitrate substitutes with regard to the changes in the residual nitrite content during processing, as well as the changes in the physical and chemical quality parameters.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Fresh and non-damaged chard leaves were obtained from a local producer in Izmir that were harvested in winter season. Post-rigor beef (*Musculus semitendinosus*) as boneless rounds and beef fat were purchased from Migros Integrated Meat Co. (Izmir). The cold chain was maintained during the transport of the materials to the

laboratory. Food additives, natural casings (D:36 mm, air-dried bovine small intestine), and other spices were supplied from the local market of Izmir. Freeze-dried starter culture mixture consisted of *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum*, and *Staphylococcus carnosus* was obtained from Frutarom Co. (Istanbul).

Production and Characterization of Chard Powder

Chard leaves were washed under tap water to eliminate coarse dirt and foreign matters. The leaves were then separated from the stalks and cut into 3-cm lengths. The pieces were initially sun-dried on wire trays for 24 h to remove the free water on the surface and thereafter they were dried in a drying oven (Memmert, Germany) operated at 55 ± 5 °C for 8 h (the pieces had 5.4% moisture after drying operation). The dried chard pieces were ground through a mini-grinder (Arçelik, Turkey) and then were sieved through 0.5 mm to obtain fine chard powder (CP). Total nitrate concentration of CP was determined as 9007.32 ppm. CP was stored in glass jars prior to the manufacture.

Production of Heat-Treated Sucuk

Three different sucuk formulations were prepared with different nitrate sources as given in Table 1. For the production of control (CN) treatment, the minced meat was mixed with beef fat (5:1) and 2% salt (NaCl), 0.4% sugar, 0.025% ascorbic acid, 0.015% sodium nitrate, 1.25% sweet red pepper, 1% cumin, 1% garlic powder, and 0.5% black pepper per kg of meat. According to Turkish Food Codex (2019a), 150 mg nitrate/kg (E 251-252) is allowed to add for the meat products during manufacturing. Taking this limit into consideration; CN treatment was formulated with 150 ppm sodium nitrate, whereas CP1 treatment was formulated with 75 ppm sodium nitrate plus 75 ppm-nitrate containing CP (8.33 g), and CP2 treatment was formulated with 150 ppm-nitrate containing CP (16.66 g) (thus, the amount of CP added to the formulation was calculated according to the nitrate concentration of CP). After preparing the sucuk dough, it was stuffed into synthetic collagen casings (Viscofan, Spain) by using a filling machine (Alpina-SG,

Switzerland). The samples were then fermented at 23°C and 87% relative humidity (RH). When the pH value reached to 5.6, the samples were heat-treated in an oven (AFOS Mini Kiln, UK) operated at 80°C (up to core temperature reached to 68 °C). As soon as the heat treatment completed, the samples were immediately cooled using a cold water spray. The samples were finally ripened at 18°C and 72% RH until the moisture content dropped below 50%. Analyses of the final products were carried out within 48 h after production, while sampling for residual nitrite content analysis was conducted before stuffing (dough), after initial fermentation (pH = 5.6), and after heat treatment and ripening (final product) to assess the changes during production.

Analysis

Chemical Composition

Total moisture and ash contents of the samples were determined according to AOAC (2012). Lipid content was analyzed by the extraction method described by Flynn and Bramblett (1975). Protein content was measured by using a nitrogen determinator (LECO FP528, USA).

pH Value and Titratable Acidity

A portable pH-meter (WTW 330i/SET, Germany) equipped with a penetration probe was used to measure pH values of the samples. The probe was dipped straight into three different points of the sample and the value was recorded after the numerical value was fixed. Titratable acidity was calculated as a percentage of lactic acid by performing titration of the sample slurries with 0.1 N NaOH (AOAC, 2012).

Color

The surface color of the slices obtained from the samples was measured from four different points with a portable colorimeter (Minolta CR-200, Japan). Color parameters were expressed in terms of L^* (luminosity), a^* (redness), and b^* (yellowness).

Residual Nitrite

Residual nitrite concentration was determined according to AOAC (2012). The homogenized sample (5 g) was mixed with 40 ml of pure water

at 80°C. The mixture was transferred to a volumetric flask (500 ml) and water was added to approximately 300 ml, then it was kept at a boiling water bath for 2 h, after that it was cooled to room temperature and filtered. The filtrate (45 ml) was transferred to a 50 ml flask and 2.5 ml of sulphanilamide was added. After 5 min, 2.5 ml of N-1 Naphthyl Ethylendiamine Dehydrochloride (NED) was included in the mixture and hold for

15 min for color development. The absorbance was read at 540 nm against the blank sample consisted of 45 ml of water, 2.5 ml of sulphanilamide, and 2.5 ml of NED. Residual nitrite concentration of the sample was calculated as mg nitrite per kg sample utilizing the standard curve plotted by different concentrations of the standard solution (NaNO_2).

Table 1. Formulation of heat-treated sucuk

Ingredients (g)		Treatments		
		CN	CP1	CP2
Meat		1500.0	1500.0	1500.0
Beef fat		300.0	300.0	300.0
Salt (Sodium chloride)		30.0	30.0	30.0
Sugar (Saccharose)		6.0	6.0	6.0
Ascorbic acid		0.375	0.375	0.375
Nitrate source	Sodium nitrate (NaNO_3)	0.225	0.112	0.0
	Chard powder (CP)	0.0	8.33	16.66
Spice mix		56.25	56.25	56.25

Heat-treated sucuk samples were formulated with CN: 150 ppm sodium nitrate (control), CP1: 75 ppm sodium nitrate plus 75 ppm nitrate-containing chard powder (CP), CP2: 150 ppm nitrate-containing CP. Spice mix consisted of 18.75 g sweet red pepper, 15 g cumin, 15 g garlic powder, 7.5 g black pepper.

Statistical Analysis

The whole trial was replicated twice (two independent batches), with each replication corresponding to a different production day. For each batch, measurements of related traits were carried out in triplicate. Data were statistically analyzed by the Statistical Package for Social Science (SPSS) version 20.0 (IBM, USA). One-Way Analysis of Variance (ANOVA) was used to evaluate the significant differences between product formulations, while two-way ANOVA was used to assess the significance depending on the formulations and processing for residual nitrite analysis. Least-square differences (LSD) test was applied to compare the means and Duncan's multiple range test was utilized for posthoc comparisons at a 95% confidence interval.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical Composition, pH Value, and Titratable Acidity

The proximate composition of heat-treated sucuk samples is presented in Table 2. Total moisture, lipid, protein, and ash contents were between 48.12-50.02%, 27.44-28.27%, 18.59-18.90%, and 2.91-3.12%, respectively. No statistical differences were recorded in any of the chemical parameters among treatments ($P > 0.05$). Thus, it was concluded that the incorporation of CP as partial/total replacer of synthetic nitrate did not lead to any changes in chemical components. Turkish Food Codex (2019b) states that in heat-treated sucuk, total meat protein shall be a minimum of 14% on mass, while the ratio of moisture to protein shall be lower than 3.6, and the ratio of fat to protein shall be lower than 2.5. Evaluating these legislations, all the samples had a

protein content higher than 18%, the ratio of moisture to protein was 2.6 on average, and the ratio of fat to protein was 1.48 on average. Thus, our data showed that all the samples met the requirements given by those standards. The proximate composition of the sausages was also in agreement with the composition of heat-treated sausages previously reported by Öztürk-Kerimoğlu et al. (2019).

pH value and acidity are two interrelated critical indicators for fermented meat products. Acidification processes occur in the sausages during the fermentation period by the lactic acid bacteria, well-adapted microorganisms to the meat fermentation, that decompose carbohydrates and produce lactic acid, which then reduce the pH of the fermented sausages (Kurt and Zorba, 2010; De Maere et al., 2016). pH values and titratable acidity of the samples are presented in Table 2. The range of pH values was in accordance with the limit given in the communiqué (Turkish Food Codex, 2019b), in other words, all the samples had a pH value lower than or equal to 5.6 which confirmed adequate development of acidity. On the other hand, it was found that the lowest pH value belonged to CN samples with synthetic nitrate, and increased concentrations of CP resulted in a significant increment in pH values of the samples ($P < 0.05$). Since the drop in pH is highly associated with the increase of lactic acid bacteria (Djeri and Williams,

2014), it was noted that in CN samples the production rate of lactic acid was higher than the other samples with CP. Similar results were obtained by Jackson et al. (2011) who observed increments in pH values of ham samples containing celery powder compared with ham samples that were conventionally cured. On the contrary, Riel et al. (2017) found that parsley extract added to the formulation of mortadella-type sausages resulted in lower pH values compared to the sodium nitrite added and the uncured variants. Djeri and Williams (2014) reported that pH values of bologna sausages did not change by the use of celery juice powder as nitrite substitutes. In another study, it was reported that the reduction in nitrite concentration had no effect on pH values of pork luncheon roll samples, whilst increased levels of tomato pulp powder significantly reduced pH values (Hayes et al., 2013). These differences might be related to the different characteristics of the ingredients added to the formulation, as well as to the type of the product. Total acidity of the samples ranged between 1.22-1.37%. This range was in accordance with Soyer (2005), who reported that total acidity of naturally fermented sucuk after ripening was between 0.82-1.71%. In line with pH results, the lowest acidity belonged to CP2 samples with 150 ppm nitrate-containing CP ($P < 0.05$), due to the reduced rate of lactic acid formation.

Table 2. Proximate composition, pH, and titratable acidity of heat-treated sucuk samples

Treatments	Moisture (%)	Lipid (%)	Protein (%)	Ash (%)	pH	Titratable acidity (%)
C	48.78 ± 2.05	28.27 ± 1.97	18.89 ± 0.02	2.91 ± 0.50	5.40 ^c ± 0.02	1.37 ^a ± 0.05
CP1	50.02 ± 1.48	27.44 ± 1.33	18.59 ± 0.04	3.00 ± 0.67	5.48 ^b ± 0.01	1.33 ^a ± 0.01
CP2	48.12 ± 2.84	27.81 ± 0.86	18.90 ± 0.06	3.12 ± 0.66	5.60 ^a ± 0.03	1.22 ^b ± 0.05

Heat-treated sucuk samples were formulated with CN: 150 ppm sodium nitrate (control), CP1: 75 ppm sodium nitrate plus 75 ppm nitrate-containing chard powder (CP), CP2: 150 ppm nitrate-containing CP.

Data were presented as the mean values ± standard deviation.

a, b, c: Means with a different letter in the same column are significantly different ($\alpha = 0.05$ level).

Color

The color of muscle-based foods is the most important visual quality factor that largely affects consumer choice. Myoglobin (Mb) is mainly responsible for the color of meat, besides hemoglobin and other heme molecules may also

contribute to it (De Maere et al., 2018). Nitrate and nitrites in meat products are the key additives that determine the color. Nitrite added in the formulation is reduced to nitric oxide (NO) that reacts with myoglobin iron to form nitrosylmyoglobin (NOMB) or

nitrosylhemochrome, which gives the cured red (if uncooked) or pink (if cooked) color, respectively (De Maere et al., 2016; De Oliveira et al., 2012; Hayes et al., 2013).

Color attributes of heat-treated sucuk samples are presented in Figure 1. Luminosity (L^*) values of the samples formulated with CP were similar to that of CN samples formulated with synthetic nitrate ($P > 0.05$). Thus, the inclusion of CP did not affect the lightness of the sample compared with control. However, L^* value of CP2 samples was significantly lower than L^* value of CP1 samples ($P < 0.05$), meaning that higher concentrations of CP could lead to a darker color. In a similar study, it was reported that L^* values of bologna sausages were lower when they were formulated with a mixture of celery juice and cherry juice powders as nitrite replacers (Djeri and Williams, 2014). On the other hand, Riel et al. (2017) reported that parsley extract as a sodium nitrite replacer had no significant effect on L^* values of sausages. Redness values of our samples were highly affected by the formulation, where

decreasing the concentration of synthetic nitrate significantly decreased a^* values of the samples ($P < 0.05$). This data confirmed the key role of nitrite in the formation of characteristic cured color. Similarly, De Oliveira et al. (2012) reported that mortadella samples with added nitrite had higher redness than samples without nitrite, and 100 mg/kg of sodium nitrite was essential for the development of the desired cured color. On the other hand, Bázan-Lugo et al. (2012) incorporated paprika or tomato paste into nitrite-reduced meat batter and found that this incorporation resulted in red coloration by the natural color pigments of those ingredients. Development of red color was also reported by Riel et al. (2017) in mortadella samples with added parsley extract by conversion of nitrate to nitrite and also by Shin et al. (2017) in pork patties with added pre-converted Swiss chard as nitrite replacer. In this manner, the characteristics of the pigments and/or the nitrite formation rate in the natural nitrate source seem to be deterministic factors for the development of cured color.

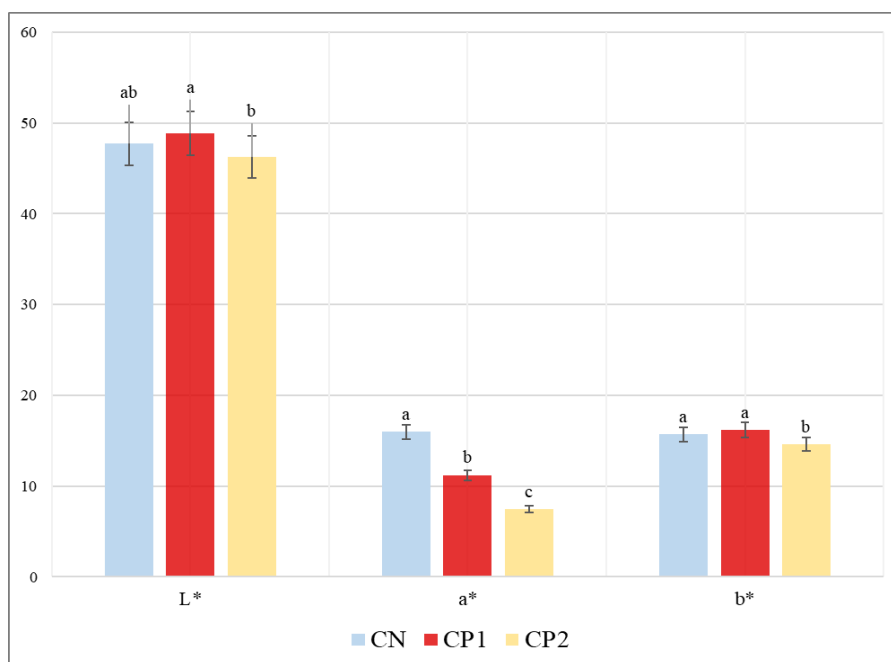


Figure 1. Color parameters of heat-treated sucuk samples

Heat-treated sucuk samples were formulated with CN: 150 ppm sodium nitrate (control), CP1: 75 ppm sodium nitrate plus 75 ppm nitrate-containing chard powder (CP), CP2: 150 ppm nitrate-containing CP.

a, b, c: Means with different letters in different columns within the same parameter are significantly different ($\alpha=0.05$ level)

Although the combined use of synthetic nitrate and CP was effective to keep yellowness (b^*) similar to control, CP2 samples without synthetic nitrate had lower b^* values compared to that samples ($P < 0.05$). De Oliveira et al. (2012) emphasized that not only decreased a^* values but also increased b^* values are associated with fading of the cured color. However, our results were in contrast with this data. Therefore, the presence of natural bluish pigments in CP may be responsible for the decrease in b^* values rather than the inadequate formation of the cured color.

In spite of the characteristic cured product color formed by the inclusion of nitrites, De Maere et al. (2016) not long ago demonstrated that naturally occurring pigments (zinc protoporphyrin IX) could be formed that are promising for the development of color in dry fermented sausages. By this way, red-colored dry fermented sausages could be produced without the addition of nitrite-nitrates. For this reason, products with acceptable visual properties can be produced without using nitrite-nitrates, but further studies are still needed to ensure food safety.

Residual Nitrite

In meat products, a natural curing operation covers the utilization of naturally occurring nitrates, that are then reduced to nitrite by the function of specific microflora (Djeri and Williams, 2014). Nitrite is a highly reactive substance that undergoes several reactions in meat products and thus its utilization has to be under control (Honikel, 2008). The residual nitrite (RN) refers to the nitrite amount that has not reacted with myoglobin and is already available in the meat matrix (Hayes et al., 2013).

Concentrations of RN in the samples during processing are shown in Figure 2. In sucuk dough, RN levels were between 22.60-73.09 mg/kg. The highest RN content was recorded in control (CN) samples with 150 ppm sodium nitrate ($P < 0.05$), while the samples with CP had similar nitrite content. Higher nitrite amount of CN samples is presumably due to the rapid reduction ability of synthetic nitrate to nitrite. Likewise, Magrinyà et al. (2016) stated that sausages including vegetable

concentrates had much lower RN concentrations compared with the sausages including with pure sodium nitrite, due to the slower reduction reaction from nitrate to nitrite. After the initial fermentation ($\text{pH} = 5.6$) and prior to heat treatment, RN concentrations ranged between 14.07-23.23 mg/kg. CN samples still had the highest amount of RN among treatments ($P < 0.05$). Compared with the initial values, significant decreases in RN levels of all the treatments were observed by fermentation ($P < 0.05$). This decline could be associated with the ongoing curing reactions and binding of reduced nitrite with meat proteins to develop the characteristic color compounds. On the other hand, an interesting trend in the samples was observed after the heat treatment and ripening processes. In the end products, RN concentrations ranged between 33.76-121.13 mg/kg. Although RN concentration of CN samples did not show a significant alteration with heat treatment and ripening, CP1 and CP2 samples had significantly higher RN levels compared with their RN levels before heat treatment and ripening ($P < 0.05$). This increment could be related to the rapid reduction of nitrate still present in those samples by the impact of heat treatment. Conversely, Kurt and Zorba (2010) reported that RN levels decreased with higher temperatures, particularly above 65°C in heat-treated sucuk. Similarly, Li et al. (2013) found that nitrite concentrations of dry-cured sausages declined significantly during the ripening period. The reason for these opposite data found in the present study could be the use of natural sources in nitrate form that delayed the formation of nitrite. In this case, in our study, it was indicated that the reduction process of nitrate in chard was much slower than in synthetic nitrate. In addition, CP2 samples had the highest RN content among final products ($P < 0.05$), indicating that increased concentrations of CP also resulted in an increment in RN level. Consequently, it could be said that the curing reactions could not be completed throughout the production period since it takes a long time to reduce the nitrate obtained from natural sources. As stated by Honikel (2008), the largest decrease in nitrite is seen during the manufacturing of meat products

up to the end of the heating process. On the other hand, within 20 days of cold storage, the levels decreased further to a third of the level after heating. This information points out that

following the concentration of RN during the storage is also of importance and the levels measured at different storage days would differ from the levels measured in the final products.

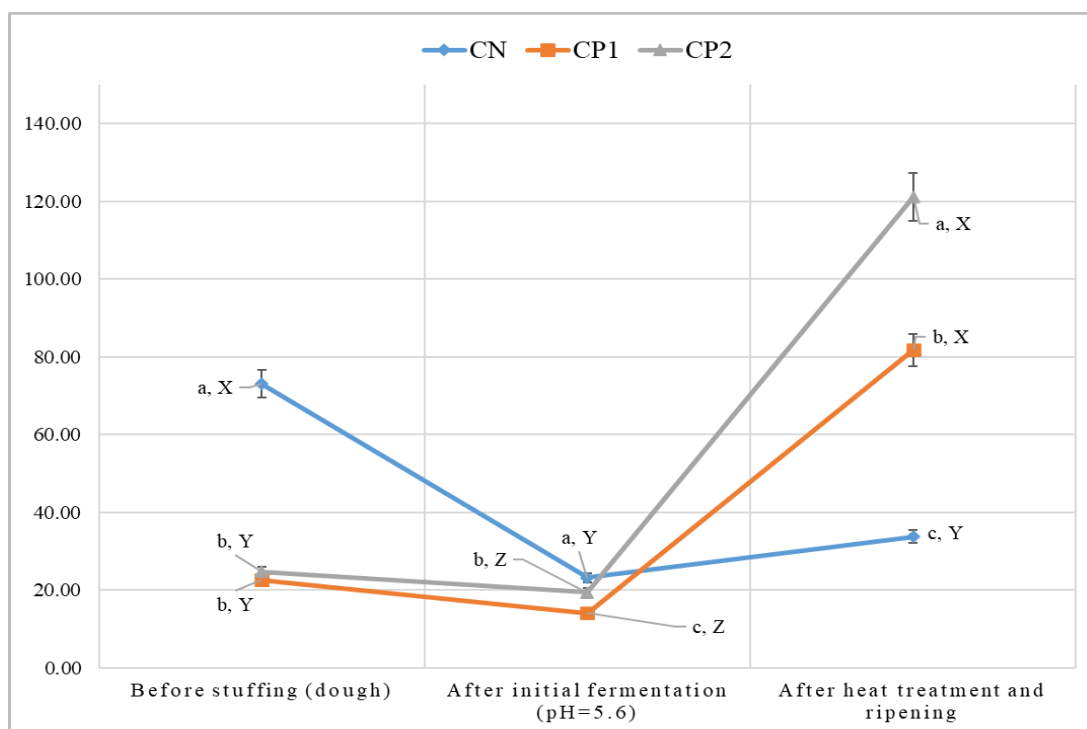


Figure 2. Residual nitrite concentrations (mg/kg) of heat-treated sucuk samples during production

Heat-treated sucuk samples were formulated with CN: 150 ppm sodium nitrate (control), CP1: 75 ppm sodium nitrate plus 75 ppm nitrate-containing chard powder (CP), CP2: 150 ppm nitrate-containing CP.

a, b, c: Means with different letters in different treatments within the same production step are significantly different ($\alpha=0.05$ level).

X, Y, Z: Means with different letters in different production steps within the same treatment are significantly different ($\alpha=0.05$ level).

European Union defined the limits for nitrates and nitrites for various meat products. Besides the limits for addition during manufacturing, the legal European limits (No 601/2014) for RN in final products range between 50-180 mg/kg in traditionally cured meat products (Govari and Pexara, 2015). Likewise, the maximum residue levels of nitrite in the end products are also the same in Turkish legislation (Turkish Food Codex, 2019a). Evaluating these limits, the RN concentrations of all the heat-treated sucuk samples were within these limits during the production steps, since the maximum level was recorded as 121.13 mg/kg. On the other hand, the

RN content in a finished meat product is generally only a small fraction of the level added (Li et al., 2013). Considering this, in the present study the levels of RN in CP treatments were still high compared with the added amount, indicating that the curing reactions were not fully completed.

Nitrite is a chemical that is known to react with water and is affected by reducing bacteria (Kurt and Zorba, 2010). Besides, Hayes et al. (2013) underlined that the reactivity of nitrite increases with decreasing pH. Previously Kurt and Zorba (2010) found that nitrite level of dry fermented sucuk continued to decrease after the first day of

ripening due to the drop in pH values. Therefore, in the present study, CN treatment might also had an accelerated nitrite reduction rate due to its lower pH compared with CP1 and CP2 treatments. Here it could be suggested to include additional natural pH enhancers to the formulations with CP to provide rapid acidification in these treatments. So far, promising results have been obtained by the utilization of natural nitrite alternatives on RN concentrations in various studies conducted with different meat products. In a study regarding the use of cleaner ingredients to reduce synthetic nitrite in a cured meat model, it was indicated that sodium nitrite groups had the highest RN levels, while the samples with celery juice powder and cherry powder had the lowest levels (Posthuma et al., 2018). Similarly, Shin et al. (2017) reported that RN concentrations in pork patties containing synthetic nitrite were higher than those containing vegetable sources (Swiss chard and celery). The authors stressed that the additional antioxidant compounds from those natural sources provided reducing conditions for the formation of nitric oxide and thus lower residual nitrite contents were recorded. In a different research, it was observed that lower RN concentrations could be achieved by the inclusion of parsley extract powder as synthetic nitrite substitutes in sausages (Riel et al., 2017). Hayes et al. (2013) incorporated different levels of nitrite and tomato pulp powder into pork luncheon rolls and observed that the combination of the increased amount of the powder and the presence of nitrite was effective to reduce the RN levels. Pinsiromdom et al. (2019) found that roselle anthocyanin extract enhanced the RN reduction in Nham, a fermented Thai meat product. Those promising data obtained from natural nitrite sources highlighted the importance of the reduction rate of nitrate to nitrite to provide proper curing and to reduce residual nitrite concentrations.

A new approach for benefiting from natural nitrate sources is to obtain “pre-generated” nitrite by converting nitrate to nitrite by microorganisms prior to the manufacture of the cured meat products; by this way it is possible to reduce the curing period (Djeri and Williams, 2014). Considering this process, in our study, due to the

delayed converting time of nitrate to nitrite by the use of CP, a pre-generation step could be suggested to accelerate the reduction reactions and thereby obtain optimum curing.

CONCLUSION

The findings of the present study pointed out that the incorporation of chard powder as a natural nitrate source led to significant changes in pH value, total acidity, instrumental color parameters, and residual nitrite concentrations, but the chemical composition remained stable among samples. Residual nitrite levels of the sucuk samples with chard powder were highly affected by different steps of the production. Although the levels were almost similar at the beginning of stuffing, residual nitrite content of the samples with chard powder sharply increased after heat treatment due to the delayed conversion of nitrate. Therefore, additional research is necessary to improve the reduction rate of natural nitrate to nitrite present in chard by novel pre-conversation techniques. By this means an effective solution would be obtained to reduce the residual nitrite concentrations in heat-treated sucuk. Moreover, since the proposed natural ingredients have not yet been proven to control the microbial growth (especially *Clostridium* strains), further studies should be carried out to assess the use of the natural plant sources regarding covering the multi-functional impacts of nitrite-nitrates.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Sinem Alev, Dilara Mehri, and Tuğçe Cengiz from Ege University Food Engineering Department for their assistance in the laboratory.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dr. Öztürk Kerimoğlu was responsible for methodology and formal analysis, investigation, visualization and writing, while Dr. Serdaroğlu supervised the study and carried out conceptualization, review and editing.

REFERENCES

- Alahakoon, A.U., Jayasena, D.D., Ramachandra, S., Jo, C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends Food Sci Technol*, 45(1): 37-49. doi: 10.1016/j.tifs.2015.05.008.
- Alibas, İ., Okursoy, R. (2012). Determination of some technical properties of collards (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) and spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludag University*, 26(1): 39-48 [in Turkish].
- AOAC (2012). Official Methods of Analysis, Latimer, G.W. (Ed.), 19th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- Bakhtiyari, F., Sayevand, H.R., Khaneghah, A.M., Haslberger, A.G., Hosseini, H. (2018). Antibacterial efficacy of essential oils and sodium nitrite in vacuum processed beef fillet. *Appl Food Biotechnol*, 5(1): 1-10. doi: 10.22037/afb.v5i1.17118.
- Bázan-Lugo, E., García-Martínez, I., Alfaro-Rodríguez, R.H., Totosaus, A. (2012). Color compensation in nitrite-reduced meat batters incorporating paprika or tomato paste. *J Sci Food Agric*, 92(8): 1627-1632. doi: 10.1002/jsfa.4748.
- De Maere, H., Fraeye, I., De Mey, E., Dewulf, L., Michiels C., Paelinck, H., Chollet, S. (2016). Formation of naturally occurring pigments during the production of nitrite-free dry fermented sausages. *Meat Sci*, 114: 1-7. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.11.024.
- De Maere, H., Chollet, S., De Brabanter, J., Michiels, C., Paelinck, H., Fraeye, I. (2018). Influence of meat source, pH and production time on zinc protoporphyrin IX formation as natural colouring agent in nitrite-free dry fermented sausages. *Meat Sci*, 135: 46-53. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.08.024.
- De Oliveira, T.L.C., De Carvalho, S.M., De Araújo Soares, R., Andrade, M.A., Das Graças Cardoso, M., Ramos, E.M., Piccoli, R.H. (2012). Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT - Food Sci Technol*, 45(2): 204-212. doi: 10.1016/j.lwt.2011.09.006.
- Djeri, N., Williams, S.K. (2014). Celery juice powder used as nitrite substitute in sliced vacuum-packaged turkey bologna stored at 4C for 10 weeks under retail display light. *J Food Qual*, 37(5): 361-370. doi: 10.1111/jfq.12102.
- Flynn, A.W., Bramblett, V.D. (1975). Effects of frozen storage, cooking method and muscle quality on attributes of pork loins. *J Food Sci*, 40(3): 631-633. doi: 10.1111/j.1365-2621.1975.tb12544.x.
- Govari, M., Pexara, A. (2015). Nitrates and nitrites in meat products. *J Hellenic Vet Med Soc*, 66(3): 127-140. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15856>.
- Hamdi, M., Nasri, R., Dridi, N., Moussa, H., Ashour, L., Nasri, M. (2018). Improvement of the quality and the shelf life of reduced-nitrites turkey meat sausages incorporated with carotenoproteins from blue crabs shells. *Food Control*, 9: 148-159. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.03.048.
- Hayes, J.E., Canonico, I., Allen, P. (2013). Effects of organic tomato pulp powder and nitrite level on the physicochemical, textural and sensory properties of pork luncheon roll. *Meat Sci*, 95(3): 755-762. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.04.049.
- Honikel, K.O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci*, 78(1-2): 68-76. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.030.
- Jackson, A.L., Kulchaiyawat, C., Sullivan, G.A., Sebranek, J.G., Dickson, J.S. (2011). Use of natural ingredients to control growth of *Clostridium perfringens* in naturally cured frankfurters and hams. *J Food Prot*, 74(3): 417-424. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-10-365.
- Kaban, G. (2013). Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Sci*, 95(4): 912-918. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.03.021.
- Kurt, S., Zorba, Ö. (2010). Effect of ripening period, nitrite level and heat treatment on the chemical characteristics of Turkish dry fermented

- sausage (sucuk). *Asian-Australas J Anim Sci*, 23(8): 1105-1111. doi: 10.5713/ajas.2010.90565.
- Li, L., Shao, J., Zhu, X., Guanghong, Z., Xu, X. (2013). Effect of plant polyphenols and ascorbic acid on lipid oxidation, residual nitrite and N-nitrosamines formation in dry-cured sausage. *Int J Food Sci Technol*, 48(6): 1157-1164. doi: 10.1111/ijfs.12069.
- Magrinyà, N., Bou, R., Rius, N., Codony, R., Guardiola, F. (2016). Use of tocopherol extract and different nitrite sources and starter cultures in the production of organic botifarra catalana, a cooked cured sausage. *Food Sci Technol Int*, 22(3): 221-234. doi: 10.1177/1082013215586915.
- Martínez, L., Bastida, P., Castillo, J., Ros, G., Nieto, G. (2019). Green alternatives to synthetic antioxidants, antimicrobials, nitrates, and nitrites in clean label Spanish Chorizo. *Antioxidants*, 8(6): E184. doi: 10.3390/antiox8060184.
- Mzoughi, Z., Chahdoura, H., Chakroun, Y., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., Morales, P., Mosbah, H., Flamini, G., Snoussi, M., Majdoub, H. (2019). Wild edible Swiss chard leaves (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*): Nutritional, phytochemical composition and biological activities. *Food Res Int*, 119: 612-621. doi: 10.1016/j.foodres.2018.10.039.
- Oztay, F., Sacan, O., Kayalar, O., Bolkent, S., Ipci, Y., Kabasakal, L., Sener, G., Yanardag, R. (2015). Chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*) extract improved hyperglycemia-induced oxidative stress and surfactant-associated protein alterations in rat lungs. *Pharm Biol*, 53(11): 1639-1646. doi: 10.3109/13880209.2014.997252.
- Öztürk-Kerimoğlu, B., Nacak, B., Özyurt, V.H., Serdaroğlu, M. (2019). Protein oxidation and in vitro digestibility of heat-treated fermented sausages: How do they change with the effect of lipid formulation during processing. *J Food Biochem*, 43: e13007. doi: 10.1111/jfbc.13007.
- Öztürk, B., Serdaroğlu, M., Ergezer, H. (2015). Nitrite and nitrate in meat and meat products; Advantages, legislation and recent alternative approaches. *Academic Food Journal*, 13(3): 257-264. [in Turkish].
- Pinsirodom, P., Parinyapatthanaboot, T., Taprap, R., Kaewthong, P. (2019). The in vitro scavenging ability of anthocyanin extracts from roselle calyces against reactive nitrogen species and their potential use for nitrite reduction in meat. *Curr Res Nutr Food Sci*, 7(2): 340-349. doi: 10.12944/CRNFSJ.7.2.04.
- Posthuma, J.A., Rasmussen, F.D., Sullivan, G.A. (2018). Effects of nitrite source, reducing compounds, and holding time on cured color development in a cured meat model system. *LWT - Food Sci Technol*, 95: 47-50. doi: 10.1016/j.lwt.2018.04.040.
- Riel, G., Boulaaba, A., Popp, J., Klein, G. (2017). Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages – Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat Sci*, 131: 166-175. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.05.007.
- Sacan, O., Yanardag, R. (2010). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*). *Food Chem Toxicol*, 48(5): 1275-1280. doi: 10.1016/j.fct.2010.02.022.
- Shin, D.M., Hwang, K.E., Lee, C.W., Kim, T.K., Park, Y.S., Han, S.G. (2017). Effect of Swiss chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*) as nitrite replacement on color stability and shelf-life of cooked pork patties during refrigerated storage. *Korean J Food Sci An*, 37(3): 418-428. doi: 10.5851/kosfa.2017.37.3.418.
- Soyer, A. (2005). Effect of fat level and ripening temperature on biochemical and sensory characteristics of naturally fermented Turkish sausages (sucuk). *Eur Food Res Technol*, 221: 412-415. doi: 10.1007/s00217-005-1192-6.
- Turkish Food Codex Regulation. (2019a). Food Additives Regulation. No: 30699, 27.02.2019. Ministry of Food, Agricultural and Livestock, Ankara.
- Turkish Food Codex Regulation. (2019b). The Communique on Meat, Prepared Meat Mixtures, and Meat Products. No: 30670, 2018/52. 29.01.2019. Ministry of Agricultural and Forestry, Ankara.