

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 46

SAYI / NUMBER : 2

YIL / YEAR : 2021

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

<p>Baş Editör/ Editor-in Chief ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i></p> <p>Editörler / Editors ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>İstanbul 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 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 04 2021</p>	<p>Danışma Kurulu / Advisory Board 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> Bezirtzoğlu, 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>
---	--

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)

- Anlı, E.A., Gürsel, A., Sert D. *Physicochemical and textural properties of ready-to-eat yogurt fortified with dried purslane (Portulaca oleracea L.) /Kurutulmuş semizotu (Portulaca oleracea L.) ile zenginleştirilmiş tüketime hazır yoğurdun fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri* **229-242**
- Pocan, P., Kaya, D., Mert, B., Oztop M. H. *Determination of the best drying conditions for gelatin based candies / Jelatin bazlı yumuşak şekerlerin kurutma koşullarının optimizasyonu* **279-295**
- Cesur, A., Soyer, Y. *Determination of antimicrobial effect of the aqueous extract of stinging nettle (Urtica dioica) on biofilm formation of Salmonella enterica serovars / Isırgan otu (Urtica dioica) sulu ekstraktının Salmonella enterica serovarlarının biyofilm oluşumu üzerine antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi* **324-338**
- Ozcan-Sinir, G., Barringer, S. A. *Deodorization of garlic odor by fresh and dried herbs using SIFT-MS / Sarımsak kokusunun taze ve kuru bitkiler ile SIFT-MS kullanılarak deodorizasyonu* **358-366**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Yaver, E., Bilgiçli, N. Farklı yöntemlerle acılığı giderilmiş lüpen unu ve dirençli nişasta içeren ekmeklerin kalite özellikleri üzerine vital gluten ve emülgatörün etkisi / *Effect of vital gluten and emulgator on quality properties of bread containing lupin flour debittered by different methods and resistant starch* **243-255**
- Yazılıkaya Parasız, M., Özdikicierler, O., Yemişçioglu, F. Zeytinyağında minimal rafinasyon uygulamasının işlem performansı ve kalite kriterleri açısından değerlendirilmesi / *Evaluation of minimal refining in olive oil in terms of processing performance and quality criteria* **311-323**
- Balci Torun, F., Özdemir, K. S., Mavuş, R., Torun, M. Siyah çay üretim atıklarından konsantre çay ekstraktı üretiminde krema oluşum koşullarının ve bileşiminin belirlenmesi / *Determination of cream formation conditions and its composition during production of concentrated tea extract from black tea manufacturing wastes* **339-350**
- Kaya, Ş., Durmaz Bekmezci H. İron Sazlığında (Bitlis, Türkiye) yetişen karaburun balığının [*Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)] besin öğelerinin incelenmesi / *Investigation of proximate composition of brond-snout [Chondrostoma regium (Heckel, 1843)] growing in Iron reeds (Bitlis, Turkey)* **351-357**
- Çetin Babaoğlu, H., Arslan Tontul, S., Akın, N. Yer elması tozu ilavesinin ekşi hamur fermantasyonu üzerine etkisi / *The effect of Jerusalem artichoke powder incorporation on sourdough fermentation* **367-375**
- Kaya, M., Berktaş, S., Adanacioğlu, N., Çam, M. Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen ve kültüre edilen tıbbi mantarların toplam fenolik madde içeriklerinin, antioksidan aktivitelerinin ve eritadenin bileşiğinin belirlenmesi / *Determination of total phenolic content, antioxidant activity and eritadenine compound of wild mushrooms in Kayseri region and cultivated medicinal mushrooms* **376-395**
- Örü, F., Hendek Ertop, M. Siyez ve ekmeklik buğday kepeğinin ekşi hamur üretiminde kullanım olanağının değerlendirilmesi / *Evaluation of usage possibilities of einkorn and fine wheat bran in the sourdough production* **396-407**
- Acu, E., Kılıç, V., Kıvanç, M. *Enterococcus durans* ile ekstraselüler lipaz üretimi ve karakterizasyonu / *Production and characterization of extracellular lipase from enterococcus durans* **474-487**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Tiryaki Gündüz, G., Korkmaz Vuramaz, A. Çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonunda bitkisel materyallerin kullanımı / *Use of plant-derived materials for the inhibition of quorum sensing mechanisms* **256-268**
- Vardar, U. S., Özcan, Y., Özmen, D., Toker, Ö. S. Bitki tohum musilajları ve gıdalarda kullanımı / *Plant seed mucilages and its use in foods* **269-278**
- Öztürk, M., Erbaş, M. Sitrik asit üretimi ve saflaştırılması / *Citric acid production and purification* **296-310**
- Kezban Candoğan, K., Gizem Özdemir, G. Sürdürülebilir et üretimi için yenilikçi yaklaşımlar / *Novel approaches for a sustainable meat production* **408-427**
- Uğur, E., Bektaş, A., Ulusoy, M., Öner, Z. Paraprobiyotikler, postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri / *Paraprobiotics, postbiotics and their effects on health* **428-442**
- Kavuşan, H. S., Serdaroglu, M. Fermente et ürünlerinde oksidatif değişiklikler ve ürün kalitesi üzerine etkileri / *Oxidative changes in fermented meat products and their effects on product quality* **443-462**
- Yalçın, E., Arslan, A. Tahıl ve pseudo-tahılların ıslak öğütme teknolojisi / *Wet milling technology of cereal and pseudocereals* **463-473**



**PHYSICOCHEMICAL AND TEXTURAL PROPERTIES OF READY-TO-EAT
YOGURT FORTIFIED WITH DRIED PURSLANE
(*PORTULACA OLERACEA* L.)**

Elif Ayşe Anlı*, Asuman Gürsel, Damla Sert

Ankara University, Faculty of Agriculture, Dairy Technology Department, 06110, Ankara, Turkey

Received /Geliş: 25.09.2020; Accepted /Kabul: 22.12.2020; Published online /Online baskı: 13.01.2021

Anlı, E.A., Gürsel, A., Sert, D. (2021). Physicochemical and textural properties of ready-to-eat yogurt fortified with dried purslane (*Portulaca oleracea* L.), *GIDA* (2021) 46 (2) 229-242doi: 10.15237/gida.GD20112

Anlı, E.A., Gürsel, A., Sert, D. (2021). Kurutulmuş semizotu (*Portulaca oleracea* L.) ile zenginleştirilmiş tüketime hazır yoğurdun fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri, *GIDA* (2021) 46 (2) 229-242 doi: 10.15237/gida.GD20112

ABSTRACT

In the study use of vacuum-oven dried cultivated purslane in ready-to-eat yogurt production was observed. Yogurt samples were fortified with dried purslane in different ratios 0%, 0.5% and 1.0% for PC (control), PUR1 and PUR2, respectively and kept at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 21 days. Total dry matter (%) and ash (%) increased in accordance with the amount of purslane used and no pronounced change was observed in fat (%) content and pH. Titratable acidity (L.A %) and pH values ranged between 1.32-1.52 and 4.37-4.08 during storage period, respectively. Lightness (ΔL^*) and greenness (a^*) decreased and yellowness (b^*) increased in yogurt samples depending on the purslane amount. Significant color difference ($\Delta E^* > 3$) was observed in fortified yogurt samples ($P < 0.05$). Syneresis decreased and texture parameters slightly decreased with purslane use except cohesiveness and gel became softer. Purslane flavor, sour taste and improved texture were expressed in fortified yogurts. PUR1 was found more acceptable sensorially than other samples.

Keywords: Purslane, *Portulaca oleracea* L., yogurt, fortification, ready-to-eat.

**KURUTULMUŞ SEMİZOTU (*PORTULACA OLERACEA* L.) İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ TÜKETİME HAZIR YOĞURDUN FİZİKOKİMYASAL
VE TEKSTÜREL ÖZELLİKLERİ**

ÖZ

Araştırmada vakumlu etüv ortamında kurutulmuş semizotunun tüketime hazır yoğurt üretiminde kullanımı araştırılmıştır. Kurutulmuş semizotu PC (kontrol), PUR1 ve PUR2 örneklerinde sırasıyla %0, %0.5 ve %1.0 oranlarında kullanılmış ve örnekler 21 gün buzdolabında depolanmıştır. Örneklerde kullanılan semizotu miktarına bağlı olarak toplam kuru madde (%) ve kül (%) değerlerinde artış gözlenirken, yağ (%) içeriği ve pH açısından belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Depolama süresince örneklerin titrasyon asitliği değerleri (% L.A) ve pH sırasıyla 1.32-1.52 ile 4.37-4.08 arasında değişmiştir. Semizotu miktarına bağlı olarak yoğurt örneklerinde parlaklık (ΔL^*) ve yeşillik (a^*) değerleri azalmış, sarılık (b^*) değeri artmıştır. Semizotu ilaveli örneklerde kontrolle kıyaslandığında

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉ : kocaoglu@agri.ankara.edu.tr,

☎ : (+90) 312 596 1775

☎ : (+90) 312 318 2219

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

Asuman Gürsel; ORCID no: 0000-0003-1808-9982

Damla Sert; ORCID no: 0000-0002-8954-608X

önemli renk farkı ($\Delta E^* > 3$) gözlenmiştir ($P < 0.05$). Semizotu ile zenginleştirilmiş örneklerde sinerez azalmış, iç yapışkanlık değeri dışındaki tekstür parametrelerinde bir miktar azalma ile birlikte daha yumuşak bir jel yapısı meydana gelmiştir. Semizotu aroması, ekşi tat ve iyileşmiş tekstür zenginleştirilmiş yoğurtlarda ifade edilen duyuusal sonuçlardır. Panelistler tarafından PUR1 duyuusal olarak daha kabul edilebilir bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Semizotu, *Portulaca oleracea* L., yoğurt, zenginleştirme, tüketime hazır.

INTRODUCTION

Yogurt is a popular fermented milk product beneficial for human diet (Lucey et al., 1999; Dello-Staffolo et al., 2004). In the production milk is fermented by starter cultures of *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* (Tamime and Robinson, 2007; Damin et al., 2009). Due to presence of these living microorganisms yogurt is accepted as a healthy food with functional properties (Tamime & Robinson, 2007; Chouchouli et al., 2013; Mani-López et al., 2014; Chen et al., 2017; Huang et al., 2020). Among the other dairy products yogurt is more functional with its composition and also its applicability to various alternative meals. Consumer's tendency to consume healthy food varieties made yogurt a good choice (Martin-Diana et al., 2003; Fagan et al., 2006; Isleten and Karagul-Yuceer, 2006; Sigdel et al., 2018). In the markets there exist yogurts with varying in fat composition (non-fat, low-fat, whole fat etc.), probiotic options, physically different alternatives as drinkable, concentrated, set and stirred types, frozen, dried yogurts and value added forms as flavored, fruity yogurts and also yogurts enriched with bioactive components (Dello-Staffolo et al., 2004; Isleten and Karagul-Yuceer, 2006; Tamime and Robinson, 2007; Loveday et al., 2013; Mani-López et al., 2014).

Purslane (*Portulaca oleracea* L.) is a native plant of India and Middle East that is cultivated in tropical and sub-tropical regions of the world (Yan et al., 2012; Zhou et al., 2015; Wainstein et al., 2016). It is known as one of the 8 most common plants grown in the world (Oliveira et. al., 2009; Yan et al., 2012; Alam, et al., 2014; Wainstein et al., 2016). Purslane is actually a wild plant but it is also cultivated intentionally. As one of the medicinal aromatic plant, purslane has many therapeutic and health promoting properties such as antiseptic, anti-inflammatory, analgesic, antibacterial, antidiabetic and antioxidant effect (Yan et al.,

2012; Zhou et al., 2015; Wainstein et al., 2016). According to Chinese medicine purslane is responsible for long-life (Yan et al., 2012; Wainstein et al., 2016) and it is also regarded as "Global Panacea" by World Health Organization (WHO) (Alam et al., 2014; Zhou et al., 2015; Mastud et al., 2018) since containing many health promoting components such as minerals, vitamin C, vitamin E, carotenoids, essential amino acids, omega-3-fatty acid and phenolic compounds (Oliveira et al., 2009; Yan et al., 2012; Zhou et al., 2015; Wainstein et al., 2016). Since purslane is a common plant, it has different uses throughout the world. The plant is used raw, mostly in salads, as a vegetable dish by cooking, or by boiling in the form of tea or soup after drying in Mediterranean and tropical Asian countries (Oliveira et.al., 2009; Demirhan and Ozbek, 2010; Youssef and Mokhtar 2014; Zhou et al., 2015) and besides that the seeds of the plant are turned into flour by Americans and the locals of Australia to be used in bread and porridge (Zhou et al., 2015). In Turkey purslane is consumed in salads, as a vegetable dish an even more commonly by combining with yogurt in chopped raw form.

Drying is a process of removal of water to some extent present in the material. In that way deterioration reactions related to microbial spoilage and chemical reactions are minimized in biomaterial (Krokida et al., 2004; Orikasa et al., 2014). Drying is used for centuries in preserving quality of foods for longer periods of time than their fresh state, besides that transportation and storage costs are reduced (Doymaz, 2013). Fruits and vegetables can easily lose their freshness due to high moisture content (more than 80%) even in refrigerator. Quality of these agricultural products can be preserved successfully by drying (Sagar and Kumar, 2010; Orikasa et al., 2014; Youssef and Mokhtar, 2014; Khaled et al., 2020). Solar, hot air, spray, microwave, freeze drying and osmotic dehydration are the drying techniques

used in food technology. (Khaled et al., 2020). Sun and solar drying techniques are traditional techniques applied for years in drying of fruits and vegetables with some limitations such as longer drying times, contamination and also degradation reactions in color and bioactive components. Convective or hot-air drying systems are conventionally applied ones, especially for vegetable products, with low technological complexity and low-cost advantage (Sagar and Kumar, 2010; Karaman et al., 2014; Orikasa et al., 2014; Yousef and Mokhtar, 2014; Figiel and Michalska, 2017; Li et al., 2019). But some adverse effects on physical properties such as texture and color of fruits and vegetables and also nutritional and sensorial defects depending on the intensity of the temperature are also reported (Sagar and Kumar, 2010; Orikasa et al., 2014; Yousef and Mokhtar, 2014; Figiel and Michalska, 2017; Li et al., 2019). Vacuum drying techniques are alternative ones that use lower temperatures in drying. Drying occurs at sub-atmospheric pressures that; water boils at lower temperatures and also absence of oxygen preserves dried product characteristics and heat sensitive compounds in short drying times (Sagar and Kumar, 2010; Karaman et al., 2014; Orikasa et al., 2014; Khaled et al., 2020).

In Turkish cuisine yogurt is consumed as plain directly and/or mixed with some vegetables, spices and herbs. These consumption practices are considered as habits and sometimes also the ways of increasing palatability and organoleptic properties of yogurt. Consumer recently demand nutrient dense, low energy, practical food solutions rather than unhealthy nutrient-poor snacks, desserts and cookies (Fernandez and Murette, 2017). Fruits, vegetables, fibers, spices and herbs can be added to yogurt either during consumption or during processing (Isleten and Karagul-Yuceer, 2006; Tarakci et al., 2011; Sigdel et al., 2018; Mousavi et al., 2019; Wang et al., 2019). Consumption of yogurt with purslane is a good example of yogurt use in Turkish cuisine. Purslane is as an excellent source of many bioactive components and can be stored as frozen or dried state for several years (Demirhan and Ozbek, 2010). Drying characteristics of purslane

and use of different drying methods and their effects on purslane were investigated by the researchers (Demirhan and Ozbek, 2010; Karaaslan et al., 2013; Yousef and Mokhtar, 2014). To the best of our knowledge there are limited studies related to combination of purslane with yogurt. In these studies, researchers focused on different applications such as: use of different herbs in concentrated yogurt in fresh state (Tarakci et al., 2011), use of purslane juice in yogurt (Wu et al., 2011) and a clinical trial in which the effect of inclusion of purslane seed into yogurt during consumption is examined (Zakizadeh et al., 2015). In the present study use of vacuum-oven drying technique in dried purslane production, use of dried purslane in ready-to-eat yogurt production and the changes in quality attributes of yogurt were investigated.

MATERIAL AND METHODS

Material

Cow's milk, skim milk powder (Izi sut, Konya, Turkey) and DVS - lyophilized yogurt starter culture (CH-1, Chr. Hansen, Hørsholm, Denmark) used in yogurt production were supplied by Dairy Plant of Ankara University Faculty of Agriculture, Ankara, Turkey. Chemical attributes of raw cow's milk used in the study were given in Table 1. Fresh purslane was purchased from local markets (Ankara, Turkey) at once and stored approximately at 4°C for a possibly short period until drying.

Table 1. General characteristics of raw milk ($\bar{X} \pm S_x$) (n=2)

Component	Raw milk
Total solid (%)	11.69 ± 0.021
Fat (%)	3.35 ± 0.070
Ash (%)	0.70 ± 0.021
pH	6.77 ± 0.134
Titrateable acidity (°SH)	6.88 ± 0.339

Methods

Drying of Purslane

Freshly obtained purslane were subjected to some stages until drying process. The plants were initially separated from foreign materials, rinsed with tap water and made ready for use. The excess water is drained as good as possible to prevent

rapid deterioration of purslane. After that the leaves and the stems of purslane were separated from the whole plant and dried separately. Drying process was carried out in vacuum oven chamber (BINDER VD 53, Tuttlingen, Germany) under 20 kPa vacuum and at 60°C until final moisture content reached about 5%. Drying process was traced by measuring the moisture content gradually (OHAUS MB 45; Parsippany, NJ, USA). The dried leaves and stems were ground into fine powder before use.

Yogurt processing

Raw cow's milk was initially heated to 46-47°C for separation and standardization of fat to 1.5% and fortified with skim milk powder to 14% dry matter. The experimental design of the study was established according to the preliminary studies done by our team members (Sert and Evkaya, 2017) and the treatments of the study were given in Table 2 as PC (control), PUR1 and PUR2. In the production, the bulk milk was divided into 3 equal parts and inclusion of dried purslane was done at 55-60°C. All mixes were homogenized by Ultra-Turrax blender (IKA RW 20, Staufen, Germany) for complete dispersion of dried purslane for 5 minutes. Mixes were heated at 90°C for 10 minutes and cooled to 45°C for inoculation of yogurt culture consisting of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (CH-1, Chr. Hansen, Hørsholm, Denmark). The inoculation level for each 3L of batch was 0.4 g. Following the inoculation, the bulk mixtures were poured into sterile containers of nearly 100 mL for set-type yogurt production. The incubation was carried out at 43°C until achieving pH of 4.60 - 4.70. Following the fermentation samples were cooled and kept at 4±1°C and analyzed in their chemical, physical and sensorial attributes during storage period (1, 7, 14 and 21 days). The study was performed in duplicate.

Table 2. Experimental design of the study

Sample code	Purslane plant part and ratio (%)	
	Purslane leaves	Purslane stems
PC (control)	None	None
PUR1	0.25	0.25
PUR2	0.50	0.50

Composition and physicochemical properties of yogurt samples

Yogurt samples were analyzed in their total dry matter (%), fat (%), ash (%) content with methods (AOAC, 1997), Gerber method (Renner, 1993) and Bradley et al. (1993), respectively on the 1st and 21st days of storage.

pH and Titratable acidity

The pH value was measured by immersing electrode of pH-meter (Mettler Toledo Seven2Go S2; Schwerzenbach, Switzerland). Titratable acidity of the yogurts was determined by titrating with 0.1N NaOH coupled with phenolphthalein as indicator and expressed as lactic acid (%) (Bradley et al., 1993).

Color analysis

The CIELAB parameters of yogurt samples were measured by Chroma meter (Konica Minolta CR 410, Sensing Inc., Osaka, Japan) during storage period. After calibrating the instrument by standard white plate, color parameters L^* , a^* and b^* were measured. Among these parameters L^* indicates the lightness of a material changing from 0-100 (black - white). The parameters a^* and b^* can have (+) or (-) values and denote redness (+) or greenness (-) and yellowness (+) or blueness (-) of a material, respectively. By using the measured color parameters L^* , a^* and b^* , color indices such as total color difference (ΔE), Chroma (C^*) and Hue angle (h^*) were calculated by the given equations (Pathare et al., 2013).

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

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Eqn (2)}$$

$$h^* = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Eqn (3)}$$

Syneresis

Syneresis was evaluated according to Robitaille et al. (2009) by a centrifugation (Sigma 3-18K, Osterode am Harz, Germany) of 25 g of yogurt at 2200 rpm for 10 min at 4°C. Serum (supernatant) separated after centrifugation was weighed and calculated as syneresis (%) by Equation 4.

$$\text{Syneresis (\%)} = (\text{weight of supernatant} \div \text{weight of yogurt}) \times 100 \quad \text{Eqn (4)}$$

Texture analysis

Textural properties of yogurt samples were determined by texture analyzer (TA. XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK). Yogurt samples were analyzed by back extrusion method in their original containers with 35-mm back extrusion cone and a 5-kg load cell. Test speed of the probe and probe penetration distance were adjusted to the values 1,5 mm/s and 20 mm, respectively. Firmness, consistency, cohesiveness and index of viscosity were the textural parameters measured in the 1st, 7th, 14th and 21st days of storage. Samples were kept in the refrigerator just 5 minutes before the analysis. For each yogurt sample measurements were done for 4 times at a time in four different cups.

Sensory analysis

Sensory evaluation of yogurt samples was carried out by 7 panelists experienced in dairy products in the Dairy Technology Department (Ankara University Agriculture Faculty, Ankara, Turkey). Sample yogurts were coded with 3-digit numbers and served to the panelists in their original containers together with water. Aroma/flavor, odor, appearance, texture and general acceptability attributes of yogurt samples were evaluated by grading test method for overall quality assessment in terms of given attributes. The grading scale used in sensory evaluation and verbal explanations of the grades were given in Table 3 (Altug-Onogur and Elmaci, 2015).

Table 3. Grading scale used in sensory evaluation of yogurt samples

Grading Scale	Score
Extremely good	10
Perfect	9
Very good	8
Good	7
Quite good	6
Fair	5
Slight fair	4
Moderate	3
Very poor	2
Extremely poor	1
Unconsumable	0

Statistical analysis

Statistical evaluation of the results was done by Minitab statistical package (version 16.0, Minitab Inc.; State College, PA, USA). In order to evaluate the effect of using different concentrations of purslane in yogurt characteristics Tukey's multiple-comparison test was applied. The level of significance of differences between treatments was determined at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION**Yogurt composition**

The compositional properties of yogurt samples were given in Table 4. Incorporation of dried purslane significantly affected total dry matter (%) and ash (%) content of the samples ($P < 0.05$). Higher values were observed in these properties in yogurt samples with purslane (PUR1 and PUR2) than control (PC), in accordance with the level of purslane used in production. Storage period had no significant effect on these parameters ($P > 0.05$). In terms of fat (%) content neither use of purslane nor storage period had no significant effect depending on using standardized raw milk in production ($P > 0.05$).

pH and Titratable Acidity

The addition of dried purslane did not cause a significant effect in pH of sample yogurts ($P > 0.05$). Although being non-significant yogurt samples with dried purslane (PUR1 and PUR2) had higher pH values than control (PC). Similar results were stated by Hashim et al. (2009), but contrarily Espirito – Santo et al. (2013) and Sigdel et al. (2018) reported decrease in pH with presence of fruits in the system than control yogurts. However, pH decreased during storage period in yogurt samples (Table 5). This decrease and difference were significantly different in the 1st day than the remaining storage period ($P < 0.05$). The tendency of pH decreases and increase in titratable acidity in yogurt during storage is known as post-acidification reaction of lactic acid bacteria responsible for yogurt fermentation in that the acidity of yogurt samples continued to increase (Espirito – Santo et al., 2013; Mani-López et al., 2014; Rudra et al., 2017).

Table 4. Basic chemical composition of yogurt samples

Treatment ¹	Dry matter (%)	Fat (%)	Ash (%)
PC (control)	14.16 ± 0.27 ^B	1.37 ± 0.06	1.11 ± 0.01 ^B
PUR1	14.64 ± 0.12 ^{AB}	1.41 ± 0.03	1.27 ± 0.04 ^A
PUR2	15.40 ± 0.13 ^A	1.45 ± 0.04	1.35 ± 0.01 ^A

Values given in the table are the means ± SE of 1st day and 21th day of the storage in duplicate; values in the same column with different letters in superscript differ significantly ($P < 0.05$).

Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Table 5. pH and Titratable acidity (L.A%) values of yogurt samples in the storage days

Storage time (Day)	pH	Titratable acidity (LA %)
1	4.37 ± 0.04 ^A	1.32 ± 0.03 ^B
7	4.16 ± 0.02 ^B	1.50 ± 0.04 ^A
14	4.14 ± 0.06 ^B	1.49 ± 0.02 ^A
21	4.08 ± 0.03 ^B	1.52 ± 0.03 ^A

Values given in the table are the means ± SE on the days of storage in duplicate; values in the same column with different letters in superscript differ significantly ($P < 0.05$).

Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Titratable acidity values of the yogurt samples were significantly affected individually by purslane addition and storage period ($P < 0.05$). Similar to pH, acidity increased that titratable acidity gradually increased during storage and significant difference was observed in the 1st day when compared with days 7, 14 and 21 ($P < 0.05$). Besides that, PUR2 had higher titratable acidity

values than PC and PUR1 during storage period (Figure 1). Addition of fruits caused a rising trend in titratable acidity of yogurts due to low pH of fruits naturally (Sigdel et al., 2018). In sample yogurt PUR2 the progress of acidity was slightly more than others this might be the reason of acidic nature of purslane and use of higher amounts when compared with PUR1.

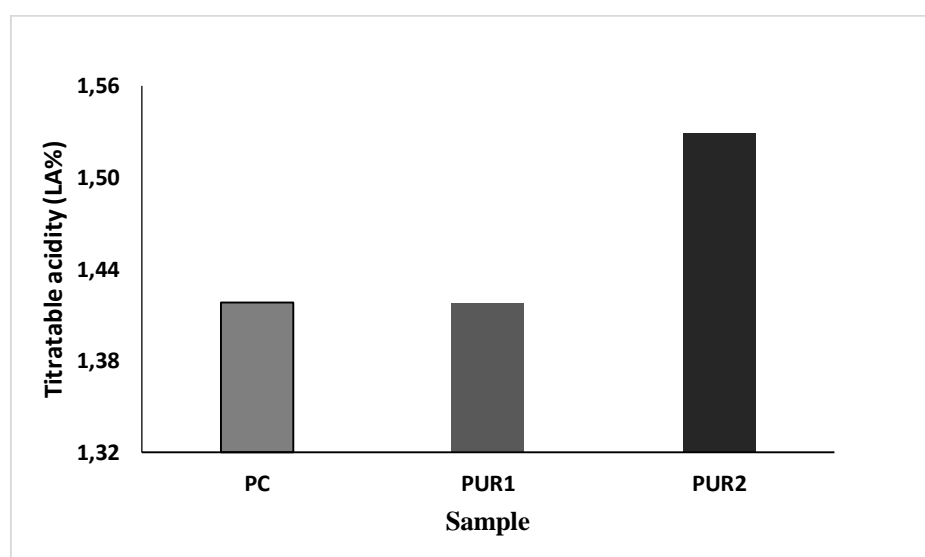


Figure 1. Titratable acidity values (L.A %) of yogurt samples during storage period in duplicate Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Color characteristics

Color is the first parameter determining consumer preference of a food product. Food products are evaluated in terms of color by measuring L^* , a^* , b^* parameters. The color indices of total color difference (ΔE^*), Chroma (C^*) and Hue angle (b^*) are calculated by measured color parameters. CIELAB color characteristics of yogurt samples were presented in Table 6. Incorporation of

purslane created significant difference in all color characteristics of yogurt samples ($P < 0.05$) except b^* for PC and PUR2. In terms of storage period L^* , a^* , ΔE , b^* values were significantly different in the 1st day and Chroma (C^*) was significantly different in the 1st and 7th day of storage than the other days ($P < 0.05$) (data not shown). Storage period did not cause a significant difference statistically in b^* values of the samples ($P > 0.05$).

Table 6. Color characteristics of yogurt samples

Treatment [†]	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Chroma (C^*)	Hue angle (b^*)
PC	70.78 ± 0.04 ^A	-2.39 ± 0.01 ^A	8.66 ± 0.10 ^A	-	8.99 ± 0.07 ^A	-74.54 ± 0.13 ^A
PUR1	60.54 ± 0.23 ^B	-2.08 ± 0.07 ^B	8.11 ± 0.14 ^B	10.27 ± 0.26 ^A	8.31 ± 0.11 ^B	-75.53 ± 0.33 ^B
PUR2	56.06 ± 0.13 ^C	-1.92 ± 0.06 ^C	8.48 ± 0.12 ^A	14.74 ± 0.16 ^B	8.70 ± 0.07 ^C	-77.29 ± 0.29 ^C

Values given in the table are the means ± SE during storage period in duplicate; values in the same column with different letters in superscript differ significantly ($P < 0.05$).

L^* value indicates whiteness of the material in light-dark axis (ranging between 100-0 values) (Maskan, 2001). Casein micelles, milk fat globules were effective in whiteness of fluid milk, take place in scattering the light in visible spectrum and fermentation causes decrease in translucency of milk (García-Pérez et al., 2005). PC yogurt was whiter than PUR1 and PUR2 with higher L^* values. As concentration of purslane increased in yogurt sample yogurt became darker. The darkening effect of purslane might be due to absorption of water by fiber present in purslane. Similar results were reported by the researchers as free water present in food surface causes higher L^* values (whiter product) (García-Pérez et al., 2005). Negative a^* values and positive b^* values in color scale of CIE system means greenish and yellowish colors perceived by human eye. Parameter a^* , followed an increasing trend (less greenish color) in increasing purslane concentration but although no regular increase was observed in all samples (PC, PUR1 and PUR2), b^* for PUR2 was higher so more yellowish than PUR1 (Table 7). Similarly, in orange fiber enriched yogurts L^* values decreased and a^* and b^* values increased (García-Pérez et al., 2005). Tarakci et al. (2011), stated at 8.0% inclusion levels, purslane use in labneh (concentrated yogurt) caused decrease in L^* (87.55 ± 1.24) and increase in a^* (-5.04 ± 0.30, greenness) and decrease in b^* (10.37 ± 1.89, yellowness) when compared with control in the 1st

day of storage. Herbs used in labneh affected color characteristics differently. Vital et al. (2015), declared decrease in whiteness in supplemented yogurt but as stated by Tarakci et al. (2011), a^* and b^* changed according to color of additive used.

ΔE is an index, indicating the color difference of a material from control. Its magnitude determines the degree of difference ($\Delta E > 3$; very distinct, $1.5 < \Delta E < 3$; distinct and when $\Delta E > 1.5$; small difference exists) (Pathare et al., 2013). According to Table 6, when PC was considered as control, ΔE values for PUR1 and PUR2 were higher than 3; so, all purslane fortified yogurt samples were very distinctly different than PC ($P < 0.05$).

Chroma (C^*) is the measure of colorfulness (saturation index) and measured by comparing the degree of hue with grey color under same lightness (Eqn 2). Higher chroma values are perceived by human eye more intensively (Pathare et al., 2013). Sanz et al. (2008), stated that fiber use increased C^* values in yogurt samples and yogurt became more colorful with fiber addition. However, in our samples purslane addition did not cause similar effect both in C^* and b^* , a^* regular increasing trend with increasing purslane concentration was not observed. Highest chroma values were obtained for PC with significant difference ($P < 0.05$) (Table 6).

Hue angle (b^*) is used to indicate the difference of a color with a reference of grey color under same lightness. Usually used to define color parameters in fruits, green vegetables and meats. Higher hue angle means lesser yellow character (Angles: 0° : red hue, 360° : red hue, 90° : yellow hue, 180° : green hue and 270° : blue hue) (Pathare et al., 2013). In the samples since b^* depends on a^* and b^* (Eqn 3), with a^* (-) and b^* (+) values, b^* lies between 90° - 180° that is in between yellow-green hue and higher purslane concentrations resulted in greater hue angle measurements.

Syneresis

Syneresis is the expulsion of whey from yogurt gel network regarded as an undesirable physical defect (Lee and Lucey, 2010; Mani-López et al., 2014). This is an either spontaneous or mechanical disruption of the gel that determines the quality and stability of yogurt (Mani-López et al., 2014). In low fat yogurts syneresis and texture defects could possibly occur and in general also increase in total solid content reduce syneresis (Vital et al., 2015). But this reaction depends on the nature of the additive used; syneresis in yogurt can either increase or decrease (Lee and Lucey, 2010; Mani-López et al., 2014; Rudra et al., 2017). In the samples syneresis was not significantly affected by incorporation of purslane and storage

period ($P > 0.05$). Increasing the concentration of purslane caused decrease in syneresis (Figure 2). Aberoumand (2009), reported crude fiber content of purslane leaves and stems as 8%. PUR1 and PUR2 are both enriched with purslane fiber exist in leaves and stems (Table 2). Lower syneresis was observed for PUR2 having higher fiber content than PUR1 and PC. Similarly, (Hashim et al., 2009) stated higher fiber content causes a decrease in syneresis. Use of dried fruits controls syneresis in yogurts by absorbing free water (Sigdel et al., 2018). At 0.6% and 0.8% orange fiber levels, an increase was observed in syneresis but whey released from the gel was absorbed by the fiber at 1.0% orange fiber concentrations (García-Pérez et al., 2005). A darkening effect (decrease in L^*) also observed in the samples due to absorption of water by increased purslane amounts. Syneresis in yogurt increases with storage time is a known phenomenon and use of pectin in yogurt prevents separation of the whey by interacting with casein through calcium ions (Ramirez-Santiago et al., 2010). Increase in acidity is also responsible for increase of syneresis in yogurts. Although acidity increased from day 1 to day 21, syneresis tended to decrease in our samples. Water holding capacity of yogurt gel was enhanced during storage period and this time in fiber - enriched yogurt.

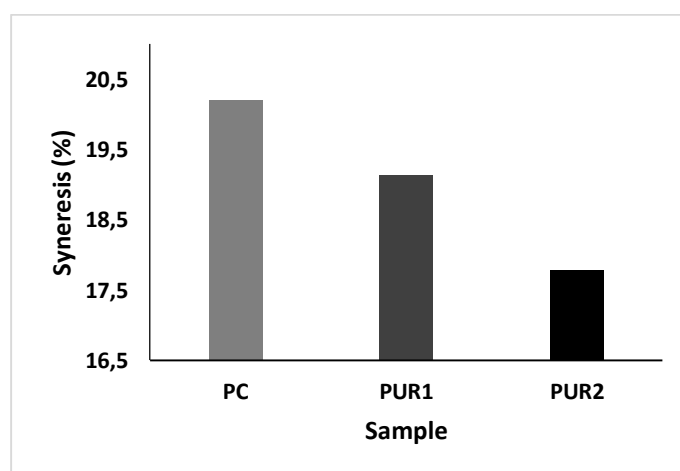


Figure 2. Syneresis (%) values of yogurt samples during storage period in duplicate Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Texture characteristics

Yogurt quality is assessed by its textural characteristics and results were presented in Table 7. Incorporation of purslane and storage period did not create significant effect on firmness (N), consistency (N.s), cohesiveness (N), index of viscosity (N.s) parameters of yogurt ($P > 0.05$). The addition of dried purslane in amounts (PUR1 and PUR2 were 0.5% and 1.0%, respectively) resulted in decrease in firmness, consistency and index of viscosity and a slight increase in

cohesiveness values when compared with PC. These results indicated that, the concentrations of purslane used in yogurt samples were not at a level that make a difference in texture. The concentration of dietary fiber used in yogurt was effective on texture characteristics. Use of 1.5% dietary fiber was ineffective on yogurt texture and at 3.0% dietary fiber dosages, significant difference was observed in texture (Hashim et al., 2009).

Table 7. Texture characteristics of yogurt samples

Treatment	Firmness (N)	Consistency (N.s)	Cohesiveness (N)	Index of viscosity (N.s)
PC (Control)	2.86 ± 0.15	30.71 ± 1.36	0.97 ± 0.01	1.79 ± 0.05
PUR1	2.76 ± 0.07	28.82 ± 0.80	0.98 ± 0.01	1.77 ± 0.09
PUR2	2.78 ± 0.17	27.24 ± 1.59	0.98 ± 0.02	1.76 ± 0.07

Values given in the table are the means ± SE during storage period in duplicate; Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Firmness is the first determining quality parameter of yogurt in sensory evaluation. Water holding capacity of milk proteins increase during storage leads to increase in firmness (Seckin and Baladura, 2012). Cold storage also strengthens textural characteristics of set-type yogurts (Wang et al., 2019). Yogurt texture changes with presence of fiber and its dose is the determinative (Seckin and Baladura, 2012; Wang et al., 2019). Firmness values of both yogurt samples increased during storage but highest values were observed in control yogurt (PC) due to rearrangement of proteins (Figure 3). Firmness values of PUR1 and

PUR2 increased compatible with higher fiber dose similar to results of researchers (Seckin and Baladura, 2012; Wang et al., 2019). Similar to our results lower firmness results were determined in supplemented yogurts than control. This situation was explained as the reason of higher water in gel structure causes lower firmness values and softer gel structure in *Pleurotus ostreatus* aqueous extract (POE) supplemented yogurts (Vital et al., 2015). As stated by Vital et al. (2015), this is also associated with lower syneresis at higher fiber doses (Figure 2).

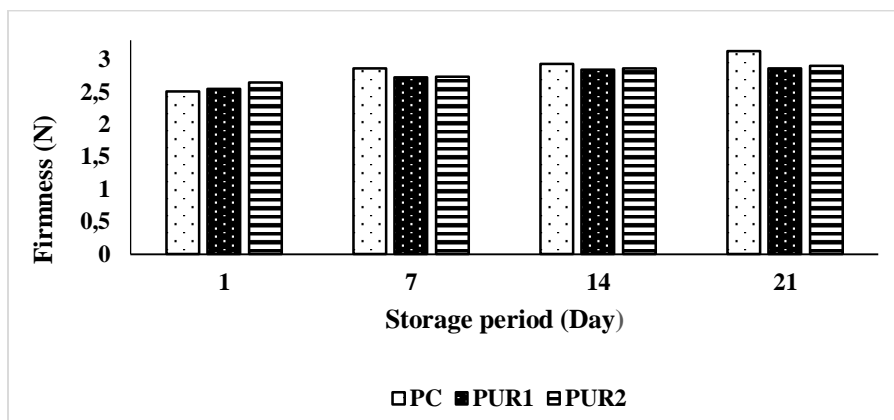


Figure 3. Firmness (N) of yogurt samples in storage days in duplicate Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Yogurt milk protein content and use of some ingredients affect curd structure and stability (Güven et al., 2005). As stated by Vital et al. (2015), the optimal dose that effects water binding and viscosity formation capability of soluble components and presence of insoluble ones in protein gel structure determines consistency. In their study neither control nor the sample with highest apple pomace (1.0%) dose got the highest consistency values. Sample with (0.5%) apple pomace got the highest and regarded as the optimal dose for water retention and viscosity building (Vital et al., 2015). In our samples, highest consistency values were observed in PC and lower in PUR1 and PUR2 with decreasing order, respectively (Table 7). Similar to firmness consistency increased during storage period due to rearrangement of proteins ($P > 0.05$).

Cohesiveness is the force required for removal of yogurt stuck on the spoon or mouth during consumption (Wang et al., 2019). Purslane addition (PUR1 and PUR2) caused slight increase

in cohesiveness values than PC. Although a slight difference was found, it can be concluded that incorporation of purslane made yogurt more cohesive than plain yogurt.

Despite no distinct difference was observed between the samples; PC got higher values than others in terms of index of viscosity. Inclusion of dried purslane to the yogurt resulted in less viscous structure in increasing doses (Table 7).

Sensory evaluation

Statistically aroma/flavor, texture and general acceptability characteristics were significantly affected by use of dried purslane in yogurts ($P < 0.05$) and presented in Figure 4. On the contrary, odor and appearance were not affected significantly ($P > 0.05$) but PUR1 got the highest scores in terms of odor and appearance during storage period (data not shown). Storage time did not create a significant difference in the sensory parameters ($P > 0.05$).

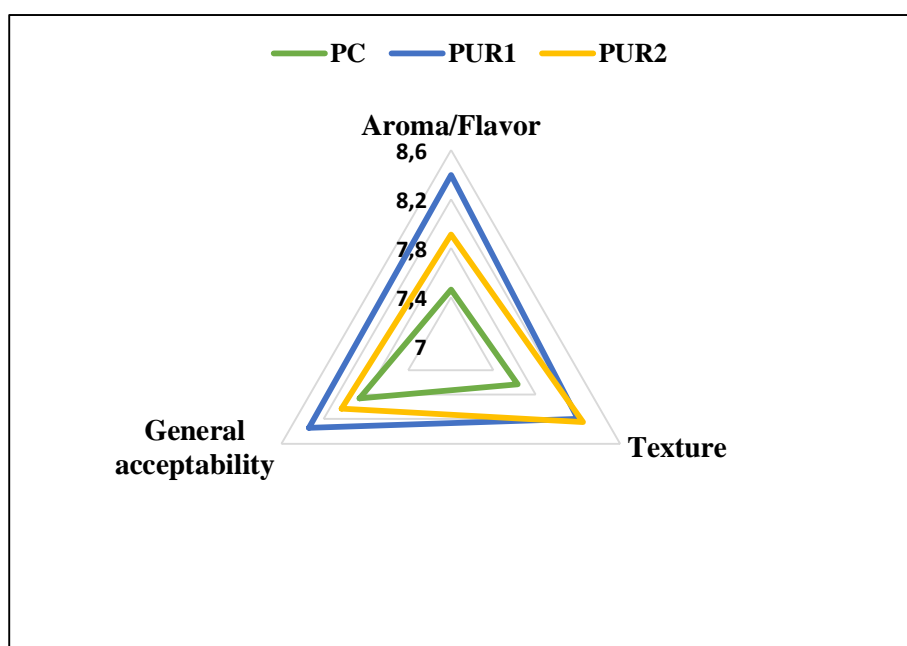


Figure 4. Sensory scores of yogurt samples during storage period ($P < 0.05$) Treatment codes represent; PC, Yogurt (control); PUR1=Yogurt with 0.5% purslane; PUR2=Yogurt with 1.0% purslane.

Aroma/flavor and texture characteristics were mostly affected sensory parameters related to dried purslane use. The most obvious consequences of the addition of dried purslane were declared by the panelists as the formation of a purslane flavor, sour taste and improved texture in the samples compared with control. The sourness defined was more distinct in PUR2 than PUR1 due to purslane amount used and increased with storage time. So, it can be concluded that this sour sensation was related to purslane nature itself and not created a negative effect in pH of yogurt samples. All samples were ranked with scores higher than grade 7 (Table 3) so regarded as “good” at least in terms of aroma, texture and general acceptability properties. PUR1, got higher scores in terms of all sensory attributes (Figure 4) than PC and PUR2 except texture. Although, scores were very close, texture of PUR2 was ranked with higher scores than PUR1. A firmer gel structure was noted by panelists with increasing purslane amount. However, PC was found firmer than PUR1 and PUR2 according to instrumental texture results (Table 7). General acceptability of the samples followed a decreasing order as PUR1, PUR2 and PC (control) during storage period ($P < 0.05$). Similarly, highest overall acceptability was detected in purslane added labneh samples among various alternative herbs (Tarakci et al., 2011).

CONCLUSION

In this study the use of purslane in dried state during yogurt processing was investigated and general composition, physicochemical, textural and sensory characteristics of yogurt samples were analyzed. Incorporation of dried purslane during processing did not cause a definite negative effect on properties of yogurt samples. Fat (%) content was not affected by purslane use but total dry matter (%) and ash (%) content increased in the samples in accordance with the purslane amount. According to color characteristics, purslane addition resulted in decrease in lightness (ΔL^*) and greenness (a^*) and increase in yellowness (b^*) of yogurt samples depending on the purslane dose. Yogurt samples became very different than control in terms of color (ΔE^*) with purslane addition. Syneresis

decreased with use of purslane and with its increasing amounts compared to control. Although instrumental texture parameters decreased slightly with purslane use and its increasing amounts except cohesiveness, this change in texture was not declared by the panelists during sensorial evaluation. Purslane use at a ratio of (0.5%) was found more successful according to sensorial and overall evaluation. According to the results the addition of purslane in dried form suited well with yogurt and its use during yogurt processing was found acceptable and time-saving rather than preparing “yogurt with purslane” with fresh purslane at the time of consumption. Use of purslane in dried state was found promising for developing a new fermented dairy alternative for consumers requiring ready-to-eat, rapid, healthy food solutions. Besides that the results of the study presented the opportunity of using purslane in a value-added form for industrial applications. It is thought to be beneficial to investigate the effects of drying and technological applications used in yogurt processing on health promoting components of purslane.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The research was designed by all authors and experimental stages of the research were carried out by the authors EAA and DS. Writing and editing processes were performed by the authors EAA and AG. All authors read the final version of the paper. The authors also would like to thank to Musa Evkaya for his logistic support in the study.

REFERENCES

- Aberoumand, A. (2009). Nutritional evaluation of edible *Portulaca oleracea* as plant food. *Food Anal. Methods*, 2: 204–207, doi: 10.1007/s12161-008-9049-9.
- Alam, A., Juraimi, A.S., Yusop, M.R., Hamid, A.A., Hakim, A. (2014). Morpho-physiological and mineral nutrient characterization of 45 collected Purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions

- Bragantia, *Campinas*, 73:4, 426-437, doi: 10.1590/1678-4499.253.
- Altug-Onogur, T., Elmaci, Y. (2015). *Sensory evaluation of foods* (In Turkish). Sidas Medya Ltd. Sti., Izmir, Turkey.
- AOAC (1997). Official Methods of Analysis. 15th ed. *AOAC International*, Washington, DC.
- Bradley RL, Arnold E, Barbano DM, Semerad RG, Smith DE, Vines BK. (1993). *Chemical and physical methods. Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. Marshall, R.T. (ed.), *Am Pub Health Assoc*, Washington, DC, pages 433–531.
- Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., Zhao, G. (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *Int J Food Prop*, 20(1): 316-330, doi: 10.1080/10942912.2017.1295988.
- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S.J., Karvela, E., Makris, D.P., Karathanos, V.T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT - Food Sci Technol*, 53: 522-529, doi: 10.1016/j.lwt.2013.03.008.
- Damin, M. R., Alcantara, M.R., Nunes, A. P., Oliveira, M. N. (2009). Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yoghurt. *Food Sci. Technol. (Campinas)*, 42: 1744–1750, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.019>.
- Dello-Staffolo, M., Bertola, N., Martino, M., Bevilacqua, A. (2004). Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *Int Dairy J*, 14: 263–268, doi: 10.1016/j.idairyj.2003.08.004.
- Demirhan, E., Ozbek, B. (2010). Drying kinetics and effective moisture diffusivity of purslane undergoing microwave heat treatment. *Korean J. Chem. Eng.*, 27(5): 1377-1383, doi: 10.1007/s11814-010-0251-2.
- Doymaz, I. (2013). Hot-air drying of purslane (*Portulaca oleracea L.*). *Heat Mass Trans*, 49: 835–841, doi: 10.1007/s00231-013-1128-9.
- Espírito-Santo, A.P., Lagazzo, A., Sousa, A.L.O.P, Perego, P., Converti, A., Oliveira, M.N. (2013). Rheology, spontaneous whey separation, microstructure and sensorial characteristics of probiotic yoghurts enriched with passion fruit fiber. *Food Res Int*, 50: 224–231, doi: 10.1016/j.foodres.2012.09.012.
- Fagan, C.C., O Donnell, C.P., Cullen, P.J., Brennan, C.S. (2006). The effect of dietary fibre inclusion on milk coagulation kinetics. *J Food Eng*, 77: 261–268, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.06.030.
- Fernandez, M.A., Murette, A. (2017). Potential health benefits of combining yogurt and fruits based on their probiotic and prebiotic properties. *Adv Nutr Int Rev J*, 8: 155-164, doi: 10.3945/an.115.011114.
- Figiel, A., Michalska, A. (2017). Overall quality of fruits and vegetables products affected by the drying processes with the assistance of vacuum-microwaves. *Int. J. Mol. Sci.* 18; 71, doi: 10.3390/ijms18010071.
- García-Pérez, F. J., Lario, Y., Fernández-López, J., Sayas, E., Pérez-Alvarez, J.A., Sendra, E. (2005). Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. *Color Res. Appl.* 30: 457–463, <https://doi.org/10.1002/col.20158>.
- Guven, M., Yasar, K., Karaca, O.B., Hayaloglu, A.A. (2005). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture, *Int J Dairy Technol*, 58 (3): 180-184, <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00210.x>.
- Hashim, I.B., Khalil, A.H., Afifi, H.S. (2009). Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fiber. *J. Dairy Sci.* 92: 5403–5407, doi: 10.3168/jds.2009-2234.
- Isleten, M., Karagul-Yuceer, Y. (2006). Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt. *J. Dairy Sci.* 89: 2865–2872, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72559-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72559-0).
- Karaaslan, S., Erdem, T., Oztekin, S. (2013). Mathematical modelling and color characteristics of purslane (*Portulaca Oleraceae L.*) leaves using

- different drying methods. *The Philipp Agric Scientist*, 96 (3): 171-178.
- Karaman, S., Toker, O.S., Çam, M., Hayta, M., Dogan, M., Kayacier, A. (2014). Bioactive and Physicochemical Properties of Persimmon as Affected by Drying Methods. *Drying Technol*, 32: 258–267, doi: 10.1080/07373937.2013.821480.
- Khaled, A.Y., Kabutey, A., Mizera, C., Hrabe, P., Herák, D. (2020). Modelling of hot-air and vacuum drying of persimmon fruit (*Diospyros kaki*) using computational intelligence methods. *Agronomy Res*, 18: S2, 1323–1335, doi: 10.15159/AR.20.095.
- Krokida, M.K., Karathanos, V.T., Maroulis, Z.B., Marinou-Kouris, D. (2004). Drying kinetics of some vegetables. *J Food Eng*, 59: 391–403, doi: 10.1016/S0260-8774(02)00498-3.
- Lee, W. J., Lucey, J.A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 23:1127–1136.
- Li, K., Zhanga, M., Mujumdar, A.S., Chitrakar, B. (2019). Recent developments in physical field-based drying techniques for fruits and vegetables. *Drying Technol*, Vol. 37, No. 15, 1954–1973, doi: 10.1080/07373937.2018.1546733.
- Loveday, S. M., Sarkar, A., Singh, H. (2013). Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture. *Trends Food Sci Technol*, 33(1): 5–20, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.06.007>.
- Lucey, J.A., Munro, P.A., Singh, H. (1999). Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. *Int Dairy J*, 9: 275–279, [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00074-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00074-6).
- Mani-López, E., Palou, E., López-Malo, A. (2014). Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci*, 97: 5, 2578–2590, <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7551>.
- Maskan, M. (2001). Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *J Food Eng*, 48: 169-175, [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00154-0](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00154-0).
- Mastud, S.K, Mote, G.V., Sahoo, AK. (2018). Development of value added products by using purslane (*Portulaca oleracea*). *J Pharmacog and Phytochem*, 7(4): 1761-1766.
- Mousavi, M., Heshmati, A., Garmakhany, A.D., Vahidinia, A., Taheri, M. (2019). Optimization of the viability of *Lactobacillus acidophilus* and physico-chemical, textural and sensorial characteristics of flaxseed-enriched stirred probiotic yogurt by using response surface methodology. *LWT - Food Sci. Technol*, 102: 80–88, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.023>.
- Oliveira, I., Valentão, P., Lopes, R., Andrade, P.B., Bento, A., Pereira, J.A. (2009). Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. *Microchem J*, 92: 129–134, doi:10.1016/j.microc.2009.02.006.
- Orikasa, T., Koide, S., Okamoto, S., Imaizumi, T., Muramatsu, Y., Takeda, J., Shiina, T., Tagawa, A. (2014). Impacts of hot air and vacuum drying on the quality attributes of kiwifruit slices. *J Food Eng*, 125: 51–58, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.10.027.
- Vital, A.C.P., Priscila Akie Goto, P.A., Hanai, L.N., Gomes-da-Costa, S.M., Benício, A.A.F., Nakamura, C.V., Matumoto-Pintro, P.T. (2015). Microbiological, functional and rheological properties of lowfat yogurt supplemented with *Pleurotus ostreatus* aqueous extract. *LWT - Food Sci Technol*, 64: (2), 1028-103, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.003>.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Julanda Al-Said, F. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technol*, 6: 36–60, doi: 10.1007/s11947-012-0867-9.
- Ramirez-Santiago, C., Ramos-Solis, L., Lobato-Calleros, C., Peña-Valdivia, C., Vernon-Carter, E.J. Alvarez-Ramírez, J. (2010). Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L. Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *J Food Eng*, 101, 229–235, doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.06.023.

- Robitaille, G., Tremblay, A., Moineau, S., St-Gelais, D., Vadeboncoeur, C., Britten, M. (2009). Fat-free yogurt made using a galactose-positive exopolysaccharide-producing recombinant strain of *Streptococcus thermophilus*. *J. Dairy Sci.* 92: 477–482, <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1312>.
- Rudra, S.G., Nath, P., Kaur, C., Basu, S. (2017). Rheological, storage stability and sensory profiling of low-fat yoghurt fortified with red capsicum carotenoids and inulin. *J Food Process and Preserve*, 41: e13067, doi:10.1111/jfpp.13067.
- Renner, E. 1993. *Milchpracticum*. Justus-Liebig-Universität, Giessen, Germany.
- Sagar, V.R., Suresh Kumar, P. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *J Food Sci Technol*, 47: 15-26.
- Sanz, T., Salvador, A., Jimenez, A., Fiszman, S.M. (2008). Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *Eur Food Res Technol*, 227:1515–1521, doi: 10.1007/s00217-008-0874-2.
- Seckin, A.K., Baladura, E. (2012). Effect of using some dietary fibers on color, texture and sensory properties of strained yogurt. *GIDA*, 37(2): 63-69.
- Sert D, Evkaya, M. (2017). Semizotunun yoğurtta kullanım olanağının araştırılması. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi 13. Öğrenci Kongresi, Ankara, Türkiye.
- Sigdel, A., Ojha, P., Karki, T.B. (2018). Phytochemicals and syneresis of osmo-dried mulberry incorporated yoghurt. *Food Sci Nutr*, 6: 1045-1052, doi: 10.1002/fsn3.645.
- Tamime, A. Y., Robinson, R.K. (2007). *Yoghurt: Science and Technology*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Tarakci, Z., Temiz, H., Ugur, A. (2011). The effect of adding herbs to labneh on physicochemical and organoleptic quality during storage. *Int J Dairy Technol*, 64(1): 108-116, doi: 10.1111/j.1471-0307.2010.00636.x.
- Wainstein, J., Landau, Z., Dayan, Y.B., Jakubowicz, D., Grothe, T., Perrinjaquet-Moccetti, T., Boaz, M. (2016). Purslane extract and glucose homeostasis in adults with type 2 diabetes: a double-blind, placebo-controlled clinical trial of efficacy and safety. *J Med Food* 19 (2): 133–140, doi:10.1089/Jmf.2015.0090.
- Wang, X., Kristo, E., LaPointea, G. (2019). The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. *Food Hydrocoll*, 91:83-91, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.004>.
- Wu, X., Wang, J., Hou, N. (2011). Techniques of making purslane yogurt. *Tianjin Agric Sci*. 2011:1.
- Yan, J., Sun, L., Zhou, Z., Chen, Y., Zhang, W., Dai, H., Tan, J. (2012). Homoisoflavonoids from the medicinal plant *Portulaca oleracea*. *Phytochemistry*, 80: 37–41, doi: 10.1016/j.phytochem.2012.05.014.
- Youssef, KM, Mokhtar, SM. (2014). Effect of drying methods on the antioxidant capacity, color and phytochemicals of *Portulaca oleracea* L. leaves. *J Nutr Food Sci* 4: 322, doi: 10.4172/2155-9600.1000322.
- Zakizadeh, E., Faghihimani E., Saneei, P., Esmailzadeh, A. (2015). The effect of purslane seeds on biomarkers of oxidative stress in diabetic patients: A randomized controlled cross-over clinical trial. *Int J Prev Med.*, 6: 95, doi: 10.4103/2008-7802.166505.
- Zhou, Y., Xin, H., Rahman, K., Wang, S., Peng, C., Zhang, H. (2015). *Portulaca oleracea* L: A review of phytochemistry and pharmacological effects. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Res Int*, 11,doi: 10.1155/2015/925631.

FARKLI YÖNTEMLERLE ACILIĞI GİDERİLMİŞ LÜPEN UNU VE DİRENÇLİ NİŞASTA İÇEREN EKMEKLERİN KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE VİTAL GLUTEN VE EMÜLGATÖRÜN ETKİSİ

Elif Yaver, Nermin Bilgiçli*

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş / Received: 07.11.2020; Kabul / Accepted: 11.01.2021; Online baskı / Published online: 18.01.2021

Yaver, E., Bilgiçli, N. (2021). Farklı yöntemlerle acılığı giderilmiş lüpen unu ve dirençli nişasta içeren ekmeklerin kalite özellikleri üzerine vital gluten ve emülgatörün etkisi. *GIDA* (2021) 46 (2) 243-255 doi: 10.15237/gida. GD20128.

Yaver, E., Bilgiçli, N. (2021). *Effect of vital gluten and emulgator on quality properties of bread containing lupin flour debittered by different methods and resistant starch. GIDA* (2021) 46 (2) 243-255 doi: 10.15237/gida. GD20128.

ÖZ

Bu çalışmada; ekmeğin besinsel özelliklerini geliştirmek için ekmeğin üretiminde kullanılan buğday unu, farklı yöntemlerle (geleneksel ve ultrason uygulamalı) acılığı giderilmiş lüpenden elde edilen un (%10) ve tip4 dirençli nişasta (DN-%10) ile yer değiştirilmiştir. Ekmeğin kalite özelliklerini geliştirmek amacıyla vital gluten ve/veya sodyum stearyl-2-laktilat (SSL) ilavesi yapılarak, katkı maddelerinin ekmeğin kalitesi üzerine etkileri belirlenmiştir. Ekmeğin formülasyonuna lüpen unu+DN ilavesiyle azalan hacim ve spesifik hacim değerleri, katkı maddelerinin kullanımı ile yükselmiştir. Ultrason uygulamasıyla acılığı giderilmiş lüpen unu kullanımı; geleneksel yöntemle acılığı giderilmiş lüpen unu içeren ekmeklere göre daha yüksek hacim ve spesifik hacim ile daha düşük sıklık ve sertlik değerleri sağlamıştır. Vital gluten+SSL kombinasyonu ile üretilen ekmeklerin sertlik, elastikiyet, kohezivlik ve esneklik değerleri istatistiksel açıdan buğday unu ekmeğine benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Ekmeğin örneklerinin genel beğeni puanları %10 lüpen unu+%10 DN kullanımı ile azalmış, vital gluten ve vital gluten+SSL ilavesi genel beğeni puanlarının buğday unu ekmeğine yakın olmasını sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Vital gluten, sodyum stearyl-2-laktilat (SSL), lüpen, dirençli nişasta, ekmeğin

EFFECT OF VITAL GLUTEN AND EMULGATOR ON QUALITY PROPERTIES OF BREAD CONTAINING LUPIN FLOUR DEBITTERED BY DIFFERENT METHODS AND RESISTANT STARCH

ABSTRACT

In this study, wheat flour used in bread was replaced by flour (10%) obtained from lupin debittered by different methods (traditional and ultrasound application) and resistant starch type4 (RS-10%) to improve nutritional properties of bread. The effects of vital gluten and/or sodium stearyl-2-lactylate (SSL) on quality characteristics of bread were investigated. While volume and specific volume decreased with addition of lupin flour+RS to bread formulation, it increased with additives. Use of lupin flour debittered by ultrasound provided higher volume and specific volume, lower firmness and hardness compared to breads containing lupin flour debittered by traditional method. Firmness, springiness, cohesiveness and resilience of breads produced with vital gluten+SSL were found

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: nerminbil2003@hotmail.com,

☎: (+90) 332 323 7926

☎: (+90) 332 236 2141

Elif Yaver; ORCID no: 0000-0002-2651-9922

Nermin Bilgiçli; ORCID no: 0000-0001-5490-9824

statistically similar to wheat flour bread ($P > 0.05$). Overall acceptability scores of breads decreased with use of 10% lupin flour+10% RS, addition of vital gluten or vital gluten+SSL provided overall acceptability scores close to wheat flour bread.

Keywords: Vital gluten, Sodium stearoyl-2-lactylate (SSL), lupin, resistant starch, bread

GİRİŞ

Antik bir baklagil tanesi olarak bilinen lüpen (*Lupinus albus* L.), Akdeniz çevresinde, Balkanlar, Asya, Avrupa ve Güney Amerika'da yetiştirilmektedir. Proteince zengin (%33-47) bir bileşime sahip olan lüpen aynı zamanda; diyet lifi, yağ, α -tokoferol, tiamin, riboflavin, C vitamini ve çeşitli mineraller içermektedir (Dervas vd., 1999; Mohammed vd., 2017). Bununla birlikte, lüpen yüksek oranda antioksidan aktiviteye ve fenolik madde içeriğine sahiptir (Oomah vd., 2006). Lüpenin insan sağlığı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda; düşük yoğunluklu lipoprotein seviyesi, plazma kolesterolü ve trigliseritler ile kan basıncında azalma sağladığı, kardiyovasküler hastalık riskini düşürdüğü bildirilmiştir (Sirtori vd., 2004; Lee vd., 2009; Belski vd., 2011). Lüpen içeriği yüksek olan gıdalar, glisemik indeksinin düşük olması sebebiyle diyabet ve obezitenin kontrolünde kullanılabilir (Johnson vd., 2003).

Dirençli nişasta (DN), üst gastrointestinal sistemde 120 dakika boyunca hidrolize direnç gösteren nişastadır. DN, postprandiyal hiperglisemiye etkilememektedir. Kalın bağırsakta mikroorganizmalar tarafından fermente edilen DN, kısa zincirli yağ asitlerine (bütirat, propiyonat ve asetat gibi) ve çeşitli gazlara (CO_2 , CH_4 ve H_2) dönüştürülmektedir (Englyst vd., 1992). Kalın bağırsaktaki kısa zincirli yağ asitleri; kardiyovasküler hastalıklar, inflamatuvar bağırsak hastalığı ile bazı kanser türlerinin riskinin azaltılmasında ve kolon sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösterebilmektedir (Wong vd., 2006). Sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşan DN, AACC (2000) tarafından verilen diyet lifi tanımına uymakta ve bir lif bileşeni olarak sınıflandırılmaktadır. DN'nin insan sağlığı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda; kolon kanserini önleyebildiği (Asp ve Bjorck, 1992), prebiyotik etkilerinin bulunduğu (Brown vd., 1996), tip 2 diyabet riskini düşürdüğü (Meyer vd., 2000), safra taşı oluşumunu azaltabildiği (Birkett vd., 2000), postprandiyal lipid oksidasyonunu

artırarak uzun dönemde yağ birikimini önleyebildiği (Higgins vd., 2004), kalsiyum ve demir emilimini artırabildiği (Morais vd., 1996) bildirilmektedir.

Buğday ununda bulunan gluten proteininin mükemmel visko-elastik özellikleri; ortamdaki havanın ve maya faaliyeti sonucu oluşan karbondioksitin hamur içinde tutulmasına, böylece kabaran, hacimli ve gözenekli yapıda ekmek oluşumuna imkan vermektedir (Pomeranz, 1987; Dizlek vd., 2013). Buğday ununun lüpen unu ve DN ile ikamesi; gluten oranında seyrelmeye, hamurun visko-elastik özelliklerinde ve pişme performansında azalmaya sebep olarak, ekmeğin teknolojik kalitesinin düşmesine neden olabilmektedir (Dervas vd., 1999; Sanchez vd., 2014). Vital gluten, genellikle tahıl ve baklagil unları ilavesiyle bozulan teknolojik özelliklerin buğday ununa geri kazandırılmasını sağlamakta; hamur mukavemetini, yoğurma toleransını ve elle işleme özelliklerini geliştirmektedir (Day vd., 2006).

Bir emülgatör olan sodyum stearol-2-laktilat (SSL); hamur yoğurma esnasında gluten ile etkileşime girerek hamur mukavemetinin artmasını, bayatlamının gecikmesini ve yapışkanlığın azalmasını sağlamaktadır (van Steertegem vd., 2013). Gomes-Ruffi vd. (2012), ekmek yapımında SSL kullanımı ile ekmek için yumuşadığını, gözenek yapısının iyileştiğini, ekmek hacminin arttığını ve daha uzun raf ömrüne sahip ekmek elde ettiklerini raporlamışlardır.

Bu çalışmada; buğday unu, farklı metotlarla (geleneksel ve ultrason uygulamalı) acılığı giderilmiş lüpen unu (%10) ve DN (%10) ile ikame edilerek ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir. Lüpen unu ve DN ilavesiyle bozulan ekmek kalitesinin iyileştirilmesi için çeşitli katkı maddeleri (vital gluten, SSL ya da vital gluten+SSL) kullanılarak kalite üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Buğday unu (%0.62 kül ve %11.34 protein; Hekimoğlu, Konya, Türkiye), yaş maya (Pakmaya, Kocaeli, Türkiye), tuz ve DN (tip4) Konya (Türkiye) piyasasından tedarik edilmiştir. Vital gluten ve SSL Vatan Enzim A.Ş.'den (İstanbul, Türkiye) alınmıştır.

Bu çalışmada kullanılan lüpen unları (geleneksel yöntemle acılığı giderilmiş lüpen unu (GALU)/ultrason uygulamasıyla acılığı giderilmiş lüpen unu (UALU)), 119O071 no'lu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenen daha önceki çalışmamızda elde edilmiştir. Bu amaçla, acı lüpen tohumları geleneksel yöntem (144 saat) ve ultrason uygulamalı yöntem (25 °C - her 4 saatte bir 25 dk ultrasonikasyon - toplam 60 saat) olmak üzere iki farklı metot kullanılarak acılık giderme işlemine tabi tutulmuştur. Her iki acılık giderme yönteminde de lüpen tohumlarına 1:3 (lüpen:su, w/v) oranında saf su eklenmiş ve 75 dk süre ile ısıtma işlemi uygulanmıştır. Ardından örnekler 1:10 (lüpen:su, w/v) oranında saf su eklenmiş; geleneksel yöntemde her 4 saatte bir su değiştirilerek, 144 saat boyunca örnekler ıslatma işlemine tabi tutulmuş, ultrason uygulamalı yöntemde ise 60 saat boyunca her 4 saatte bir örneklerin ıslatma suyu (25 °C) değiştirilmiş ve 25 dk süre ile ultrason uygulanmıştır. Acılığı giderilmiş lüpen tohumları (toplam alkaloit miktarı < 0.02 g/100 g) öğütülerek un haline getirilmiş, daha sonra kuru kavurma yöntemi (160 °C - 30 dk) ile stabilize edilmiştir (Yaver, 2021).

Yöntem

Ekmek Üretimi

Kontrol-1 %100 buğday unu ekmeği üretimi için; 100 g un esasına göre 3 g yaş maya, 1.5 g tuz ve su, mikser (Hobart N50, Offenburg, Almanya) içerisinde karıştırıldıktan sonra düşük hızda 5 dk ve yüksek hızda 2 dk süre ile homojen bir hamur elde edilene kadar yoğrulmuştur. Elde edilen hamurlar, 30 °C'de ve %80-90 nispi nemde kitle fermentasyonuna (30+30 dk) bırakılmış, 30 dk'da bir katlanarak havalandırılmış, daha sonra şekillendirilerek 60 dk dinlendirilmiştir. Fermentasyon süresi sonunda hamurlar, 230

°C'deki fırında (Fimak Rokon Classic FRN10 G, Konya, Türkiye) 9 dk süreyle pişirilmiştir.

Kontrol-2 ekmek örneğinin üretiminde; buğday unu %10 lüpen unu (GALU/UALU) + %10 DN ile ikame edilmiş, Kontrol-1 ekmeğinin üretiminde uygulanan prosedür aynı şekilde uygulanmıştır. Lüpen unu ve DN kullanım oranı, önceki çalışmamızda farklı lüpen unu (%0, 10, 15 ve 20) ve DN (%0, 5 ve 10) ikame oranları arasında teknolojik kalite açısından en ümitvar bulunan örneğin %10 lüpen unu + %10 DN kullanılarak üretilen ekmek örneği olması ile belirlenmiş ve katkı maddelerinin ilave edilmesi üzerine yapılan denemeler bu ekmek formülasyonu (Kontrol-2) üzerinde gerçekleştirilmiştir (Yaver, 2021). Katkı maddeleri ilave edilmiş ekmek denemeleri için; Kontrol-2 ekmek formülasyonuna (%10 lüpen unu + %10 DN) seyrelen miktarda vital gluten, %0.5 SSL ve aynı oranlarda vital gluten:SSL kombinasyonu ilave edilmiş ve yukarıda bahsedilen ekmek üretim prosedürünün aynısı uygulanmıştır.

Renk Ölçümü

Ekmek örneklerine ait renk değerleri (L^* , a^* ve b^*) Minolta CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak Francis (1998)'e göre belirlenmiştir. Renk değerleri, hem ekmek kabuğu hem de ekmek içinde beş farklı noktadan ölçüm yapılması ile bulunmuştur.

Ağırlık, Hacim ve Spesifik Hacim

Ağırlık ve hacim değerleri, ekmek örneklerinin fırından çıkmasını takiben 60 dk sonra ölçülmüştür. Hacim ölçümü kolza tohumu ile yer değiştirme esasına göre, AACC 10-05 metoduna uygun olarak yapılmıştır (AACC, 1990). Ekmek örneklerine ait hacim değerinin ağırlık değerine oranlanması ile spesifik hacim değeri bulunmuştur (Elgün vd., 2001).

Tekstür Analizleri

Ekmek örneklerine ait 1. ve 3. günlerde ölçülen sıklık, sertlik, elastikiyet, koheziflik, çignenebilirlik ve esneklik değerleri tekstür analiz cihazı (Stable Microsystems TA-XT.Plus, Surrey, Birleşik Krallık) kullanılarak ve AACC 74-09 metoduna uygun olarak belirlenmiştir (AACC, 2000).

Duyusal Analizler

Duyusal analizler 12 panelist tarafından, ekmeğin örneklerinin tat, koku, görünüş, simetri, gözenek yapısı ve genel beğeni özelliklerinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Değerlendirme, 1-9 arasındaki skala (1: aşırı kötü, 5: orta, 9: aşırı iyi) kullanılarak yapılmıştır (Hooda ve Jood, 2005).

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde TARIST 4.01 (Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye) programı kullanılarak sonuçlara varyans analizi (ANOVA) uygulanmış, ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir ($P < 0.05$). Analiz sonuçları ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir (Düzgüneş vd., 1987).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Ekmeğin örneklerine ait kabuk L^* , a^* ve b^* değerleri Çizelge 1’de gösterilmiştir. Ekmeklerin üretiminde kullanılan lüpen ununun çeşidi (GALU ve UALU), örneklerin ortalama kabuk L^* , a^* ve b^* değerleri üzerinde istatistiksel açıdan bir farklılık oluşturmamıştır ($P > 0.05$). Sonuçlar katkı

çeşidi faktörü açısından değerlendirildiğinde; Kontrol-2 (%10 lüpen unu + %10 DN) örneğinin kabuk L^* değerinin, Kontrol-1 (%100 buğday unu) örneğine göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Kontrol-2 ekmeğinin formülasyonuna ilave edilen katkı maddelerine (vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL) ait kabuk L^* değerinin, Kontrol-2 ekmeğine istatistiksel açıdan benzer olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). En yüksek ortalama kabuk a^* değeri (10.61) Kontrol-1 örneğinde bulunurken, en düşük ortalama kabuk a^* değeri Kontrol-2 (7.23) ekmeğinin ile “%10 lüpen unu + %10 DN + SSL” katkılı ekmeğin örneğinde (7.15) elde edilmiştir. Ekmeğin formülasyonuna beyaz renkli DN ilavesinin, %10 lüpen unu + %10 DN içeren ekmeğin örneklerinin Kontrol-1 ekmeğine göre daha yüksek L^* ve daha düşük a^* değerlerine sahip olmasında etkili olduğu tahmin edilmektedir. Ekmeğin örneklerinin ortalama kabuk b^* değeri üzerinde katkı çeşidinin önemli ($P > 0.05$) bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür. Benzer sonuçlar Yıldız (2009) tarafından da elde edilmiş, “%20 karabuğday unu + vital gluten + SSL” içeren ekmeğinin kabuk L^* ve b^* değerlerinin katkısız ekmeğe yakın olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 1. Ekmeğin örneklerine ait kabuk renk değerleri¹

Table 1. Crust color values of bread samples¹

Faktör/ Factor	n	L^*	a^*	b^*
<i>Lüpen unu çeşidi/ Lupin flour type</i>				
GALU ²	10	61.45 \pm 1.96 ^a	8.34 \pm 1.41 ^a	32.01 \pm 0.49 ^a
UALU ³	10	61.38 \pm 1.86 ^a	8.29 \pm 1.45 ^a	31.94 \pm 0.34 ^a
<i>Katkı çeşidi/ Additives</i>				
Kontrol-1 ⁴ / Control-1 ⁴	4	58.16 \pm 0.13 ^b	10.61 \pm 0.06 ^a	31.78 \pm 0.10 ^a
Kontrol-2 ⁵ / Control-2 ⁵	4	62.45 \pm 0.53 ^a	7.23 \pm 0.25 ^d	32.41 \pm 0.39 ^a
VG ⁶	4	61.31 \pm 0.18 ^a	8.70 \pm 0.10 ^b	32.32 \pm 0.10 ^a
SSL ⁷	4	62.60 \pm 0.11 ^a	7.15 \pm 0.00 ^d	31.66 \pm 0.39 ^a
VG+SSL	4	62.54 \pm 0.25 ^a	7.87 \pm 0.03 ^c	31.69 \pm 0.23 ^a

¹Sonuçlar iki tekrarin ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$)./¹Values are the average of duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

²Geleneksel yöntemle açılığın giderilmiş lüpen unu./²Lupin flour debittered by traditional method.

³Ultrason uygulamasıyla açılığın giderilmiş lüpen unu./³Lupin flour debittered by ultrasound application.

⁴%100 buğday unu./⁴100% wheat flour.

⁵%10 lüpen unu+%10 dirençli nişasta./⁵10% lupin flour+10% resistant starch.

⁶Vital gluten.

⁷Sodyum stearoil-2-laktilat./⁷Sodium stearoyl-2-lactylate.

Ekmek örneklerine ait iç L^* , a^* ve b^* değerleri Çizelge 2’de verilmiştir. GALU ve UALU kullanılarak üretilen ekmeklerin ortalama iç L^* , a^* ve b^* değerlerinin birbirine yakın olduğu, aralarında anlamlı bir fark oluşmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Katkısız Kontrol-2 örneği ile katkı maddeleri ilave edilerek üretilen ekmek örneklerine ait ortalama iç L^* değerleri birbirine yakın ($P > 0.05$) ve Kontrol-1 ekmeğinin ortalama iç L^* değerine göre daha düşük bulunmuştur. Katkı maddelerinin ilavesi, Kontrol-2 ekmeğinin ortalama iç a^* değerini sayısal olarak azaltmış, ancak bu farkın istatistiki

açıdan önemsiz ($P > 0.05$) olduğu görülmüştür. Kontrol-2 ekmeğinde, Kontrol-1 ekmeğine göre daha yüksek ortalama iç b^* değeri elde edilmiştir. Kontrol-2 formülasyonunda yer alan lüpen ununun bileşiminde bulunan pigmentler, muhtemelen bu artış üzerinde etkili olmuştur. Vital gluten ve vital gluten+SSL katkıları, katkısız Kontrol-2 ekmeğinin ortalama iç b^* değerini azaltmıştır. Kim vd. (2013); vital gluten katkısının, ekmek örneklerine ait iç a^* değerinin katkısız kontrol örneğine yakın olmasını sağladığını, iç b^* değerini ise azalttığını ifade etmişlerdir.

Çizelge 2. Ekmek örneklerine ait ekmek içi renk değerleri¹Table 2. Crumb color values of bread samples¹

Faktör/ Factor	n	L^*	a^*	b^*
<i>Lüpen unu çeşidi/ Lupin flour type</i>				
GALU ²	10	70.45±1.26 ^a	-1.78±0.15 ^a	20.81±3.48 ^a
UALU ³	10	70.35±1.35 ^a	-1.77±0.21 ^a	20.78±3.52 ^a
<i>Katkı çeşidi/ Additives</i>				
Kontrol-1 ⁴ / Control-1 ⁴	4	72.61±0.02 ^a	-1.55±0.05 ^a	14.67±0.11 ^c
Kontrol-2 ⁵ / Control-2 ⁵	4	70.53±0.06 ^b	-1.61±0.06 ^a	23.21±0.10 ^a
VG ⁶	4	69.53±0.32 ^b	-1.85±0.03 ^a	21.66±0.21 ^b
SSL ⁷	4	69.60±0.07 ^b	-1.93±0.02 ^a	22.87±0.01 ^{ab}
VG+SSL	4	69.72±0.08 ^b	-1.92±0.01 ^a	21.58±0.10 ^b

¹Sonuçlar iki tekrerrün ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / ¹Values are the average of duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

²Geleneksel yöntemle acılığı giderilmiş lüpen unu. / ²Lupin flour debittered by traditional method.

³Ultrason uygulamasıyla acılığı giderilmiş lüpen unu. / ³Lupin flour debittered by ultrasound application.

⁴%100 buğday unu. / ⁴100% wheat flour.

⁵%10 lüpen unu+%10 dirençli nişasta. / ⁵10% lupin flour+10% resistant starch.

⁶Vital gluten.

⁷Sodyum stearol-2-laktat. / ⁷Sodium stearoyl-2-lactylate.

Ekmek örneklerine ait ağırlık, hacim ve spesifik hacim sonuçları Çizelge 3’te verilmiştir. Ekmek örneklerinin üretiminde lüpen unu çeşidi olarak UALU kullanımı, GALU kullanılarak üretilen ekmeklere göre daha düşük ağırlık değerleri ile daha yüksek hacim ve spesifik hacim değerleri sağlamıştır. UALU örneklerinin elde edilmesinde kullanılan ultrason uygulamasının oksidasyona ve bunun sonucunda da hidroperoksitlerin oluşumuna neden olduğu bilinmektedir (Jiang vd., 2014). UALU örneklerinde bulunan

hidroperoksitler, UALU içeren ekmeklerde hamur oksidasyonu ile serbest sülfidril (-SH) gruplarının disülfid (S-S) gruplarına dönüşümünü sağlayarak gluten ağını güçlendirmiş ve ekmek hacminin artmasını sağlamış olabilir (Yang vd., 2018; Li vd., 2019). Katkı çeşidi faktörü açısından yapılan değerlendirmede; katkısız Kontrol-2 ekmeğinin ortalama ağırlık değeri 155.32 g olarak bulunmuş; vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL ilavesi ile ekmek örneklerinin ortalama ağırlık değerlerinin sırasıyla 151.22 g, 153.31 g ve 148.62

g'a düştüğü görülmüştür. %10 lüpen unu + %10 DN formülasyonuna ilave edilen katkı maddelerinin üçü de (vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL) hacim ve spesifik hacim değerlerinin katkısız Kontrol-2 ekmeğine göre artmasını sağlamış, istatistiki açıdan en yüksek hacim ve spesifik hacim değerleri ise Kontrol-1 örneğinde bulunmuştur ($P < 0.05$). Şekil 1a'da gösterildiği gibi, hem GALU hem de UALU ilave edilerek üretilen ekmeğin arasında Kontrol-1 örneğine en yakın hacim değeri vital gluten+SSL katkısı ile elde edilmiştir. Vital glutenin; hamur elastikiyetini, mukavemetini ve gaz tutma kapasitesini artıran

visko-elastik özellikleri ve lüpen unu+DN ilavesi ile seyrelen gluten miktarını tamamlayıcı olması, hacim artışı üzerinde etkili olmaktadır (Dizlek vd., 2013; Ortolan ve Steel, 2017). SSL ise; gluten ve nişasta arasındaki arayüzde sıvı filmler oluşturarak gaz tutma kapasitesinin artmasını sağlamakta, bu da hacim ve spesifik hacim değerleri üzerinde olumlu etki oluşturmaktadır (Krog, 1981; Gomes-Ruffi vd., 2012). Özkaya ve Özkaya (1992); %20 oranında mısır unu içeren ekmeğin formülasyonuna vital gluten+SSL katkısı ilavesinin, ekmeğin örneklerinin hacim ve spesifik hacim değerlerini iyileştirdiğini raporlamışlardır.

Çizelge 3. Ekmeğin örneklerine ait ağırlık, hacim ve spesifik hacim değerleri¹

Table 3. Weight, volume and specific volume values of bread samples¹

Faktör/ Factor	n	Ağırlık (g)/ Weight (g)	Hacim (ml)/ Volume (ml)	Spesifik hacim (ml/g)/ Specific volume (ml/g)
<i>Lüpen unu çeşidi/ Lupin flour type</i>				
GALU ²	10	152.24±4.29 ^a	517.39±82.61 ^b	3.41±0.64 ^b
UALU ³	10	149.60±3.12 ^b	551.79±62.59 ^a	3.70±0.49 ^a
<i>Katkı çeşidi/ Additives</i>				
Kontrol-1 ⁴ / Control-1 ⁴	4	146.10±0.67 ^c	626.93±2.20 ^a	4.29±0.03 ^a
Kontrol-2 ⁵ / Control-2 ⁵	4	155.32±3.73 ^a	432.48±50.01 ^e	2.79±0.39 ^d
VG ⁶	4	151.22±1.39 ^c	543.19±25.41 ^c	3.59±0.20 ^{bc}
SSL ⁷	4	153.31±1.46 ^b	505.25±12.83 ^d	3.29±0.12 ^c
VG+SSL	4	148.62±2.08 ^d	565.11±31.16 ^b	3.81±0.26 ^b

¹Sonuçlar iki tekerrürün ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).¹Values are the average of duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

²Geleneksel yöntemle acılığı giderilmiş lüpen unu.²Lupin flour debittered by traditional method.

³Ultrason uygulamasıyla acılığı giderilmiş lüpen unu.³Lupin flour debittered by ultrasound application.

⁴%100 buğday unu.⁴100% wheat flour.

⁵%10 lüpen unu+%10 dirençli nişasta.⁵10% lupin flour+10% resistant starch.

⁶Vital gluten.

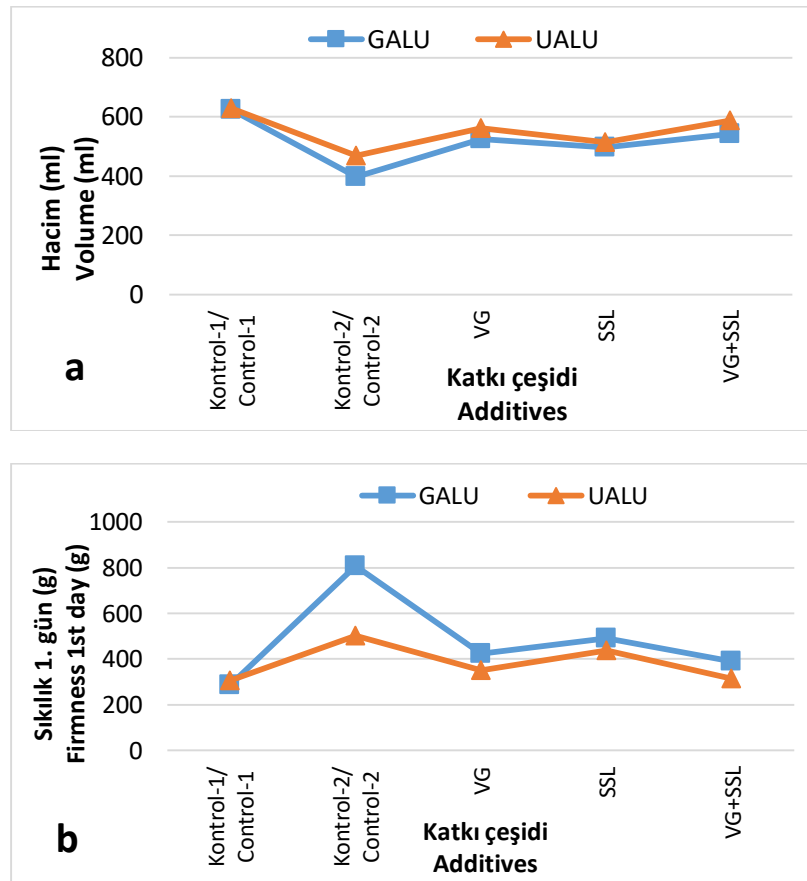
⁷Sodyum stearol-2-laktat.⁷Sodium stearoyl-2-lactylate.

Ekmeğin örneklerine ait 1. gün tekstür analiz sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. Ortalama 1. gün sıklık, sertlik ve çignenebilirlik değerleri; GALU kullanılarak üretilen ekmeğin örneklerinde sırasıyla 474 g, 712 g ve 401 g, UALU ile hazırlanan örneklerde ise sırasıyla 376 g, 626 g ve 371 g olarak bulunmuştur. Ekmeğin hacmindeki artışın sıklık, sertlik ve çignenebilirlik değerleri üzerinde olumlu etki gösterdiği belirtilmektedir (Güdük, 2016). UALU içeren ekmeğin GALU içeren ekmeğe göre daha yüksek hacim değerlerine

sahip olmasının tekstürel özelliklere de yansıdığı düşünülmektedir (Çizelge 3 ve 4). Lüpen unu çeşidinin, ekmeğin 1. gün elastikiyet, koheziflik ve esneklik değerleri üzerinde önemli ($P > 0.05$) bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir. Kontrol-1 örneği ile karşılaştırıldığında, ekmeğin üretiminde %10 lüpen unu + %10 DN kullanımının (Kontrol-2) ortalama 1. gün sıklık, sertlik ve çignenebilirlik değerlerinin artmasına neden olduğu görülmüştür. Lüpen unu ve DN ilavesi ile gluten miktarında meydana gelen seyrelmenin gaz

tutma kapasitesinin azalmasına neden olması, gözenek yapısı gelişimini olumsuz etkilemekte; sıklık, sertlik ve çignenebilirlik değerlerinin artışı ile sonuçlanabilmektedir (Coda vd., 2017; Liu vd., 2017). Villarino vd. (2015); %20 oranında lüpen unu kullanımının, ekmeç örneklerinin sertlik ve çignenebilirlik değerlerini kontrol buğday unu ekmeğine göre artırdığını raporlamışlardır. Sanz-Penella vd. (2010) ise; %10 oranında DN içeren ekmeçlerin, buğday unu ekmeğine göre daha yüksek sertlik ve çignenebilirlik değerlerine sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Kontrol-2 formülasyonuna ilave edilen katkı maddelerinin üçü de Kontrol-2 ekmeğinin ortalama 1. gün sıklık değerini azaltmış, en etkili sonuç vital gluten+SSL kombinasyonunun kullanımı ile elde edilmiştir (Şekil 1b). Vital gluten+SSL katkısı aynı

zamanda; ortalama 1. gün sertlik değerinin Kontrol-1 ekmeğine yakın olmasını sağlamış ($P > 0.05$), ortalama 1. gün çignenebilirlik değerini ise Kontrol-1'e göre düşürmüştür ($P < 0.05$). Curti vd. (2014), vital gluten ilavesinin gluten ağı gelişimini iyileştirerek gaz tutma kapasitesini artırması ile ekmeç içi tekstürel özelliklerinin gelişimini desteklediğini raporlamışlardır. Ekmeç üretiminde SSL kullanılan çalışmalarda ise, SSL'in daha yumuşak bir ekmeç içi sağladığı ve gözenek yapısı gelişimini iyileştirerek ekmeç içi tekstürü üzerinde olumlu sonuçlar verdiği belirtilmektedir (Sluimer, 2005; Khaleel vd., 2018). Katkı çeşidi faktörü açısından; ekmeç örneklerinin 1. gün elastikiyet, koheziflik ve esneklik değerleri arasında istatistiki açıdan bir farklılık oluşmadığı gözlenmiştir ($P > 0.05$).



Şekil 1. Ekmeç örneklerine ait hacim (a) ve 1. gün sıklık (b) değerleri
Figure 1. Volume (a) and 1st day firmness (b) values of bread samples

Çizelge 4. Ekmek örneklerine ait 1. gün tekstür analiz değerleri¹
 Table 4. The 1st day texture analysis values of bread samples¹

Faktör/ Factor	n	Sıklık (g)/ Firmness (g)	Sertlik (g)/ Hardness (g)	Elastikiyet/ Springiness	Koheziflik/ Cohesiveness	Çiğnenabilirlik(g)/ Chewiness (g)	Esneklik/ Resilience
<i>Lüpen unu çeşidi/ Lupin flour type</i>							
GALU ²	10	474±197.41 ^a	712±254.62 ^a	0.877±0.04 ^a	0.664±0.06 ^a	401±81.81 ^a	0.304±0.05 ^a
UALU ³	10	376±84.15 ^b	626±155.89 ^b	0.885±0.03 ^a	0.681±0.04 ^a	371±55.67 ^b	0.328±0.04 ^a
<i>Katkı çeşidi/ Additives</i>							
Kontrol-1 ⁴ / Control-1 ⁴	4	296±13.44 ^c	530±5.66 ^d	0.928±0.01 ^a	0.728±0.01 ^a	356±4.24 ^c	0.356±0.00 ^a
Kontrol-2 ⁵ / Control-2 ⁵	4	655±217.08 ^a	1021±185.26 ^a	0.831±0.01 ^a	0.598±0.04 ^a	503±53.74 ^a	0.245±0.03 ^a
VG ⁶	4	389±51.62 ^c	580±26.16 ^c	0.880±0.00 ^a	0.680±0.01 ^a	347±10.05 ^{cd}	0.330±0.02 ^a
SSL ⁷	4	464±36.77 ^b	675±45.96 ^b	0.872±0.00 ^a	0.658±0.00 ^a	388±26.71 ^b	0.312±0.01 ^a
VG+SSL	4	354±53.03 ^d	540±38.89 ^d	0.893±0.00 ^a	0.697±0.01 ^a	336±19.94 ^d	0.336±0.02 ^a

¹Sonuçlar iki tekrerrün ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / ¹Values are the average of duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

²Geleneksel yöntemle acılığı giderilmiş lüpen unu. / ²Lupin flour debittered by traditional method.

³Ultrason uygulamasıyla acılığı giderilmiş lüpen unu. / ³Lupin flour debittered by ultrasound application.

⁴%100 buğday unu. / ⁴100% wheat flour.

⁵%10 lüpen unu+%10 dirençli nişasta. / ⁵10% lupin flour+10% resistant starch.

⁶Vital gluten.

⁷Sodyum stearol-2-laktat. / ⁷Sodium stearoyl-2-lactylate.

Ekmek örneklerine ait 3. gün tekstür analiz değerleri Çizelge 5'te gösterilmiştir. Ekmek üretiminde UALU kullanımı, GALU içeren ekmeklere göre daha düşük ortalama 3. gün sıklık ve sertlik değerleri sağlamıştır. Ekmeğin bayatlaması, depolama boyunca ekmek içinde kabuğa su transferi ve nişastanın yeniden kristalleşmesi ile gerçekleşmektedir (Martin vd., 1991). Lüpen unu çeşidi olarak UALU kullanımının, bayatlama üzerinde daha fazla avantaj sağladığı görülmektedir. Bunun yanında, GALU ve UALU ilave edilerek üretilen ekmek örneklerinin ortalama 3. gün elastikiyet, koheziflik, çiğnenabilirlik ve esneklik değerleri istatistiki açıdan birbirine benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Katkı çeşidi faktörüne göre yapılan karşılaştırmada; en yüksek ortalama 3. gün sıklık, sertlik ve çiğnenabilirlik değerleri katkısız Kontrol-2 ekmeğinde belirlenmiş, Kontrol-2 formülasyonuna (%10 lüpen unu + %10 DN) ilave edilen bütün katkı maddeleri, bu değerlerin katkısız Kontrol-2 ekmeğine göre düşmesine neden olmuştur. Katkı maddeleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, en düşük ortalama 3. gün sıklık ve sertlik değerleri vital gluten+SSL katkısı ile elde edilmiş, vital gluten ve vital gluten+SSL

içeren ekmeklerin ortalama 3. gün çiğnenabilirlik değeri birbirine yakın bulunmuştur ($P > 0.05$). Willhoft (1973), vital gluten ilavesi ile ekmek hacminin artması ve nişasta miktarının seyrelmesi sonucu ekmek içi tekstürünün iyileştiğini bildirmiş; SSL'in bayatlama üzerindeki etkilerinin amilozla kompleks oluşturabilmesi, hamur kuvvetlendirici etki göstermesi ve su tutma kapasitesini artırmasından kaynaklandığını ifade etmiştir. Boz (2008), vital gluten ilavesinin ekmek örneklerinin 1. ve 3. gün sertlik değerinin katkısız örneğe göre daha düşük olmasını sağladığını raporlamıştır. Khaleel vd. (2018) tarafından, SSL ilave edilerek üretilen ekmeklerin 0. ve 4. gün sertlik ve çiğnenabilirlik değerlerinin katkısız ekmek örneklerine göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Katkılı (vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL) ekmek örnekleri kendi aralarında değerlendirildiğinde, 3. gün elastikiyet, koheziflik ve esneklik değerlerinde istatistiki açıdan bir farklılık oluşmadığı görülmüştür ($P > 0.05$).

GALU (a) ve UALU (b) kullanılarak üretilen ekmek örneklerine ait duyu analiz sonuçları Şekil 2'de gösterilmiştir. Hem GALU hem de UALU ilave edilerek üretilen ekmeklerin tat, koku

ve simetri puanlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). Vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL içeren ekmeleklerin görünüş ve gözenek yapısı puanları, Kontrol-1 ekmeğine yakın bulunmuştur. GALU ve UALU ihtiva eden örneklerde vital gluten ve vital gluten+SSL

kullanımı, katkısız Kontrol-2 örneğinin genel beğeni puanının Kontrol-1 ekmeğine yakınlaşmasını sağlamıştır. Kim vd. (2013), vital gluten katkılı ekmelek örneğinin genel beğeni puanının katkısız ekmelek örneğinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 5. Ekmelek örneklerine ait 3. gün tekstür analiz değerleri¹

Table 5. The 3rd day texture analysis values of bread samples¹

Faktör/ Factor	n	Sıklık (g)/ Firmness (g)	Sertlik (g)/ Hardness (g)	Elastikiyet/ Springiness	Koheziylik/ Cohesiveness	Çiğnenebilirlik(g)/ Chewiness (g)	Esneklik/ Resilience
<i>Lüpen unu çeşidi/ Lupin flour type</i>							
GALU ²	10	748±254.56 ^a	971±273.46 ^a	0.852±0.04 ^a	0.524±0.07 ^a	422±69.89 ^a	0.203±0.04 ^a
UALU ³	10	598±164.52 ^b	915±226.09 ^b	0.857±0.04 ^a	0.561±0.08 ^a	427±32.59 ^a	0.225±0.03 ^a
<i>Katkı çeşidi/ Additives</i>							
Kontrol-1 ⁴ / Control-1 ⁴	4	435±5.66 ^e	783±6.36 ^d	0.924±0.00 ^a	0.627±0.00 ^a	455±3.54 ^b	0.264±0.00 ^a
Kontrol-2 ⁵ / Control-2 ⁵	4	970±205.06 ^a	1380±96.17 ^a	0.823±0.01 ^a	0.443±0.01 ^b	500±41.01 ^a	0.173±0.03 ^a
VG ⁶	4	650±94.75 ^c	851±20.51 ^c	0.841±0.00 ^a	0.545±0.04 ^{ab}	390±21.59 ^{cd}	0.220±0.02 ^a
SSL ⁷	4	769±108.19 ^b	910±50.91 ^b	0.835±0.00 ^a	0.521±0.05 ^{ab}	395±13.96 ^c	0.187±0.00 ^a
VG+SSL	4	541±129.40 ^d	791±26.16 ^d	0.846±0.00 ^a	0.574±0.05 ^{ab}	383±25.18 ^d	0.226±0.03 ^a

¹Sonuçlar iki tekrerrün ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / ¹Values are the average of duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

²Geleneksel yöntemle acılığı giderilmiş lüpen unu. / ²Lupin flour debittered by traditional method.

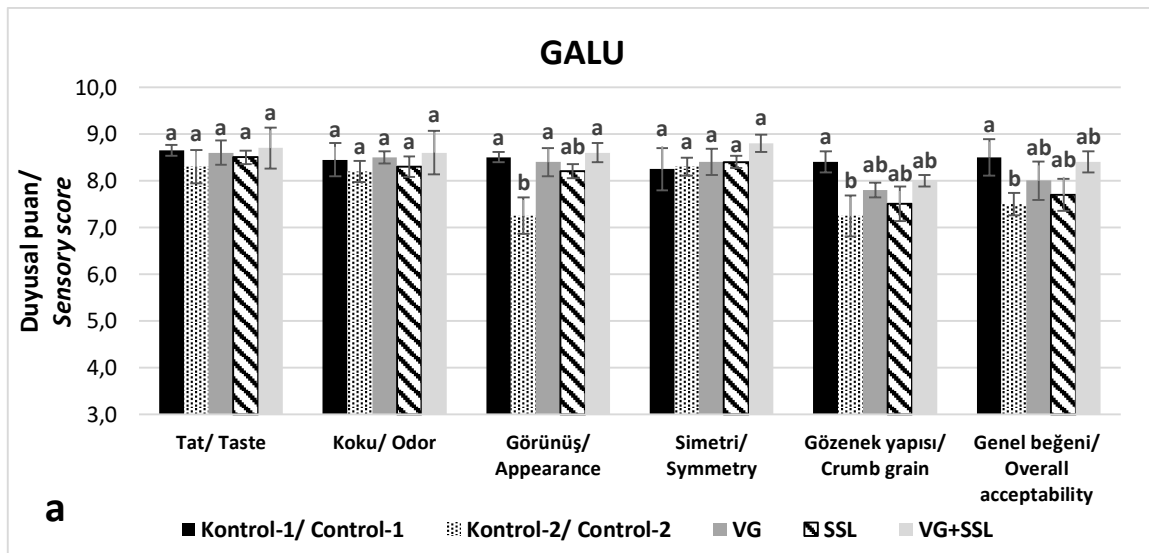
³Ultrason uygulamasıyla acılığı giderilmiş lüpen unu. / ³Lupin flour debittered by ultrasound application.

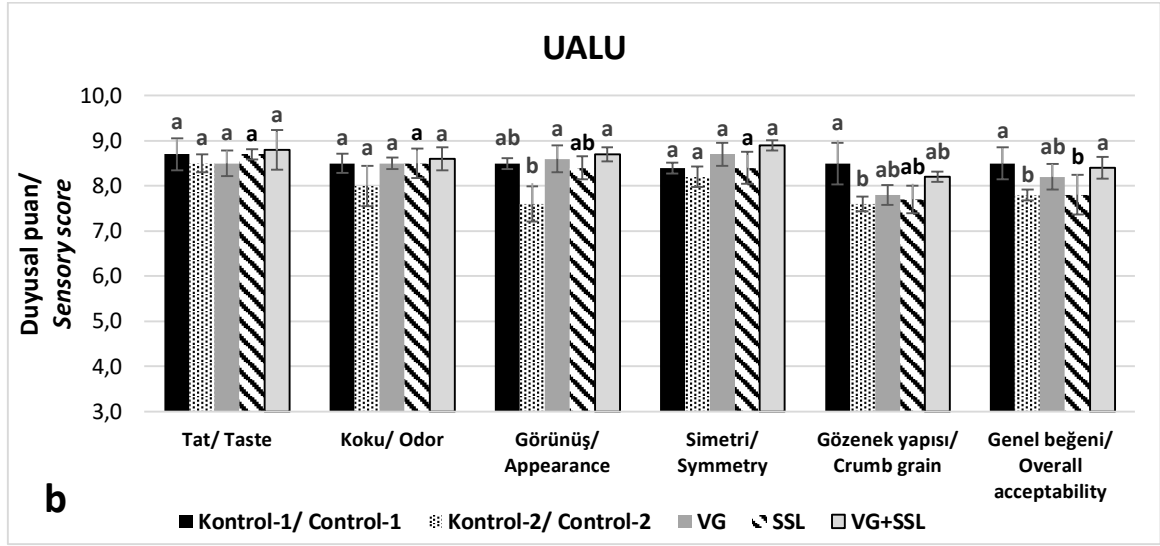
⁴%100 buğday unu. / ⁴100% wheat flour.

⁵%10 lüpen unu+%10 dirençli nişasta. / ⁵10% lupin flour+10% resistant starch.

⁶Vital gluten.

⁷Sodyum stearol-2-laktilat. / ⁷Sodium stearoyl-2-lactylate.





Şekil 2. GALU (a) ve UALU (b) içeren ekmeğe ait duyu analiz sonuçları
Figure 2. Sensory analysis results of bread samples containing GALU (a) and UALU (b)

SONUÇ

Bu çalışmada; vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL kullanımının lüpen unu ve DN içeren ekmeğin fiziksel, tekstürel ve duyu özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. %10 lüpen unu+%10 DN içeren ekmeğe formülasyonuna (Kontrol-2) ilave edilen katkı maddelerinin (vital gluten, SSL ve vital gluten+SSL), Kontrol-2 ekmeğinin kabuk L^* ve b^* değerleri ile iç L^* ve a^* değerlerinde önemli ($P > 0.05$) bir değişikliğe sebep olmadığı görülmüştür. Lüpen unu çeşidi olarak UALU ve katkı çeşidi olarak vital gluten+SSL kombinasyonunun kullanımı, ekmeğinin hacim, spesifik hacim, sıklık ve sertlik değerlerinde daha olumlu sonuç vermiştir. Hem GALU hem de UALU ile hazırlanan ekmeğinin, vital gluten ve vital gluten+SSL katkılarının %100 buğday unu ekmeğine (Kontrol-1) yakın tat, koku, görünüş, simetri gözenek yapısı ve genel beğeni puanları sağladığı belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Elif Yaver tarafından hazırlanan doktora tezinin bir kısmından üretilmiştir. Çalışmada kullanılan lüpen unlarının elde edilmesinde uygulanan acılık giderme ve

stabilizasyon prosesleri, 119O071 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKILARI

NB, danışman olarak; araştırmanın planlanması, metodolojisi, makalenin incelenmesi ve düzenlenmesinde katkı sağlamıştır. EY; laboratuvar çalışmalarının yürütülmesini ve makalenin yazımını gerçekleştirmiştir. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

AACC (1990). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, (8th ed.). St. Paul, MN, USA: AACC.

AACC (2000). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, (10th ed.). St. Paul, MN, USA: AACC.

Asp, N.G., Bjorck, I. (1992). Resistant starch. *Trends Food Sci Technol*, 3, 111-114, doi: 10.1016/0924-2244(92)90153-N.

Belski, R., Mori, T.A., Puddey, I.B., Sipsas, S., Woodman, R.J., Ackland, T.R., Beilin, L.J., Dove, N.B., Jayasena, V., Hodgson, J.M. (2011). Effects

- of lupin-enriched foods on body composition and cardiovascular disease risk factors: A 12 month randomized controlled weight loss trial. *Int J Obes*, 35, 810-819, doi: 10.1038/ijo.2010.213.
- Birkett, A.M., Mathers, J.C., Jones, G.P., Walker, K.Z., Roth, M.J., Muir, J.G. (2000). Changes to the quality and processing of starchy foods in a Western diet can increase polysaccharides escaping digestion and improve *in vitro* fermentation variables. *Br J Nutr*, 84, 63-72, doi: 10.1017/S0007114500001240.
- Boz, H. (2008). Farklı doğal bitkisel katkıların organik ekmek üretiminde kullanılması ve kalite üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, Türkiye, 93 s.
- Brown, I.L., McNaught, K.J., Ganly, R.N., Conway, P.L., Evans, A.J., Topping, D.L., Wang, X. (1996). Probiotic compositions. Intl. Patent WO 96/ 08261/ A1. Issued Mar 21, 1996.
- Coda, R., Varis, J., Verni, M., Rizzello, C.G., Katina, K. (2017). Improvement of the protein quality of wheat bread through faba bean sourdough addition. *LWT - Food Sci Technol*, 82, 296-302, doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.062.
- Curti, E., Carini, E., Tribuzio, G., Vittadini, E. (2014). Bread staling: Effect of gluten on physico-chemical properties and molecular mobility. *LWT - Food Sci Technol*, 59, 418-425, doi: 10.1016/j.lwt.2014.04.057.
- Day, L., Augustin, M.A., Batey, I.L., Wrigley, C.W. (2006). Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends Food Sci Technol*, 17, 82-90, doi: 10.1016/j.tifs.2005.10.003.
- Dervas, G., Doxastakis, G., Hadjisavva-Zinoviadi, S., Triantafillakos, N. (1999). Lupine flour addition to wheat flour doughs and effect on rheological properties. *Food Chem*, 66, 67-73, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00234-9.
- Dizlek, H., Çimer, H., Altan, A. (2013). Vital buğday gluteninin ve L-askorbik asidin buğday kepekli ekmeklerin bazı nitelikleri üzerine etkileri. *Gıda*, 38(2), 87-94.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). *Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistiksel Metodları-II)*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1021, Ankara.
- Elgün, A., Türker, S., Bilgiçli, N. (2001). *Tabıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü*, Konya Ticaret Borsası Yayınları, Yayın No: 2, Konya.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., Cummings, J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr*, 46, 33-50.
- Francis, F.J. (1998). Colour analysis, in: Food Analysis, S.S. Nielsen (Ed.), An Aspen Publishers, Maryland, Gaithersburg, USA, pp. 599-612.
- Gomes-Ruffi, C.R., Cunha, R.H., Almeida, E.L., Chang, Y.K., Steel, C.J. (2012). Effect of the emulsifier sodium stearyl lactylate and of the enzyme maltogenic amylase on the quality of pan bread during storage. *LWT-Food Sci Technol*, 49, 96-101, doi: 10.1016/j.lwt.2012.04.014.
- Güdük, H. (2016). Mısırlı ekmeklerde mısır unu seviyesi ve katkı kullanımının kalite üzerine etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 104 s.
- Higgins, J.A., Dana, H.R., Donahoo, W.T., Brown, I.L., Bell, M.L., Bessesen, D.H. (2004). Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutr Metab*, 1, 1-8, doi: 10.1186/1743-7075-1-8.
- Hooda, S., Jood, S. (2005). Organoleptic and nutritional evaluation of wheat biscuits supplemented with untreated and treated fenugreek flour. *Food Chem*, 90(3), 427-435, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.05.006.
- Jiang, X., Chang, M., Wang, X., Jin, Q., Wang, X. (2014). Effect of ultrasound treatment on oil recovery from soybean gum by using phospholipase C. *J Clean Prod*, 69, 237-242, doi: 10.1016/j.jclepro.2014.01.060.
- Johnson, S.K., Mcquillan, P.L., Sin, J.H., Ball, M.J. (2003). Sensory acceptability of white bread with added Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius*) kernel fibre and its glycaemic and insulinaemic responses when eaten as a breakfast. *J Sci Food Agric*, 83, 1366-1372, doi: 10.1002/jsfa.1552.

- Khaleel, M.L., Sharoba, A.M., El-Desouky, A.I., Mohamed, M.H. (2018). Use of some emulsifiers to improve the quality of pan bread product. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences*, 18, 150-161.
- Kim, Y.-J., Lee, J.-H., Choi, M.-J., Choi, D.-R., Lee, S.-K. (2013). Effects of vital wheat gluten on quality characteristics of white pan bread containing resistant starch. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 42(1), 76-82, doi: 10.3746/jkfn.2013.42.1.076.
- Krog, N. (1981). Theoretical aspects of surfactants in relation to their use in breadmaking. *Cereal Chem*, 58, 158-164.
- Lee, Y.P., Mori, T.A., Puddey, I.B., Sipsas, S., Ackland, T.R., Beilin, L.J., Hodgson, J.M. (2009). Effects of lupin kernel flour-enriched bread on blood pressure: A controlled intervention study. *Am J Clin Nutr*, 89, 766-772, doi: 10.3945/ajcn.2008.26708.
- Li, H., Wang, J., Pan, L., Lu, Q. (2019). Effect of amino and thiol groups of wheat gluten on the quality characteristics of Chinese noodles. *J Food Sci Technol*, 56(6), 2825-2835, doi: 10.1007/s13197-019-03688-8.
- Liu, W., Brennan, M., Serventi, L., Brennan, C. (2017). Buckwheat flour inclusion in Chinese steamed bread: Potential reduction in glycemic response and effects on dough quality. *Eur Food Res Technol*, 243, 727-734, doi: 10.1007/s00217-016-2786-x.
- Martin, M.L., Zeleznak, K.J., Hosney, R.C. (1991). A mechanism of bread firming, I. Role of starch swelling. *Cereal Chem*, 68, 498-503.
- Meyer, K.A., Kushi, L.H., Jacobs, D.R., Slavin, J., Sellers, T.A., Folsom, A.R. (2000). Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *Am J Clin Nutr*, 71, 921-930, doi: 10.1093/ajcn/71.4.921.
- Mohammed, M.A., Mohamed, E.A., Yagoub, A.E.A., Mohamed, A.R., Babiker, E.E. (2017). Effect of processing methods on alkaloids, phytate, phenolics, antioxidants activity and minerals of newly developed lupin (*Lupinus albus* L.) cultivar. *J Food Process Preserv*, 41, 1-9, doi: 10.1111/jfpp.12960.
- Morais, M.B., Feste, A., Miller, R.G., Lifichitz, C.H. (1996). Effect of resistant starch and digestible starch on intestinal absorption of calcium, iron and zinc in infant pigs. *Pediatr Res*, 39, 872-876, doi: 10.1203/00006450-199605000-00022.
- Oomah, B.D., Tiger, N., Olson, M., Balasubramanian, P. (2006). Phenolics and antioxidative activities in narrow-leafed lupins (*Lupinus angustifolius* L.). *Plant Foods Hum Nutr*, 61, 91-97, doi: 10.1007/s11130-006-0021-9.
- Ortolan, F., Steel, C.J. (2017). Protein characteristics that affect the quality of vital wheat gluten to be used in baking: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 16, 369-381, doi: 10.1111/1541-4337.12259.
- Özkaya, B., Özkaya, H. (1992). Mısır katkılı unların teknolojik özelliklerine vital gluten ve SSL'in (Na-Stearoyl-2-Lactilate) etkileri. *Gıda*, 17(6), 419-426.
- Pomeranz, Y. (1987). *Modern Cereal Science and Technology*. VCH Publishers, Washington.
- Sanchez, D.B.O., Puppo, M.C., Anon, M.C., Ribotta, P.D., Leon, A.E., Tadini, C.C. (2014). Effect of maize resistant starch and transglutaminase: A study of fundamental and empirical rheology properties of pan bread dough. *Food Bioproc Tech*, 7, 2865-2876, doi: 10.1007/s11947-013-1246-x.
- Sanz-Penella, J.M., Wronkowska, M., Soral-Smietana, M., Collar, C., Haros, M. (2010). Impact of the addition of resistant starch from modified pea starch on dough and bread performance. *Eur Food Res Technol*, 231, 499-508, doi: 10.1007/s00217-010-1294-7.
- Sirtori, C.R., Lovati, M.R., Manzoni, C., Castiglioni, S., Duranti, M., Magni, C., Morandi, S., D'agostina, A., Arnoldi, A. (2004). Proteins of white lupin seed, a naturally isoflavone-poor legume, reduce cholesterolemia in rats and increase LDL receptor activity in HepG2 cells. *J Nutr*, 134, 18-23, doi: 10.1093/jn/134.1.18.
- Sluimer, P. (2005). Principles of breadmaking: Functionality of raw materials and process steps,

- St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, Inc.
- van Steertegem, B., Pareyt, B., Brijs, K., Delcour, J.A. (2013). Impact of mixing time and sodium stearoyl lactylate on gluten polymerization during baking of wheat flour dough. *Food Chem*, 141, 4179-4185, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.017.
- Villarino, C.B.J., Jayasena, V., Coorey, R., Chakrabarti-Bell, S., Foley, R., Fanning, K., Johnson, S.K. (2015). The effects of lupin (*Lupinus angustifolius*) addition to wheat bread on its nutritional, phytochemical and bioactive composition and protein quality. *Food Res Int*, 76, 58-65, doi: 10.1016/j.foodres.2014.11.046.
- Willhoft, E.M.A. (1973). Mechanism and theory of staling of bread and baked goods and associated changes in textural properties. *J Texture Stud*, 4, 292-322, doi: 10.1111/j.1745-4603.1973.tb00844.x.
- Wong, J.M., de Souza, R., Kendall, C.W., Emam, A., Jenkins, D.J. (2006). Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol*, 40, 235-243.
- Yang, F., Liu, X., Ren, X.E., Huang, Y., Huang, C., Zhang, K. (2018). Swirling cavitation improves the emulsifying properties of commercial soy protein isolate. *Ultrason Sonochem*, 42, 471-481, doi: 10.1016/j.ultsonch.2017.12.014.
- Yaver, E. (2021). Raf ömrü uzun lüpen unu üretimi ve besinsel-fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş makarna ve ekmeğin üretiminde kullanımı. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yayımlanmamış Doktora Tezi, Konya, Türkiye, 314 s.
- Yıldız, G. (2009). Karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) ununun geleneksel Türk ekmeklerinde kullanılma imkanları üzerine araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 124 s.



ÇOĞUNLUK ALGILAMA MEKANİZMASININ İNHİBİSYONUNDA BİTKİSEL MATERYALLERİN KULLANIMI

Gülten Tiryaki Gündüz*, Ayça Korkmaz Vurmaz

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

Geliş / Received: 27.11.2020; Kabul / Accepted: 01.01.2021; Online baskı / Published online: 18.01.2021

Gündüz, G.T., Vurmaz, A.K. (2021). Çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonunda bitkisel materyallerin kullanımı. *GIDA* (2021) 46(2) 256-268 doi: 10.15237/gida.GD20134

Gündüz, G.T., Vurmaz, A.K. (2021). Use of plant-derived materials for the inhibition of quorum sensing mechanisms. GIDA (2021) 46(2) 256-268doi: 10.15237/gida.GD20134

ÖZ

Mikroorganizmaların hücre yoğunluğuna bağlı gen düzenleme sistemi çoğunluk algılama (Quorum Sensing) olarak adlandırılan mekanizma tarafından kontrol edilmektedir. Çoğunluk algılama mekanizması (QS) ekzopolisakkarit üretimi, biyofilm oluşumu ve virülans faktörü gibi popülasyon fizyolojisini düzenleyen fenotipleri kontrol eden mekanizmadır. Son yıllarda gıdaların bozulması ve gıda güvenliği alanlarında QS mekanizmasının rolü üzerine araştırmalar artmıştır. Çoğunluk algılama mekanizmasının inaktivasyonu stratejisine, çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu (Quorum Quenching-QQ) adı verilmektedir. Yapılan çalışmalar, QQ mekanizmasının mikrobiyel gelişimin inhibisyonunda önemli bir rol oynadığını ve kimyasal koruyucu yerine gıda güvenliğini arttırmak için alternatif bir strateji olabileceğini göstermiştir. Bitkisel materyaller, mikroorganizmaların gelişimini inhibe edici doğal antimikrobiyel bileşikler içerdikleri için potansiyel QS inhibitörü kaynaklarıdır. Bu derlemede, bitkisel materyaller kullanılarak çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu (QQ) stratejilerine odaklanılmıştır.

Anahtar kelimeler: Çoğunluk algılama mekanizması, çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu, bitkisel materyal, antimikrobiyel.

USE OF PLANT-DERIVED MATERIALS FOR THE INHIBITION OF QUORUM SENSING MECHANISMS

ABSTRACT

The gene regulation system of microorganisms through a cell density-dependent is controlled by a mechanism called Quorum Sensing. Quorum Sensing (QS) mechanism is a population physiology to control many characteristics regulated phenotypes like exopolysaccharide production, biofilm formation and virulence factor. In recent years, there is an increasing number of researches on the involvement of QS mechanism in the spoilage of food products and food safety. The strategy of inactivation of the QS is called Quorum Quenching (QQ). Studies have shown that QQ mechanism which plays a significant role in the inhibition of microbial growth might provide an alternative strategy to chemical preservatives for improving food safety. Plant-derived materials are promising potential sources of QS inhibitor as they can contain natural antimicrobial substances that inhibit the growth of microorganisms. In this review, the inhibition strategies of quorum sensing mechanism (QQ) by using plant-derived materials are focussed on.

Keywords: Quorum Sensing, Quorum Quenching, plant-derived material, antimicrobial.

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ gulten.tiryaki.gunduz@ege.edu.tr, gtgunduz@gmail.com, ☎ (+90) 232 311 3003 📠 (+90) 232 311 48 31
Gülten Tiryaki Gündüz; ORCID no: 0000-0002-5878-7411
Ayça Korkmaz Vurmaz; ORCID no: 0000-0003-2084-5337

GİRİŞ

İletişim yeteneğinin çok hücreli organizmalara özgü bir özellik olduğu düşünülmesine rağmen son yıllarda yapılan araştırmalar ile mikroorganizmaların popülasyon yoğunluğuna dayalı bir iletişim mekanizmasına sahip olduğu belirlenmiştir (Stephens ve Bentley, 2020). Bu iletişim mekanizması sayesinde, mikroorganizmalar çevresinde bulunan mikrobiyel popülasyon hakkında bilgi edinmekte ve bu bilgileri gen ekspresyonunu düzenlemek için kullanılmaktadır (Abisado vd., 2018; Quecan vd., 2019). Yapılan çalışmalar ile bu mekanizmanın, genlerin ifadesine dayanan hücreler arası iletişim sistemleri aracılığıyla çeşitli hücre fenotiplerinin düzenlenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir (Whiteley vd., 2017). Mikrobiyel popülasyon yoğunluğuna duyarlı gen düzenleme sistemini tanımlamak için “quorum sensing” terimi kullanılmaktadır. Hücreler arası iletişim mekanizması, salt çoğunluk anlamına gelen “quorum” ve algılama anlamına gelen “sensing” kelimelerden oluşan “quorum sensing” mekanizması olarak adlandırılmaktadır (Tommonaro vd., 2019).

QS mekanizmasında mikroorganizmalar belirli hücre fonksiyonları harekete geçiren oto uyarıcı (autoinducer-AI) olarak adlandırılan hücreler arası iletişimde sinyal molekülleri olarak kullanılan moleküller üretmektedir (Erhabor vd., 2019). Üretilen sinyal molekülleri belirli mikroorganizmalara özgü hücre fonksiyonları harekete geçiren moleküllerdir (Almasoud vd., 2016). Yapılan çalışmalarda hücre fonksiyonları harekete geçiren sinyal molekülü konsantrasyonunun, sıcaklık, pH, gelişme ortamı, inokulum miktarı ve mikrobiyel gelişim evresine bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (Skandamis ve Nychas, 2012). QS mekanizmasında rol oynayan sinyal molekülleri mikroorganizmalara özgü farklılıklar göstermektedir. Genel olarak sinyal molekülü ve algılama şekline göre QS mekanizması molekülleri AI-1, AI-2 ve AIP olarak üç kategoride toplanabilmektedir. Bakteriler temel olarak farklı yollarla QS sinyal iletimine aracılık eden AI-1 ve AI-2 sinyal molekülleri üretebilmektedir (Liu vd., 2018a).

Gram negatif bakteriler tarafından türler arası iletişim için kullanılan sinyal molekülleri N-açıl homoserin laktondur. Küçük bir molekül olan N-açıl homoserin lakton (AHL) sinyal molekülleri, hidrofilik bir homoserin lakton halkası ve hidrofobik bir açıl yan zincirden oluşmaktadır (O'Connor vd., 2015). LuxI/LuxR sisteminde AHL sentaz (LuxI) ve AHL reseptörü (LuxR transkripsiyon regülatörü) ile sentezlenen sinyal molekülü olarak N-açıl homoserin laktonlar (AHL) kullanılmaktadır. AHL sinyal molekülleri LuxI tarafından sentezlenmekte olup, oldukça küçük bir molekül olduğu için oluşan derişim gradyanı farkından dolayı hücre dışına serbestçe difüze olabilmektedir (Passos da Silva vd., 2017). LuxS tarafından kodlanmış olan Oto uyarıcı 2 (AI-2) sinyal molekülü, S-adenosilmetiyoninden (SAM) AI-2 sentaz enzimi tarafından katalize edilen kararsız sinyal molekülü öncüsü 4,5-dihidroksi-2,3-pentanedion (DPD) oluşumu süreciyle sentezlenmektedir (Gori vd., 2011). AI-2 sinyal molekülünün hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakteriler tarafından kullanılan, türler arası iletişimin aksine farklı bakteri türlerinin birbirleriyle iletişim kurabileceği olası bir yolu temsil ettiği öne sürülmektedir. Yapılan çalışmalar, bu sinyal molekülünün çok sayıda bakteri türü tarafından sentezlenmesinde aynı genin sorumlu olduğunu göstermektedir (Galloway vd., 2011).

Gram pozitif bakteriler tarafından QS mekanizmasının kontrolü için kullanılan sinyal molekülleri oligopeptitlerdir. QS mekanizması modifiye sinyal molekülleri oligopeptitlerden (AIP) ve histidin kinazdan (HK) oluşmaktadır (Singh vd., 2018). AIP, hücre membranından serbestçe dağılmayan modifiye bir oligopeptittir. AIP aracılı QS için sinyalizasyon işlemi, histidin kinaz tarafından iletilmektedir (Gopu vd., 2018). Üretilen sinyal molekülleri açıl homoserin lakton gibi serbestçe hücre membranından geçemeyecek büyüklükte olmasından dolayı sinyal molekülleri hücre dışına farklı taşıma mekanizmaları ile taşınmaktadır. Sinyal molekülü miktar eşik değere ulaştığı zaman, hücre yüzeyindeki alıcı bölgeler ile sinyal molekülü etkileşimi sonucunda fosforilasyon meydana gelmektedir. Birçok patojen bakteri

toksin üretirken QS mekanizmasını kullanmaktadır. Bakteri popülasyonu ancak yeterli konsantrasyona ulaştıncaya patojen mikroorganizma konağa saldırmakta ve enfeksiyon süreci başlatılmaktadır (Papenfors ve Bassler, 2016). Mikrobiyel popülasyonun eşik değere ulaşması durumunda QS mekanizması ile ilgili davranışların sergilenmesi mümkün olmaktadır (Rutherford ve Bassler, 2012). QS mekanizması aracılığıyla salt çoğunluk miktarını algılayarak belirli gen ekspresyonlarını gerçekleştirmeleri mikroorganizmalara önemli avantajlar sağlamaktadır. QS mekanizması patojenite, biyofilm oluşumu ve biyoluminesans gibi birçok fizyolojik özelliği kontrol etmekte ve popülasyonun fizyolojisinde birçok düzenlemenin yapılabilmesini sağlamaktadır (Yuan vd., 2018).

Düzenleyici sistem olarak çoğunluk algılama mekanizması (Quorum Sensing) yaklaşımı

Mikrobiyel gıda bozulmaları, gıda endüstrisi için önemli ekonomik kayıplara neden olmakta ve özellikle aynı anda toksik metabolitler de üretildiğinde bir halk sağlığı sorunu oluşturabilmektedir. Gıda sektöründe, bozulmaya ve/veya gıda kaynaklı hastalıklara neden olan

mikroorganizmalar ile ilgili sorunlar ile sıklıkla karşılaşmaktadır. Bu nedenle, gıdalarda mikrobiyel gelişimi önlemek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Uygulanan yöntemler arasında en çok tercih edilenler; düşük sıcaklık, düşük su aktivitesi, ısı işlem, modifiye atmosfer, radyasyon uygulamaları ve antimikrobiyel madde kullanımıdır (Khan vd., 2019). Son yıllarda, gıdaların bozulmasını önlemek veya geciktirmek için mevcut uygulamalara alternatif olabilecek potansiyel araçlardan biri olduğu düşünülen hücre-hücre iletişim mekanizmasının kontrolü araştırılmaktadır. QS, gıdaların bozulmasında ve gıda güvenliği alanlarında anahtar düzenleyici sistem olarak kabul edilmektedir. Mikrobiyel kaynaklı gıda bozulmaları en yaygın bozulma tipi olarak karşımıza çıkmaktadır (Galie vd., 2018). Gıdalarda bulunan proteinlerin, pektinlerin vb. parçalanması ile gıdaların bozulmasına neden olan birçok mikrobiyel hücre dışı enzim üretimi QS mekanizması tarafından düzenlenmektedir (Liu vd., 2007). QS mekanizması tarafından düzenlenen proteolitik, lipolitik ve pektinolitik enzim aktivitesine bağlı olarak gerçekleşen gıda bozulmaları Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Farklı gıdalarda QS mekanizmasıyla kontrol edilen bozulmalar ile ilgili davranışlar

Gıda	Mikroorganizma	QS mekanizmasına bağlı davranış	Kaynaklar
Et	<i>Hafnia alvei</i>	Proteolitik bozulma	Bruhn vd., 2004
Balık	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Proteolitik bozulma	Liu vd., 2018b
Balık	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Proteolitik bozulma	Li vd., 2018
Karides	<i>Shewanella baltica</i>	Proteolitik bozulma	Zhu vd., 2018
	<i>Acinetobacter</i> spp.		
Süt	<i>Pseudomonas azotoformans</i>	Proteolitik bozulma	Yuan vd., 2020
	<i>Serratia liquefaciens</i>	Lipolitik bozulma	
Maş fasulyesi filizi	<i>E. carotovora</i>	Pektinolitik bozulma	Rasch vd., 2005

QS mekanizması, mikroorganizmaların gen ekspresyonlarını sinyal molekülleri aracılığıyla popülasyon yoğunluğuna göre düzenleyen bir iletişim mekanizmasıdır (Jung vd., 2016). Yapılan çalışmalarda, farklı gıda ürünlerinde farklı sinyal molekülleri tespit edilmiş olup, farklı mikroorganizma türlerinin QS mekanizması ile ilgili davranışları Çizelge 2’de özetlenmiştir.

Mikroorganizmalar kimyasal madde, ultraviyole ışık, pH, sıcaklık, enzim ve antibiyotikler gibi olumsuz koşullardan korunmak için biyofilm oluşturmaktadır. Biyofilm oluşumundaki en önemli etkenlerden birinin QS mekanizması olduğu bilinmektedir (Khan vd., 2019). *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis* gibi pek çok mikroorganizmada QS mekanizmasının biyofilm oluşumunu regüle ettiği belirtilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Farklı mikroorganizmaların QS mekanizması ile ilgili davranışları

Mikroorganizma	Sinyal molekülü	QS mekanizması ile ilgili davranışlar	Kaynaklar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AHL	Biyofilm	Luciardi vd., 2019
<i>Aeromonas sobria</i>	AHL	Virulans	Li vd., 2016
<i>P. fluorescens</i>	AHL	Biyofilm, Virulans	Li vd., 2018
<i>Listeria monocytogenes</i>	AI-2	Biyofilm	Melian vd., 2019
<i>Bacillus subtilis</i>	AI-2	Biyofilm	Duanis-Assaf vd., 2016
<i>Staphylococcus aureus</i>	AIP	Virulans	Peng vd., 2019

QS mekanizmasının farklı kullanım alanları hakkında pek çok araştırma yapılmaktadır. Belirli QS sinyal moleküllerini algılayan biyosensörler, gıda örneğinde bulunan çeşitli patojenlerin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Biyosensörlerin kullanımının geleneksel yöntemlere göre birçok avantajı bulunmaktadır. QS sinyal moleküllerini algılayan biyosensörlerin, bu sinyalleri üreten bakteri türlerinin ucuz, hızlı ve güvenilir tespiti için kullanılabilir önemli bir araçtır (Miller ve Gilmore, 2020).

Bazı laktik asit bakterileri tarafından üretilen QS sinyal molekülleri olan oligopeptitlerin (AIP), gıda endüstrisinde koruyucu olarak kullanılmaya potansiyeli olan antimikrobiyel özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (Kalia, 2018). QS mekanizmasının fermente gıda üretiminde görev alan mikroorganizmalar arası iletişimde rol oynadığı ileri sürülmektedir. Gıda endüstrisinde çeşitli fermente gıdaların üretiminde yer alan mikroorganizmalar arası QS mekanizmasının belirlenmesi ile üretilen farklı fermente gıdaların kalitesinin artırılabilirliği düşünülmektedir (Park vd., 2016; Johansen ve Jespersen, 2017).

Çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu (Quorum Quenching)

Çoğunluk algılama mekanizmasının bloke edilerek inaktivasyonu stratejisine “çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu (Quorum Quenching, QQ)” adı verilmektedir. Çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu mikroorganizmalar arası iletişimi keserek, ilgili gen ekspresyonlarının engellenmesidir. QS inhibisyonu ile, mikroorganizmaları temel yaşam faaliyetlerine saldırarak öldürmeye çalışmak yerine, stres koşulları oluşturmadan ve biyofilm formlarına dönüşmelerine izin vermeden hücreler arası iletişimleri kesilerek mikroorganizmaların

virulansı engellenebilmektedir (Dong vd., 2007). Bu nedenle çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu umut verici bir mikrobiyel kontrol stratejisi olarak kabul edilmektedir (Zhang vd., 2019).

QS mekanizmasının bloke edilmesi ile bakterilerin iletişimi kesilebilmekte ve biyofilm oluşturmaları engellenerek savunmasız kalmaları sağlanabilmektedir (Christiaen vd., 2014). QS mekanizmasını engelleyen maddelerin gıdalarda mikrobiyel gelişimi kontrol etmek amacıyla kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır (Machado vd., 2020). Geleneksel yöntemlerden farklı olarak, hücreler arası iletişimin engellenmesi ile mikroorganizmaların çoğalmasının önlenmesi, bozulmaların azaltılarak gıdaların raf ömrünün uzatılabileceği ve gıda kaynaklı hastalıkların azaltılabileceği düşünülmektedir (Ta ve Arnason, 2016; Borges vd., 2017; Machado vd., 2020). Gıda bozulmalarının ve gıda kaynaklı mikrobiyel hastalıkların önüne geçilmesi açısından da mikroorganizmaların QS inhibisyon mekanizmalarının anlaşılması son derece önemlidir. QS inhibisyon mekanizmaları ile ilgili yaklaşımlar; sinyal molekülü sentezinin inhibisyonu, sinyal molekülünün inhibisyonu ve sinyal molekülü alımının ve transdüksiyonun önlenmesi şeklinde temel olarak üç mekanizma ile açıklanmaktadır (Chbib, 2020).

Genel olarak çoğunluk algılama mekanizması inhibisyonu aktivitesine sahip maddeler doğal ve sentetik inhibitörler olarak iki kategoriye ayrılabilir. QS mekanizmasının bloke edilmesi için kullanılan moleküllerin kimyasal sentezi ya da doğal ürünün yapısına uygun moleküler modifikasyonu ile sinyal moleküllerinin bazı yapısal analogları sentetik olarak tasarlanabilmektedir (Majik vd., 2020). Doğal

sinyal moleküllerinin kimyasal yapısına dayalı olarak sentezlenen rekabetçi sinyal molekülü inhibitörleri çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu için kullanılabilir. Sentetik sinyal molekülleri, bakteriyel enfeksiyon ve biyofilm oluşumunu kontrol etmek amacıyla uygulanabilmektedir (Zhang vd., 2019).

Tıbbi ve aromatik bir bitki olan tarçının içeriğinde önemli miktarda sinnamaldehit bulunmaktadır. Tarçının başlıca biyoaktif bileşiği olan sinnamaldehit antioksidan, antikanserijen ve antibakteriyel etkilere sahip doğal bir bileşiktir (Chenia, 2015). Brackman vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada sinnamaldehidin, QS yanıt düzenleyicisi LuxR'nin DNA bağlanma kabiliyetini azaltarak QS ile düzenlenen virülans faktörünü inhibe ettiği belirlenmiştir. Sinnamaldehit analoglarının yapı-aktivite ilişkisi hakkında gerçekleştirilen çalışmada da farklı sinnamaldehit analoglarının etkinliği belirlenmiş olup, en aktif sinnamaldehit analoglarının düşük sitotoksikite sergilemesinin yanı sıra *Vibrio* spp.'nin biyofilm oluşumunu, pigment üretimini ve proteaz üretimini de etkilediği tespit edilmiştir (Brackman vd., 2011).

Laktonaz, açılaz, oksidoredüktaz gibi QS inhibe edici enzimler ve bu enzimlere sahip mikroorganizmalar sinyal molekülünü hedef transkripsiyonel regülatöre bağlanamaz hale getirerek sinyal molekülünün etkinliğini azaltmakta ve böylelikle ilgili gen ekspresyonunu bloke edebilmektedir (Chen vd., 2013). Açılaz enzimi AHL sinyal moleküllerinin tam ve geri dönüşümsüz bozunmasını sağlayan enzimlerdir. Laktonaz ve paraoksonaz enzimleri AHL lakton sinyallerinde bulunan homoserin lakton halkasını hidrolize etmektedir. 4- Nitro piridin- N- oksit, p-benzokinon, indol, 3-nitrobenzen, 6-Gingerol ve Amorfrutin B gibi sentetik QS inhibitörlerin kullanımı ile QS inhibisyonun sağlandığı belirtilmiştir (Kıran vd., 2017). *Delisea pulchra* deniz yosunu tarafından üretilen halojenlenmiş furanonlar, sinyal molekülünün alınmasını önleyerek QS inhibisyonunu sağlamaktadır. Halojenlenmiş furanonların, sinyal molekülü ile varsayılan bağlanma noktası arasındaki etkileşimi engellediği tespit edilmiştir (Zhang vd., 2019).

Ancak, QS inhibisyonunda kullanımı araştırılan halojenlenmiş furanonların; tıp, tarım ve gıda endüstrisinde kullanılmak için kararsız ve toksik olduğu belirlenmiştir (Skandamis ve Nychas, 2012). QS sinyal mekanizmasının engellenmesinde kullanılacak kimyasal maddelerin toksik yan etkileri olmayan, yüksek derecede özgüllük sergileyen ve kimyasal olarak stabil moleküller olması gerekmektedir (Rasmussen ve Givskov, 2006). Bu nedenle, sentetik inhibitörlere alternatif olabilecek bitkisel kaynaklı materyallerin QS inhibitörü olarak kullanımı araştırılmaktadır.

Bitkisel materyeller ile çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonu

Bitkisel materyaller antimikrobiyel aktiviteden sorumlu olan fenolik asitler, saponinler, flavonlar, kumarin türevleri, terpenoidler ve alkaloidler gibi fitokimyasallar içermektedir. Bu nedenle bitkisel materyallerin QS inhibisyon ajanları için iyi bir kaynak olduğu belirtilmektedir (Majik vd., 2020). QS inhibisyonu için kimyasal inhibitörler yerine bitkisel materyallerin kullanımı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Var ve Çelik, 2019). Kimyasal inhibitörlere alternatif olabilecek bitkisel ekstraktlar QS inhibisyonunu; sinyal moleküllerinin sentezlenmesini azaltarak, reseptör proteinlerinin aktivitesini azaltarak, sinyal moleküllerini inhibe ederek, sinyal moleküllerini reseptör proteinlerinden ayırarak ve sinyal moleküllerinin yerine geçerek gerçekleştirmektedir (Truchado vd., 2015). QS inhibisyonu için bitkisel kaynakların kullanımı hakkında yapılan çalışmalar Çizelge 3'te özetlenmiştir.

Yapılan birçok çalışmada, gıda ekstraktlarının antimikrobiyel ve anti-QS aktivitesi değerlendirilmiş olup, aynı zamanda bu aktiviteden sorumlu biyoaktif bileşikler de tespit edilmiştir. Gıdanın içeriğinde bulunan fitokimyasalların hem kimyasal yapılarının sinyal moleküllerine benzerliklerinden hem de sinyal reseptörlerini bozma yeteneklerinden dolayı QS inhibitörü olarak görev aldıkları belirlenmiştir. Truchado vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada nar ekstraktı ile AHL sinyal molekülü üretimindeki azalmanın kısmen AHL sinyal

moleküllerin degradasyonu ve transformasyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir. Sinalmaldehit, ellagik asit ve resveratrol gibi birçok farklı fitokimyasal bileşimin *Yersinia enterocolitica* ve *E. carotovora* gibi bakterilerin AHL sistemini inhibe etme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Zhou vd. (2018) tarafından

yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* PAO1'e karşı resveratrolün etkili bir QS inhibitörü olabileceği ortaya konulmuştur. qRT-PCR analizi ile *P. aeruginosa* PAO1 biyofilmlerinde ilgili gen ekspresyonunun resveratrol tarafından engellendiği belirlenmiştir.

Çizelge 3. QS mekanizmasının inhibisyonunda bitkisel materyallerin kullanımı

Bitkisel materyal (Ekstrakt/fitokimyasal)	Test mikroorganizmaları	Etki mekanizması	Kaynaklar
Mango yaprağı (<i>Mangifera indica</i>) ekstraktı	<i>Chromobacterium violaceum</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>P. aeruginosa</i>	QS inhibisyonuna bağlı olarak ekzopolisakkarit, proteaz ve kitinaz üretim aktivitesinin azalması, AHL sinyal molekülüne bağlı pigment üretiminin azalması, biyofilm oluşumunun engellenmesi	Husaini vd., 2017
Defne yaprağı (<i>Laurus nobilis</i>) ekstraktı	<i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella enterica</i> <i>C. violaceum</i> <i>P. aeruginosa</i>	Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite Anti-QS aktivite, biyofilm oluşumunun inhibisyonu	Molina vd., 2020
Yabani mantar (<i>Amanita rubescens</i> , <i>Russula delica</i> , <i>Lactarius</i> sp.) ekstraktları	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Candida albicans</i> <i>C. violaceum</i>	Mikrobiyel gelişimin inhibisyonu <i>Amanita rubescens</i> ve <i>Lactarius</i> sp. mantar ekstraktlarının (625 µg/ml) QS inhibisyonu	Tabbouche vd., 2017
Yeşil çay polifenoller	<i>Vibrio harveyi</i> <i>C. violaceum</i>	Soğukta depolanan balıklarda bozulma etmeni olan <i>Shewanella baltica</i> tarafından üretilen AI-2 sinyal molekülünün degradasyonu, biyofilm ve ekzopolisakkarit üretiminin inhibisyonu	Zhu vd., 2015
Mısır anason (<i>Carum copticum</i>) tohumu esansiyel yağı ve ekstraktı	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>B. cereus</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Salmonella</i> spp.	Esansiyel yağ ve metanol ekstraktı ile test mikroorganizmalarına karşı mikrobiyel inhibisyon	Snoussi vd., 2018

	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Vibrio</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
	<i>C. violaceum</i>	<i>C. copticum</i> esansiyel yağı (0.23 mg/ml) ile viyolasin pigmenti üretiminin %50 inhibisyonu	
Kestane (<i>Castanea sativa</i> Mill.) çiçeği ekstraktları	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumonia</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Candida</i> spp.	Test mikroorganizmalarına karşı güçlü antimikrobiyel aktivite	Ekşi vd., 2020
	<i>C. violaceum</i> <i>P. aeruginosa</i>	<i>C. sativa</i> metanol ekstraktı ile viyolasin üretimi, kayma hareketi ve biyofilm oluşumunun inhibisyonu	
Mandalina (<i>Citrus reticulata</i>) esansiyel yağı	<i>P. aeruginosa</i>	Biyofilm oluşumunun inhibisyonu, AHL sinyal molekülünün üretimini ve elastaz enzim aktivitesinin azalması	Luciardi vd., 2016
Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) esansiyel yağı	<i>Pseudomonas</i> spp.	Tarhun esansiyel yağı ile QS sinyal molekülü sentezinin ve proteolitik aktivitenin azalması	Sobieszczkańska vd., 2020
Trans-sinamaldehyt Salisilik asit	<i>P. aeruginosa</i>	QS düzenleyici ve virülans genlerin ekspresyonunun inhibisyonu	Ahmed vd., 2019
Sinamaldehyt	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. fluorescens</i> tarafından üretilen AHL sinyal molekülü üretiminde bir değişiklik olmazken, sinamaldehyt ile balık fileto örneklerinde proteolitik bozulmanın inhibisyonu	Li vd., 2018
Kumarin	<i>S. marcescens</i> <i>C. violaceum</i> <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	QS mekanizması ile ilgili gen ekspresyonunun azalması, biyofilm oluşumu, fenazin üretimi ve kayma hareketinin inhibisyonu	Gutiérrez-Barranquero vd., 2015

Alilizotiyosiyanat, benzilizotiyosiyanat, 2-feniletilizotiyosiyanat, gallik asit, ferulik asit, kafeik asit, phlorizin, (-) epikateşin fitokimyasallarının QQ mekanizmasının test edildiği bir araştırmada, alilizotiyosiyanat, benzilizotiyosiyanat ve 2-feniletilizotiyosiyanatın AHL sinyal molekülü aktivitesi üzerinde etki ederek QS inhibe edici etki gösterdiği tespit edilmiştir (Borges vd., 2014). Ancak yapılan in vitro antimikrobiyel ve sitotoksik analizler,

terapötik antimikrobiyel olarak ferulik asit, phlorizin ve epikateşinin potansiyel olarak kullanılabilceğini göstermiştir.

Luciardi vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, greyfurt esansiyel yağının 1 mg/mL konsantrasyonda *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşturmasını engellediği tespit edilmiştir. Çalışmada greyfurt esansiyel yağının ana bileşeni olan D-limonenin etkisi de araştırılmış olup, D-

limonenin biyofilm oluşumunun inhibisyonunda esansiyel yağlardan daha az etkili olduğu ve esansiyel yağın içerisinde bulunan minör bileşenlerin QS mekanizmasının inhibisyonunda sinerjistik etkisi olabileceği belirtilmiştir.

Çoğunluk algılama mekanizması ile ilişkili *P. fluorescens* KM121 türü tarafından gerçekleştirilen biyofilm oluşumunun inhibisyonunda kekik (*Thymus vulgaris* L.) esansiyel yağı ve başlıca biyoaktif bileşikleri olan karvakrol ve timolün etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, test edilen materyallerin AHL sinyal molekülü üretimini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, test materyallerinin *P. fluorescens* suşu tarafından gerçekleştirilen biyofilm oluşumunu etkili bir şekilde inhibe ettiği belirlenmiştir (Myszka vd., 2016). Kekik esansiyel yağının ve kekik esansiyel yağı ilave edilmiş pektin filmlerin *C. violaceum* için QS inhibitör aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, kekik esansiyel yağı ilaveli pektin filmlerin tüm konsantrasyonlarda (15.7, 25.9 ve 36.1 mg/mL) *C. violaceum* tarafından viyolasin üretiminin inhibisyonu olarak ifade edilen önemli bir QS inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Alveres vd., 2014). Mohan vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada antimikrobiyel ve antioksidan etkilerini arttırmak için film matriksine ilave edilen partikül boyutu azaltılmış karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum cassia*) içeren yenilebilir ambalaj filmlerin *P. aeruginosa* tarafından üretilen biyofilmi etkili bir şekilde inhibe ettiği ve tavuk örneklerinin raf ömrünü uzatmak için önemli katkı sağladığı tespit edilmiştir. Mikrobiyel gelişimin inhibisyonu için QQ mekanizmasının, raf ömrü kısa olan gıda ürünlerinde sürdürülebilir koruma yöntemlerinin geliştirilmesinde faydalı olabileceği belirtilmiştir. Farklı esansiyel yağlar ve bileşenlerinin, QS inhibisyon ve anti-biyofilm aktivitesine dayalı olarak uygulanmasının gıdaların raf ömrünü ve güvenliğini artırmak için yeni bir strateji olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir (Bai ve Vittal, 2014; Zhang vd., 2018).

Turşudan izole edilmiş olan *Lactobacillus plantarum* izolatının, *Aeromonas sobria* tarafından virülans faktörlerin üretimi ve biyofilm oluşturma mekanizmasının düzenlenmesi için üretilen, AHL

sinyal moleküllerinde yaklaşık %100 bozunma sağladığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar laktik asit bakterilerinin gıda güvenliğini arttırmak için umut verici bir QS inhibitörü ve anti-biyofilm ajanı olarak kullanım potansiyeli olabileceğini göstermiştir (Lv vd., 2021).

SONUÇ

Günümüzde önemli bir sorun haline gelen antimikrobiyel maddelere dirençli mikroorganizmalar sebebiyle, QS inhibisyonu araştırmaları önem kazanmaktadır. Gıdalarda bozulmayı önlemek veya geciktirmek için koruyucu olarak kullanılabilecek farklı inhibitörler bulunmaktadır. Gıdanın raf ömrünü öngörebilmek için tüm iç ve dış faktörleri dikkate alarak bir gıda matrisinde hücreler arası iletişim modellerinin araştırılması gerekmektedir. QS mekanizmasının inhibisyonu için QS mekanizmasını engelleyen maddelerin gıdalarda mikrobiyel gelişmeyi kontrol etmek amacıyla kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bu sayede hem gıda bozulmalarının hem de patojenlerin neden olduğu gıda kaynaklı mikrobiyel hastalıkların kontrol altına alınabileceği düşünülmektedir. Gıda güvenliğini arttırmak ve gıdaların raf ömrünü uzatmak için QS inhibitörlerinin gıda koruyucusu olarak kullanılabileme potansiyeli ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yazılmasında ve yayınlanmasında katkı sağlamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

Abisado, R.G., Benomar, S., Klaus, J.R., Dandekar, A.A., Chandler, J.R. (2018). Bacterial Quorum Sensing and microbial community interactions. *MBio*, 9(3), e02331-17, doi: 10.1128/mBio.02331-17.

- Ahmed, S.A., Rudden, M., Smyth, T.J., Dooley, J. S., Marchant, R., Banat, I.M. (2019). Natural quorum sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103(8): 3521-3535, doi: 10.1007/s00253-019-09618-0.
- Almasoud, A., Hettiarachchy, N., Rayaprolu, S., Babu, D., Kwon, Y.M., Mauromoustakos, A. (2016). Inhibitory effects of lactic and malic organic acids on autoinducer type 2 (AI-2) quorum sensing of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Typhimurium. *LWT - Food Sci Technol*, 66: 560-564, doi: 10.1016/j.lwt.2015.11.013.
- Alvarez, M.V., Ortega-Ramirez, L.A., Gutierrez-Pacheco, M.M., Bernal-Mercado, A.T., Rodriguez-Garcia, I., Gonzalez-Aguilar, G.A., Ponce, A., Moreira, M. R., Roura, S. I., Ayala-Zavala, J.F. (2014). Oregano essential oil-pectin edible films as anti-quorum sensing and food antimicrobial agents. *Front Microbiol*, 5, 699, doi: 10.3389/fmicb.2014.00699.
- Borges, A., Serra, S., Cristina Abreu, A., Saavedra, M.J., Salgado, A., Simões, M. (2014). Evaluation of the effects of selected phytochemicals on quorum sensing inhibition and in vitro cytotoxicity. *Biofouling*, 30(2): 183-195, doi: 10.1080/08927014.2013.852542.
- Borges, A., Sousa, P., Gaspar, A., Vilar, S., Borges, F., Simões, M. (2017). Furvina inhibits the 3-oxo-C12-HSL-based quorum sensing system of *Pseudomonas aeruginosa* and QS-dependent phenotypes. *Biofouling*, 33(2): 156-168, doi: 10.1080/08927014.2017.1280732.
- Brackman, G., Celen, S., Hillaert, U., Van Calenbergh, S., Cos, P., Maes, L., Nelis, H.J., Coenye, T. (2011). Structure-activity relationship of cinnamaldehyde analogs as inhibitors of AI-2 based quorum sensing and their effect on virulence of *Vibrio* spp. *PLoS One*, 6(1), e16084, doi: 10.1371/journal.pone.0016084.
- Brackman, G., Defoirdt, T., Miyamoto, C., Bossier, P., Van Calenbergh, S., Nelis, H., Coenye, T. (2008). Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio* spp. by decreasing the DNA-binding activity of the quorum sensing response regulator LuxR. *BMC Microbiol*, 8(1), 149, doi: 10.1186/1471-2180-8-149.
- Bruhn, J.B., Christensen, A.B., Flodgaard, L.R., Nielsen, K.F., Larsen, T.O., Givskov, M., Gram, L. (2004). Presence of acylated homoserine lactones (AHLs) and AHL-producing bacteria in meat and potential role of AHL in spoilage of meat. *Appl Environ Microbiol*, 70(7): 4293-4302, doi: 10.1128/AEM.70.7.4293-4302.2004.
- Chbib, C. (2020). Impact of the structure-activity relationship of AHL analogues on quorum sensing in Gram- negative bacteria. *Bioorg Med Chem*, 28(3): 115282, doi: 10.1016/j.bmc.2019.115282.
- Chen, F., Gao, Y., Chen, X., Yu, Z., Li, X. (2013). Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block Quorum Sensing-dependent infection. *Int J Mol Sci*, 14(9): 17477-17500, doi: 10.3390/ijms140917477.
- Chenia, H.Y. (2015). Antimicrobial activity of cinnamaldehyde, vanillin and Kigelia Africana fruit extracts against fish-associated *Chryseobacterium* and *Myroides* spp. isolates. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 12(3): 55-67, doi: 10.4314/ajtcam.v12i3.7.
- Christiaen, S.E., Matthijs, N., Zhang, X.H., Nelis, H.J., Bossier, P., Coenye, T. (2014). Bacteria that inhibit quorum sensing decrease biofilm formation and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Pathog Dis*, 70(3): 271-279, doi: 10.1111/2049-632X.12124.
- Dong, Y.H., Wang, L.H., Zhang, L.H. (2007). Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Phil Trans R Soc B*, 362(1483): 1201-1211, doi: 10.1098/rstb.2007.2045.
- Duanis-Assaf, D., Steinberg, D., Chai, Y., Shemesh, M. (2016). The LuxS based quorum sensing governs lactose induced biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Front Microbiol*, 6, 1517, doi: 10.3389/fmicb.2015.01517.

- Ekşi, S., Esertaş, Ü.Z.Ü., Kilic, A.O., Ejder, N., Uzunok, B. (2020). Determination of the antimicrobial and antibiofilm effects and 'Quorum Sensing' inhibition potentials of *Castanea sativa* Mill. extracts. *Not Bot Horti Agrobo*, 48(1): 66-78, doi: 10.15835/nbha48111736.
- Erhabor, C.R., Erhabor, J.O., McGaw, L.J. (2019). The potential of South African medicinal plants against microbial biofilm and quorum sensing of foodborne pathogens: A review. *S Afr J Bot*, 126: 214-231, doi: 10.1016/j.sajb.2019.07.024.
- Galie, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E.M., Villar, C.J., Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. *Front Microbiol*, 9, 898, doi: 10.3389/fmicb.2018.00898.
- Galloway, W.R., Hodgkinson, J.T., Bowden, S.D., Welch, M., Spring, D.R. (2011). Quorum sensing in Gram-negative bacteria: small-molecule modulation of AHL and AI-2 quorum sensing pathways. *Chem Rev*, 111(1): 28-67, doi: 10.1021/cr100109t.
- Gopu, V., Chandran, S., Shetty, P.H. (2018). Significance and application of Quorum Sensing in Food Microbiology. In: *Quorum Sensing and its Biotechnological Applications*, Kalia, V.C. (ed.), Springer, Singapore, pp. 193-219.
- Gori, K., Moslehi-Jenabian, S., Purrotti, M., Jespersen, L. (2011). Autoinducer-2 activity produced by bacteria found in smear of surface ripened cheeses. *Int Dairy J*, 21(1): 48-53, doi: 10.1016/j.idairyj.2010.06.009.
- Gutiérrez-Barranquero, J.A., Reen, F.J., McCarthy, R.R., O'Gara, F. (2015). Deciphering the role of coumarin as a novel quorum sensing inhibitor suppressing virulence phenotypes in bacterial pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*, 99(7): 3303-3316, doi: 10.1007/s00253-015-6436-1.
- Husain, F.M., Ahmad, I., Al-thubiani Abdullah S., Abulreesh, H.H., AlHazza, I.M., Aqil, F. (2017). Leaf extracts of *Mangifera indica* L. inhibit Quorum Sensing – Regulated Production of virulence factors and biofilm in test bacteria. *Front Microbiol*, 8: 1-12, doi: 10.3389/fmicb.2017.00727.
- Johansen, P., Jespersen, L. (2017). Impact of quorum sensing on the quality of fermented foods. *Curr Opin Food Sci*, 13: 16-25, doi: 10.1016/j.cofs.2017.01.001.
- Jung, S.A., Hawver, L.A., Ng, W.L. (2016). Parallel quorum sensing signaling pathways in *Vibrio cholerae*. *Curr Genet*, 62(2): 255-260, doi: 10.1007/s00294-015-0532-8.
- Kalia, V.C. (ed.). (2018). *Biotechnological applications of Quorum Sensing inhibitors*. Springer, Singapore, 473 p.
- Khan, D.M., Manzoor, M.A., Rao, I.V., Moosabba, M.S. (2019). Evaluation of biofilm formation, cell surface hydrophobicity and gelatinase activity in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of diabetic and non-diabetic foot ulcer infections. *Biocatal Agric Biotechnol*, 18, 101007, doi: 10.1016/j.bcab.2019.01.045.
- Kiran, G.S., Hassan, S., Sajayan, A., Selvin, J. (2017). Quorum quenching compounds from natural sources. In: *Bioresources and Bioprocess in Biotechnology*, Sugathan, S. (chief ed.), Springer, Singapore, pp. 351-364.
- Li, T., Cui, F., Bai, F., Zhao, G., Li, J. (2016). Involvement of acylated homoserine lactones (AHLs) of *Aeromonas sobria* in spoilage of refrigerated turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Sensors*, 16(7), 1083, doi: 10.3390/s16071083.
- Li, T., Wang, D., Liu, N., Ma, Y., Ding, T., Mei, Y., Li, J. (2018). Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* by cinnamaldehyde. *Int J Food Microbiol*, 269: 98-106, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.023.
- Liu, J., Fu, K., Wu, C., Qin, K., Li, F., Zhou, L. (2018a). "In-Group" communication in marine *Vibrio*: A review of N-Acyl homoserine lactones-driven Quorum Sensing. *Front Cell Infect Microbiol*, 8, 139, doi: 10.3389/fcimb.2018.00139.
- Liu, L., Yan, Y., Feng, L., Zhu, J. (2018b). Quorum sensing *asaI* mutants affect spoilage phenotypes, motility, and biofilm formation in a

- marine fish isolate of *Aeromonas salmonicida*. *Food Microbiol*, 76: 40–51, doi: 10.1016/j.fm.2018.04.009.
- Liu, M., Wang, H., Griffiths, M.W. (2007). Regulation of alkaline metallo-protease promoter by N-acyl homoserine lactone quorum sensing in *Pseudomonas fluorescens*. *J Appl Microbiol*, 103(6): 2174–2184, doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03488.x.
- Luciardi, M.C., Blázquez, M.A., Alberto, M.R., Cartagena, E., Arena, M.E. (2019). Grapefruit essential oils inhibit quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Sci Technol Int*, 26(3): 231-241, doi: 10.1177/1082013219883465.
- Luciardi, M.C., Blázquez, M.A., Cartagena, E., Bardón, A., Arena, M.E. (2016). Mandarin essential oils inhibit quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *LWT - Food Sci Technol*, 68: 373-380, doi: 10.1016/j.lwt.2015.12.056.
- Lv, X., Cui, T., Du, H., Sun, M., Bai, F., Li, J., Zhang, D. (2021). *Lactobacillus plantarum* CY 1-1: A novel quorum quenching bacteria and anti-biofilm agent against *Aeromonas sobria*. *LWT- Food Sci Technol*, 137, 110439, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110439.
- Machado, I., Silva, L.R., Giaouris, E.D., Melo, L.F., Simões, M. (2020). Quorum sensing in food spoilage and natural-based strategies for its inhibition. *Food Res Int*, 127, 108754, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108754.
- Majik, M.S., Gawas, U.B., Mandrekar, V.K. (2020). Next generation quorum sensing inhibitors: Accounts on structure activity relationship studies and biological activities. *Bioorg Med Chem*, 28(21), 115728, doi: 10.1016/j.bmc.2020.115728.
- Melian, C., Segli, F., Gonzalez, R., Vignolo, G., Castellano, P. (2019). Lactocin AL 705 as quorum sensing inhibitor to control *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *J Appl Microbiol*, 127(3): 911-920, doi: 10.1111/jam.14348.
- Miller, C., Gilmore, J. (2020). Detection of Quorum-Sensing molecules for pathogenic molecules using cell-based and cell-free biosensors. *Antibiotics*, 9(5), 259, doi: 10.3390/antibiotics9050259.
- Mohan, C.C., Harini, K., Sudharsan, K., Krishnan, K.R., Sukumar, M. (2019). Quorum quenching effect and kinetics of active compound from *S. aromaticum* and *C. cassia* fused packaging films in shelf life of chicken meat. *LWT - Food Sci Technol*, 105: 87-102, doi: 10.1016/j.lwt.2019.01.061.
- Molina, R.D.I., Campos-Silva, R., Díaz, M.A., Macedo, A.J., Blázquez, M.A., Alberto, M.R., Arena, M.E. (2020). Laurel extracts inhibit Quorum sensing, virulence factors and biofilm of foodborne pathogens. *LWT - Food Sci Technol*, 134, 109899, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109899.
- Myszka, K., Schmidt, M.T., Majcher, M., Juzwa, W., Olkowicz, M., Czaczyk, K. (2016). Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds. *Int Biodeterior Biodegrad*, 114: 252-259, doi: 10.1016/j.ibiod.2016.07.006.
- O'Connor, G., Knecht, L.D., Salgado, N., Strobel, S., Pasini, P., Daunert, S. (2015). Whole-cell biosensors as tools for the detection of quorum-sensing molecules: uses in diagnostics and the investigation of the quorum-sensing mechanism. In: *Bioluminescence: Fundamentals and Applications in Biotechnology*, Thouand, G. (chief ed.), Volume 3, Springer, Cham, pp. 181-200.
- Papenfort, K., Bassler, B.L. (2016). Quorum sensing signal- response systems in Gram-negative bacteria, *Nat Rev Microbiol*, 14(9): 576–588, doi: 10.1038/nrmicro.2016.89.
- Park, H., Shin, H., Lee, K., Holzapfel, W. (2016). Autoinducer-2 properties of kimchi are associated with lactic acid bacteria involved in its fermentation. *Int J Food Microbiol*, 225: 38-42, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.007.
- Passos da Silva, D., Schofield, M., Parsek, M., Tseng, B. (2017). An update on the sociomicrobiology of quorum sensing in Gram-negative biofilm development. *Pathogens*, 6, 51, doi: 10.3390/pathogens6040051.

- Peng, P., Baldry, M., Gless, B.H., Bojer, M.S., Gonora, C.E., Baig, S., Andersen, P.S., Olsen, C.A., Ingmer, H. (2019). Effect of co-inhabiting coagulase negative staphylococci on *S. aureus* agr quorum sensing, host factor binding, and biofilm formation. *Front Microbiol*, 10, 2212, doi: 10.3389/fmicb.2019.02212.
- Quecan, B.X.V., Rivera, M.L.C., Hassimotto, N.M.A., Almeida, F.A.D., Pinto, U.M. (2019). Effect of quercetin rich onion extracts on bacterial quorum sensing. *Front Microbiol*, 10, 867, doi: 10.3389/fmicb.2019.00867.
- Rasch, M., Andersen, J.B., Nielsen, K.F., Flodgaard, L.R., Christensen, H., Givskov, M., Gram, L. (2005). Involvement of bacterial quorum-sensing signals in spoilage of bean sprouts. *Appl Environ Microbiol*, 71(6): 3321-3330, doi: 10.1128/AEM.71.6.3321-3330.2005.
- Rasmussen, T.B., Givskov, M. (2006). Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *Int J Med Microbiol*, 296(2-3): 149-161, doi: 10.1016/j.ijmm.2006.02.005.
- Rutherford, S.T., Bassler, B.L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2(11): a012427, doi: 10.1101/cshperspect.a012427.
- Singh, A., Gaur, M., Misra, R. (2018). Understanding the connect of quorum sensing and CRISPR-Cas system: potential role in biotechnological applications. In: *Quorum Sensing and its Biotechnological Applications*, Sugathan S. (chief ed.), Springer, Singapore, pp. 231-247.
- Skandamis, P.N., Nychas, G.J.E. (2012). Quorum sensing in the context of food microbiology. *Appl Environ Microbiol*, 78(16): 5473-5482, doi: 10.1128/AEM.00468-12.
- Snoussi, M., Noumi, E., PUNCHAPPADY-DEVASYA, R., Trabelsi, N., Kanekar, S., Nazzaro, F., Fratianni, F., Flamini, G., Feo, V. D., Al-Sieni, A. (2018). Antioxidant properties and anti-quorum sensing potential of *Carum copticum* essential oil and phenolics against *Chromobacterium violaceum*. *J Food Sci Technol*, 55(8): 2824-2832, doi: 10.1007/s13197-018-3219-6.
- Sobieszczańska, N., Myszka, K., Szwengiel, A., Majcher, M., Grygier, A., Wolko, Ł. (2020). Tarragon essential oil as a source of bioactive compounds with anti-quorum sensing and anti-proteolytic activity against *Pseudomonas* spp. isolated from fish-in vitro, in silico and in situ approaches. *Int J Food Microbiol*, 108732, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108732.
- Stephens, K., Bentley, W.E. (2020). Synthetic biology for manipulating Quorum Sensing in microbial consortia. *Trends Microbiol*, 28(8): 633-643, doi: 10.1016/j.tim.2020.03.009.
- Ta, C., Arnason, J. (2016). Mini review of phytochemicals and plant taxa with activity as microbial biofilm and quorum sensing inhibitors. *Molecules*, 21(1), 29, doi: 10.3390/molecules21010029.
- Tabbouche, S.A., Gürgen, A., Yildiz, S., Kiliç, A.O., Sökmen, M. (2017). Antimicrobial and anti-quorum sensing activity of some wild mushrooms collected from Turkey. *J Sci Technol MSU*, 5(2): 453-457, doi: 10.18586/msufbd.347692.
- Tommonaro, G. (ed.) (2019). *Quorum Sensing: Molecular mechanism and biotechnological application*. Academic Press, Cambridge, United Kingdom, 309 p.
- Truchado, P., Larrosa, M., Castro-Ibáñez, I., Allende, A. (2015). Plant food extracts and phytochemicals: their role as quorum sensing inhibitors. *Trends Food Sci Technol*, 43(2): 189-204, doi: 10.1016/j.tifs.2015.02.009.
- Truchado, P., Tomás-Barberán, F.A., Larrosa, M., Allende, A. (2012). Food phytochemicals act as quorum sensing inhibitors reducing production and/or degrading autoinducers of *Yersinia enterocolitica* and *Erwinia carotovora*. *Food Control*, 24(1-2): 78-85, doi: 10.1016/j.foodcont.2011.09.006.
- Var, I., Çelik, Ç. (2019). Mikroorganizmalarda çoğunluğu algılama ve çoğunluğu algılama mekanizmasının engellenmesi. *GIDA* 44 (6): 943-953, doi: 10.15237/gida.GD19016.
- Whiteley, M., Diggle, S.P., Greenberg, E.P. (2017). Bacterial quorum sensing: The progress

- and promise of an emerging research area. *Nature*, 551(7680), 313, doi: 10.1038/nature24624.
- Yuan, L., Sadiq, F. A., Liu, T., Li, Y., Gu, J., Yang, H., He, G. (2018). Spoilage potential of psychrotrophic bacteria isolated from raw milk and the thermo-stability of their enzymes. *J Zhejiang Univ Sci B*, 19(8): 630-642, doi: 10.1631/jzus.B1700352.
- Yuan, L., Wang, N., Sadiq, F.A., He, G. (2020). RNA sequencing reveals the involvement of quorum sensing in dairy spoilage caused by psychrotrophic bacteria. *LWT - Food Sci Technol*, 127, 1093842, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109384.
- Zhang, J., Feng, T., Wang, J., Wang, Y., Zhang, X.H. (2019). The mechanisms and applications of Quorum sensing (QS) and Quorum quenching (QQ). *J Ocean Univ China*, 18(6): 1427-1442, doi: 10.1007/s11802-019-4073-5.
- Zhang, Y., Kong, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., Yao, W. (2018). Essential oil components inhibit biofilm formation in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas fluorescens* via anti-quorum sensing activity. *LWT - Food Sci Technol*, 92: 133-139, doi: 10.1016/j.lwt.2018.02.027.
- Zhou, J.W., Chen, T.T., Tan, X.J., Sheng, J.Y., Jia, A.Q. (2018). Can the quorum sensing inhibitor resveratrol function as an aminoglycoside antibiotic accelerant against *Pseudomonas aeruginosa*? *Int J Antimicrob Agents*, 52(1): 35-41, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.03.002.
- Zhu, J., Huang, X., Zhang, F., Feng, L., Li, J. (2015). Inhibition of quorum sensing, biofilm, and spoilage potential in *Shewanella baltica* by green tea polyphenols. *J Microbiol*, 53(12): 829-836, doi: 10.1007/s12275-015-5123-3.
- Zhu, S., Wu, H., Zhang, C., Jie, J., Liu, Z., Zeng, M., Wang, C. (2018). Spoilage of refrigerated *Litopenaeus vannamei*: eavesdropping on *Acinetobacter* acyl-homoserine lactones promotes the spoilage potential of *Shewanella baltica*. *J Food Sci Technol*, 55(5): 1903-1912, doi: 10.1007/s13197-018-3108-z.

BİTKİ TOHUM MUSİLAJLARI VE GİDALARDA KULLANIMI

Umay Sevgi Vardar¹, Yılmaz Özcan^{2*}, Duygu Özmen¹, Ömer Said Toker¹

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

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

Geliş / Received: 05.05.2020; Kabul / Accepted: 24.12.2020; Online baskı / Published online: 28.01.2021

Vardar, U.S., Özcan, Y., Özmen, D., Toker, O.S. (2021). Bitki tohum musilajları ve gıdalarda kullanımı. *GIDA* (2021) 46(2) 269-278 doi: 10.15237/gida. GD20073.

Vardar, U.S., Özcan, Y., Özmen, D., Toker, O.S. (2021). *Plant seed mucilages and its use in foods. GIDA* (2021) 46(2) 269-278 doi: 10.15237/gida. GD20073.

ÖZ

Hidrokolloidler, jelleşme, kalınlaştırma, emülsiyon ve köpükleri stabilize etme gibi teknolojik özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda tüketicilerin doğal katkı gıdalara olan ilgisi araştırmacıların ticari hidrokolloidlerin yerine bitki tohum musilajlarına olan ilgilerini artırmıştır. Bitki tohum musilajları teknolojik özelliklerinin yanı sıra diyet lifi olma özelliğinden dolayı eklendikleri ürüne fonksiyonel özellik kazandırmaktadır. Musilajların fonksiyonel özellikleri yapılarındaki şekerden dolayı sıcaklık gibi ekstraksiyon koşullarından etkilenmekte olup enzim uygulaması, ultrasonik ve mikrodalga destekli yöntemler de musilaj ekstraksiyonunun da kullanılabilir. Bu derlemede, musilajların farklı kaynaklardan farklı yöntemler ile elde edilmesi ve fırıncılık, süt ve et ürünlerinde kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Musilaj, hidrokolloid, gam, ekstraksiyon

PLANT SEED MUCILAGES AND ITS USE IN FOODS

ABSTRACT

Hydrocolloids are widely used in the food industry due to their technological properties such as gelling, thickening, emulsion and foam stabilization. In recent years, consumers' interest in minimally processed foods has increased researchers' interest in plant seed mucilage rather than commercial hydrocolloids. Plant seed mucilages add functional properties to the product they are added to due to their technological properties as well as being dietary fiber. Functional properties of mucilages are affected by extraction conditions such as temperature due to the presence of sugar in their structure, and enzyme treatment, ultrasonic and microwave assisted methods can also be used in mucilage extraction. In this review, studies on extraction mucilages from different sources and using them in bakery, dairy and meat products are summarized.

Keywords: Mucilage, hydrocolloid, gum, extraction

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: yilmaz.ozcan@klu.edu.tr,

☎: (+90) 288 214 05 14

☎: (+90) 288 214 05 16

Umay Sevgi Vardar; ORCID no: 0000-0002-4900-8009

Yılmaz Özcan; ORCID no: 0000-0002-6763-3158

Duygu Özmen; ORCID no: 0000-0002-1052-3599

Ömer Said Toker; ORCID no: 0000-0002-7304-2071

GİRİŞ

Hidrokoloidler yapılarındaki hidroksil gruplarından dolayı suda çözünebilir biyopolimer gruplarıdır. Stabilize ve emülsifiye etme, jelleşme, kalınlaştırma ve retrogradasyonu önleme gibi işlemlerde yer alarak gıdaların fonksiyonel ve reolojik özelliklerinin iyileştirilmesinde kullanılmaktadırlar. Bu yüzden gıda prosesleri için önemli bir katkı maddesi olup dondurma, salata sosu ve jöleli tatlılar gibi gıda ürünlerinde yer almaktadırlar (BeMiller vd. 2011; Yuan Hung vd. 2019; Saha ve Bhattacharya, 2010).

Emülsifiyerler, emülsiyon bazlı ürünlerin önemli bir bileşenidir. Gıda endüstrisinde sukroz ve sorbitan esterleri gibi sentetik emülsifiye edici ajanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber sentetik emülsifiyerlerin birçok alerjik ve otoimmün hastalıkların görülme sıklığını arttırdığı belirtilmiştir (McClements vd. 2017). Bu yüzden spesifik fonksiyonel özellikler (yapısal, fizikokimyasal) gösterebilen yeni gıda hidrokoloid kaynaklarının araştırılması son zamanlarda artış göstermiştir. Bu amaçla yeni hidrokoloid kaynağı olarak müsilağlar üzerinde yapılan araştırmalar günden güne yoğunlaşmaktadır (Da Silva vd. 2019). Tohum müsilağlarının koloidal özelliklerinden dolayı gıda ve diğer endüstrilerde emülsifiye edici ve kalınlaştırıcı ajan olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir. Ayrıca, teknolojik özelliklerinin yanı sıra tohumların müsilağınöz bileşenlerinin diyet lifi fonksiyonları dolayısıyla da insan sağlığına fayda sağlayacağı vurgulanmıştır (Pereira vd. 2019).

Tohum Musilajlarının Özellikleri

Bitki tohumlarından elde edilen polisakaritler, yapısal ve tekstürel özellikler kazandırma, emülsifiye etme ve kıvam arttırma gibi kendilerine özgü teknolojik faydaları ve diyet liflerinin doğal kaynağı olmaları gibi besinsel yararları ile gıda sanayinde kullanılan önemli hidrokoloidlerden biridir. Bitki tohumu polisakaritleri genel olarak galaktomannanlar gibi nişasta olmayan endosperm bileşenleri, tohum tabakası müsilağ bileşenleri (keten, çiya, sarı hardal, pisilyum) ve endosperm hücre duvarı bileşeni (soya fasulyesi hemiselülozu) olmak üzere üç

grupta sınıflandırılırlar (Soukulas 2018). Müsilağ polisakaritleri, bitkilerde tohum hidrasyonunun korunmasında ve kurak koşullarda hayatta kalmasında görev alan bitki hidrokoloidleridir (Yu vd. 2017).

Musilağlar genellikle gamlar ile karıştırılmaktadır ancak bu iki kavram birbirinden farklıdır. Gamlar, genellikle bitkilerin bir yaralanma ya da hücre duvarının zedelenmesi ile ürettikleri bileşenler olarak düşünülürken müsilağlar metabolizmanın olağan olarak ürettiği ürünlerdir. Gamlar patolojik ürünler olup suda çözünürken müsilağlar fizyolojik ürünler olup suda çözünen sümüksü kitleler oluşturur (Jani vd. 2009). Akasya, tarakant ve guar gam gam çeşitlerinden bazılarıdır. Müsilağlar ise bitkinin yaprak (sinameki), tohum zarı (keten tohumu, pisilyum), kök (hatmi), kabuk (karaağaç) ve orta lamel (aloe) gibi birçok farklı kısımlarında bulunur (Jani vd. 2009).

Gamlar ve musilağlar bazı benzer özelliklere de sahiptir. Bitkisel hidrokoloid olmaları ve yarı saydam amorf özellik göstermeleri ortak özellikleri arasındadır. Bununla birlikte her ikisi de bir monosakaritin veya monosakarit karışımının polimerleri olup birçoğu üronik asitlerle bağ yapmış formdadır (Jani vd. 2009). Galaktoz, galakturonik asit kalıntıları içermesinin yanı sıra çoğunluk olarak da arabinoz ve ksiloz içermektedirler. Kimyasal yapıları incelendiğinde 1,4 ve 1,3 bağlarıyla bağlı arabinoksilan polimerleri olduğu görülmektedir (Abdurrahmanoğlu, 2017). Benzer bileşenlere sahip olan gamlar ve musilağlar hidroliz sonucu şeker ve üronik asit karışımı oluştururlar (Jani vd. 2009). Düz zincirli polisakaritler aynı molekül ağırlığındaki dallı bileşenler ile kıyaslandığında daha fazla yer kaplar ve viskoz yapı oluştururlar. Dallanmış bileşikler daha kolay jel oluşturur ve zincir uzunluğunca herhangi bir etkileşim mümkün olmadığından daha kararlı bir yapı gösterirler (Glaue, 2018).

Ancak bir bitkinin eksüdası ya da ekstratının gam mı yoksa müsilağ mı olarak adlandırılması gerektiğine dair tatmin edici bir çözüm olmamakla birlikte sözlük anlamı olarak da yetersizdir. Tohum ekstratının kabuk ya da yumuşak

saplardan akan maddelerin müsilaj olarak adlandırılması yönünde bir eğilim olmakla birlikte, bamya (*Hibiscus esculentus*), psyllium (*Plantago* spp.; *Plantaginaceae*, *Scrophulariales*), keten tohumu (*Linum usitatissimum*; *Linaceae*, *Geraniales*) ve ruredzo (*Dicerocaryum zaquebarium*) müsilajlara örnek olarak gösterilmektedir (Mohammadifar vd. 2006).

Bitki Tohumlarından Müsilaj Ekstraksiyonu

Bitki tohum musilajları (BTM) yüksek hidrofilik yapıları nedeniyle bozulmamış tohum ve tohum kabuklarının suyla muamele edilmesi ile ekstrate edilebilir. Tohumun orjini ve genotipi, ekstraksiyonda kullanılacak çözücünün pH ve sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, tohum ve çözücü oranı gibi etkenlere bağlı olarak ekstraksiyon randımanı %3 ile %35 arasında değişebilmektedir. Ancak bazı durumlarda tohumların suya ıslanması musilajın yeteri kadar çözünmesini sağlamaz. Hafif çalkalama işlemi yapışkan olmayan dış musilaj tabakasının ekstraksiyonunu arttırırsa da içteki yapışkan tabakanın çözünmesi sadece hedeflenen fiziksel, kimyasal ya da enzimatik muamele yoluyla sağlanabilir (Soukulis vd. 2018).

BTM ekstraksiyonunda klasik yöntemin dışında ultrases, mikrodalga gibi yöntemlerin de kullanıldığı bilinmektedir. Nazir vd. (2017), fesleğen tohumlarından musilaj ekstraksiyonunun optimizasyonunu gerçekleştirdikleri çalışmada sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla musilaj ekstraksiyonunun arttığı ancak 80 °C ve üzeri sıcaklıklarda polisakkarit degradasyonu ile birlikte ekstraksiyon veriminin düştüğü ifade edilmiştir. Sabit sıcaklık ve süre koşullarında su/tohum oranı artışının ise verimi arttırdığı, ekstraksiyon süresi ile su/tohum oranı artışının da ekstraksiyon verimini arttırdığı gözlemlenmiştir. Artan su/tohum oranı ile suyun daha iyi itici güç olduğu ve sıcaklık artışının ise suyun tohum içerisine penetrasyonunun kolaylaşması sonucu verimi arttırdığı ifade edilmiştir.

Klasik ekstraksiyon yöntemine alternatif olarak kullanılan mikrodalga yönteminde ise mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla musilaj veriminin arttığı, işlem sırasında gerçekleşen sıcaklık artışının musilajın çözünmesini

kolaylaştırarak ekstraksiyon verimini olumlu etkilediği belirtilmiştir (Haddache vd. 2016; Lu-Han vd. 2016). Ultrases yöntemi ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ultrases şiddeti ve ekstraksiyon süresinin musilaj ekstraksiyon verimini arttırdığı ancak ultrases ile oluşan kaviteasyon köpüklerinin termomekanik etkisinden dolayı polisakkaritlerin yapısını değiştirdiği gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin artmasıyla bu degradasyonun daha belirgin görüldüğü ifade edilmiştir (Fabre ve Pereira, 2015).

Tohum musilajlarının ekstraksiyonunda ayrıca enzim destekli ekstraksiyon, presleme gibi yardımcı işlemler ile ilgili çalışmalar da gerçekleştirilmiştir (Chiang vd. 2019; Gheribi vd. 2019; Da Silva vd. 2019).

Tohum Musilajlarının Teknolojik Özellikleri ve Gıda Uygulamaları

Müsilajlar, hidrofobik ya da hidrojen bağı yoluyla polimer zincir yan gruplarının moleküller arası interaksiyonu sebebiyle kalınlaştırıcı ve yapı oluşturucu olarak kullanılırlar. Polimer zincirlerinin akış yönüne uyum sağlama yetenekleri müsilaj solüsyonlarına psödoplastik özellik kazandırır. Keten tohumu ve sarı hardal gibi bitkilerde bulunan iyonik yapıdaki müsilajlar iyonik şiddet ve pH değişimlerine karşı daha duyarlıdır. Diğer taraftan tere ve çiya tohumundaki gibi ksantan gam iyonik özellik göstermeyen ticari gamlara benzemekte ve pH değişimlerine duyarlılık göstermemektedir (Soukoulis vd. 2018).

Hidrojen kationlarının artışı, aynı yüklü yan zincir grupları arasındaki itme kuvvetini azaltarak polimer zincirlerinin hidrojen bağlanması ile birleşme bölgelerinin oluşumuna neden olur ve böylece keten tohumu ve sarı hardal gamları ve bunların pektik olmayan fraksiyonları asit jel oluşturabilirler (Qian vd. 2012; Chen vd. 2006; Wu vd. 2009). Düşük konsantrasyonlarda kationların (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}) varlığı, BTM sulu sistemlerinde jel dayanımını artırır. Fakat kationların yüksek konsantrasyonlarda olması polimer molekülleri arasındaki elektrostatik itme kuvvetlerinden dolayı jel dayanımını azaltır (Chen

vd. 2006). İyonik jellerin mekanik özellikleri musilaj konsantrasyonuna ve üronik asit içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Düşük üronik asit içeriğine sahip tohum müsilağlarının kationların varlığında viskozimetrik tepkisi olumsuz etkilenmektedir (Soukoulis vd. 2018).

BTM'lerin yapıyı modifiye etmelerindeki en önemli parametrelerden biri de şekerdir. BTM dispersiyonlarında şekerin de yer alması reolojik parametreler üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Şekerle birlikte çözünen maddelerin yeterli miktarda mevcut olduğu durumlarda BTM'lerin yapı uyumunu değiştirerek etki eder. Bazı durumlarda ise bu maddelerin düşük konsantrasyonlarda olumsuz bir etki gösterdiği belirtilmiştir (Behrouzian vd. 2013; Capitani vd. 2016).

Protein safsızlıklarının varlığı BTM'lerin viskozimetrik ve reolojik özelliklerini etkilemektedir. Protein safsızlıklarının uzaklaştırılması BTM'lerin kalınlaştırıcı ve jel oluşturma kapasitelerini önemli ölçüde geliştirmektedir. Safsızlıkların giderilmesi musilaj çözünürlüğünü artırır, yan zincir gruplarının yapısal olarak engellenen moleküller arası etkileşimini ortadan kaldırır ve daha yüksek viskozimetrik etkilere ve mekanik deformasyonu sürdüren düzenli biyopolimer ağlarını oluşturulmasına yol açar (Razmkhah vd. 2016a; Razmkhah vd. 2016b).

Polimerlerdeki hidrofobik ve hidrofilik yan zincir gruplarının varlığı yüzey aktif özellik kazandırmaktadır. Bu yüzden hidrokolloidler güçlü yüzey aktif maddeler olarak kabul edilmezler (Tabasi vd. 2017).

Molekül ağırlığı, protein oranı, zincir esnekliği ve üronik asit varlığı BTM arayüzey aktivitesini etkileyen önemli parametrelerdir (Tabasi vd. 2017). Müsilağların düşük konsantrasyonlarda stabilize etme etkisi ise amfilik karakteri ile ilişkilidir ve protein safsızlıklarının varlığı yağ-su arayüzeyinde adsorpsiyonu artırır. Bazı çalışmalar, protein parçalarının elimine edilmesinin yüzey geriliminde önemli düzeyde artışa sebep olarak yüzey aktif olmayan gamlara

kıyasla daha düşük emülsifiye edici kapasiteye yol açtığını göstermiştir (Soukoulis, 2017).

Bitki tohumlarından ve bitkinin diğer bölümlerinden elde edilen musilağlar şeker ve üronik asit birimlerinden oluşan kompleks polisakaritler olup endüstride ise kalınlaştırıcı, emülsifiye edici, jelleştirici, bağlayıcı gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Bununla birlikte eczacılık alanında geniş çapta kullanılmakta olup medikal kullanımının da olduğu bilinmektedir (Hassan vd. 2015). Son zamanlarda BTM'lerin ticari hidrokolloidlerle sinerjistik etkisinden yararlanılarak gıda endüstrisindeki uygulamalarında artış meydana gelmiştir (Staffolo vd. 2017).

Tere musilağı kullanılarak üretilen yoğurtta, depolama boyunca fermentasyon süresinde, pH değerinde ve proteoliz enzimleri üzerinde önemli ölçüde değişiklik olmadığı saptanmıştır. Yoğurt kalite parametreleri ile pozitif bir ilişki gösteren tere musilağı serum proteinlerinin ayrılmasını azaltmış ve yoğurt viskozitesini arttırmıştır. Bununla birlikte depolama süresine bağlı olarak uçucu bileşenlerde (asetaldehit ve diasetil) düşüş görülmüştür (Hassan vd. 2015).

Fesleğen tohumu musilağı karboksimetilselüloz ve guar gam gibi ticari hidrokolloidlere kıyasla dondurma örneklerinde rekristalizasyonu azaltmış ve kristal büyüklüğünü önemli ölçüde etkilememiştir. Fesleğen tohumu musilağı kristal büyüme hızını %30-40 arasında azaltmış ve partikül büyüklüğünü arttırmıştır (BahramParvar vd. 2013). Fesleğen tohum gamı düşük yağ içerikli dondurmalarda istenilen reolojik özellikleri kazandırmıştır. Bununla beraber erime hızı düşerken yağ ikamesi kullanılan örneklerde erime süresi ve ilk damlama sürelerinde artış görülmüştür (Javidi vd. 2016). BTM önemli ölçüde arayüzey aktivitesi gösterebilmekte olup sütte yağ-su ve hava-su arayüzeylerini stabilize etmektedir. Ayrıca çiya ve fesleğen musilağlarının serum viskozitesini artırarak dondurmada stabilizasyonu sağladığı belirtilmiştir (Yadav vd. 2016).

Arzu edilen tekstürü oluşturmaları ve raf ömrünü uzatmaları sebebiyle hidrokolloidlerin fırıncılık

ürünlerinde kullanımları da karşımıza çıkmaktadır (Kohajdova vd. 2009). Glutensiz ürünler gibi yeniden formüle edilen ürünlerde yapıyı iyileştirmek ve bayatlamayı geciktirmek amacıyla kullanılmaktadır (Smith vd. 2004). Musilajların hidrojel oluşturma yeteneği pişirme esnasında ürün içerisinden kabuk kısmına doğru su buharı geçişini kontrol etmekte ve bu sayede son ürünlerdeki ağırlık ve hacim kaybı en aza indirilmektedir (Fernandes vd. 2017). Keklerde shortening ve yumurta yerine %25 ve %75 oranında kullanılan çiya tohumu hidrojel doymuş yağ, kolesterol ve kalori alımının önemli ölçüde azalmasını sağlamıştır. Ayrıca keklerin spesifik hacmi, nem içeriği ve yapısal özelliklerinin korunmasını sağlamasına rağmen musilaj kullanımı organoleptik özellikleri önemli derecede değiştirerek tüketici tercihini olumsuz yönde etkileyeceğinden yağ miktarının azaltıldığı formülasyonlarda kısmen kullanılabilir (Soukulis vd. 2018). Çiya tohumu ile zenginleştirilen pita ekmeğinde, ekmeğin glisemik indeksi yüksek miktarda nişasta jelatinizasyonundan dolayı artış göstermiş ve kabuk kısmında düşük jelatinizasyon derecesinden dolayı musilaj ilavesi glisemik indeksin azalmasına sebep olmuştur (Salgado-Cruz vd. 2017). Son zamanlarda, glutensiz ürünlere yapı kazandırmak amacıyla hamur ve kabartma geliştirici olarak BTM kullanımı artış göstermiştir. Korus ve ark. (2015), yaptığı bir çalışmada %1,2 ile 2,4 oranlarında keten tohumu müsilağının, pektin ve guar gam gibi ticari hidrokolloidler ile benzer şekilde glutensiz ekmeğin duyu kalitesini arttırmak ve hamurun viskoelastik, fiziksel ve mekanik özelliklerini korumak için kullanılabileceği ifade edilmiştir. Guar gam ve pektinin yerine keten tohumu müsilağının kullanılması ekmeğin duyu kalitesini arttırmış, tekstür ve bayatlama üzerinde ise sınırlı etki göstermiştir. Ayrıca, keten tohumu ilavesi nişasta retrogradasyonuna bağlı olarak ekmeğin termo fiziksel yapısını değiştirmemiştir. Glutensiz makarnaya çiya tohum müsilağı ilavesi ile son ürünün pişirme kalitesinde gelişme görülmemiş makarnanın çözünür çözünmeyen lif, fenolik bileşikler ve protein içeriğinin artması ile besinsel profilinde iyileşme gerçekleşmiştir (Menga, 2017). Çiya tohumu ilavesi ile üretilen

galetelerin kimyasal ve fiziksel bazı özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, çiya tohumu ilavesinin toplam ağırlık kaybına etkisi gözlenmezken çiya tohumunun oranı arttıkça ağırlık kaybında nispeten de olsa artış olduğu görülmüştür (Özgören, 2018). Çiya müsilağı ile hazırlanan ekmeğin ve çikolatalı keklerde, müsilağın farklı oranlarda yağ ikame edicisi olarak kullanılmış ve %50 oranında yağ ikamesi olarak kullanılan örneklerde ürünün fiziksel ve teknolojik özelliklerinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum çiya müsilağının gıda endüstrisinde yağ ikamesi alternatifi olarak kullanılabileceği şeklinde ifade edilmiştir. Bununla birlikte kek üretiminde %75 ve üzeri oranlarda kullanılan müsilağın kek hacmini azaltmıştır (Fernandes vd. 2017). Püskürtülerek kurutulmuş probiyotik bakteriler (*L. acidophilus*, *L. plantarum* and *B. infantis*) içeren maltodekstrin/protein tozuna, keten ya da çiya müsilağının katılması hücrelerin biyolojik aktivitelerini dehidrasyon boyunca korumuştur (Soukulis vd. 2018). Psyllium müsilağının *L. plantarum* hücrelerini immobilize etme potansiyeli, patates nişastası ve inülinle kıyaslandığında sert gastrointestinal sıvılara maruz kalma sonucu ortaya çıkan hücre zararını etkili biçimde engellediği görülmüştür. Çözücü ile yer değiştirme metodu ile oluşturulan çiya müsilağı nanopartikülleri yağ enkapsülasyonunda kullanılmış olup nanopartiküller lipit damlacıklarının instabilitesini arttırmış ve mono ve poli-doymamış yağ asitlerinin oksidatif bozunmasına karşı somut bir fiziksel bariyer sağlamıştır (Peredo vd. 2016). Çiya tohumu yağının çiya müsilağı ile enkapsülasyonu sonucunda, depolama süresince fiziksel ve termal stabilite korunmuştur. Hızlandırılmış koşullardaki 28 günlük depolama süresince yağın oksidatif stabilitesinin korunması çiya müsilağının biyoaktif yağların enkapsülasyonunda başarıyla kullanılabileceğini göstermiştir (de Campo vd. 2017). BTM birçok yağ/su ya da su/yağ emülsiyonunda stabilizasyon sağlamak, yapı oluşturmak ya da tekstür sağlamak için kullanılmaktadır. Çiya müsilağı sürekli su fazında disperse olan miktarına bağlı olarak yağ/su emülsiyonlarını stabilize edici etki göstermiştir. Yağ damlacıklarının boyutunda meydana gelen artışa rağmen müsilağın konsantrasyonunun artması,

damlacıkların biraraya gelmesini ve yerçekimsel ayrılmayı inhibe etmiştir (Capitani vd. 2016). Çiya müsilağının yağ-su arayüzeyini stabilize etme yeteneğinin çiya müsilağının kompozisyonel ve mikroyapısal çeşitliliğine katkı sağlayan, yağ su arayüzeyinin çevresinde heterojen viskoelastik yapıların oluşumuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Avila-de la Rosa, 2015). Tek başına ya da jelatin ile karışım halinde fesleğen tohum müsilağının protein miyofibriller jelinin pişirme kalitesi ve viskoelastik özelliklerini üzerine etkisi araştırılmıştır. Musilaj ile jelatin arasındaki sinerjistik etkinin pişirme randımanını, jel gücünü ve yapı yoğunluğunu arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca, su salınımını azalttığı görülmüş olup protein-jelatin-fesleğen gamı interaksiyonuna sebep olan kovalent bağlanmanın budurumun sebebi olduğu düşünülmektedir (Lee vd. 2017). Yüksek miktarda nişasta (%8-30), gam (%11-44) ve müsilağ maddesi (%6-61) içeren sahlep ilavesi

ile üretilen sucukların sertlik değerinin arttığı ancak diğer tekstürel parametreler üzerinde herhangi bir etkinin söz konusu olmadığı belirtilmiştir (Gök vd. 2018). Çiya tohumunun jelleşme özelliklerinin modifiye pektin türlerine çok yakın olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, ticari reçeller veya soslarda pektin yerine çiya tohumunun kullanılabilirliğini göstermektedir. Reolojik parametreler, şekersiz çiya tohumu ilaveli marmelatın kayma incelme özelliği taşıdığını göstermiştir. Çiya tohumu ilavesinin viskoziteyi artırdığı tespit edilmiştir (Özbek vd. 2019). Balangu tohum müsilağlarından yenilebilir film üretimi üzerine yapılan bir çalışmada ise; balangu müsilağının sergilediği mekanik, su buharı ve oksijen geçirgenliği özelliklerinin ambalajlama uygulamaları için potansiyel bir aday olduğu gösterilmiştir (Sadeghi-Varkani vd. 2018). Farklı tohum müsilağlarının kullanıldığı ürünler ve son ürünlerdeki değişimler Çizelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Farklı tohum müsilağlarının son ürün özelliklerine etkisi

Ürün	Musilaj Tipi	Kullanım Amacı	Sonuç	Kaynak
Dondurma	Çiya tohum müsilağı	Stabilizatör Köpük oluşturuçu	Eriye direncinde artma Tat, tekstür ve genel kabul edilebilirlik üzerine olumsuz etki	Campos vd. (2016)
Portakal suyu	Çiya tohum müsilağı	Kaplama materyali	Yüksek L ve düşük a* değeri Uygun biyoerişilebilirlik düzeyi	Stefani vd. (2019)
Bologna sosisi	Çiya tohum müsilağı	Yağ ikamesi	Benzer iştah ve tokluk hissi	Camara vd. (2020)
Yenilebilir film	Çiya tohum müsilağı	Film oluşturuçu	Yüksek su çözünürlüğü, termal direnç, şeffaflık Plastikleştirici içeriğine bağlı olarak kabul edilebilir gerilme kuvveti, esneklik ve uzayabilirlik	Dick vd. (2015)
Pound kek	Çiya tohum müsilağı	Yağ ikamesi	Spesifik hacim ve ekmek içi sertliğinde artma Ekmek içi L* değerinde azalma	Felisberto vd. (2015)
Sütlü tatlı	Ayva tohum müsilağı	Kaplama materyali	<i>L. rhamnosus</i> için bağırsak-mide koşullarında artan dayanıklılık Sertlik, çiğnenebilirlik, yapışkanlık değerlerinde artış	Dokoohaki vd. (2019)
Yenilebilir film	Ayva tohum müsilağı	Film oluşturuçu	İyi antioksidan ve antibakteriyel kapasite Kabul edilebilir mekanik ve bariyer özellikler	Jouki vd. (2013)
Yoğurt	Keten tohumu müsilağı	Stabilizatör	Azalan yapışkanlık Gelişmiş tekstür, azalan su salınımı Düşük genel kabul edilebilirlik	Basiri vd. (2018)
Noodle	Keten tohumu müsilağı	Fonksiyonel bileşik	Pişme kaybında artma Sertlik ve çekme direncinde azalma	Zhu ve Li (2019)

SONUÇ

Bitki kökenli hidrokolloidler hayvansal hidrokolloidlere alternatif olarak ortaya çıkmış ve son zamanlarda bu konudaki araştırmalar artmıştır. Musilajların kalınlaştırma, jel oluşturma ve emülsifiye etme gibi yapı üzerinde teknolojik etkileri olup diyet lifi olması açısından da fonksiyonel özellik göstermektedir. Musilaj ekstraksiyon koşulları, bahsedilen özellikler üzerinde önemli bir faktördür. Musilajların gıda uygulamaları ile ilgili çalışmalar hız kazanmakta olup mevcut ticari hidrokolloidler ile rekabet edebilecek düzeyde olumlu etkiler gösterebilmektedir. Ancak yapıdaki protein grupları gibi bazı safsızlıklar teknolojik özellikleri olumsuz şekilde etkileyebilmektedir. Musilajların ekstraksiyon sonrası saflaştırılmaları ile ilgili çalışmaların gerçekleştirilmesinin bu noktadaki problemleri çözeceği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin kaynak tarama, yazma, düzenleme aşamalarında katkıda bulunmuşlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Abdurrahmanoğlu, E. T. (2017). Yetişkinlerde Tam Tahıl Yeme İsteği, Diyet Lifi Bilgi Düzeyi ve Tam Tahıl Tüketimi İle Depresyon Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 150 s.

Avila-de la Rosa, G., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J., Carrillo-Navas, H., Pérez-Alonso, C. (2015). Viscoelasticity of chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage dispersion in the vicinity of an oil-water interface. *Food Hydrocoll*, 49: 200–207, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.017>.

BahramParvar, M., Tehrani, M.M., Razavi, S.M.A. (2013). Effects of a novel stabilizer blend and presence of κ -carrageenan on some properties of

vanilla ice cream during storage. *Food Biosci*, 3: 10–18, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.05.001>.

Basiri, S., Haidary, N., Shekarforoush, S.S., Niakousari, M. (2018). Flaxseed mucilage: A natural stabilizer in stirred yogurt. *Carbohydr Polym*, 187: 59–65, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.049>.

Behrouzian, F., Razavi, S.M.A., Karazhiyan, H. (2013). The effect of pH, salts and sugars on the rheological properties of cress seed (*Lepidium sativum*) gum. *Int J Food Sci Tech*, 48(12): 2506–2513, <https://doi.org/10.1111/ijfs.12242>.

Bemiller, J.N. (2011). Pasting, paste, and gel properties of starch-hydrocolloid combinations. *Carbohydr Polym*, 86(2): 386–423, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.064>.

Câmara, A.K.F.I., Geraldi, M.V., Okuro, P.K., Maróstica, M.R., Da Cunha, R.L., Pollonio, M.A.R. (2020). Satiety and in vitro digestibility of low saturated fat Bologna sausages added of chia mucilage powder and chia mucilage-based emulsion gel. *J Funct Foods*, 65: 103753, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103753>.

Campos, B.E., Dias Ruivo, T., Da Silva Scapim, M.R., Madrona, G.S., De C. Bergamasco, R. (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *Lwt-Food Sci Technol*, 65: 874–883, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.021>.

Capitani, M.I., Nolasco, S.M., Tomás, M.C. (2016). Stability of oil-in-water (O/W) emulsions with chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. *Food Hydrocoll*, 61: 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.008>.

Chen, H.H., Xu, S.Y., Wang, Z. (2006). Gelation properties of flaxseed gum. *J. Food Eng*, 77(2): 295–303, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.033>.

Chiang, C. F., Lai, L. S. (2019). Effect of enzyme-assisted extraction on the physicochemical properties of mucilage from the fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook. *Int J Biol Macromol*, 124: 346–353, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.181>.

- Da Silva Stefani, F., De Campo, C., Paese, K., Stanisçuaski Guterres, S., Haas Costa, T.M., Hickmann Flôres, S. (2019). Nanoencapsulation of linseed oil with chia mucilage as structuring material: Characterization, stability and enrichment of orange juice. *Food Res Int*, 120: 872–879, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.052>.
- De Campo, C., Dos Santos, P.P., Costa, T.M.H., Paese, K., Guterres, S.S., Rios, A. De O., Flôres, S.H. (2017). Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. *Food Chem*, 234: 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.153>.
- Dello Staffolo, M., Sato, A.C.K., Cunha, R.L. (2017). Utilization of Plant Dietary Fibers to Reinforce Low-Calorie Dairy Dessert Structure. *Food Bioproc Tech*, 10(5): 914–925, <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1872-9>.
- Dick, M., Costa, T.M.H., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A.D.O., Flôres, S.H. (2015). Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydr Polym*, 130: 198–205, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.040>.
- Dokoohaki, Z.N., Sekhavatizadeh, S.S., Hosseinzadeh, S. (2019). Dairy dessert containing microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103) with quince seed mucilage as a coating material. *Lwt*, 115: 108429, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108429>.
- Fabre, J.F., Lacroux, E., Gravé, G., Mouloungui, Z. (2020). Extraction of camelina mucilage with ultrasound and high flow rate fluid circulation. *Ind Crop Prod*, 144: 112057, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112057>.
- Felisberto, M.H.F., Wahanik, A.L., Gomes-Ruffi, C.R., Clerici, M.T.P.S., Chang, Y.K., Steel, C.J. (2015). Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. *Lwt-Food Sci Technol*, 63(2): 1049-1055.
- Felkai-Haddache, L., Dahmoune, F., Remini, H., Lefsih, K., Mouni, L., Madani, K. (2016). Microwave optimization of mucilage extraction from *Opuntia ficus indica* Cladodes. *Int J Biol Macromol*, 84: 24–30, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.090>.
- Fernandes, S.S., Salas-Mellado, M. De Las M. (2017). Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chem*, 227: 237–244, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.075>.
- Gheribi, R., Gharbi, M.A., El Ouni, M., Khwaldia, K. (2019). Enhancement of the physical, mechanical and thermal properties of cactus mucilage films by blending with polyvinyl alcohol. *Food Packag Shelf Life*, 22: 100386, <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100386>.
- Gök, İ., Kılıç, B., Özer, C.O. (2018). Salep Kullanımının Fermente Türk Sucuğu Kalite Parametreleri. *Türk tarım gıda bilim teknoloj derg*, 6(2): 219–225, <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i2.219-225.1593>.
- Han, Y.L., Gao, J., Yin, Y.Y., Jin, Z.Y., Xu, X.M., Chen, H.Q. (2016). Extraction optimization by response surface methodology of mucilage polysaccharide from the peel of *Opuntia dillenii* haw. fruits and their physicochemical properties. *Carbohydr Poly*, 151: 381–391, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.085>.
- Hassan, L.K., Haggag, H.F., ElKalyoubi, M.H., Abd EL-Aziz, M., El-Sayed, M.M., Sayed, A. F. (2015). Physico-chemical properties of yoghurt containing cress seed mucilage or guar gum. *Ann Agric Sci*, 60(1): 21–28, <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.11.021>.
- Hung, P.Y., Lai, L.S. (2019). Structural characterization and rheological properties of the water extracted mucilage of *Basella alba* and the starch/aqueous mucilage blends. *Food Hydrocoll*, 93, 413–421, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.037>.
- Jani, G.K., Shah, D.P., Prajapati, V.D., Jain, V.C. (2009). Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. *Asian J Pharm Sci*, 4(5): 308–322.
- Javidi, F., Razavi, S.M.A., Behrouzian, F., Alghooneh, A. (2016). The influence of basil seed gum, guar gum and their blend on the rheological,

- physical and sensory properties of low fat ice cream. *Food Hydrocoll*, 52: 625–633, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.006>.
- Jouki, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S.A., Koocheki, A. (2013). Physical, barrier and antioxidant properties of a novel plasticized edible film from quince seed mucilage. *Int J Biol Macromol*, 62: 500–507, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.031>.
- Kohajdová, Z., Karovičová, J. (2009). Application of hydrocolloids as baking improvers. *Chem Pap*, 63(1): 26–38, <https://doi.org/10.2478/s11696-008-0085-0>.
- Korus, J., Witeczak, T., Ziobro, R., Juszczak, L. (2015). Linseed (*Linum usitatissimum* L.) mucilage as a novel structure forming agent in gluten-free bread. *Lwt-Food Sci Technol*, 62(1): 257–264, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.040>.
- Lee, C. H., Chin, K.B. (2017). Development of low-fat sausages using basil seed gum (*Ocimum bacilicum* L.) and gelatin as a fat replacer. *Int J Food Sci Tech*, 52(3): 733–740, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13328>.
- Menga, V., Amato, M., Phillips, T.D., Angelino, D., Morreale, F., Fares, C. (2017). Gluten-free pasta incorporating chia (*Salvia hispanica* L.) as thickening agent: An approach to naturally improve the nutritional profile and the in vitro carbohydrate digestibility. *Food Chem*, 221: 1954–1961, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.151>.
- Mohammadifar, M.A., Musavi, S.M., Kiumarsi, A., Williams, P.A. (2006). Solution properties of targacanthin (water-soluble part of gum tragacanth exudate from *Astragalus gossypinus*). *Int J Biol Macromol*, 38(1): 31–39, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.12.015>.
- Naji-Tabasi, S., Razavi, S.M.A. (2017). Functional properties and applications of basil seed gum: An overview. *Food Hydrocoll*, 73: 313–325, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.007>.
- Nazir, S., Wani, I.A., Masoodi, F.A. (2017). Extraction optimization of mucilage from Basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds using response surface methodology. *J Adv Res*, 8(3): 235–244, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.003>.
- Öncü Glaue, Ş. (2018). Bamyas Müsilajının Termoreolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 137 s.
- Özbek, T., Sahin-Yesilcubuk, N., Demirel, B. (2019). Quality and Nutritional Value of Functional Strawberry Marmalade Enriched with Chia Seed (*Salvia hispanica* L.). *J Food Qual*, 2019: <https://doi.org/10.1155/2019/2391931>.
- Özgören, E., Kaplan, H.B., Tüfekçi, S. (2018). Some Chemical and Physical Properties of Breadsticks Produced By Using Chia Seed. *Food and Health*, 4(2): 140–146, <https://doi.org/10.3153/fh18014>.
- Peredo, A.G., Beristain, C.I., Pascual, L.A., Azuara, E., Jimenez, M. (2016). The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. *Lwt-Food Sci Technol*, 73: 191–196, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.021>.
- Pereira, G.A., Silva, E.K., Peixoto Araujo, N.M., Arruda, H.S., Meireles, M.A.A., Pastore, G.M. (2019). Obtaining a novel mucilage from mutamba seeds exploring different high-intensity ultrasound process conditions. *Ultrason Sonochem*, 55: 332–340, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.01.010>.
- Qian, K.Y., Cui, S.W., Wu, Y., Goff, H.D. (2012). Flaxseed gum from flaxseed hulls: Extraction, fractionation, and characterization. *Food Hydrocoll*, 28(2): 275–283, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.12.019>.
- Razmkhah, S., Razavi, S.M.A., Mohammadifar, M.A., Ale, M.T., Gavlighi, H.A. (2016a). Protein-free cress seed (*Lepidium sativum*) gum: Physicochemical characterization and rheological properties. *Carbohydr Polym*, 153: 14–24, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.086>.
- Razmkhah, S., Razavi, S.M.A., Mohammadifar, M.A. (2016b). Purification of cress seed (*Lepidium sativum*) gum: A comprehensive rheological study. *Food Hydrocoll*, 61: 358–

- 368, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.035>.
- Sadeghi-Varkani, A., Emam-Djomeh, Z., Askari, G. (2018). Physicochemical and microstructural properties of a novel edible film synthesized from Balangu seed mucilage. *Int J Bio Macromol*, 108: 1110–1119, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.029>.
- Saha, D., Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Int J Food Sci Nutr*, 47(6): 587–597, <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>.
- Salgado-Cruz, M. De La P., Ramírez-Miranda, M., Díaz-Ramírez, M., Alamilla-Beltrán, L., Calderón-Domínguez, G. (2017). Microstructural characterisation and glycemic index evaluation of pita bread enriched with chia mucilage. *Food Hydrocoll*, 69: 141–149, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.027>.
- Silva, S.H., Neves, I.C.O., Oliveira, N.L., De Oliveira, A.C.F., Lago, A.M.T., De Oliveira Giarola, T.M., De Resende, J.V. (2019). Extraction processes and characterization of the mucilage obtained from green fruits of *Pereskia aculeata* Miller. *Ind Crop Prod*, 140: 111716, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111716>.
- Smith, J.P., Daifas, D.P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., El-Khoury, A. (2004). Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products - A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 44(1): 19–55, <https://doi.org/10.1080/10408690490263774>.
- Soukoulis, C., Gaiani, C., Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Curr Opin Food Sci*, 22: 28–42, <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.004>.
- Wu, Y., Cui, W., Eskin, N.A.M., Goff, H.D. (2009). Fractionation and partial characterization of non-pectic polysaccharides from yellow mustard mucilage. *Food Hydrocoll*, 23(6): 1535–1541, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.10.010>.
- Yadav, N., Sharma, V., Kapila, S., Malik, R.K., Arora, S. (2016). Hypocholesterolaemic and prebiotic effect of partially hydrolysed psyllium husk supplemented yoghurt. *J Funct Foods*, 24: 351–358, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.028>.
- Yu, L., Yakubov, G.E., Zeng, W., Xing, X., Stenson, J., Bulone, V., Stokes, J.R. (2017). Multi-layer mucilage of *Plantago ovata* seeds: Rheological differences arise from variations in arabinoxylan side chains. *Carbohydr Poly*, 165: 132–141, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.038>.
- Zhu, F., Li, J. (2019). Physicochemical and sensory properties of fresh noodles fortified with ground linseed (*Linum usitatissimum*). *Lwt*, 101: 847–853, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.003>.



DETERMINATION OF THE BEST DRYING CONDITIONS FOR GELATIN BASED CANDIES

Pelin Pocan, Damla Kaya, Behic Mert, Mecit H. Oztop*

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

Received / Geliş: 06.08.2020; Accepted / Kabul: 08.10.2020; Published online / Online baskı: 08.02.2021

Pocan, P., Kaya, D., Mert, B., Oztop, M.H. (2021). Determination of the best drying conditions for gelatin based candies. GIDA (2021) 46(2) 279-295 doi: 10.15237/gida.GD20093.

Pocan, P., Kaya, D., Mert, B., Oztop, M.H. (2021). Jelatin bazlı yumuşak şekerlerin kurutma koşullarının optimizasyonu. GIDA (2021) 46(2) 279-295 doi: 10.15237/gida.GD20093.

ABSTRACT

In this study, objective was to determine the best drying and conditioning times for achieving the desired quality for jelly candies of different weights. Drying time (also known as *Storing time*) (12, 16, 20, 24 h) in oven, conditioning time (WIP time) (0, 24, 48, 72 h), unit weight of the candies (2.5 g, 3 g, 6 g) were the variable parameters investigated. TPA, moisture content, water activity, TSSC, TD-NMR Relaxometry experiments were performed. Optimum drying time was found as 20 h for 2.5 g and 24 h for both 3 g and 6 g. Following drying, the best conditioning time with respect to unit weight was determined as 72 h for 2.5 g and 48 h for 3 g and 6 g candies. The results of the study suggested that, to achieve and keep the desired quality parameters during shelf life, each unit weight candy should be processed separately.

Keywords: Gelatin based soft candy; texture; moisture; drying; conditioning; time domain NMR relaxometry

JELATİN BAZLI YUMUŞAK ŞEKERLERİN KURUTMA KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

ÖZ

Bu çalışmada amaç, farklı ağırlıklardaki jelatin bazlı şekerlerde istenen kaliteyi elde etmek için optimum kurutma ve tavlama sürelerini belirlemektir. Fırında kuruma süresi (*Fırınlama süresi*) (12, 16, 20, 24 saat), tavlama süresi (WIP zamanı) (0, 24, 48, 72 saat), şekerlerin birim ağırlığı (2.5 g, 3 g, 6 g) incelenen değişken parametrelerdir. Şekerlerin karakterizasyonu için Tekstür Profil Analizi, nem içeriği, su aktivitesi, toplam çözünür katı içerik ve NMR Relaksometre deneyleri yapılmıştır. En iyi kuruma süresi 2.5 g için 20 saat, 3 g ve 6 g için 24 saat olarak bulunmuştur. Kurutmadan sonra, birim ağırlığa göre en iyi tavlama süresi, 2.5 g için 72 saat, 3 g ve 6 g şekerlemeler için ise 48 saat olarak belirlenmiştir. NMR relaksasyon süreleri olarak tanımlanan T₁ ve T₂ fiziksel parametrelerle ilişkili bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları, raf ömrü boyunca istenen kalite parametrelerini elde etmek ve korumak için, farklı birim ağırlıkta olan şekerlemelerin ayrı olarak işlenmesi gerektiğini önermiştir.

Anahtar kelimeler: Jelatin bazlı yumuşak şeker, tekstür, nem, kurutma, tavlama, zamansal alanlı NMR relaksometre

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: mecit@metu.edu.tr,

☎:(+90) 312 210 5634

☎:(+90) 312 210 2767

Pelin Pocan; ORCID no: 0000-0002-1302-9035

Damla Kaya; ORCID no: 0000-0002-7952-2762

Behic Mert; ORCID no: 0000-0001-8450-8810

Mecit H. Oztop; ORCID no: 0000-0001-6414-8942

INTRODUCTION

Jellies, pastilles and gums belong to the same classification in confectionary products and have a moisture content around 20% (Lees and Jackson 2012). Jelly candies are composed of gelling agents such as gelatin, pectin, starch or gum arabic. Sucrose and glucose syrup are used as the main components and as the additional ingredients; jelly candies also include food acids, flavouring and colouring agents (Burey et al. 2009).

Textural properties of soft candies are affected from the type of the gelling agent significantly (Ergun et al. 2010a). To make jellies, sugar, glucose syrup and gelling agent are dissolved in water and then the mixture is boiled. After boiling, concentrated mixture (slurry) is deposited, dried, coated and packaged (Edwards 2000). Especially, jelly candies are deposited in starch molds that helps the candy to lose its moisture and creates a skin on the surface of candy. Formation of the skin prevents deformation of the candy when removed from starch mold (Ergun et al., 2010; Edwards, 2000). After depositing, the filled trays are taken to an oven. Time that products are kept in the oven is called as *stoving time*. After stoving cycle, samples could be kept in *Work In Progress (WIP)* area before packaging for the improvement in their textural properties. This waiting time is also called as *conditioning time*. Actually, drying parameters (stoving time, temperature and Relative humidity) can change depending on the selected gelling agent (pectin, starch, gelatin etc.). Drying time on the oven changes from 24 h to 72 h depending on the type and size of the candy, type of the gelling agent and the desired moisture content (Ergun et al. 2010a). Stoving time and the temperature for gelatin-based candies should be lower than the starch based or pectin-based jelly candies to prevent gelatin browning and let gelatin-based candies obtain the desired textural properties faster. Also, the rate of drying affects the texture of the candy directly (Edwards 2000). Rate of drying has also a direct effect on the skin formation on the soft gels. When the skin forms very fast, the surface of the candy becomes too hard.

During drying in the oven, moisture migration, occurs between starch - candy and air. Firstly, moisture migration occurs from candy into the starch bed. After that, moisture migrates from the candy into the air. Finally, moisture migration occurs from starch bed into the air depending on the % RH of the air (Troutman et al. 2001).

Dehydration is a crucial parameter in texture profile of the candy. The highest dehydration rate of candy usually occurs at the beginning of the drying in starch mold. As stated above, water inside a candy is transferred to the outside and consequently increases the solid content (Delgado and Bañón 2015). Mostly, jelly candies' water activity changes between 0.5 and 0.7 and the final product should achieve at least 75% total soluble solids to prevent mold growth (Ergun et al. 2010a).

Time domain NMR Relaxometry is a valuable tool to get information about the dehydration behaviours of soft candies. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) is a non-destructive characterization technique and can be used to determine food quality (Kirtil et al. 2017). Troutman et al. (2011) used NMR relaxation times to observe the effect of environmental factors on drying and moisture migration. Since foods are good examples to the chemically and structurally heterogeneous systems, various contributions to the NMR signal is possible due to the changes in molecular mobility (Kirtil et al. 2017). These changes in NMR signal could be explained with two main variables: longitudinal (T_1) and transverse (T_2) relaxation times (Kirtil et al. 2017). These time constants are used to characterize the mobility of protons and variations of conformations within the biopolymer (Ozel et al. 2017a).

From the previous studies, it was known that T_1 (spin-lattice relaxation time) highly relied on the mobility of protons which came from the water component of the gel matrices (Pocan et al. 2019a). In that regard, T_1 relaxation time could be considered as a valuable tool to detect the moisture distribution on food samples (Pocan et

al. 2019a). Longitudinal relaxation time (T_1) was utilized in many studies for the analysis of food systems such as effect of microwave heating on starch-water interactions (Ozel et al. 2017b), impact of pectin methyl esterase and CaCl_2 infusion on mangoes (Kirtil et al. 2014), effect of D-Allulose (formerly known as D- Psicose) addition on gelatin based soft candies (Pocan et al. 2019a) and moisture migration in soft-panned confections during aging (Troutman et al. 2001).

T_2 (spin-lattice) relaxation time is also an important parameter to deduce water content, interaction of water with surrounding molecules and physical properties of water (Kirtil et al. 2014). Both multi-exponential and mono-exponential approaches could be utilized to interpret the transverse (T_2) relaxation times (Pocan et al. 2019a). T_2 relaxation time of food products having a multi-compartmental nature such as gluten free cakes (Yildiz et al. 2018), thawed and frozen mangoes (Kirtil et al. 2014) and gelatin based soft candies (Pocan et al. 2019a) were analysed with the help of multi-exponential approach while emulsion stabilization properties of some gums like gum tragacanth (Pocan et al. 2019b) and characterization of capsaicin emulsions (Akbas et al. 2016) were explored with the help of T_2 relaxation times that were expressed as mono-exponential.

In this study, the objective is to determine the best stoving and conditioning times (WIP) for achieving the desired quality for soft candies of different weights. Moisture content, water activity, total soluble solid content, hardness and NMR Relaxometry experiments were performed for samples stored at different stoving and conditioning times.

MATERIALS AND METHODS

Materials

In soft candy production; sucrose (Kayseri Şeker, Kayseri, Turkey), glucose syrup (Cargill, Bursa, Turkey) (DE: 42), gelatin (Halavet Gıda, İstanbul, Turkey) (Bloom index: 240), coloring and flavoring agents (International Flavors & Fragrances (IFF), Kocaeli, Turkey), citric acid monohydrate (Yılmaz Kimya, İstanbul, Turkey) were used as the ingredients.

Methods

Gelatin Based Soft Candy Production

Firstly, gelatin (240 bloom) solution was prepared around 65 °C in the gelatin preparation tank. In weighing tank, gelatin solution, glucose syrup and sucrose were mixed while heating to dissolve sugar crystals. After, slurry (mixed solution) was cooked at approximately 100 °C, it was fed into vacuum chamber to adjust the solid content, remove air bubbles and eliminate the excess water. Solid content was around 75 to 80 %. Flavor, acid and coloring agent were added into the slurry immediately prior to molding to minimize time & temperature effect on volatile flavor components and to avoid inversion of the sucrose. Then, the slurry was molded into starch trays. The filled trays were taken to an oven at approximately 30 °C and 45 % RH to condition and gain the desired texture. Time that products were kept in oven is called *stoving time*. When the desired total soluble solid content and texture was attained, drying was completed. Following drying, the trays were inverted to remove the jellies from the molds and were brushed gently to eliminate starch powder. Finally, the jellies were coated with oil using a drum to avoid a sticky surface. After coating, products were transferred to cases and kept on conditioning area before packaging. Conditioning room temperature was around 20 °C and <65 % RH. In jelly candy technology, *conditioning* is termed as WIP (*Work in Process*). In the following sections, *WIP* term is used instead of conditioning. Production flow chart is also given in Fig 1.

In this study, 3 different types of candies having same formulations, raw materials, flavors and pH values were used. The only difference between samples was the unit weight and accordingly surface area. Unit weight levels were 2.5 g, 3 g and 6 g. Surface area of the samples were increasing while increasing unit weight.

Samples molded into starch molds and put into oven for drying process. Effect of four levels of stoving time (12, 16, 20, 24 h) were studied. Moisture content, water activity, total soluble solid content, texture analysis and NMR experiments were performed. After stoving cycle

was completed, samples were transferred to the coating section. In this study, samples that were hold 12 h and 16 h on oven were not coated with oil, only 20 h and 24 h samples were coated. Products that were hold 12 h and 16 h on oven were not found to be proper even from the beginning due to the textural properties of these

candies not being appropriate for the consumer (too sticky and too soft). So, 12 and 16 h products were not coated. In order to analyse the effect of stoving time on the moisture content, total solid content and water activity, non-coated samples were used.

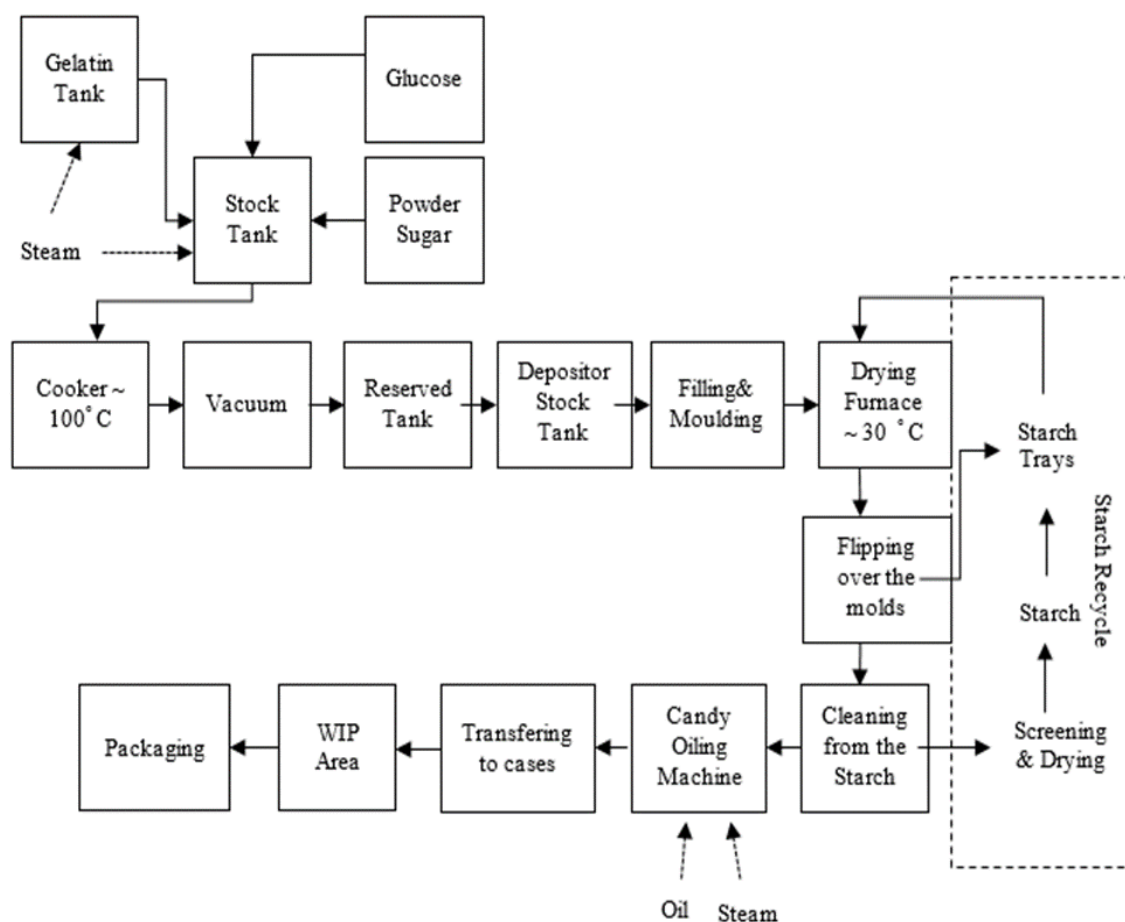


Figure 1. Flow chart of jelly candy production

Following the coating, samples were transferred to the conditioning room for further drying. Conditioning (WIP) time was another factor that was studied. Coated samples that were held 20 and 24 hours in the oven were kept in the conditioning room for 24 h, 48 h and 72 h. The above-mentioned physical measurements were also repeated for these samples. Effect of conditioning time was only studied for the coated samples of which 20 and 24 h stoving cycle was

completed due to the same reasons explained above.

In routine production, stoving and conditioning (WIP) time are same for all different unit weights. Stoving time is 20 h and conditioning takes 72 h or more than 72 h for all gelatin based soft candies (for all different unit weight).

Moisture Analysis – Vacuum Oven Method

Moisture content was determined by the vacuum oven method. 20 g sea sand and glass pieces were put on aluminium dish and dishes were put in oven at 105 °C for 1 hour. Then, the dish was held in a desiccator at room temperature to cool down. One piece of sample was added to the dish and 1-2 ml hot water was then added and mixed into sea sand and glass pieces. This mixture was placed on drying oven at 60 °C for half an hour to evaporate excess water. After that, dishes were put into vacuum oven (DAIHAN, Germany) at 70 ° and at a pressure of > 950 mbar and kept for 18 hours. After 18 hours, dishes were cooled in the desiccator and weighed.

Total Soluble Solids Content

Total soluble solids (expressed as g of total soluble solids contained in 100 g or °Brix) are measured using a refractometer (Atago Co. Ltd. RX- 5000) with an accuracy of 0.01 °Brix. Firstly, the device was adjusted to 30° C and calibrated three times with water.

Texture Analysis

Penetration test measurements were made using Stable Micro Systems (SMS) Texture Analyzer Plus with a 5 kg load cell. The penetration test used for this analysis was performed with a 3mm cylindrical probe which penetrated to 80% of the full depth of a standard unit, and then retracted. Hardness and stickiness values were recorded. Analysis was made at room temperature (25 °C) with minimum 10 replicates.

Water Activity

Gelatin based soft candies' water activity was measured by water activity meter (Novasina, ms1 Set Aw). Small pieces of jellies were put in a chamber and kept until equilibrium. Experiments were conducted at 25 °C as triplicates.

Time Domain NMR Relaxometry (TD-NMR) Experiments

NMR relaxometry experiments were performed by using the parameters that were mentioned in the study Pocan et al. (2019) with some modifications. TD NMR relaxometry experiments were carried out using 0.5 T (20.34

MHz) system (Spin Track, Resonance Systems GmbH, Kirchheim/Teck, Germany). For T_1 measurements, saturation-recovery sequence was used with a 300 ms relaxation period (TR) and 400 ms observation time. For T_2 measurements, the Carr–Purcell–Meiboom–Gill (CPMG) sequence was utilized with parameters of 40 us echo time, 500 echoes, and four scans. T_1 and T_2 measurements were performed for all samples.

The T_1 and T_2 data were analysed as indicated in the study of Pocan et al. (2019). First, mono-exponential fitting was conducted on the relaxation curves using MATLAB. Discrete component analysis was performed using XPFit (Softonics Inc., Israel) to investigate the proton pools and components in CPMG decay curve as mentioned in the study of Efe et al. (2019). For the analysis of T_2 relaxation times, both mono-exponential and bi-exponential approach were utilized. For T_1 relaxation times, only mono-exponential approach was used.

Statistical Analysis

All measurements except texture measurements were conducted with three replicates. Texture measurements were carried out with at least 10 replicates. Data were analysed using Minitab 17 (Minitab Inc., Penn State, USA) at %5 significance level. One-way ANOVA was conducted for the analysis of stoving time on non-coated samples. In order to determine the difference between samples, Tukey's comparison tests were used at %95 confidence interval.

RESULTS AND DISCUSSION**Total Soluble Solid Content**

In these experiments, refractometer was used to investigate % total soluble solid content (TSSC) content. °Brix value is a fast and adequate parameter that is used to understand TSSC in confectionery products (Lees and Jackson, 2012). In gelatin-based candies, total soluble solid content should be between % 75-82 to prevent graining (Lees and Jackson, 2012).

As mentioned before, in this study gelatin-based soft candies of different weights (2.5 g, 3 g and 6 g) were investigated for different stoving and WIP

times. As it is shown in Table 1., 2.5 g non-coated samples that were kept for 24 h in the oven had the highest value ($P < 0.05$). As expected, for these samples with 2.5 g unit weight, TSSC (%) increased significantly as the stoving time

increased. On the contrary, for the other jelly candies with 3 and 6 g unit weights, significant deviations in TSSC (%) were not observed and remained nearly constant as the stoving time increased from 12 to 24 hours ($P > 0.05$).

Table 1. Effect of stoving time on total solid content (%), moisture content (%) and water activity (a_w) of non-coated jelly candies

Stoving Time (h)	Type (g)	Total Solid Content (%)	Moisture Content (%)	Water activity (a_w)
12 h	2.5	78.60 ^c ±0.18	18.76 ^a ±0.13	0.45 ^b ±0.03
16 h	2.5	78.83 ^c ±0.02	18.37 ^{ab} ±0.38	0.53 ^a ±0.01
20 h	2.5	79.49 ^b ±0.00	17.72 ^{bc} ±0.15	0.53 ^a ±0.01
24 h	2.5	82.26 ^a ±0.00	17.55 ^c ±0.11	0.56 ^a ±0.01
12 h	3	78.92 ^a ±0.36	19.17 ^a ±0.05	0.41 ^c ±0.01
16 h	3	79.05 ^a ±0.25	19.04 ^a ±0.06	0.40 ^c ±0.01
20 h	3	79.09 ^a ±0.12	18.96 ^a ±0.02	0.48 ^b ±0.01
24 h	3	79.45 ^a ±0.15	18.64 ^b ±0.14	0.53 ^a ±0.01
12 h	6	78.98 ^a ±0.01	19.79 ^a ±0.09	0.44 ^c ±0.02
16 h	6	79.10 ^a ±0.01	19.49 ^a ±0.11	0.49 ^b ±0.01
20 h	6	78.85 ^a ±0.00	19.34 ^a ±0.22	0.54 ^a ±0.01
24 h	6	79.70 ^a ±0.31	18.46 ^b ±0.07	0.44 ^c ±0.01

*Different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$) for the same unit weight with different stoving

In addition, if the unit weight was examined as the only factor, it was deduced that, TSSC (%) decreased significantly as the unit weight increased from 2.5 g to 3 g ($P < 0.05$) as seen in Table 2. However, detectable changes were not observed as the unit weight increased to 6 g ($P > 0.05$). A similar drying study was performed by Delgado et al. (2015) and they illustrated that TSSC increased from 76.9 °Brix to 77.7 °Brix when drying time increased from 12h to 20 h and

then remained constant. However, they utilized porcine gelatin and starch together as the gelling agent in production of gummy candies. The differences observed in our study might have stemmed from gelling agent that utilized since bovine gelatin was the only gelling agent that used in our study. It is highly probable that; drying behaviour was affected from the type of the gelling agent.

Table 2. Effect of unit weight on Total Solid Content & Moisture Content (%) and Water Activity (a_w) results for non-coated jelly candies

Type (g)	Total Solid Content (%)	Moisture Content (%)	Water activity (a_w)
2.5	79.79 ^a ±0.84	18.10 ^c ±0.31	0.52 ^a ±0.03
3	79.13 ^b ±0.18	19.07 ^b ±0.12	0.45 ^c ±0.03
6	79.16 ^b ±0.31	19.27 ^a ±0.29	0.48 ^b ±0.02

*Different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$) considering the unit weight as the only factor

When the results were examined for the oil coated samples, 2.5 g oil coated candy (Stoving time: 24 h, WIP: 72 h) had the highest total soluble solid content (TSSC %) and 6 g oil coated candy (Stoving time: 20 h, WIP time: 0 h) had the lowest

TSSC (%) as seen in Table 3. TSSC (%) increased and moisture content reduced with drying. So, as expected, increasing stoving and WIP time increased TSSC (%).

Table 3. Effect of WIP and stoving time on the physical and textural properties of oil coated jelly candies

Stoving time (h)	WIP Time (h)	Type (g)	Total Solid Content (%)	Moisture Content (%)	Water activity (a_w)	Hardness (N)	Stickiness (N)
20	0	2.5	79.49 ^d ±0.01	18.74 ^a ±0.08	0.53 ^a ±0.01	560.64 ^{bc} ±10.59	-38.60 ^a ±3.26
20	24	2.5	80.74 ^a ±0.08	18.67 ^a ±0.13	0.60 ^a ±0.01	556.77 ^{bc} ±19.62	-38.30 ^a ±2.93
20	48	2.5	82.32 ^b ±0.03	18.66 ^a ±0.13	0.57 ^a ±0.02	550.80 ^{bc} ±10.18	-37.14 ^a ±1.94
20	72	2.5	82.34 ^b ±0.03	17.05 ^a ±0.10	0.60 ^a ±0.03	516.54 ^c ±15.78	-38.45 ^a ±1.88
24	0	2.5	82.26 ^b ±0.01	18.57 ^a ±0.06	0.56 ^a ±0.01	582.67 ^{ab} ±7.41	-37.18 ^a ±1.32
24	24	2.5	82.29 ^b ±0.02	18.54 ^a ±0.13	0.62 ^a ±0.01	557.88 ^{bc} ±17.63	-36.89 ^a ±2.22
24	48	2.5	82.38 ^b ±0.03	18.53 ^a ±0.08	0.42 ^a ±0.25	563.56 ^{ab} ±14.99	-39.65 ^a ±1.23
24	72	2.5	86.97 ^a ±0.04	18.50 ^a ±0.16	0.58 ^a ±0.01	581.50 ^a ±13.35	-44.45 ^b ±2.58
20	0	3	78.68 ^c ±0.21	19.22 ^a ±0.08	0.45 ^d ±0.01	507.34 ^{bc} ±8.30	-29.56 ^a ±2.90
20	24	3	81.54 ^b ±0.11	19.35 ^a ±0.05	0.59 ^b ±0.01	510.58 ^{abc} ±10.38	-30.96 ^a ±5.21
20	48	3	80.52 ^c ±0.15	19.55 ^a ±0.06	0.60 ^{ab} ±0.02	485.17 ^c ±17.11	-31.98 ^a ±2.17
20	72	3	81.27 ^b ±0.04	19.03 ^{ab} ±0.07	0.63 ^a ±0.01	497.69 ^{bc} ±10.14	-32.97 ^{ab} ±2.78
24	0	3	79.42 ^d ±0.06	19.31 ^a ±0.21	0.53 ^c ±0.01	512.03 ^{bc} ±10.46	-33.04 ^{ab} ±2.92
24	24	3	82.28 ^a ±0.03	18.97 ^{ab} ±0.05	0.59 ^b ±0.01	529.49 ^{ab} ±17.61	-33.39 ^{ab} ±5.30
24	48	3	80.56 ^c ±0.21	18.57 ^{bc} ±0.07	0.59 ^b ±0.01	512.34 ^{ab} ±14.02	-33.13 ^{ab} ±3.09
24	72	3	81.63 ^b ±0.05	18.38 ^c ±0.09	0.60 ^b ±0.01	528.55 ^a ±18.35	-37.23 ^b ±2.95
20	0	6	78.60 ^c ±0.03	19.85 ^a ±0.04	0.51 ^e ±0.01	445.72 ^d ±24.22	-29.43 ^a ±6.67
20	24	6	80.20 ^{bc} ±0.01	19.62 ^a ±0.12	0.48 ^f ±0.01	458.99 ^d ±20.52	-28.43 ^a ±5.11
20	48	6	81.50 ^a ±0.01	19.42 ^a ±0.14	0.54 ^d ±0.01	534.87 ^b ±21.24	-33.80 ^{ab} ±2.22
20	72	6	81.30 ^a ±0.28	18.75 ^b ±0.06	0.53 ^d ±0.01	627.72 ^a ±20.10	-38.74 ^b ±3.27
24	0	6	79.30 ^d ±0.08	19.38 ^a ±0.11	0.50 ^e ±0.02	458.59 ^d ±20.79	-30.99 ^a ±5.28
24	24	6	79.60 ^{cd} ±0.11	18.80 ^b ±0.05	0.56 ^c ±0.01	498.06 ^c ±18.52	-33.68 ^{ab} ±2.74
24	48	6	80.70 ^b ±0.35	18.79 ^b ±0.08	0.63 ^a ±0.01	538.06 ^b ±18.63	-34.42 ^{ab} ±3.44
24	72	6	81.40 ^a ±0.10	18.69 ^b ±0.03	0.59 ^b ±0.01	635.78 ^a ±24.01	-35.40 ^{ab} ±8.18

*Different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$) for the same unit weight with different stoving and WIP times

TSSC (%) increased significantly when WIP time increased from 0 h to 72 h at 20 h stoving time for the 2.5 g samples as seen in Table 3 ($P < 0.05$). For these samples, sharp increase was monitored when WIP time increased to 72 h at constant 24 h stoving time. However, for the 3-gram samples, fluctuations were observed. From 0 to 24 h, an ascending trend was observed in TSSC (%) results while descending behavior was observed when the WIP time increased from 24 h to 72 h at constant stoving time. This case was valid for both stoving times (20 h and 24 h). For the 6 g

samples, similar case was observed with the 2.5 g samples and TSSC (%) increased when the WIP time increased to 72 h at 20 & 24 h stoving times.

Unit weight basis analysis showed more indicative results on the effects of storage conditions of oil coated candies. If the unit weight was considered as the only factor, it was observed that as the unit weight increased from 2.5 g to 3 g and 6 g, TSSC (%) decreased significantly as seen in Table 4 ($P < 0.05$). Soft candies with 2.5 g unit weight was found to have the highest TSSC (%).

Table 4. Effect of unit weight on Total Solid Content & Moisture Content and Water Activity results for oil coated jelly candies

Type (g)	Total Solid Content (%)	Moisture Content (%)	Water activity (a_w)	Hardness (N)	Stickiness (N)	T ₁ (ms)	T _{2monoexp} (ms)
2.5	82.35 ^a ±1.16	17.48 ^b ±0.16	0.56 ^a ±0.02	560.33 ^a ±9.36	-38.93 ^b ±2.34	47.58 ^a ±0.32	0.71 ^a ±0.03
3	80.74 ^c ±0.08	19.05 ^a ±0.24	0.57 ^a ±0.03	509.89 ^c ±7.07	-32.65 ^a ±1.24	44.83 ^b ±0.57	0.72 ^b ±0.04
6	82.32 ^b ±0.03	19.16 ^a ±0.26	0.54 ^a ±0.03	524.73 ^b ±9.53	33.11 ^a ±1.95	47.67 ^a ±0.45	0.64 ^c ±0.04

*Different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$) considering the unit weight as the only factor

Stoving time and WIP time that is necessary to obtain jelly candies with stable network can be different depending on different unit weights due to the existence of different surface areas that contacted with starch bed. Larger samples had larger surface area in starch bed moulds. So, time to reach equilibrium takes longer time as compared to smaller samples.

Moisture Content

Generally, gelatin candies are rested in starch moulds during 12 to 24 hours. Typical moisture migration in starch-candy-air system occurs with three ways. The first one is migration of moisture from candy into starch bed; second one moisture from candy into air and moisture migration from starch bed into air (Sudharsan et al. 2004). If moisture loss is rapid, hard skin and undesirable textural properties could be observed (Ergun et al. 2010a). For this reason, drying condition (air flow, air temperature and humidity and oven design) should be specified depending on the product type (type of gelation agent) and the product size (Burey et al. 2009).

In this study, stoving time levels (12, 16, 20, 24 hour) were found effective on moisture content (MC) for non-coated samples having 2.5 g unit weights and gradual decrease in MC was monitored as the stoving time increased, as seen in Table 1 ($P < 0.05$). This was an expected result since TSSC (%) of these samples increased significantly as it was mentioned in the previous section. According to Delgado and Banon's study (2015), TSSC also increased when moisture content decreased from 12 h to 24 h for gummy products as in the case of our study (Delgado and Bañón 2015). In the study of Delgado et al. (2015) average unit weight of gummy candies was reported as 2.13 g which is very similar to unit

weights that was used for this study (2.5 g). Therefore, observing such an obvious decreasing trend in MC was not surprising. However, when the unit weights of gummy candies were changed, scenario was different. For the non-coated gummy candies with 3 and 6 g unit weights, significant decrease in MC was only observed while switching from 20 h to 24 h stoving time as seen in Table 1 ($P < 0.05$). As it was illustrated in Table 2, if the unit weight was considered as the only factor for these non-coated samples, it was seen that gradual and significant increase was observed in MC as the unit weight was increased ($P < 0.05$). Since moisture removal from the relatively larger sample was difficult, necessary drying time for these samples were relatively longer.

After stoving, samples were coated with oil and kept on the WIP area. As seen in Table 3, increasing WIP time did not affect the MC of the 2.5 g samples ($P > 0.05$) at each constant stoving time (20 h & 24 h). Most probably, oil found on the surface of these samples kept the moisture inside the gel matrix and did not allow the moisture outside to the gel resulting in constant moisture content even WIP time was increased to 72 h. Therefore, it could be concluded that increasing WIP time was not helpful for the jelly candies having 2.5 g unit weight. Similar case was also valid for the 3 g samples that were exposed to 20 h stoving time. For these samples, increasing WIP time did not also lead to significant decreases in MC result ($P > 0.05$). However, a different scenario occurred for the 3 g samples which were exposed to 24 h stoving time. For these samples, it was elucidated that, increasing WIP time to 72 h led significant and gradual decrease in MC ($P < 0.05$). For 6 g samples that were exposed to 20 h stoving time, detectable decrease in MC was

observed only when the samples were kept at 72 h conditioning room ($P < 0.05$). On the other hand, for 6 g samples that were exposed to 24 h stoving time, noticeable decrease in MC was observed when they were exposed to 24 h WIP time while after 24 h, increasing WIP time did not lead a detectable change and MC of these samples remained constant ($P > 0.05$) (Table 3). As it was illustrated in Table 4, if the unit weight was considered as the only factor for these oil coated samples, it was seen that, significant increase in MC was detected as the unit weight was increased from 2.5 to 3 g ($P < 0.05$). However, steadiness in MC was detected when the unit weight was increased to 6 g.

In summary, moisture content did not change significantly until 20 h; but, it decreased slowly for all non-coated samples from 20 to 24 h. Moreover, for the coated samples, only 3 g and 6 g samples were mostly affected from being kept in the WIP area whereas 2.5 g oil coated samples were not affected from the WIP area, so it was confirmed that they were able to lose the whole free water inside and reached equilibrium totally during stoving.

Water Activity

The amount and rate of moisture migration that occurs between the components of a multi-domain system such as jelly candies strongly depend on the thermodynamic forces of the system (water activity) and factors influencing the diffusion rate (Troutman et al. 2001). Therefore, water activity (a_w) is an important thermodynamic parameter to explain the moisture migration behavior of the food systems during drying. It could be defined as the ratio of partial pressure of water vapor ratio to pressure of pure water at a specified temperature (Mathlouthi 2001).

As seen in Table 1, for the non-coated 2.5 g samples, the MC and a_w values validated that further dehydration did not occur from 20 h onwards. Similar case was also observed in previous studies. Delgado et al. (2015) examined the a_w and MC of gummy candies having 2.13 g unit weight and, in their study,, it was also mentioned that, after 20 h, candies also did not

dehydrate further. Since the unit weight utilized in their study was very similar to our study, this outcome was not surprising. It is also worth to mention that, for the non-coated samples owing 2.5 g unit weight, while water activity changed around 0.45-0.53 from 12 h to 16 h on oven, moisture content did not change significantly and remained almost constant ($P > 0.05$). Around 20 h, MC decreased distinguishably whereas at the same time a_w values did not change so much. This behaviour was similar to Type II behaviour of intermediate moisture products. In the study of Ergun et al. (2010), it is stated that many type of candies would have sorption isotherms which follow either Type II or Type III. In this study, this case was also valid and jelly candies that were used in this study also followed a similar sorption isotherm trend. On the other hand, for the 3 g and 6 g non-coated samples, noticeable decrease in MC and a_w were observed even after 20 h validating the on-going dehydration. This case might be explained with relatively bigger sample size compared to 2.5 g samples. As it was illustrated in Table 2, if the unit weight was considered as the only factor for these non-coated samples, it was observed that, unit weight was an important factor itself that caused changes in a_w values significantly ($P < 0.05$).

After coating, samples were kept in the conditioning area. It was observed that a_w of oil coated jelly candies were relatively higher compared to their non-coated counterparts (Table 3). As seen in Table 3, for the 2.5 g oil-coated samples, increasing WIP times did not lead to any significant changes in the a_w values of the samples ($P > 0.05$). Therefore, it is important to mention that these samples fully dehydrated after the stoving step and storing them in the conditioning room did not result in further dehydration. As indicated in previous sections, MC results for these samples were also consistent with a_w results and confirmed the end of dehydration. On the contrary, for the 3 g and 6 coated samples, increasing WIP time for each stoving time (20 h & 24 h) led to detectable increments in a_w values of these samples ($P < 0.05$).

As it was illustrated in Table 4, if the unit weight was considered as the only factor for these oil-coated samples, it was observed that different unit weight did not have a significant effect on water activity while waiting in WIP area ($P > 0.05$).

Hardness

Hardness is directly proportional to the maximum force when analysing deformation in the first bite (Delgado and Bañón 2015). Hardness values of oil-coated jelly candies are shown in Table 3. In texture analyses, it was not logical to use 12 and 16 h stoving time data. Since, after stoving cycle, samples' surface was covered fully with starch and it was very hard to analyse texture profile because of the sticky surface (inadequate drying). As explained in the previous section, samples were taken after 20 h and 24 h separately from oven and coated with oil; then kept in the WIP area. According to the Table 3, 6 g samples that were held 24 h in oven and 72 h in WIP area had the highest hardness values. It was also observed that, 2.5 g coated samples', texture profile was not influenced from conditioning area although the total solid content had increasing trend with time ($P > 0.05$). For the 3 g samples, hardness values did not change at constant 20 h stoving time while WIP time increased to 72h. Similarly, at 24 h stoving time, significant increase was not detected in hardness values while switching from 48 to 72 h WIP time ($P < 0.05$). The effect of WIP time on the hardness values of 6 g samples was more apparent compared to its counterparts. Increasing WIP time resulted in gradual and significant increase in hardness values of 6 g samples ($P < 0.05$). This increment was also valid for the TSSC of these sample as discussed previously.

If the unit weight was considered as the only factor affecting hardness, it was found that samples were significantly different from each other ($P < 0.05$) as shown in Table 4. Similarly, this result was found to be parallel with total soluble solid content. Minimum TSSC (%) and minimum hardness values were found for the both 3 g samples.

In previous studies it was demonstrated that drying generally reduces moisture and increases

the solid content, and this causes increasing hardness and change on other textural properties (Vieira et al. 2008; Nur Farah Hani et al. 2014; Delgado and Bañón 2015). In our study, this outcome was also validated. According to the Pearson's correlation results that were shown in Table 5, hardness values was correlated with the moisture content ($R = -0.70$; $P < 0.05$) and total soluble solid content ($R = 0.70$; $P < 0.05$). According to the study of Delgado et al. (2015), changes in textural properties of gummy candies during drying could be explained with both dehydration and gelation phenomena. In their study, modest correlation coefficients were found suggesting that drying were not only in the control of dehydration phenomena but also in the control of gelation phenomena. The lack of a correlation between moisture and textural properties also reinforces this argument in their study. On the other hand, in our study, moisture and textural properties (hardness & stickiness) was found to be well-correlated ($r > 0.70$; $P < 0.05$) suggesting that drying of jelly candies was dehydration controlled.

Stickiness

Stickiness is a very important parameter for the jelly candies. Stickiness is the force necessary to overcome the attractive forces between the surface of the product and the surface of the material (the probe) with which the product comes in contact. In jelly products, stickiness, hardness, poor crusting, poor chewiness are considered to be important quality defects (Ergun et al. 2010a).

As seen in Table 3, changing WIP times generally did not lead to changes in the stickiness values of the oil-coated samples. For the samples having 2.5 g unit weight that exposed to 24 h stoving time, only detectable change was observed when the WIP time was increased from 48 h to 72 h ($P < 0.05$) while there was no significant change for the stickiness values of 3 g samples. For the 6 g samples, similar stickiness values were found for the WIP times 0 h, 24 h and 48 h. Although significant decrease was observed in stickiness values at 72 h WIP time compared to the samples that expose 0 and 24 h WIP times, they were found to be similar at 48 h and 72 h WIP times.

On the other hand, increasing WIP times did not result in any changes in the stickiness values at 24 h stoving time.

If the unit weight was considered as the only factor affecting stickiness, the lowest stickiness value was observed on the samples having 2.5 g unit weight ($P < 0.05$) while relatively higher and similar stickiness values were found for the samples having 3 g and 6 g unit weight. According to Table 5, stickiness values were correlated with moisture content ($r=0.90$; $P < 0.05$) and TSSC (%) ($r=-0.89$; $P < 0.05$) like hardness value ($P < 0.05$). Stickiness and hardness values were also found to be correlated ($r: -0.770$; $P < 0.05$). This result was not surprising since it was known from the previous studies that moisture caused a sticky

feeling in products. Hani et al. (2014) studied the dehydration of watermelon rind candies and in their study, it was also observed that, as the drying time increased, moisture content of the products decreased leading to reduction in stickiness values. Moisture-stickiness relation was also indicated in the study of Ergun et al. (2010). In their study, it was demonstrated that when the moisture migration occurred from surrounding to the confectionary product, due to the slow diffusion of water molecules into candy, surface layer with elevated moisture content arose first leading to increased stickiness of the candy (Ergun et al. 2010b). This phenomena was also valid for our study since high correlation was found between the moisture and stickiness values ($r=0.90$; $P < 0.05$).

Table 5. Pearson’s correlation between moisture content, total soluble solids, water activity and textural properties

		TSSC	Moisture	Aw	Hardness	Stickiness	T1
Moisture	R	-0.890					
	p	0.000					
AW	R	0.211	-0.137				
	p	0.322	0.522				
Hardness	R	0.701	-0.701	0.201			
	p	0.000	0.000	0.346			
Stickiness	R	-0.885	0.903	-0.220	-0.770		
	p	0.000	0.000	0.303	0.000		
T ₁	R	0.401	-0.406	-0.125	0.250	-0.360	
	p	0.052	0.049	0.562	0.240	0.084	
T ₂	R	0.0145	-0.021	0.020	0.051	-0.064	-0.453
	p	0.498	0.924	0.925	0.811	0.768	0.026

T₁ (Spin-Lattice Relaxation) Times

T₁ (Spin-Lattice Relaxation) time is also known as the longitudinal relaxation time and it refers the time which is necessary for spins to give back the energy that they obtained from the radio frequency pulse for turning their initial state (Ozel et al. 2017b). From previous studies, it was known that, T₁ relaxation time strongly depended on mobile protons of the free water (Ozel et al.

2017b). Therefore, it is worth to mention that, T₁ (spin-lattice relaxation time) is a great tool to detect the moisture distribution of food samples (Pocan et al. 2019a). In this study, T₁ relaxation times of oil coated gelatin based soft candies with 2.5 g, 3 g and 6 g unit weights which were exposed to different stoving and WIP times were determined and results are given in Table 6. T₁ relaxation times were expressed by using a mono-

exponential model. In order to examine the correlations between textural properties (hardness, stickiness), NMR relaxometry data

were only discussed for the oil coated ones like the previous experiments.

Table 6. Effect of WIP and stoving time on the relaxation times and relative areas (% RA) of oil coated jelly candies

Stoving time (h)	WIP Time (h)	Type (g)	T ₁ (ms)	T _{2monoexp} (ms)	T _{2a} (ms)	T _{2b} (ms)	R _{A1} (%)	R _{A2} (%)
20	0	2.5	47.42 ^{ab} ±0.11	0.74 ^{bc} ±0.01	0.29 ^{ab} ±0.00	1.07 ^{abc} ±0.00	47.50 ^a ±0.35	52.50 ^a ±0.35
20	24	2.5	48.10 ^{ab} ±0.31	0.77 ^{ab} ±0.01	0.29 ^{ab} ±0.00	1.08 ^{ab} ±0.01	46.50 ^a ±0.35	53.50 ^a ±0.35
20	48	2.5	47.57 ^{ab} ±0.16	0.71 ^{cd} ±0.02	0.27 ^{ab} ±0.00	0.99 ^{cd} ±0.01	47.50 ^a ±0.35	52.50 ^a ±0.35
20	72	2.5	48.16 ^a ±0.26	0.61 ^f ±0.00	0.24 ^b ±0.00	0.88 ^e ±0.01	48.50 ^a ±0.35	51.50 ^a ±0.35
24	0	2.5	47.73 ^{ab} ±0.21	0.72 ^{cd} ±0.00	0.27 ^{ab} ±0.00	1.02 ^{bcd} ±0.01	48.00 ^a ±0.00	52.00 ^a ±0.00
24	24	2.5	46.86 ^b ±0.18	0.67 ^{de} ±0.01	0.26 ^{ab} ±0.00	0.96 ^d ±0.01	48.50 ^a ±0.35	51.50 ^a ±0.00
24	48	2.5	47.18 ^{ab} ±0.13	0.64 ^{ef} ±0.00	0.29 ^{ab} ±0.02	0.88 ^e ±0.00	47.50 ^a ±0.35	52.50 ^a ±0.00
24	72	2.5	47.66 ^{ab} ±0.26	0.79 ^a ±0.00	0.30 ^a ±0.00	1.14 ^a ±0.01	47.00 ^a ±0.71	53.00 ^a ±0.71
20	0	3	44.07 ^{cd} ±0.48	0.83 ^a ±0.02	0.26 ^{bc} ±0.00	0.96 ^{bcd} ±0.01	48.50 ^a ±0.35	51.50 ^b ±0.35
20	24	3	44.19 ^{cd} ±0.22	0.75 ^b ±0.02	0.31 ^a ±0.00	1.16 ^a ±0.02	46.00 ^b ±0.00	54.00 ^a ±0.00
20	48	3	43.80 ^d ±0.10	0.76 ^{ab} ±0.01	0.23 ^d ±0.00	0.86 ^d ±0.01	47.50 ^{ab} ±0.35	52.50 ^{ab} ±0.35
20	72	3	44.76 ^{bcd} ±0.22	0.74 ^{bc} ±0.01	0.26 ^{bc} ±0.00	0.97 ^{bcd} ±0.03	47.50 ^{ab} ±0.35	52.50 ^{ab} ±0.35
24	0	3	44.22 ^{cd} ±0.12	0.72 ^{bcd} ±0.00	0.28 ^b ±0.00	1.00 ^b ±0.01	48.00 ^{ab} ±0.00	52.00 ^{ab} ±0.00
24	24	3	45.62 ^{abc} ±0.29	0.67 ^{cde} ±0.02	0.28 ^b ±0.00	1.04 ^{ab} ±0.01	46.50 ^{ab} ±0.35	53.50 ^{ab} ±0.00
24	48	3	45.88 ^{ab} ±0.22	0.66 ^{de} ±0.01	0.24 ^{cd} ±0.00	0.88 ^{cd} ±0.01	48.50 ^a ±0.35	51.50 ^b ±0.35
24	72	3	46.27 ^a ±0.26	0.64 ^e ±0.01	0.27 ^b ±0.00	0.99 ^{bc} ±0.00	47.50 ^{ab} ±0.35	52.50 ^{ab} ±0.35
20	0	6	47.85 ^a ±0.26	0.66 ^{ab} ±0.01	0.24 ^{ab} ±0.00	0.89 ^a ±0.00	41.50 ^a ±0.35	58.50 ^a ±0.35
20	24	6	48.16 ^a ±0.75	0.58 ^b ±0.04	0.22 ^{ab} ±0.02	0.81 ^a ±0.07	42.00 ^a ±0.00	58.00 ^a ±0.71
20	48	6	48.39 ^a ±0.35	0.62 ^{ab} ±0.03	0.23 ^{ab} ±0.00	0.89 ^a ±0.02	42.50 ^a ±0.35	57.50 ^{ab} ±0.35
20	72	6	47.70 ^a ±0.36	0.66 ^{ab} ±0.00	0.24 ^{ab} ±0.00	0.87 ^a ±0.00	41.00 ^a ±0.35	59.00 ^a ±0.71
24	0	6	47.57 ^a ±0.17	0.75 ^a ±0.03	0.25 ^a ±0.00	0.96 ^a ±0.01	41.50 ^a ±0.00	58.50 ^a ±0.35
24	24	6	47.19 ^a ±0.14	0.58 ^b ±0.03	0.19 ^b ±0.00	0.74 ^a ±0.01	43.50 ^a ±0.35	56.50 ^a ±0.35
24	48	6	47.40 ^a ±0.43	0.67 ^{ab} ±0.02	0.25 ^a ±0.02	0.93 ^a ±0.02	42.00 ^a ±0.35	58.00 ^a ±0.35
24	72	6	47.07 ^a ±0.22	0.62 ^{ab} ±0.02	0.23 ^{ab} ±0.00	0.83 ^a ±0.03	41.50 ^a ±0.35	58.50 ^a ±0.35

*Different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$) for the same unit weight with different stoving and WIP times

Referring back to the T₁ relaxation time data that was illustrated in Table 6, for the 2.5, 3 and 6 g samples that were exposed to 20-hour stoving time, steadiness in T₁ (spin-lattice) relaxation times were observed as the WIP time increased. Similar steadiness was also observed in moisture content results for the same samples. This point is important to mention since it is known that NMR Relaxometry is a valuable tool to detect the moisture distribution of food products and strong correlations were found between T₁ and moisture contents of sponge cakes in previous studies (Botosoa et al. 2015). In addition to this study, TD-NMR Relaxometry was also utilized for the analysis of gelatin based soft candies with

different formulations and similar T₁-moisture content correlations were also found in this study (Pocan et al. 2019a). Pocan et al. (2019) indicated that as the moisture content of the samples with different formulations increased, T₁ relaxation time also increased and they mentioned that T₁ (spin-lattice relaxation) time was directly related with the mobility of water. In another study, similar results were also found. Maltitol containing gelatin based soft candies was found to be the highest moisture content leading to longest T₁ relaxation times (Efe et al. 2019). Although our study is related with drying conditions of soft candies, similar moisture content-T₁ relaxation time relation was also valid for this study.

Regarding the effect of both stoving and WIP time, Pearson correlation coefficients were found as -0.96 and 0.72 for the samples having unit weight 3 g and 6 gr respectively in our study ($P < 0.05$).

It is worth to mention that, although the effect of moisture content was dominant in T_1 relaxation times, information related with the crystallinity could be also obtained by T_1 times. For instance, when the data were examined in Table 3, it was observed that for the 6 gram samples that were exposed to constant 24-hour stoving time but not kept in WIP area (0 hour WIP time) had significantly higher moisture content compared to the samples expose to 24-hour stoving and 72 hour WIP time ($P < 0.05$). In terms of moisture content, it was an expected result. Increasing drying resulted in reduction in the moisture content since it was known that small amount of moisture was lost to starch and candy-air surface was dominant factor during drying process (Ziegler et al. 2003). However, it was revealed that, T_1 values of these samples did not change significantly ($P > 0.05$). According to the previous studies, longer T_1 (spin-lattice) relaxation time resulted in more crystalline regions (Le Botlan et al. 1998). Crystallinity studies were not performed in this study but it was hypothesized that, increased WIP time might have resulted in “hard skin” formation on candies’ surface leading to enhanced crystallinity.

T_2 (spin-spin) relaxation times

T_2 relaxation time is also known as the spin-spin relaxation time and the changes in this relaxation time could be attributed to the various proton related alterations such as change in moisture content, exchange of protons between compartments in food systems (Pocan et al. 2019a). Therefore, in this study, T_2 values of oil coated gelatin based soft candies with 2.5 g, 3 g and 6 g unit weights which were exposed to different stoving and WIP times were determined and results were shown in Table 6.

T_2 relaxation data is generally used to get an overall signal from the sample and it could be expressed by utilizing either mono-exponentially

decaying model or higher order models like bi-exponential or tri-exponential which makes it possible to take insight information from the compartmental analysis of the samples (Yildiz et al. 2018). The results of our study revealed that while mono-exponential model ($R^2=0.991$) was also suitable to explain relaxation data, bi-exponential model ($R^2=0.999$) was found to be more ideal to give more detailed information about the compartmental analysis of jelly candies used in this study. This choice was also consistent with the literature findings. For instance, time domain NMR was utilized in many studies such as to characterize gelatin based soft candies (Efe et al. 2019; Pocan et al. 2019a) and starch-soy protein based gummy candies (Ilhan et al. 2020) and in all these studies, multi-exponential model was used to interpret the relaxation data. Due to the multi-domain structure of the confectionary systems (Troutman et al. 2001), bi-exponential model was also found to be more suitable for our system. This model also gives information about the proton density contribution of each peaks (Yildiz et al. 2018). The results of both mono-exponential and bi-exponential T_2 relaxation times and the relative areas (%) of each peaks obtained as a result of bi-exponential models was represented in Table 6. The representative decaying curve for T_2 measurements and bi-exponential fitting of this data (discrete component analysis) could be also seen in Fig. 2a and Fig. 2b respectively. In this section, T_2 relaxation times will be examined as two subtitles: Mono-exponential T_2 relaxation times and T_2 relaxation spectra.

Mono-exponential T_2 relaxation times

As it was illustrated in Table 6, for the 2.5 g samples that were exposed to 20-hour stoving time, gradual and significant decrease in mono-exponential T_2 relaxation times was observed as the WIP time increased in the range between 24-72 hours ($P < 0.05$). A similar case was also observed for the 3 g samples that were kept for 20-hour stoving time. As the WIP time increased in the range, T_2 values decreased similar to the samples that had unit weight of 2.5 g ($P < 0.05$). T_1 and T_2 relaxation times showed an increasing trend as the moisture content increased due to the

enhancement of water mobility in the samples (Cikrikci et al. 2018). However, in our case, a different situation was observed. For the samples T_2 values decreased although their moisture content remained same. Therefore, decrease in T_2 values was associated with a different effect other than moisture. For the same samples, it was demonstrated that total solid content increased as the WIP time increased from 0 to 72 hours ($P < 0.05$). At this point, it was hypothesized that,

increasing total solid content might have enhanced solid-solid interactions of gelatin based soft candies leading to decrease in overall T_2 values. It was also important to notice that, if the unit weight was considered as the only factor affecting mono-exponential T_2 values, all mono-exponential T_2 values were found to be significantly different as seen in Table 4. ($P < 0.05$)

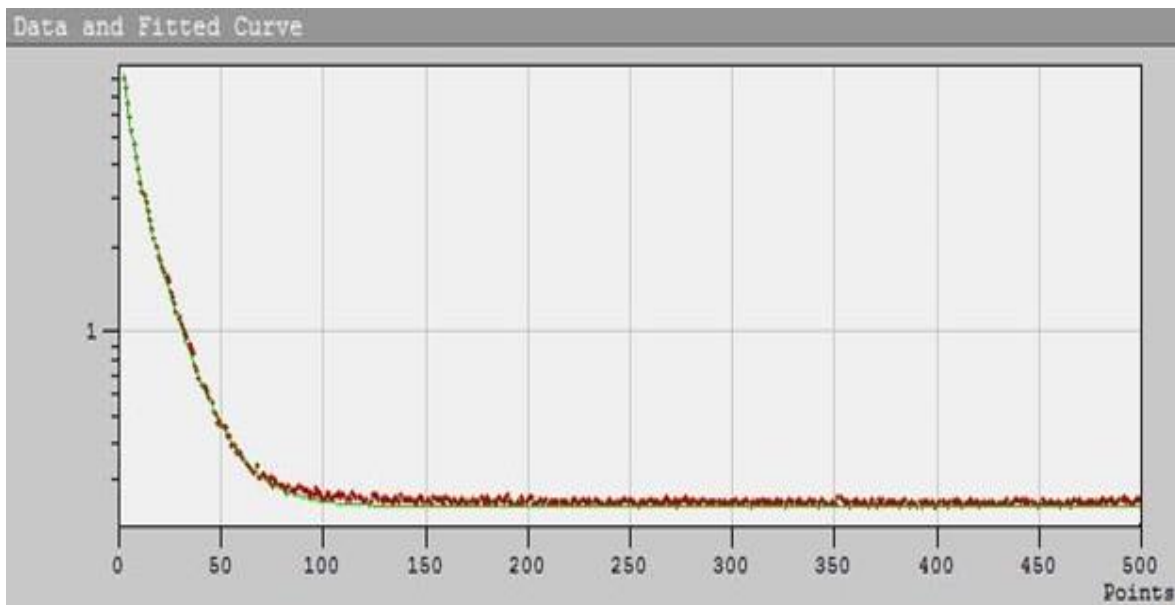


Figure 2a. Representative CPMG curve for T_2 relaxation time measurements

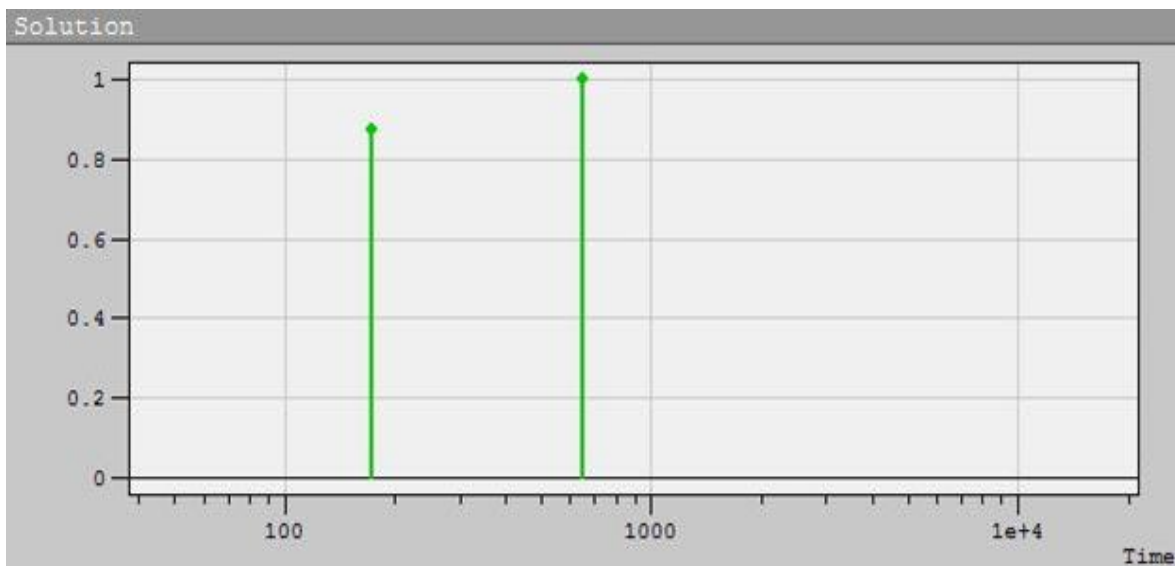


Fig.2b Discrete component analysis mode of XPFit software for a representative T_2 data

T₂ Relaxation Spectra

Discrete component analysis also validated the results of the mono-exponential fittings that described above and importance of describing the T₂ values bi-exponentially was revealed here. For the same samples that were mentioned above, a decreasing trend was observed in T_{2a} values. This was an important outcome since it was known that, compartments with the lowest relaxation times were associated with strong solid-solid interactions (Ozel et al. 2017b; Pöcan et al. 2019a; İlhan et al. 2020).

As seen from the Fig. 2b, for all jelly candies that was used in this study, 2 different proton pools with different relaxation times was observed. In a previous study, component analysis of gelatin based soft candies were also performed by utilizing TD-NMR and again 2 distinct proton pools related with different compartments were detected (Efe et al. 2019). It is worth to mention that, for these proton pools, the longest T₂ component observed in the jelly candies might have come from the more mobile water entrapped in the gel network (2nd peak), while the shortest component could be related with the solid-solid interactions like sugar-sugar, sugar-gelatin interactions (1st peak). (Efe et al. 2019). Relative areas (RA) of these peaks were calculated considering the magnitude of signal intensity, that was associated with each proton pool and they represented the contribution of these proton pools to the whole signal (Pöcan et al. 2019a)

Considering RA (%) of peaks for all samples as seen in Table 6, changes in drying conditions (stoving and WIP times) and unit weights did not result in detectable changes in peak areas ($P > 0.05$). For all samples, 2 distinct peaks were observed as seen in representative Fig. 2b. The first peak (P₁) and the second peak (P₂) indicated solid-solid interactions and bulk water entrapped in gelatin network, respectively as indicated previously. The RAs of these two distinct peaks were also found to be very similar showing that P₁ and P₂ contributions to overall proton population was nearly same. It was worth to mention that, especially such a high contribution of P₁ was the indication of strong solid-solid interactions that

promoted well-developed gelatin network which was a desirable condition for jelly candies. The very small T_{2b} values also supported this hypothesis. Even though these T_{2b} values were related with relatively free water that was entrapped in gel network, they were found to be very short (in the range of 0.74-1.14 ms) compared to the findings of them previous studies. In the study of Pöcan et al. (2019), related T₂ value was found to be in the range of 19-33 ms indicating that higher amount of water remained in the gel network most probably due to the improper drying conditions. Their gelatin based soft candies hardness values were also found to be in the range of 3-6 N whereas hardness values that was found in this study was in the range of 450-650 N. This huge difference could be explained with the well-developed drying condition that was utilized in this study resulting in enhanced solid-solid interactions and better gel network.

CONCLUSION

In this study, it was found that moisture content and total solid content were correlated with textural properties. However, T₁ and T₂ relaxation times were not directly correlated with the textural properties. Solid-solid interactions and crystallinity changes were thought to be the reason of that. On the other hand, T₁ and moisture content results were found to be correlated. Furthermore, regarding T₂ relaxation spectrum, two distinct peaks with different relaxation times were observed for all the samples and these peaks were found to be informative in terms of solid-solid interactions and bulk water found in gel matrices.

In manufacturing, performing fast and accurate analysis method is very important during production. According to the correlation results, moisture content, texture analysis and total soluble solid content could be used to control the quality of the products. However, moisture content analysis takes long time and making decision is very hard based on just moisture content while products are in oven because of the process time. Texture analysis is fast but very difficult method to make decision just after

completing stoving cycle since products have a sticky surface. So, total soluble solid content and TD-NMR results could be used together to control the quality of products with acceptance of small error and variation.

For this study, 20 h stoving time was accepted as the reference. Then, stoving time was extended 24 h in order to reach better textural properties. In the light of this study, it was recommended that 2.5 g samples' stoving cycle can be decreased 20 h again. Thus, 4 h stoving time and accordingly energy can be saved. In addition to that, all samples (2.5 g, 3 g and 6g) are kept 72 h on conditioning area before packaging and it was recommended that, 3 g and 6 g samples' texture can be better if they are not waited more than 48 h in conditioning area. This study also suggested that T_1 and T_2 relaxation times could be effectively used to monitor the changes during drying of gelatin based soft candies together as an alternative to the conventional methods such as total soluble solid and moisture content and it was believed that obtained results will pave the way for the utilization of TD- NMR relaxometry in confectionary industry.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they do not have any conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The study was the Master thesis of Ms. Kaya. Ms. Pocan prepared the 1st draft of the manuscript. Dr. Oztop and Dr Mert were the advisors of Ms Kaya and finalised the manuscript.

REFERENCES

Akbas E, Soyler UB, Oztop MH (2016) Capsaicin Emulsions: Formulation and Characterization. *J Dispers Sci Technol* 38 (8):1079-1086 doi: 10.1080/01932691.2016.1224717

Botosoa EP, Chèné C, Blecker C, Karoui R (2015) Nuclear Magnetic Resonance, Thermogravimetric and Differential Scanning Calorimetry for Monitoring Changes of Sponge Cakes During Storage at 20 ° C and 65 % Relative Humidity. *Food Bioprocess Tech* 8:1020–1031. doi: 10.1007/s11947-014-1467-7

Burey P, Bhandari BR, Rutgers RPG, et al (2009) Confectionery gels: A review on formulation, rheological and structural aspects. *Int J Food Prop* 12(1): 176-210

Cikrikci S, Mert B, Oztop MH (2018) Development of pH Sensitive Alginate/Gum Tragacanth Based Hydrogels for Oral Insulin Delivery. *J Agric Food Chem* 66(44): 11784–11796. doi: 10.1021/acs.jafc.8b02525

Delgado P, Bañón S (2015) Determining the minimum drying time of gummy confections based on their mechanical properties. *CYTA J Food* 13(3): 329–335. doi:10.1080/19476337.2014.974676

Edwards (2000) Science of Sugar Confectionary. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 180 p , ISBN: 978-1-78801-133-4

Efe N, Bielejewski M, Tritt-Goc J, et al (2019) NMR relaxometry study of gelatin based low-calorie soft candies. *Mol Phys* 117(7) :1034–1045. doi: 10.1080/00268976.2018.1564392

Ergun R, Lietha R, Hartel RW (2010) Moisture and shelf life in sugar confections. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50(2):162–192. doi: 10.1080/10408390802248833

Ilhan E, Pocan P, Ogawa M, Oztop MH (2020) Role of 'D-allulose' in a starch based composite gel matrix. *Carbohydr Polym* 228:115373. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115373

Kirtil E, Cikrikci S, McCarthy MJ, Oztop MH (2017) Recent advances in time domain NMR & MRI sensors and their food applications. *Curr Opin Food Sci* 11:9–15. doi: 10.1016/j.cofs.2017.07.005

Kirtil E, Oztop MH, Sirijariyawat A, et al (2014) Effect of pectin methyl esterase (PME) and CaCl₂ infusion on the cell integrity of fresh-cut and frozen-thawed mangoes: An NMR relaxometry study. *Food Res Int* 66:409–416. doi: 10.1016/j.foodres.2014.10.006

Le Botlan D, Casseron F, Lantier F (1998) Polymorphism of sugars studied by time domain NMR. *Analisis* 26(5):198–204. doi: 10.1051/analisis:1998135

- Lees R, Jackson EB (2012) Sugar Confectionery and Chocolate Manufacture. Chemical Publishing Co Inc.,U.S. 412 p, ISBN: 9780820602417
- Mathlouthi M (2001) Water content, Water Activity, Water structure and The Stability of Foodstuffs. *Food Control* 12:409–417. doi: 10.1016/S0956-7135(01)00032-9
- Hani NM, Zahidah WZ, Saniah K, Irwani H S(2014) Effects of drying on the physical characteristics of dehydrated watermelon rind candies. *J Trop Agric and Fd Sc* 42(2):115–123.
- Ozel B, Cikrikci S, Aydin O, Oztop MH (2017a) Polysaccharide blended whey protein isolate-(WPI) hydrogels: A physicochemical and controlled release study. *Food Hydrocoll* 71:35–46. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.04.031
- Ozel B, Dag D, Kilercioglu M, et al (2017b) NMR relaxometry as a tool to understand the effect of microwave heating on starch-water interactions and gelatinization behavior. *LWT* 83:10–17. doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.077
- Pocan P, Ilhan E, Oztop MH (2019a) Effect of D-Psicose Substitution on Gelatin Based Soft Candies: A TD-NMR Study. *Magn. Reson. Chem.* 57:661-673 doi: 10.1002/mrc.4847
- Pocan P, Ilhan E, Oztop MH (2019b) Characterization of Emulsion Stabilization Properties of Gum Tragacanth, Xanthan Gum and Sucrose Monopalmitate: A Comparative Study. *J. Food Sci* 84(5):1087–1093. doi: 10.1111/1750-3841.14602
- Sudharsan MB, Ziegler GR, Duda JL (2004) Modelling diffusion of moisture during stoving of starch-molded confections. *Food Bioprod Process* 82(1):60–72. doi:10.1205/096030804322985335
- Troutman MY, Mastikhin I V., Balcom BJ, et al (2001) Moisture migration in soft-panned confections during engrossing and aging as observed by magnetic resonance imaging. *J Food Eng* 48(3):257–267. doi: 10.1016/S0260-8774(00)00167-9
- Vieira MA, Rovaris AA, Maraschin M, et al (2008) Chemical characterization of candy made of erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. At. Hil.) residue. *J Agric Food Chem* 56(12):4637–4642. doi: 10.1021/jf8011085
- Yildiz E, Guner S, Sumnu G, et al (2018) Monitoring the Effects of Ingredients and Baking Methods on Quality of Gluten-Free Cakes by Time Domain (TD) NMR Relaxometry. *Fabt* 11: 1923-1933
- Ziegler GR, MacMillan B, Balcom BJ (2003) Moisture migration in starch molding operations as observed by magnetic resonance imaging. *Food Res. Int* 36(4):331–340. doi:10.1016/S09639969(02)00224-7

SİTRİK ASİT ÜRETİMİ VE SAFLAŞTIRILMASI

Meltem Öztürk, Mustafa Erbaş*

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 26.11.2020; Kabul / Accepted: 02.02.2021; Online baskı / Published online: 10.02.2021

Öztürk, M., Erbaş, M. (2021). Sitrik asit üretimi ve saflaştırılması. GIDA (2021) 46(2) 296-310 doi: 10.15237/gida.GD20133

Öztürk, M., Erbaş, M. (2021). Citric acid production and purification. GIDA (2021) 46(2) 296-310 doi: 10.15237/gida.GD20133

ÖZ

Sitrik asit, oksidatif solunum yapan bütün canlı organizmaların metabolizmasında bulunan önemli bir organik asittir. Bu organik asit; yüksek ekonomik potansiyeli, düşük maliyeti ve düşük toksisitesi nedenleriyle gıda, ilaç, kimya, tarım ve kozmetik endüstrilerinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Sitrik asit özellikle gıda endüstrisinde asitlik düzenleyici, lezzet verici, koruyucu, kıvam arttırıcı ve stabilize edici olarak kullanılmaktadır. Dünyada her yıl 2 milyon tondan fazla sitrik asit üretilmesine rağmen ülkemizde sitrik asit üretimi ve bu konu üzerine bilimsel çalışmalar sınırlıdır. Sitrik asit üretimi doğal kaynaklardan izolasyon, biyokimyasal sentez veya mikrobiyel fermantasyon yöntemleriyle yapılmaktadır. Sitrik asit üretim miktarının %99'undan fazlası *Aspergillus niger* ve *Yarrowia lipolytica* mikroorganizmaları kullanılarak mikrobiyel fermantasyon ile gerçekleştirilmektedir. Sitrik asit üretildikten sonra farklı saflaştırma yöntemleri ile izole edilerek ticari bir ürüne dönüştürülmektedir. Bu çalışmada sitrik asidin bazı özellikleri, kullanım alanları, sağlık üzerine etkileri, üretim ve saflaştırma yöntemleri derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Sitrik asit üretimi, fermantasyon, *Aspergillus niger*, *Yarrowia lipolytica*, saflaştırma

CITRIC ACID PRODUCTION AND PURIFICATION

ABSTRACT

Citric acid is an important organic acid found in oxidative metabolism of all living organisms. It has common usage in food, medicine, chemical, agricultural, and cosmetic industries because of its high economic potential and low cost and toxicity. Citric acid is used in food industry as acidity regulator, flavoring, preservative, thickener, and stabilizer. Although more than 2 million tons/year of citric acid is produced in the world, citric acid production and scientific research on this subject in Turkey are limited. Its production is conducted by isolation from natural sources, synthesis or microbial fermentation. More than 99% of total citric acid production is performed with microbial fermentation by using *Aspergillus niger* and *Yarrowia lipolytica*. After the production, it is isolated by different purification methods and turned into a commercial product. In this study, some properties of citric acid, its usage area, effects on human health, production and purification methods were reviewed.

Keywords: Citric acid production, fermentation, *Aspergillus niger*, *Yarrowia lipolytica*, purification

* Yazışmalardan sorumlu Yazar / Corresponding author

✉ : erbas@akdeniz.edu.tr

☎ : (+90) 242 310 6575

☎ : (+90) 242 310 6309

Mustafa Erbaş; ORCID No: 0000-0002-9485-2356

Meltem Öztürk; ORCID No: 0000-0002-4206-2037

GİRİŞ

Sitrik asit, oksijenli solunum yapan organizmaların metabolizmasında yer alan bir trikarboksilik asittir (Amato vd., 2020). Düşük maliyet ve toksisiteye sahip olması nedenleriyle yüksek bir ekonomik potansiyele sahiptir. Farklı endüstri alanlarında yaygın olarak kullanılan sitrik asidin %70 kadarı gıda, %18 kadarı ilaç ve %12 kadarı ise kimya, tarım, kozmetik ve diğer endüstri dallarında kullanılmaktadır (Kamzolova ve Morgunov, 2017; Ciriminna vd., 2017; Wang vd., 2019). Sitrik asit özellikle gıda endüstrisinde koruyucu, asitlik düzenleyici, lezzet verici, antioksidan maddelerin etkinliğini artırıcı, stabilizasyon sağlayıcı ve kıvam artırıcı olarak kullanılmaktadır (Francisco vd., 2019).

Sitrik asidin üretim ve tüketimi yıllara bağlı olarak artmakta olup 1993 yılında 0.7 milyon ton olan üretimin, 2004 yılında 1.4 milyon tona ve 2015 yılında ise 2 milyon tona ulaştığı bildirilmiştir (Yalçın vd., 2010; Addo vd., 2016; Ciriminna vd., 2017; Wang vd., 2019). Günümüzde ise dünyada her yıl iki milyon tondan fazla sitrik asit üretimi yapılmaktadır (Steiger vd., 2017; Ding vd., 2018; Morgunov vd., 2018). Yıllık sitrik asit talep artış oranı %3.5 ile %5.0 arasında değişmekte olup, bu talebin ortalama %4 artış oranıyla 2022 yılında 2.8 milyon tona kadar ulaşacağı tahmin edilmektedir (Ciriminna vd., 2017). Sitrik asidin başlıca üretici ve tüketicileri arasında Çin, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği ülkeleri gelmektedir (Berovic ve Legisa, 2007; Wang vd., 2019). Çin'de yıllık yaklaşık 1.3 milyon ton sitrik asit üretilmektedir (Zhang vd., 2017a).

Sitrik asit üretimi doğal kaynaklardan izolasyon, biyokimyasal sentez ve mikrobiyel fermantasyon olmak üzere üç farklı yöntem ile gerçekleştirilmektedir (Yin vd., 2017; Yu vd., 2018). Ancak mikrobiyel fermantasyon yöntemi ile sitrik asit üretimi yüksek ticari potansiyele sahip olduğundan günümüzde sitrik asit üretiminin %99'undan fazlası bu yöntem ile gerçekleştirilmektedir (Berovic ve Legisa, 2007; Wang vd., 2019). Sitrik asidin mikrobiyel fermantasyon yoluyla üretimi uygun besiyeri ortamında bakteri, küf ve mayalar kullanılarak yapılmaktadır. Ticari sitrik asit üretiminde daha

çok *Aspergillus niger* küfü tercih edilmekle birlikte, *Yarrowia lipolytica* mayası da üretim için kullanılmaktadır (Alnassar vd., 2016; Singh vd., 2016). Mikrobiyel fermantasyon yolu ile sitrik asit üretimi yüzey kültür, derin kültür ve katı hal fermantasyon yöntemleri ile yapılabilmektedir (Wang vd., 2019). Bu fermantasyon yöntemlerinden en fazla kullanılan ve en etkili olanı ise derin kültür fermantasyon yöntemidir (Chen ve Nielsen, 2016; Dezam vd., 2017; Wang vd., 2019). Son yıllarda sitrik asit üretimi için kullanılabilen katı hal fermantasyon yöntemi, fermantasyonda çok çeşitli ve ucuz tarımsal endüstriye dayalı atıkların substrat olarak kullanılmasına imkân vermesine rağmen yöntem ile ilgili çeşitli teknolojik zorluklar bu yöntem ve hammaddelerin kullanılmasını kısıtlamaktadır (Dhillon vd., 2011).

Sitrik asidin, fermantasyondan sonra ortamdaki ayrılması ve saflaştırılması farklı saflaştırma yöntemlerinin kullanıldığı kritik bir aşamadır. Sitrik asidin saflaştırılması için kullanılan yöntemler, fermantasyon yöntemine ve kullanılan substrata bağlı olarak değişmektedir. Ayırma ve saflaştırma işlemleri için çöktürme, membran filtrasyon, renk giderme, elektrodiyaliz, solvent ekstraksiyonu, mikroorganizmaların hareketsizleştirilmesi, adsorpsiyon, absorpsiyon ve iyon değiştirme gibi yöntemler kullanılarak ticari sitrik asit elde edilmektedir (Dhillon vd., 2011; Wang vd., 2019). Bu çalışma ile; sitrik asidin özellikleri, kullanım alanları, sağlık üzerine etkileri ve üretiminin derlenmesi amaçlanmıştır.

SİTRİK ASİT VE ÖZELLİKLERİ

Sitrik asit (2-hidroksi-1,2,3-propan trikarboksilik asit), Latince "*citrus*" kelimesinden türetilen ve oksijenli solunum yapan canlılarda meydana gelen biyokimyasal sitrik asit döngüsünde bir ara madde olarak oluşan bir trikarboksilik asittir (Max vd., 2010; Zhang vd., 2017a; Sawant vd., 2018). Sağlıklı bir yetişkin tarafından dışarıdan alınanlar hariç biyokimyasal olarak her gün ortalama 1.5 kg kadar sitrik asit üretildiği ve metabolize edildiği bildirilmiştir (Vandenbergh vd., 2017).

Sitrik asit, 8. yüzyılda bir simyacı olan Câbir bin Hayyan tarafından keşfedilmiş ve 1784 yılında ise İsveçli kimyacı Carl Wilhelm Scheele tarafından

limon suyundan ilk kez kristalize formda elde edilmiştir (Vandenberghé vd., 2018; Wang vd., 2019). Sitrik asit birçok bitkinin meyve, tohum, gövde ve özsuyu kısımlarında doğal olarak bulunan bir organik asittir. Özellikle kuru maddesinde %8 kadar sitrik asit içeren limon ve misket limonu gibi narenciye türü meyveler sitrik asit açısından önemli doğal kaynaklardır. Ayrıca sitrik asit peynir ve şarap üretiminde de oluşan ve bu ürünlerin atıklarında kalan bir organik asit olarak da dikkat çekmektedir.

Kimyasal formülü $C_6H_8O_7$ şeklinde olan sitrik asidin; molekül ağırlığının 192.124 g/mol, yoğunluğunun 1.665 g/mL, erime sıcaklığının $153^\circ C$, ısıl bozulma sıcaklığının $175^\circ C$ ve kaynama sıcaklığının ise $310^\circ C$ olduğu bildirilmiştir (Cavallo vd., 2017; Vandenberghé vd., 2018). Suda yüksek bir çözünürlüğe sahip olan sitrik asidin $20^\circ C$ sıcaklıktaki suda çözünürlüğünün 59.2 g/100mL olduğu rapor edilmiştir (Anonim, 2020a). Sitrik asit üç karboksil grubuna sahip olması nedeniyle değerleri sırasıyla 3.13, 4.76 ve 6.39 olan üç iyonizasyon sabitine sahiptir (Show vd., 2015).

Sitrik asit ticari olarak anhidrat veya monohidrat olmak üzere iki farklı formda üretilmekte olup, monohidrat formu $78^\circ C$ 'deki ısıl işlem uygulamasıyla anhidrat forma dönüştürülebilmektedir (Cavallo vd., 2017). Sitrik asit, sulu çözeltilerde sitrat iyonlarına dönüşerek sodyum, potasyum ve kalsiyum gibi iyonlarla çeşitli tuzlar oluşturmaktadır (Cavallo vd., 2017). Sitrik asidin bu formları gıda, ilaç, kimya, tarım ve kozmetik sektörleri gibi alanlarda çeşitli amaçlarla hammadde olarak kullanılmaktadır.

SİTRİK ASİDİN KULLANIM ALANLARI

Dünyada her yıl üretilmekte olan 2 milyon ton kadar sitrik asit; düşük toksisiteye sahip olması, suda çözünürlüğünün yüksek olması, lezzet ve aroma üzerine olumlu etkilerinin bulunması, oksidasyonu önlemesi ve ürünlerde pH ve asitliğin düzenlenmesinde kullanılması gibi avantajlarından dolayı çoğunlukla gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Steiger vd., 2017; Ding vd., 2018). Gıda koruyucuları arasında GRAS (Generally Recognised As Safe) olarak tanımlanan

ve EFSA (European Food Safety Authority) tarafından E330 kodu ile ifade edilen sitrik asit; gazlı ve gazsız içeceklerde, marmelat ve reçellerde, konservelerde, şekerleme ürünlerinde, dondurulmuş yiyeceklerde ve yağlarda farklı kullanım amaçlarıyla katkı maddesi olarak ilave edilmektedir (Cavallo vd., 2017).

Sitrik asit; gazlı ve gazsız içecekler, meyve suları ve hazır bitki çayları gibi içeceklerde ekşi tat vermek, asitliği düzenlemek ve ürünü korumak gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Şaraplara ise çökelmeyi ve oksidasyonu engellemek amacıyla sitrik asit ilavesi yapılmaktadır (Soccol vd., 2006; Ciriminna vd., 2017).

Sitrik asit; reçel, jöle ve marmelat gibi ürünlerde tat ve kıvamın artırılması ve ürünün asitliğin düzenlenmesi için sıklıkla kullanılan bir katkı maddesidir (Vandenberghé vd., 2018). Sitrik asit şekerleme ürünlerinde ise; üründe istenen ekşi ve asidik tadın sağlanması, bu ürünlerde bulunan sakkarozun kristalizasyonunun engellenmesi ve pektin jelinin dayanımının artırılması gibi amaçlarla kullanılmaktadır (Soccol vd., 2006; Vasanthabharathi vd., 2013; Vandenberghé vd., 2018).

Sitrik asit kimyasal ve mikrobiyel olarak gıdaların kalitesinin korunması ve raf ömürlerinin artırılması bakımından da önem taşımaktadır. Özellikle bitkisel ve hayvansal yağlarda, antioksidan sinerjisti olarak oksidasyonun önlenmesi ve bu ürünlerin stabilizasyonunun korunarak ürünlerdeki kalite kayıplarının azaltılmasına yardımcı olmaktadır (Dhillon vd., 2011). Ayrıca sitrik asit, toksin üreten *Clostridium botulinum* bakterilerinin neden olduğu botulizme karşı gıdaları korumak için de meyve ve sebze konservelerine koruyucu ve asitlik düzenleyici olarak eklenmektedir (Anderson vd., 2011). Sitrik asit kullanımı ile bu gıdaların pH değeri hedef mikroorganizmaların faaliyet gösteremeyeceği seviyelere düşürülmektedir.

Dondurulmuş ürünlerde de bir katkı maddesi olarak sitrik asit kullanımı oldukça yaygındır. Sitrik asit dondurulmuş meyve ve sebzelerde iz metalleri bağlaması sonucunda üründe bulunan askorbik

asit oksidasyonunun engellenmesi, oksidatif enzimlerin faaliyetlerinin yavaşlatılması ve renk, aroma ve lezzetin bozulmasının önlenmesi için çelatlama olarak da bu ürünlere katkılanmaktadır (Cavallo vd., 2017; Ciriminna vd., 2017; Vandenberghe vd., 2018). Dondurulmuş et ürünlerinde de ürünün su tutma kapasitesini arttırmak amacıyla sitrik asit kullanılmaktadır (Cheng ve Sun, 2008).

Sitrık asit süt ürünlerinde asitlik düzenleyici, antioksidan ve emülgatör madde olarak kullanılmaktadır (Vandenberghe vd., 2018). Özellikle sütün asitliğini arttırarak pıhtılaşmayı sağlaması bakımından peynir üretiminde pıhtılaştırıcı madde olarak tercih edilen bir katkı maddesidir. Sodyum sitrat kazeini stabilize etmekte ve peynirde su ve yağ fazlarının ayrılmasını engelleyerek emülsifiye edici bir tuz olarak işlev görmektedir (Dhillon vd., 2011).

Sitrık asit gıda endüstrisi dışındaki alanlarda da sıklıkla kullanılan bir üründür. İlaç endüstrisinde, ilaçlarda bulunan aktif bileşenlerin hızlı çözünmesi ve ilaçlarda ekşi tat oluşturulması amaçlarıyla sitrik asit kullanılmaktadır. Ayrıca bikarbonat içeren toz ve tabletlerde suda reaksiyon vererek karbondioksit çıkarması ve koagülasyonu engellemesi amaçlarıyla da sitrik asit kullanılmaktadır (Soccol vd., 2006; Cavallo vd., 2017; Vandenberghe vd., 2018). Kimya ve kozmetik endüstrilerinde ise sabun ve dezenfektanların etkinliğini arttırmak, ürünlerin asitliğini düzenlemek ve beyazlatıcı bir özellik kazandırmak amaçlarıyla da sitrik asitten faydalanılmaktadır (Soccol vd., 2006; Ciriminna vd., 2017). Sitrık asit tarım alanında da Fe, Cu, Mg ve Zn gibi iz elementler açısından toprağın eksikliklerini gidermek, bitkilerdeki fosfor kullanımını arttırmak ve fitopatojenlere karşı bitkiyi korumak için kullanılmaktadır (Soccol vd., 2006; Cavallo vd., 2017; Morgunov vd., 2018). Ayrıca ağır metallerle kirlenmiş topraklarda, kurşunu uzaklaştırarak toprağın temizlenmesi için de sitrik asitten yararlanılabilmektedir (Dhillon vd., 2011; Li vd., 2017; Zhang vd., 2017b).

SİTRİK ASİDİN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Sitrık asit Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından kullanımına herhangi bir kısıtlama getirilmemiş ve GRAS listesinde kullanımı kabul edilmiş bir gıda katkı maddesidir (Cavallo vd., 2017; Vandenberghe vd., 2018).

Sitrık asidin sağlık açısından yasal olarak sınırlandırılmış bir günlük tüketim limiti (QS, *quantum satis*, belirlenmemiş miktar) bulunmayıp yalnızca bazı gıdalarda kalite için kullanım limitleri bulunmaktadır (Ciriminna vd., 2017). Kakao ve çikolata ürünlerinde kullanılabilecek maksimum sitrik asit miktarı %0.5 ve bu değer meyve suları için 3 g/L ve şaraplar için ise 1 g/L olarak belirtilmiştir (Anonim, 2020b).

Sitrık asidin çeşitli virüslere karşı antimikrobiyel etki göstermesi nedeniyle kullanıldığı bildirilmektedir. Sitrık asit özellikle hapsirme ve öksürme sonucunda küçük damlacıklar şeklinde yayılan soğuk algınlığı ve grip virüslerini inhibe etmektedir. Bu nedenle yüzeylerin dezenfeksiyonu için kullanılabilmektedir (Ciriminna vd., 2017). Ayrıca sitrik asidin sodyum tuzunun çok bulaşıcı bir virüs türü olan ve insanlarda kusma ve ishal gibi belirtiler gösterebilen norovirüslerin bulaşmasını önlemeye veya norovirüs ile enfekte olan hastalarda semptomların şiddetini azaltmaya yardımcı olduğu rapor edilmiştir (Koromyslova vd., 2015; Ciriminna vd., 2017). Sitrık asit tuzları kan transfüzyonunda antikoagülan madde olarak da kullanılabilmektedir (Dhillon vd., 2011; Cavallo vd., 2017).

Sitrık asidin insan sağlığı üzerine doğrudan olumlu etkilerinin bulunmasının yanı sıra dolaylı olarak da olumlu etkileri bulunmaktadır. Sitrık asit iyi bir metal bağlayıcıdır ve bu özelliği nedeniyle radyonüklidlerle kirlenmiş nükleer sahalar ile sanayi bölgelerine yakın olan ağır metallerle kirlenmiş topraklardan bu metallerin temizlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Li vd., 2017; Zhang vd., 2017b). Böylelikle insan sağlığı üzerine zararlı etkileri bulunan bu ağır metallerin bitki, hayvan veya su yoluyla insanlara geçmesine engellemeye yardımcı olmaktadır.

Sitrik asidin polimerler arası çapraz bağlanmayı artırması nedeniyle de çevresel iyileştirme uygulamalarında kullanılabilmesi bildirilmektedir (Awadhiya vd., 2016; Cavallo vd., 2017; Ciriminna vd., 2017).

Sitrik asit sağlık açısından faydalı özelliklerinin yanı sıra bazı olumsuz etkilere de yol açabilmektedir. Uzun süreli ve yüksek miktarda tüketimi karın ağrısına neden olabilmektedir (Sweis ve Cressey, 2018). Özellikle küçük çocuklarda sitrik asidin tüketimi, diş minesini olumsuz etkileyerek dişlerin aşınmasına yol açabilmektedir (Asher ve Read, 1987; Johansson vd., 2001; Zheng vd., 2009). Ayrıca, cilt ile temas ettiğinde sitrik asidin tahriş edici bir etkisinin bulunabileceği, ciltte ve gözde kızarıklık ve ağrıya neden olabileceği de bildirilmektedir (Tang ve Yang, 2018). Toz formda bulunan sitrik asidin solunması ile solunum sistemi ve mukozada tahrişin meydana gelebileceği ve bu durumun boğaz ağrısı, öksürük ve nefes darlığına neden olabileceği rapor edilmiştir (Sweis ve Cressey, 2018). Ayrıca çok nadir olmakla birlikte bazı insanlarda sitrik asit içeren gıdaların tüketimi ile çeşitli alerjik reaksiyonların da ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Asher ve Read, 1987; Sweis ve Cressey, 2018).

SİTRİK ASİT ÜRETİMİ

Endüstriyel boyutlardaki ilk sitrik asit üretimi 1860 yılında İtalyan narenciye endüstrisi tarafından sitrik asidin, kalsiyum tuzları ile çöktürülmesiyle doğal kaynaklardan izolasyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (Cavallo vd., 2017). 1880 yılında Adams ve Grimaux tarafından kimyasal yöntemle gliserolden sitrik asit sentezi yapılmıştır (Max vd., 2010). 1893 yılında Wehmer, *Penicillium glaucum* küf, şeker ve inorganik tuzlar içeren bir kültür ortamında sitrik asit birikimi olduğunu bildirmiştir (Soccol vd., 2006). 1917 yılında ise James Currie, *A. niger* küfünün bazı suşlarının düşük pH ortamında, yüksek şeker konsantrasyonunda ve bazı mineral tuzların varlığında sitrik asit üretimi yapabildiğini tespit etmiştir (Sawant vd., 2018). Daha sonra yapılan çeşitli çalışmalarda farklı *Aspergillus* türlerinin de sitrik asit üretebildikleri, ancak sitrik asit üretimi için en uygun ve verimi en yüksek olan türün *A.*

niger olduğu belirtilmiştir (Sawant vd., 2018). Böylece 1923 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki "Pfizer" firması şeker ve inorganik tuz çözeltilerine *A. niger* küfünü ilave ederek mikrobiyel yöntemle ticari olarak sitrik asit üretimine başlamış ve daha sonra ise 1970'li yıllarda Japonya'da *Yarrowia* türlerinden endüstriyel sitrik asit üretimi gerçekleştirilmiştir (Berovic ve Legisa, 2007; Cavallo vd., 2017).

Günümüzde sitrik asit üretimi doğal kaynaklardan izolasyon, biyokimyasal sentez ve mikrobiyel fermantasyon olmak üzere üç temel yöntemle üretilebilmektedir (Yin vd., 2017; Yu vd., 2018). Sitrik asidin doğal yolla üretimi limon suyundan sitrik asidin kristalize edilerek ayrılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Meksika, Yunanistan ve bazı Güney Amerika ülkelerinde bu yöntemle turuncgillerin olgunlaşmamış meyvelerinden sitrik asit üretimi yapılmaktadır (Berovic ve Legisa, 2007). Bu yöntem günümüzde ticari açıdan çok tercih edilmemekle birlikte uygulama açısından doğal kaynaklardan sitrik asit izolasyonu için pratik bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

Sitrik asidin biyokimyasal sentez ile üretimi; glikozun pirüvata dönüşümü, pirüvatin oksidatif dekarboksilasyonu ve karboksilasyonu ve sitrik asit birikimi olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (Vandenberghe vd., 2018). Sitrik asit döngüsünün (Krebs döngüsü) ilk aşamasında sitrat sentetaz enzimi ve metal iyonları gibi bazı kofaktörlerin etkisine bağlı olarak asetil-CoA ve oksaloasetik asitten sitrik asit elde edilebilmektedir (Vandenberghe vd., 2018). Bu yöntem ticari sitrik asit üretimi için ekonomik olmadığından genellikle tercih edilmemektedir.

Günümüzde sitrik asit üretiminin %99'undan fazlası mikrobiyel fermantasyon yöntemi ile gerçekleştirilmektedir (Berovic ve Legisa, 2007). Bu yöntem; üretim tesisleri ve proseslerinin genellikle daha az karmaşık olması, kullanımı kolay olan kontrol sistemlerine ihtiyaç duyulması ve daha az iş gücü ve enerji tüketimi gerektirmesi nedenleriyle diğer üretim yöntemlerine göre önemli avantajlara sahiptir (Soccol vd., 2006). Ayrıca kimyasal ve biyokimyasal sentez yöntemine göre de daha güvenli ve çevre dostu bir yöntem

olduğu için sitrik asit üretiminde mikrobiyel fermentasyon yöntemi tercih edilmektedir (Sun vd., 2017).

Mikrobiyel Fermentasyon Yöntemi ile Sitrlik Asit Üretimi

Sitrlik asidin mikrobiyel fermentasyon yoluyla üretimi uygun besiyeri ortamında bakteri, (*Arthrobacter paraffinens*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacterium flavum*, *Corynebacterium* vd.), maya (*Y. lipolytica*, *Candida oleophila*, *C. guilliermondii*, *C. citroformans*, *C. tropicalis*, *Hansenula anamola* vd.) veya küf (*A. niger*, *A. wentii*, *A. awamori*, *A. foetidus*, *A. fonssecaeus*, *A. phoenicis*, *Penicillium janthinellum* vd.) ilave edilerek yapılmaktadır (Tan vd., 2016; Cavallo vd., 2017; Hu vd., 2018; Francisco vd., 2019; Monrroy vd., 2019). Ancak ticari sitrik asit üretiminde çoğunlukla maya ve küfler kullanılmakta olup, maya olarak *Y. lipolytica* ve küf olarak ise *A. niger* mikroorganizmaları üretim özellikleri açısından diğer türler arasında öne çıkmaktadır (Alnassar vd., 2016; Singh vd., 2016; Tan vd., 2016; Cavallo vd., 2017).

Y. lipolytica, lipid açısından zengin ortamlarda gliserol ve sakkaroz gibi karbon kaynaklarını kullanarak çoğalabilmekte ve böylece sitrik asit üretimi gerçekleştirilebilmektedir (Kamzolova ve Morgunov, 2017). Mayaların yüksek substrat derişimleri ve metal iyonlarına karşı dirençli olması, tek hücreli olmaları nedeniyle üretim proseslerinin kontrolünün daha kolay yapılabilmesi ve proseslerdeki dönüşüm oranları ile verimin daha yüksek olması gibi özelliklerinden dolayı kullanım açısından küflere göre daha avantajlı oldukları bildirilmektedir (Liu vd., 2014; Cavallo vd., 2017). Ayrıca mayalar genetik olarak kolaylıkla modifiye edilebilmekte ve böylelikle suşlar sitrik asit üretimini arttırmak üzere tasarlanabilmektedir (Liu vd., 2014; Cavallo vd., 2017). Bazı *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. oleophila*, *C. intermedia*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. fibriæ*, *C. catenulate*) ve *Brettanomyces*, *Debaromyces*, *Endomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Hansenula*, *Saccharomyces* türlerinin çeşitli karbon kaynaklarını kullanarak önemli düzeyde sitrik asit üretebildikleri bildirilmiştir (Cavallo vd., 2017; Hu vd., 2018; Kamzolova ve Morgunov, 2017). Ancak tüm bu

avantajlarına rağmen sitrik asit üretiminde bazı suşların yan ürün olarak yüksek miktarda izositrik asit üretmeleri maya ile fermentasyonun en önemli dezavantajı olup, bu da mayaların sitrik asit üretiminde kullanımlarını sınırlandırmaktadır (Tan vd., 2016; Cavallo vd., 2017; Kamzolova ve Morgunov, 2017).

A. niger küfünün çeşitli suşları (ATTC 9142, YW-112, BC1, NRRL 2001 vd.) kullanım kolaylığı, substrat olarak çeşitli düşük maliyetli hammaddeleri fermente edebilme yeteneği, 2.5-3.5 gibi düşük pH aralığında çoğalabilmesi, toksik yan ürün oluşturmaması, yüksek üretim verimi ve besiyeri ortamının şeker konsantrasyonunu arttırarak verimin de arttırılabilmesi gibi nedenlerle ticari sitrik asit üretimi için en fazla tercih edilen mikroorganizmalardır (Soccol vd., 2006; Max vd., 2010; Show vd., 2015; Vandenberghe vd., 2017; Hu vd., 2018; Sawant vd., 2018). Ticari sitrik asit üretiminde *A. niger* küfünün üretim özelliklerine en yakın türün *A. wentii* olduğu belirtilmiştir (Amato vd., 2020).

A. niger mikroorganizması tarafından sitrik asit üretim verimini etkileyen önemli faktörler fermentasyon ortamının kimyasal bileşenleri ve fiziksel koşullarıdır. Sitrlik asit üretiminde; karbon, azot ve fosfat kaynakları ve bunların konsantrasyonları, iz elementlerin konsantrasyonları, fermentasyon ortamının sıcaklığı ve pH değeri, fermentasyon süresi, havalandırma ve karıştırma gibi faktörler fermentasyon verimini etkilemektedir (Vandenberghe vd., 2017).

Kullanılan karbon kaynağının türü sitrik asit üretimini önemli ölçüde etkilemektedir. Karbon kaynağının türü, kullanılan mikroorganizmaya göre değişmekte olup, besiyeri ortamında mikroorganizma tarafından hızla tüketilebilen karbonhidratların varlığı sitrik asit üretimi için elzemdir. *A. niger* ile sitrik asit üretiminde kullanılacak en iyi substratın sakkaroz olduğu ve bu mikroorganizmanın sakkarozun yanı sıra glikoz, fruktoz, galaktoz, laktoz, mannoz, ksiloz ve arabinoz gibi basit şekerleri de metabolize edebildiği rapor edilmiştir (Vandenberghe vd., 1999; Yalçın vd., 2010; Morgunov vd., 2018). Selüloz, etanol, sorboz, mannitol, laktik asit ve

malik asit gibi diğer karbon kaynakları da sitrik asit üretimini sınırlı miktarda desteklemektedir. Ayrıca sitrik asit üretiminde melas, çeşitli nişastaca zengin maddeler, hidrokarbonlar ve tarımsal atıklar da hammadde olarak kullanılabilir (Liu vd., 2014). Tarımsal atık olarak mısır koçanı, buğday samanı ve soya, sorgum ve pirinç gibi tahılların işlenmesi ile oluşan atık yan ürünler tercih edilmektedir (Yalçın vd., 2010; Addo vd., 2016; Wang vd., 2019; Amato vd., 2020). Düşük maliyeti ve %40-55 gibi yüksek şeker içeriği nedeniyle şeker endüstrisinin bir yan ürünü olan melas, sitrik asit üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Morgunov vd., 2018). Ancak melas, sitrik asit üretimi üzerinde geciktirici bir etkiye sahip olan kalsiyum, magnezyum, manganez, demir ve çinko gibi mineralleri içermektedir. Bu maddelerin melas içerisindeki konsantrasyonlarının düşük olmasına rağmen, hammadde olarak kullanılmadan önce melastan bu iz metallerin uzaklaştırılması gerekmektedir (Vandenberghé vd., 1999; Vandenberghé vd., 2017). Bunun için genellikle potasyum ferrosiyaniür kullanılarak bu iz elementler çöktürülmektedir (Soccol vd., 2006).

Sitrik asit üretimi için karbon kaynağının türü kadar bu kaynağın konsantrasyonu da önemli bir parametredir. Şeker konsantrasyonunun %14 ila %22 arasında olduğu şartlarda daha iyi bir üretim verimi elde edilebilmektedir (Soccol vd., 2006; Dhillon vd., 2011). Şeker konsantrasyonunun %2.5 düzeyinden daha düşük olması durumunda sitrik asit üretiminin gerçekleşmediği rapor edilmiştir.

Sitrik asit üretimi, azot kaynağının doğasından ve konsantrasyonundan doğrudan etkilenmektedir. Üre, amonyum nitrat ve sülfat, pepton, malt ekstraktı gibi fermantasyon için gerekli olan azot kaynakları ortam pH değerinin düşmesine yol açmaktadır (Vandenberghé vd., 1999). Azot hücre yapısının bir parçası olarak metabolizmaya katıldığından sitrik asit üretimi için uygun bir azot dengesi elzemdir. Sitrik asit fermantasyonu için gerekli olan azot konsantrasyonunun amonyum sülfat için 0.1-0.4 g/L olduğu bildirilmiştir (Cavallo vd., 2017). *A. niger*, düşük azot konsantrasyonundaki bir ortama konulduğunda

metabolik yol değişebilmekte ve sitrik asit yerine oksalik asit üretimi meydana gelebilmektedir (Soccol vd., 2006). Yüksek azot konsantrasyonları ise küf gelişimini ve şeker tüketimini artırırken, üretilen sitrik asit miktarını ise azaltmaktadır (Vandenberghé vd., 1999; Soccol vd., 2006; Vandenberghé vd., 2018).

Sitrik asit bileşimini etkileyen bir diğer faktör de fosfat kaynağıdır. Sitrik asit üretimi için en uygun fosfat kaynağının potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) olduğu ve değerinin 0.5-5.0 g/L aralığında olması gerektiği bildirilmiştir (Soccol vd., 2006; Dhillon vd., 2011). Manganez (<1 mg/kg), demir (1.3 mg/kg), bakır (0.1-500 mg/kg), magnezyum sülfat (%0.02-0.025) ve çinko (0.3 mg/kg) gibi elementler yalnızca belirli değerlerde bulunduğu fermantasyon prosesini olumlu yönde etkilemektedir (Soccol vd., 2006; Dhillon vd., 2011; Vandenberghé vd., 2018). Bununla birlikte sitrik asit üretimi aerobik bir işlem olduğundan, oksijen düzeyinin üretim üzerinde belirleyici bir etkisi olup, oksijen konsantrasyonunun %25 doygunluğun üzerinde tutulması gereklidir (Soccol vd., 2006; Max vd., 2010; Vandenberghé vd., 2017).

Fermantasyon ortamının sıcaklığı ve pH değerinin yüksek olması ve uzun fermantasyon süresi de sitrik asit üretimini engellemektedir. Fermantasyon için en uygun sıcaklık aralığının 28-30°C olduğu bildirilmiştir (Vandenberghé vd., 2018). *A. niger*'in yüksek miktarda sitrik üretebilmesi için pH düzeyinin ise 2.5-3.5 aralığında olması gerektiği ve daha yüksek pH değerlerinde gerçekleştirilen fermantasyonda yan ürün olarak oksalik ve glikonik asitlerin oluştuğu belirtilmiştir (Show vd., 2015).

Sitrik asit üretimi genellikle düşük pH değerlerinde ve 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra başlamakta olup, bu işlem 4-6 gün boyunca devam etmektedir (Vandenberghé vd., 2018). Sitrik asit üretimini etkileyen parametrelerden biri de metanol, etanol, izopropanol ve n-propanol gibi düşük molekül ağırlıklı alkollerin varlığı olup, bu alkollerin konsantrasyonları %1 ila %4 arasında iken sitrik asit verimini arttırdıkları bildirilmiştir (Dhillon vd., 2011).

Belirtilen tüm bu faktörlerin yanı sıra bir diğer önemli parametre ise uygulanacak mikrobiyel fermantasyon yöntemidir. Mikrobiyel fermantasyon ile sitrik asit üretimi yüzey kültür, derin kültür ve katı hal fermantasyon yöntemleri ile yapılmaktadır (Wand vd., 2020).

Yüzey Kültür Fermantasyonu

Sitrık asit üretimi için uygulanan ilk özgün fermantasyon yöntemi sıvı yüzey kültür yöntemidir. Yüzey kültür fermantasyonu, mikroorganizmaların substrat üzerinde geliştiği sabit bir fermantasyon işlemidir. Çok eski bir uygulama olmasına rağmen günümüzde de bazı küçük ve orta ölçekli tesislerde bu yöntemin kullanıldığı belirtilmektedir (Show vd., 2015). Bu yöntem basit ekipmanlar kullanılarak, daha az enerji ve düşük maliyetle üretime imkân vermesi gibi bazı avantajları nedeniyle günümüzde de kullanılmakta ve dünyada sitrik asit ihtiyacının %5 ila %10 kadarı bu yöntem ile karşılanmaktadır (Berovic ve Legisa, 2007; Dhillon vd., 2011). Yüzey kültür yöntemi, besiyeri ortamı için çalkalama ve karıştırmaya ihtiyaç duyulmaması nedeniyle enerji açısından daha ekonomik bir yöntemdir. Bu yöntemin bir diğer avantajı ise ürünün ortamdaki ayrılmasına gerek olmamasıdır. Bu yöntemde işletim, kurulum ve enerji maliyetleri daha ekonomik olmasına rağmen, üretim için daha fazla işçilik gereksinimi bulunmaktadır (Sawant vd., 2018).

Yüzey fermantasyon yönteminde, mikroorganizmalar substrat yüzeyinde çoğalmakta ve substrat olarak genellikle rafine veya ham sakkaroz ve şeker kamışı veya şeker pancarı melası kullanılmaktadır (Vandenberghede vd., 2017). Ayrıca buğday kepeği, patates nişastası ve glikoz şurubu gibi besin maddeleri de substrat olarak değerlendirilebilmektedir (Alnasaar vd., 2016). Hazırlanan steril substrat ortamı çelik veya alüminyumdan yapılmış 1-2.5 cm derinliğe sahip sığ tepsilere ince tabakalar halinde yayılmaktadır. Çoğaltılmış *A. niger* sporları da ortama aşılandıktan sonra tepsilere 50-100 L kapasiteye sahip özel fermantasyon odalarına yerleştirilmektedir (Vandenberghede vd., 2017). Sitrık asit üretimi 28-30 °C sıcaklıkta ve %40-60 nispi nem aralığında 8-12 gün süre ile gerçekleştirilmektedir.

Bu yöntemde havalandırma, soğutma ve ısıtma sistemleri büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle üretimin yapıldığı fermantasyon odaları sıcaklık kontrollü, nemli ve hava sirkülasyonludur. Fermantasyon işlemi tamamlandığında, ham fermantasyon sıvısı boşaltılmakta ve üretilen sitrik asit kristallendirilmektedir. Genellikle fermantasyon verimi başlangıçtaki şeker içeriğine bağlı olarak %70-75 değerlerine kadar ulaşabilmektedir. Oluşan küf miselleri yeniden taze ortama eklenerek tekrar kullanılabilir.

Üretim sürecinde hava ve besin maddelerinin eşit olmayan dağılımı, taban alanının verimsiz kullanımı ve kontaminasyon nedenleriyle sorunlar yaşanabilmektedir (Show vd., 2015). Fermantasyon odalarına sıklıkla *Penicillium* türleri, diğer *Aspergillus* türleri, mayalar ve laktik asit bakterileri tarafından bulaşma olabilmektedir (Vandenberghede vd., 1999; Vandenberghede vd., 2017). Bu nedenle fermantasyon odalarının özellikle küf sporlarının çimlendiği ilk 2 gün boyunca aseptik koşullar altında korunması gerekmektedir (Vandenberghede vd., 2017).

Papadaki ve Mantzouridou (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *A. niger* mikroorganizması kullanılarak yüzey kültür fermantasyon yöntemi ile beyaz üzüm posasından elde edilen şekerlerle zenginleştirilmiş ve İspanyol usulü işleme prosesi ile üretilmiş yeşil zeytin atık sularından sitrik asit üretimi gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon yapılarak, küçük ölçekten (250 mL) ölçek büyütme (5 L) işlemi uygulanmıştır. Prosesin miktarı artırılınca optimizasyonda aynı şekilde sonuç elde edilmiştir. Optimizasyon faktörleri; başlangıç sakkaroz içeriği, devir hızı, fermantasyon zamanı, optimizasyonun cevapları ise sitrik asit içeriği (85 g/L), verimi (0.54 g/g), biyokütle içeriği (49 g/L) olarak belirlenmiştir. Sitrık asit üretimi için beyaz üzüm posası ve yeşil zeytin atık suyunun karıştırılmasıyla, hammaddede yeterli seviyede şeker (110 g/L) ve asitlik (pH 5.2) elde edilmiştir. Optimum fermantasyon koşulları; 30°C sıcaklıkta, pH değeri 4 ila 6 arasında, fermantasyon süresi ise 5 ila 12 gün arasındadır. Yapılan fermantasyon sonrasında filtrasyon işlemi ile mikroorganizmanın biyokütlesi ayrılmış kalan sıvıya saflaştırma işlemi uygulanmıştır. Bu çalışma sonucunda, %97

verim ve %95 saflıkta sitrik asit elde edildiği bildirilmiştir.

Sitrik asidin üretiminde uygulanan ilk yöntem yüzey kültür yöntemi olmakla birlikte günümüzde sitrik asit üretiminin %80'den fazlası nişasta veya sakkaroz içeren bir besiyeri ortamına *A. niger* küfü ilave edilerek gerçekleştirilen derin kültür fermantasyon yöntemidir (Berovic ve Legisa, 2007; Chen ve Nielsen, 2016; Dezam vd., 2017; Campanhol vd., 2019).

Derin Kültür Fermantasyonu

Bu yöntem sıvı kültür veya batık kültür fermantasyonu yöntemi olarak da bilinmektedir. Derin kültür fermantasyon yöntemi yüksek üretim verimi, düşük maliyeti ve kontaminasyon riskinin daha az olması gibi avantajları nedeniyle en fazla tercih edilen üretim yöntemidir (Yalçın vd., 2010; Show vd., 2015; Vandenberghe vd., 2017). Yüksek enerji maliyeti ise bu prosesin dezavantajıdır. Ayrıca diğer yöntemlere göre daha karmaşık kontroller gerektirdiğinden üretimde iyi eğitilmiş iş gücüne ihtiyaç duyulmaktadır (Berovic ve Legisa, 2007). Derin kültür fermantasyon yöntemi ile üretimde sitrik asit verimi; kullanılan mikroorganizmaların morfolojisi, karbon kaynağı, başlangıç karbon ve azot konsantrasyonları, iz elementlerin türü ve konsantrasyonları ile sistemin sıcaklığı, pH düzeyi ve havalandırma hızı gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Vandenberghe vd., 2017).

Derin kültür fermantasyonu fermentörde kesikli, yarı sürekli veya sürekli sistemlerle gerçekleştirilmektedir (Yalçın vd., 2010). Mekanik olarak sürekli karıştırılmalı tank ve kabarcıklı kolon reaktörü olmak üzere iki tip fermentör kullanılmaktadır. Ancak maliyeti, boyutları ve işlevselliği açısından avantajları nedeniyle kabarcıklı kolon reaktörü daha çok tercih edilmektedir (Vandenberghe vd., 2017). Derin kültür yönteminde sitrik asit üretimi iki basamaklı bir processten oluşmaktadır. Prosesin ilk aşamasında sporlar çoğalma ortamına aşılınmakta ve 3-4 gün sonra çoğalan miseller ayrılmaktadır. İkinci aşamada ise ayrılan miseller fermentöre alınan steril besiyeri ortamına eklenmektedir. Fermantasyon 25-30°C sıcaklıkta ve 3-5 gün

süresince gerçekleştirilmektedir. Fermantasyon sırasında sistemin karıştırma ve havalandırma hızı kontrol edilmekte ve sitrik asit üretimi şartlara bağlı olarak 5-12 gün içerisinde tamamlanmaktadır (Soccol vd., 2006; Dhillon vd., 2011). Fermantasyon tamamlandıktan sonra elde edilen ortam sitrik asit ekstraksiyonu için boşaltılmakta ve miseller ayrılarak tekrar kullanılabilir.

Kamzolova ve Morgunov (2017) tarafından derin kültür yöntemi ile glikoz, sakkaroz ve ksiloz kullanımıyla ve azot, fosfor ve kükürt varlığında birçok maya tür ve suyu kullanılarak yapılan bir çalışmada; *Y. lipolytica* mayası ile %92.5-95.3 verimde, 80-85 g/L sitrik asit üretimine ulaşılmış ve bu değer endüstriyel açıdan yeterli olarak değerlendirilmiştir.

Katı Hal Fermantasyonu

Katı hal fermantasyonu, Koji yöntemi olarak da bilinmektedir (Show vd., 2015). Sitrik asit üretimi için en kolay üretim tekniği olarak belirtilen bu yöntem ilk kez 1935 yılında Japonya'da meyve atıkları ve pirinç kepeği gibi bol miktarda hammaddenin bulunduğu bölgelerde geliştirildiğinden sitrik asit üretimi için uygulanan geleneksel Japon yöntemi olarak da bilinmektedir (Vandenberghe vd., 2017; Monrroy vd., 2019). Katı hal fermantasyonu yönteminde doğal substrat kaynakları olarak çoğunlukla meyve suyu endüstrisi artıkları kullanılmakta olup, lignoselülozik tarımsal endüstriyel atıklar da substrat olarak değerlendirilmektedir (Yalçın vd., 2010; Dhillon vd., 2013; Campanhol vd., 2019). Derin kültür fermantasyon yöntemine göre çeşitli avantajlara sahip olması nedeniyle katı hal fermantasyon yönteminin kullanımı son yıllarda artış göstermiştir (Campanhol vd., 2019). Bu yöntem substrat nem içeriğinin düşük olması nedeniyle daha az bakteriyel kontaminasyon riski taşımaktadır. Ayrıca üretim için daha basit fermantasyon tesisleri kullanılmakta ve daha az enerji tüketimi gerekmektedir (Barrington ve Kim, 2008). Katı hal fermantasyonu yönteminde iz elementlerin varlığı sitrik asit üretimini olumsuz etkilemediğinden substrata bir ön işlem yapılmasına gerek yoktur (Soccol vd., 2006; Berovic ve Legisa, 2007). Katı hal fermantasyonunda en yaygın kullanılan

mikroorganizma *A. niger* olmakla birlikte, bu yöntemin daha düşük su aktivitesi düzeyinde uygulanması nedeniyle besinlerin ve metabolitlerin difüzyon hızlarının düşmesine bağlı olarak özellikle azot ve fosfat ihtiyacı yüksek olan suşların katı hal fermantasyon yöntemi için uygun olmadığı bildirilmiştir (Monrroy vd., 2019).

Mikroorganizmaların çözünmeyen katı substratların bulunduğu ortamdaki gelişimleri, doğal ortamlarına benzer bir gelişme göstermektedir (Barrington ve Kim, 2008). Bu yöntemde, uygun oranda şeker kamışı melası veya nişasta gibi kaynaklar içeren fermantasyon ortamı, gözenekli yapıya sahip çözünmez özellikteki katı materyaller üzerine tutturulmaktadır. Hazırlanan bu ortam üzerine spor süspansiyonu aşılansak 25-30°C sıcaklıkta, %65-70 nispi nem ve 5-5.5 pH değeri aralığında 6-7 günde sitrik asit üretimi gerçekleştirilmektedir (Berovic ve Legisa, 2007; Vandenberghe vd., 2018).

Dhillon ve diğer arkadaşları tarafından (2013), *A. niger* mikroorganizması kullanılarak 12 L hacminde dönen tambur tipi bir biyoreaktörde, katı hal fermantasyon yöntemi ile elma posasından sitrik asit üretimi üzerine etanol ve metanol varlığının ve fermantasyon parametrelerinin optimizasyonu için bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Fermantasyonun optimum koşulları olarak belirlenen; %3 metanol, her 12 saatte 1 saat 200 rpm hızda karıştırma, 1 vvm havalandırma hızı ve 120 saat inkübasyon süresinde 220.6 g/kg kurumadde oranında sitrik asit üretim değerine ulaşıldığı bildirilmiştir.

SİTRİK ASİDİN SAFLAŞTIRILMASI

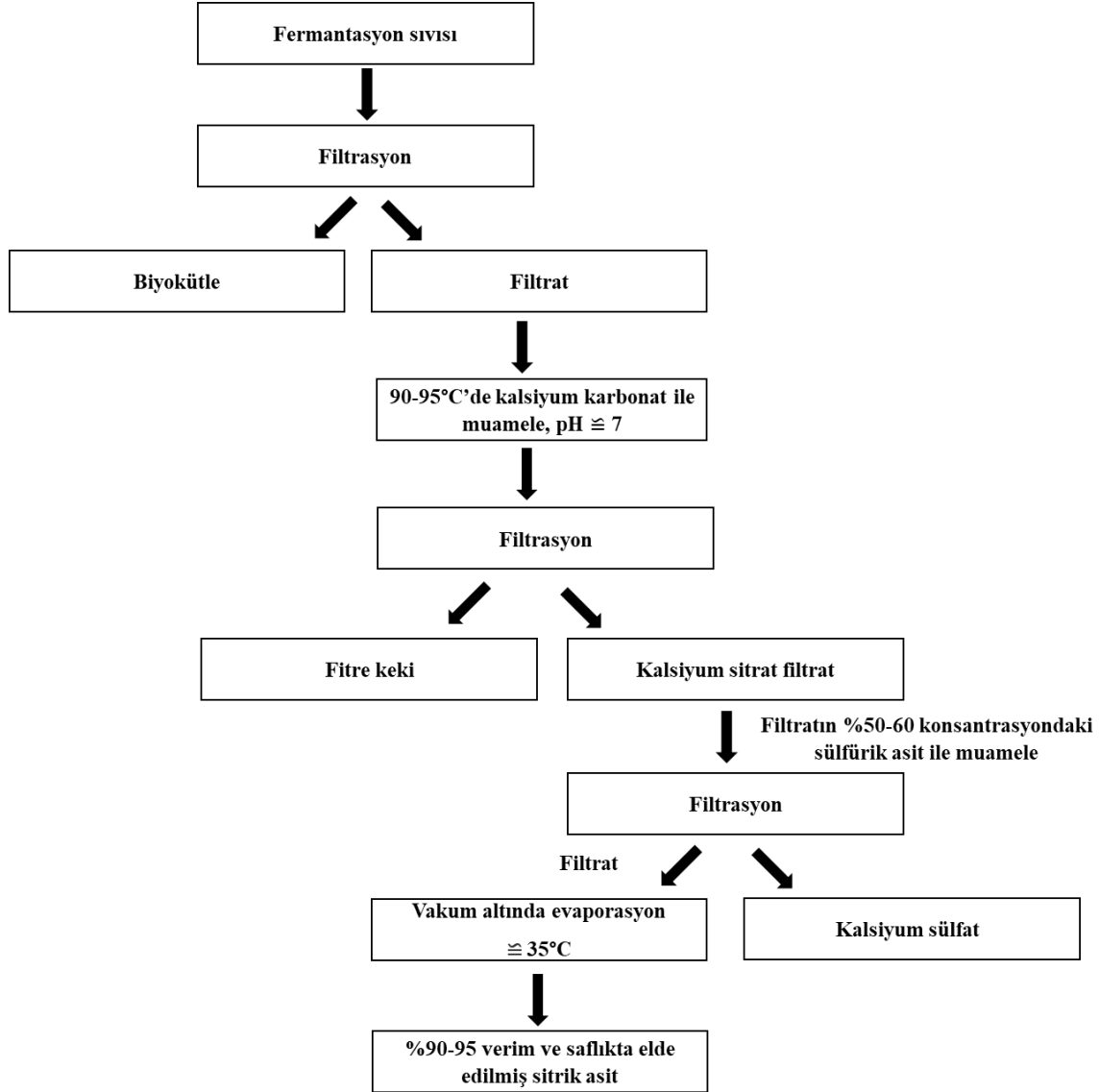
Fermantasyon işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen sitrik asit, miselyum ve mineral tuzları, organik asitler ve proteinler gibi çeşitli safsızlıklar içerebilmektedir. Sitrik asidin fermantasyon ortamından kazanımı saflaştırma işlemleri uygulanarak yapılmaktadır. Sitrik asidin saflaştırılması için kullanılan yöntemler, uygulanan fermantasyon yöntemine ve fermantasyonda kullanılan hammaddeye bağlı olarak farklılık göstermektedir. Ayırma ve saflaştırma işlemleri için çöktürme, solvent ekstraksiyonu, elektrodializ, membran filtrasyonu, renk

giderme, adsorpsiyon, absorpsiyon, mikroorganizmaların immobilizasyonu ve iyon değiştirme gibi yöntemler kullanılabilirlerdir (Dhillon vd., 2011; Wang vd., 2019). Bu yöntemler içerisinde ise çöktürme ve solvent ekstraksiyonu yöntemleri en çok tercih edilen saflaştırma uygulamalarıdır (Wang vd., 2019). Sitrik asidin fermantasyon ortamından saflaştırılması temel olarak Şekil 1'de gösterilmiştir.

Çöktürme işlemi geleneksel bir ayırma yöntemi olup, kolay uygulanabilirliği nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır. Çöktürme işleminin verimi sitrik asit konsantrasyonu, pH, sıcaklık ve kalsiyum karbonat ilave oranı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Sitrik asidin yüksek çözünürlüğü nedeniyle bu ayırmada beklenen kayıp yaklaşık %4-5 kadardır (Soccol vd., 2006). Fermantasyon işlemi tamamlandıktan sonra çöktürme işleminden önce fermantasyon sıvısı ön filtrasyondan geçirilmekte ve biyokütleden ayrılmaktadır (Papadaki ve Mantzouridou, 2019). Filtrasyon yapılmış fermantasyon sıvısına çöktürme işlemi uygulanmaktadır. Bu yöntemde sitrik asit içeren karışıma 90-95°C sıcaklıkta, yaklaşık pH değeri 7 olan kalsiyum karbonat (CaCO_3) ilave edilmekte ve sitrik asit çözünmeyen tri-kalsiyum sitrata dönüştürülerek çöktürülmektedir (Papadaki ve Mantzouridou, 2019; Wang vd., 2019; Amato vd., 2020). Çöken kalsiyum sitrat tuzları, konsantre edilmiş %50-60 sülfürik asit (H_2SO_4) ile muamele edilerek kalsiyum sülfat (CaSO_4) ve sitrik asit ayrıştırılmakta ve oluşan kalsiyum sülfat filtrasyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır (Kamzolova ve Morgunov, 2017; Delgado Dobladez vd., 2018). Sıvı içerisinde oluşarak kalan sitrik asit monohidrat, yaklaşık 35°C sıcaklıkta vakum buharlaştırıcı ile konsantre edilmektedir. Konsante sitrik asit çözeltisi santrifüjlenerek kurutulmakta ve sitrik asit kristalleri elde edilmektedir (Vandenberghe vd., 2017; Papadaki ve Mantzouridou, 2019). Kurutma işlemi 36.5°C altındaki sıcaklıklarda gerçekleştirilirse kristalize sitrik asit monohidrat, bu geçiş sıcaklığının üzerinde yapılırsa kristalize sitrik asit anhidrat elde edilebilmektedir. Sitrik asit içeren çözelti aktif karbon ile muamele edildiğinde veya iyon değiştiricilerden geçirildiğinde daha fazla

saflaştırma yapılabilmekte ve rengi açılabilir (Vandenbergher vd., 2017). Çöktürme yöntemi kolay uygulanabilir olmasına rağmen yapılan işlemlerden dolayı çok fazla atık ortaya çıkması bu yöntemin dezavantajıdır

(Delgado Dobladez vd., 2018). Ayrıca yüksek enerji tüketimi ve farklı aşamalar içermesi saflaştırma maliyetini de artırmaktadır (Sun vd., 2017).



Şekil 1. Sitrik asidin fermantasyon ortamından saflaştırılması

Sitrik asidin geri kazanılmasının alternatif bir yöntemi olan solvent ekstraksiyonu, sulu ortamda çözünmeyen veya sadece az çözünür olan seçici bir çözücü vasıtasıyla sitrik asidin ayrılması uygulamasıdır. Çöktürme işlemi, büyük ölçekli endüstriyel işletmelerde en çok kullanılan yöntem olmasına rağmen, sitrik asidin ayrılması için

solvent ekstraksiyonu ile geri kazanım yöntemi de yaygın olarak kullanılmaktadır (Wang vd., 2019). Ancak çöktürme işlemi her türlü fermantasyon ortamı için uygulanabilirken, solvent ekstraksiyonu için daha az safsızlık içeren bir fermantasyon sıvısı gerekmektedir. Bu nedenle ekstraksiyondan önce fermantasyon sıvısındaki

küf miselleri ve süspansiyon halindeki maddelerin filtrasyon işlemi ile uzaklaştırılması gerekmektedir (Soccol vd., 2006). Ekstraksiyon işleminde kullanılacak çözücü maksimum miktarda sitrik asit ve minimum miktarda safsızlık ekstrakte edecek özellikte olmalıdır. Bu amaçla bazı alifatik alkoller, ketonlar, eterler, esterler, tri-n-butilfosfat, alkilsülfoksitler ve suda çözünmeyen aminler gibi organofosfor bileşikler ile kısmen veya tamamen suyla karışmayan diğer organik çözücüler sitrik asit ekstraksiyonunda kullanılmaktadır (Berovic ve Legisa, 2007). Aseton, su, etanol ve metanol çözeltileri ile 20-25°C sıcaklıkta yapılan ekstraksiyon işlemi ile sitrik asit izolasyonu yapılabildiği bildirilmiştir (Soccol vd., 2006). Solvent ekstraksiyon yöntemi ile fermantasyon karışımından yaklaşık %90 oranında sitrik asit elde edilebilmektedir. Çözgenlerle ayrılan sitrik asit daha sonra çözücünün damıtılması veya ekstraktın suyla yıkanması ile çözgenlerden ayrılmakta ve konsantre edilerek kristallendirilmektedir (Dhillon vd., 2011).

Sitrik asidin geri kazanımında çevre dostu yöntemlerden biri olarak bilinen elektrodiyaliz, son yıllarda endüstriyel ölçekte yaygın olarak kullanılan klasik metotlara alternatif bir yöntem olarak görülmektedir. Elektrodiyaliz, elektrik yüklü membranların ve elektriksel potansiyel farkın yürütücü gücü altındaki iyonları sulu çözeltilerden ayırmak için kullanılmaktadır. Anyon ve katyon değiştirici membranların birbiri ardına iki elektrot arasına yerleştirilmesi ile oluşturulan ve elektrodiyaliz membran yöntemleri arasında yaygın olarak kullanılan bu yöntem, proseste meydana gelen atık suları azaltmayı amaçlamaktadır (Cavallo vd., 2017). Bu yöntem tuzların, elektrik potansiyel farkı sayesinde asit ve baza dönüştürüldükten sonra elektriksel yüklü monopolar veya bipolar membranlar aracılığıyla çözeltilerden ayrılmasını sağlamaktadır. Yaygın olarak kullanılan bipolar membranlar, bir elektrik alanında suyun H⁺ ve OH⁻ iyonlarına ayrılmasını sağlayan özel iyon değişim membranlarıdır. Bipolar membran elektrodiyalizi, geleneksel yöntemlere göre birçok avantaja sahiptir (Liu vd., 2015). Teknik olarak gelişmiş bir yöntem olan elektrodiyaliz ile atık miktarı azaltılmakta, geliştirilmiş üretkenlik ile yüksek verim

sağlanmakta ve sürekli prosesler gerçekleştirilmektedir (Liu vd., 2015; Sun vd., 2017). Bu yöntemin en önemli avantajı ise, organik asit tuzlarından organik asitlerin üretilmesidir (Liu vd., 2015; Sun vd., 2017). Ancak elektrodiyaliz yöntemi yüksek maliyet ve özel ekipman ihtiyacı gibi dezavantajlara da sahiptir.

Sitrik asit, adsorpsiyon yöntemi kullanılarak da geri kazanılabilmektedir. Bu amaçla kullanılan polimer reçineler, yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve seçiciliğe sahiptir (Delgado Dobladez vd., 2018). Saflaştırma için kullanılan hafif bazik reçineler üçüncül aminler veya piridin ile yapılmaktadır (Wu vd., 2009; Delgado Dobladez vd., 2018). Ayrıca son yıllarda özellikle derin kültür fermantasyon yöntemi gibi sürekli bir proseste ortaya çıkan bazı sorunları en aza indirmek amacıyla mikrobiyel hücrelerin immobilizasyonu da saflaştırmayı kolaylaştırmak amacıyla kullanılan bir yöntemdir (Amato vd., 2020). Sitrik asit üretiminde *A. niger* immobilizasyonu kalsiyum aljinat jeli, poliakrilamid jel, poliüretan köpük ve kriyopolimerleştirilmiş akrilamid kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Amato vd., 2020; Behera 2020). Mikroorganizmaların immobilize formda canlı biyokatalizörler olarak uygulanması yöntemi genellikle serbest mikroorganizma uygulamalarından daha iyi üretim verimi sağlamaktadır (Amato vd., 2020).

SONUÇ

Sitrik asit gıda, ilaç, kimya, tarım, kozmetik ve diğer endüstrilerde yaygın olarak kullanılan bir organik asittir. Sitrik aside olan tüketim talebi her geçen yıl artmakta ve artan taleple birlikte sitrik asit üretimine daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır. Dünyada her yıl 2 milyon tondan fazla miktarda sitrik asit üretilmesine rağmen ülkemizde sitrik asit üretimi ve bu konu üzerine bilimsel çalışmalar son derece sınırlıdır. Sitrik asit konusunda ithalat ve dışa bağımlılığın azaltılabilmesi için sitrik asidin özelliklerinin, üretim ve geri kazanım proseslerinin araştırılması ve incelenmesinin önemli bir konu olduğu değerlendirilmiş ve bu amaçla sitrik asidin özellikleri, kullanım alanları,

sağlık üzerine etkileri, üretim ve saflaştırma yöntemleri bu derlemede açıklanmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

Addo, M.G., Kusi, A., Andoh, L.A., Obiri-Danso, K. (2016). Citric acid production by *Aspergillus niger* on a corn cob solid substrate using one factor at a time optimisation method. *Int Adv Res J in Sci, Eng Technol*, 3(1): 95-99.

Alnassar, M., Tayfour, A., Afif, R. (2016). The study of lactose effect on citric acid production by *Aspergillus niger* PLA30 in cheese whey. *Int J Chem Tech Res*, 9(1): 318-322.

Amato, A., Becci, A., Beolchini, F. (2020). Citric acid bioproduction: the technological innovation change. *Crit Rev Biotechnol*, 40(2): 199-212.

Anderson, N.M., Larkin, J.W., Cole, M.B., Skinner, G.E., Whiting, R.C., Gorris, L.G.M., Rodriguez, A., Buchanan, R., Stewart, C.M., Hanlin, J.H., Keener, L., Hall, P.A. (2011). Food safety objective approach for controlling *Clostridium Botulinum* growth and toxin production in commercially sterile foods. *J Food Prot*, 74(11): 1956-1989.

Anonim (2020a). Solubility of citric acid. www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/311. [Son Erişim Tarihi: 03.04.2020].

Anonim (2020b). Katkı maddelerinin kısıtlı miktarlarda kullanılabildiği gıda maddeleri. https://www.resmigazete.gov.tr/arsiv/23172_1.pdf. [Son Erişim Tarihi: 05.04.2020].

Asher, C., Read, M.J. (1987). Early enamel erosion in children associated with the excessive consumption of citric acid. *Br Dent J*, 162(10): 384-387.

Awadhya, A., Kumar, D., Verma, V. (2016). Crosslinking of agarose bioplastic using citric acid. *Carbohydr Polym*, 151: 60-67.

Behera, B.C., (2020). Citric acid from *Aspergillus niger*: a comprehensive overview. *Crit Rev Microbiol*, 46(6): 772-749.

Berovic, M., Legisa, M. (2007). Citric acid production. *Biotechnol Annu Rev*, 303-343.

Campanhol, B.S., Silveira, G.C., Castro, M.C., Ceccato-Antonini, S.R., Bastos, R.G. (2019). Effect of the nutrient solution in the microbial production of citric acid from sugarcane bagasse and vinasse. *Biocatal Agric Biotechnol*, 19: 101147.

Cavallo, E., Charreau, H., Cerrutti, P., Foresti, M.L. (2017). *Yarrowia lipolytica*: A model yeast for citric acid production. *FEMS Yeast Res*, 17(8).

Chen, Y., Nielsen, J. (2016). Biobased organic acids production by metabolically engineered microorganisms. *Curr Opin Biotechnol*, 37: 165-172.

Cheng, Q., Sun, D.W. (2008). Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a review of recent research advances. *Crit Rev Food Sci and Nutr*, 48(2): 137-159.

Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., Pagliaro, M. (2017). Citric acid: emerging applications of key biotechnology industrial product. *Chem Cent J*, 11(22): 1-9.

Delgado Dobladez, J.A., Águeda Maté, V.I., Uribe Santos, D.L., Torrellas, S.Á., Larriba, M. (2018). Citric acid purification by simulated moving bed adsorption with methanol as desorbent. *Sep Sci Technol*, 54(6): 930-942.

Dezam, A.P.G., Vasconcellos, V.M., Lacava, P.T., Farinas, C.S. (2017). Microbial production of organic acids by endophytic fungi. *Biocatal Agric Biotechnol*, 11: 282-287.

Dhillon, G.S., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi R.D. (2011). Recent advances in citric acid bioproduction and recovery. *Food Bioprocess Technol*, 4: 505-529.

Dhillon, G.S., Brar, S.K., Kaur, S., Verma, M. (2013). Bioproduction and extraction

- optimization of citric acid from *Aspergillus niger* by rotating drum type solid-state bioreactor. *Ind Crops Prod*, 41: 78–84.
- Ding, N., Peng, C., Ren, Y., Liu, Y., Wang, P., Dong, L., Liu, H., Wang, D. (2018). Improving the dewaterability of citric acid wastewater sludge by Fenton treatment. *J Cl Prod*, 196: 739–746.
- Francisco, J.C.E., Rivera, W.L., Vital, P.G. (2019). Influences of carbohydrate, nitrogen, and phosphorus sources on the citric acid production by fungal endophyte *Aspergillus fumigatus* P316. *Prep Biochem Biotechnol*, 50(3): 292-301.
- Hu, W., Li, W., Yang, H., Chen, J. (2018). Current strategies and future prospects for enhancing microbial production of citric acid. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103: 201-209.
- Johansson, A.K., Sorvari, R., Birkhed, D., Meurman, J.H. (2001). Dental erosion in deciduous teeth—an in vivo and in vitro study. *Journal Dentistry*, 29(5): 333–340.
- Kamzolova, S.V., Morgunov, I.G. (2017). Metabolic peculiarities of the citric acid overproduction from glucose in yeasts *Yarrowia lipolytica*. *Bioresour Technol*, 243: 433–440.
- Koromyslova, A.D., White, P.A., Hansman, G.S. (2015). Treatment of norovirus particles with citrate. *Virology*, 485: 199–204.
- Li, G., Yang, X., Liang, L., Guo, S. (2017). Evaluation of the potential redistribution of chromium fractionation in contaminated soil by citric acid/sodium citrate washing. *Arabian J Chem*, 10: 539–545.
- Liu, X., Lv, J., Xu, J., Zhang, T., Deng, Y., He, J. (2014). Citric acid production in *Yarrowia lipolytica* SWJ-1b yeast when grown on waste cooking oil. *Appl Biochem Biotechnol*, 175(5): 2347–2356.
- Liu, X., Li, Q., Jiang, C., Lin, X., Xu, T. (2015). Bipolar membrane electrodialysis in aqua-ethanol medium: Production of salicylic acid. *J Membr Sci*, 482: 76–82.
- Liu, X., Yan, Y., Zhao, P., Song, J., Yu, X., Wang, Z., Xia, J., Wang, X. (2019). Oil crop wastes as substrate candidates for enhancing erythritol production by modified *Yarrowia lipolytica* via one-step solid state fermentation. *Bioresour Technol*, 294: 122194.
- Max, B., Salgado, J.M., Rodríguez, N., Cortés, S., Converti, A., Domínguez, J.M. (2010). Biotechnological production of citric acid. *Braz J Microbiol*, 41(4): 862–875.
- Morgunov, I.G., Kamzolova, S.V., Lunina, J.N. (2018). Citric acid production by *Yarrowia lipolytica* yeast on different renewable raw materials. *Ferment*, 4(2): 36.
- Monrroy, M., Rueda, L., Aparicio, A.L., García, J.R. (2019). Fermentation of *Musa paradisiaca* peels to produce citric acid. *J Chem*, 2019: 1–8.
- Papadaki, E., Mantzouridou, F.T. (2019). Citric acid production from the integration of Spanish-style green olive processing wastewaters with white grape pomace by *Aspergillus niger*. *Bioresour Technol*, 280: 59-69.
- Sawant, O., Mahale, S., Ramchandran V., Nagaraj, G., Bankar A. (2018). Fungal citric acid production using waste materials: a mini-review. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*; 8(2): 821-828.
- Steiger, M.G., Mattanovich, D., Sauer, M. (2017). Microbial organic acid production as carbon dioxide sink. *FEMS Microbiol Lett*, 364(21).
- Singh, P., Draboo, S., Singh, A., Chaturvedi, S., Sharma, S., Verma, P. (2016). Citric acid production from different sources under submerged conditions using *Aspergillus niger*. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 5(5): 483-492.
- Socol, C.R., Vandenberghe, L.P.S., Rodrigues, C., Pandey, A. (2006). New perspectives for citric acid production and application. *Food Technol Biotechnol*, 44(2): 141-149.
- Show, P.L., Oladele K.O., Siew Q.Y., Aziz Zakry, F.A., Lan, J.C.W., Ling, T.C. (2015). Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. *Front Life Sci*, 8(3): 271–283.
- Sun, X., Lu, H., Wang, J. (2017). Recovery of citric acid from fermented liquid by bipolar membrane electrodialysis. *J Cleaner Prod*, 143: 250–256.
- Sweis, I.E., Cressey, B.C. (2018). Potential role of the common food additive manufactured citric acid in eliciting significant inflammatory reactions

- contributing to serious disease states: a series of four case reports. *Toxicol Rep*, 5: 808–812.
- Tan, M.J., Chen X., Wang Y.K., Liu G.L., Chi, Z.M. (2016). Enhanced citric acid production by a yeast *Yarrowia lipolytica* over-expressing a pyruvate carboxylase gene. *Bioprocess Biosyst Eng*, 39(8): 1289–1296.
- Tang, S.C., Yang, J.H. (2018). Dual effects of alpha-hydroxy acids on the skin. *Mol*, 23(4): 863.
- Vandenbergh, L.P.S., Soccol, C.R., Pandey, A., Lebeault, J.-M. (1999). Microbial production of citric acid. *Braz Arch Biol Technol*, 42(3): 263–276.
- Vasanthabharathi, V., Sajitha, N., Jayalakshmi, S. (2013). Citric acid production from U-V mutated estuarine *Aspergillus niger*. *Adv Biol Res*, 7(3): 89–94.
- Vandenbergh, L.P.S., Rodrigues, C., Carvalho, J.C., Medeiros, A.B.P., Soccol, C.R. (2017). Production and application of citric acid. *Curr Dev Biotechnol Bioeng*, 557–575.
- Vandenbergh, L.P.S., Karp, S.G., Oliveira, P.Z., Carvalho, J.C., Rodrigues, C., Soccol, C.R. (2018). Solid-state fermentation for the production of organic acids. *Curr Dev Biotechnol Bioeng*, 415–434.
- Yalçın Karasu, S., Bozdemir, T.M., Özbaş, Z.Y. (2010). Fermantasyon yolu ile sitrik asit üretiminde farklı substrat kaynaklarının kullanılma olanakları. *GIDA*, 35(2): 135–142.
- Yin, X., Shin, H., Li, J., Du, G., Liu, L., Chen, J. (2017). Comparative genomics and transcriptome analysis of *Aspergillus niger* and metabolic engineering for citrate production. *Sci Rep*, 7(1): 410–440.
- Yu, B., Zhang, X., Sun, W., Xi, X., Zhao, N., Huang, Z., Ying, H., Liu, L., Liu, D., Niu, H., Wu, J., Zhuang, W., Zhu, C., Chen, Y., Ying, H. (2018). Continuous citric acid production in repeated-fed batch fermentation by *Aspergillus niger* immobilized on a new porous foam. *J Biotechnol*, 276–277, 1–9.
- Wang, L., Cao, Z., Hou, L., Yin, L., Wang, D., Gao, Q., Wu, Z., Wang D. (2016). The opposite roles of *agdA* and *glaA* on citric acid production in *Aspergillus niger*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100(13): 5791–5803.
- Wang, B., Li, H., Zhu, L., Tan, F., Li, Y., Zhang, L., Ding, Z., Shi, G. (2017). High-efficient production of citric acid by *Aspergillus niger* from high concentration of substrate based on the staged-addition glucoamylase strategy. *Bioprocess Biosyst Eng*, 40(6): 891–899.
- Wang, J., Cui, Z., Li, Y., Cao, L., Lu, Z. (2019). Techno-economic analysis and environmental impact assessment of citric acid production through different recovery methods. *J Cl Prod*, 249: 119315.
- Wu, J., Peng, Q., Arlt, W., Minceva, M. (2009). Model-based design of a pilot-scale simulated moving bed for purification of citric acid from fermentation broth. *J Chromatogr A*, 1216(50): 8793–8805.
- Zhang, H., Xu, J., Su, X., Bao, J., Wang, K., Mao, Z. (2017a). Citric acid production by recycling its wastewater treated with anaerobic digestion and nanofiltration. *Process Biochem*, 58: 245–251.
- Zhang, H., Gao, Y., Xiong, H. (2017b). Removal of heavy metals from polluted soil using the citric acid fermentation broth: a promising washing agent. *Environ Sci Pollut Res*, 24(10): 9506–9514.
- Zheng, J., Xiao, F., Qian, L.M., Zhou, Z.R. (2009). Erosion behavior of human tooth enamel in citric acid solution. *Tribol Int*, 42(11–12): 1558–1564.

ZEYTİNYAĞINDA MİNİMAL RAFİNASYON UYGULAMASININ İŞLEM PERFORMANSI VE KALİTE KRİTERLERİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Merve Yazılıkaya Parasız, Onur Özdikicierler*, Fahri Yemişçioğlu
Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 23.10.2020; Kabul / Accepted: 20.01.2021; Online baskı / Published online: 12.02.2021

Yazılıkaya-Parasız, M., Özdikicierler, O., Yemişçioğlu, F. (2021). Zeytinyağında minimal rafinasyon uygulamasının işlem performansı ve kalite kriterleri açısından değerlendirilmesi. *GIDA* (2021) 46(2) 311-323 doi: 10.15237/gida. GD20123.

Yazılıkaya-Parasız, M., Özdikicierler, O., Yemişçioğlu, F. (2021). Evaluation of minimal refining in olive oil in terms of processing performance and quality criteria. GIDA (2021) 46(2) 311-323 doi: 10.15237/gida. GD20123.

ÖZ

Bu çalışmada rafinajlık zeytinyağı, sodyum hidroksit (NaOH), magnezyum oksit (MgO) ve kalsiyum hidroksit (Ca(OH)₂) olacak şekilde farklı kuvvetteki alkaliler ile asitlik giderme işlemine, natürel ve asitle aktifleştirilmiş değişken oranlardaki (%0.1-%0.5-%0.9) ağartma toprakları ile renk açma işlemine tabi tutulmuştur. NaOH ve MgO ile SYA miktarının etkin biçimde azaldığı ve rafinasyon kaybının Ca(OH)₂'ye göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Başlangıç TOTOX değeri 152.02 olan rafinajlık yağlarda bu değer NaOH ve MgO ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sonrasında sırasıyla 47.82 ve 56.9'a düştüğü ancak Ca(OH)₂ ile 123.53 düzeyinde kaldığı görülmektedir. Asitliği giderilen örnekler arasında en yüksek fenolik bileşen içeriği 175.3 mg/kg ile NaOH örneğinde tespit edilmiştir. Natürel ağartma topraklarının kullanılmasının biyoaktif bileşenler açısından önemli bir koruma sağlamadığı ancak artan oranlarda kullanıldığında işlem etkinliği açısından asitle aktifleştirilmiş topraklara göre daha etkin sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: minimal rafinasyon, zeytinyağı, asitlik giderme, renk açma, biyoaktif bileşen, tokoferol, fenolik bileşenler

EVALUATION OF MINIMAL REFINING IN OLIVE OIL IN TERMS OF PROCESSING PERFORMANCE AND QUALITY CRITERIA

ABSTRACT

In this study, lampante olive oil was subjected to acidification treatment with alkalis with different strengths namely, sodium hydroxide (NaOH), magnesium oxide (MgO) and calcium hydroxide (Ca(OH)₂) and bleached with natural and acid-activated bleaching earths at variable ratios (0.1% - 0.5% - 0.9%). A decrease in the amount of FFA effectively achieved with NaOH and MgO and the refining loss is lower than Ca(OH)₂. Initial TOTOX value of 152.02, decreased to 47.82 and 56.9, respectively, after the de-acidification processes performed with NaOH and MgO, but remained at the level of Ca(OH)₂ and 123.53. Among the neutralized samples, the highest phenolic component content was found in the NaOH sample with 175.3 mg/kg. The use of natural bleaching soils in

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: onur.ozdikicierler@ege.edu.tr,

☎: (+90) 232 311 3001

☎: (+90) 232 311 4831

Merve Yazılıkaya Parasız; ORCID no: 0000-0003-2051-9750

Onur Özdikicierler; ORCID no: 0000-0002-8959-4794

Fahri Yemişçioğlu; ORCID no: 0000-0003-0860-5779

bleaching processes does not provide significant protection in terms of bioactive components, but when used at increasing rates, it gives more effective results than acid activated soils in terms of processing efficiency.

Keywords: minimal refining, olive oil, neutralization, bleaching, bioactive components, tocopherol, phenolic compounds

GİRİŞ

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde Natürel zeytinyağı, zeytin ağacı meyvesinden doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısl ortamda, sadece yıkama, dekantasyon, santrifüj ve filtrasyon işlemleri gibi mekanik veya fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen; kendi kategorisindeki ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini taşıyan yağlar olarak tanımlanmaktadır (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2017). Natürel zeytinyağının alt kalite sınıfları; natürel sızma zeytinyağı, natürel birinci zeytinyağı ve ham zeytinyağı/rafinajlık zeytinyağıdır. Ham olarak tüketilebilen natürel sızma ve natürel birinci kalite sınıftaki natürel zeytinyağlarının tokoferol ve fenolik maddeler gibi biyoaktif bileşenleri önemli düzeyde içerdiği, bu nedenle özellikle sağlıklı beslenme düzeninde önemli bir yeri olduğu bilinmektedir (Boskou, 2009; Preedy ve Watson, 2010; Sönmez, Özdikicierler ve Gümüşkesen, 2018). Natürel zeytinyağı sınıfındaki ham/rafinajlık zeytinyağları ise rafinasyon işlemi sonrasında tüketime sunulurlar (Cmolik ve Pokorny, 2000). Rafinasyon, hidroliz ve oksidasyon gibi bozulma reaksiyonu ürünleri başta olmak üzere yağlardan istenmeyen tüm bileşenlerin uzaklaştırıldığı veya kabul edilebilir düzeye indirildiği işlemler ağıştır. Rafinajlık zeytinyağlarına uygulanan rafinasyon işlemi genel olarak topraklama ve buhar distilasyonu aşamalarını içermekte ve işlemler sırasında uygulanan yüksek sıcaklık ve vakum koşulları zeytinyağlarında bulunan doğal biyoaktif bileşenlerin yağdan uzaklaşmasına yol açmaktadır. Bunun yanı sıra rafinasyon işlemleri sırasında yağ asitlerinin konjugasyonu gerçekleşebilmektedir (Ghazani ve Marangoni, 2013; Lucci, Bertoz, Pacetti, Moret ve Conte, 2020; Pan ve diğerleri, 2019; Verhé, Verleyen, Van Hoed ve De Greyt, 2008).

Son yıllarda bilimsel çalışmalarda yer bulan “Sağlık için Minimal Rafinasyon” kavramı, bitkisel

yağların daha zayıf alkaliler ile asitliğinin giderilmesi, farklı ağartma toprakları veya teknikler ile renk açma işlemin gerçekleştirilmesi ve böylece yağda doğal olarak bulunan biyoaktif bileşenler mümkün olduğunca korunurken etkin bir rafinasyonun da sağlandığı yenilikçi teknikleri ifade etmektedir (Ghazani, 2012; Ghazani, García-Llatas ve Marangoni, 2013). Bitkisel yağ rafinasyonunda kimyasal asitlik giderme işlemi geleneksel olarak sodyum hidroksit (NaOH) veya potasyum hidroksit (KOH) ile gerçekleştirilebilmektedir. Kuvvetli alkaliler olan bu kimyasal maddelerin alternatifleri olarak orta kuvvetli bir alkali olan magnezyum oksit (MgO) ve kalsiyum hidroksit (Ca(OH)₂), orta ve zayıf kuvvette alkaliler olarak minimal rafinasyon asitlik giderme aşaması için önerilmiştir (De ve Patel, 2011; Ghazani ve diğerleri, 2013).

Bu çalışmanın amacı, farklı kuvvetteki alkalilerin, değişken oranlarda kullanılan farklı ağartma topraklarının, asitlik giderme ve renk açma işlemlerinin performanslarına ve bu işlemler sırasında gerçekleşen biyoaktif bileşen kayıplarına etkilerinin incelenmesidir. Bu amaçla çalışmamızda rafinajlık zeytinyağı, NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ kullanılarak rafinajlık zeytinyağlarına asitlik giderme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Asitliği giderilen zeytinyağları çalışmanın ikinci aşamasında asitle aktive ve natürel olmak üzere iki farklı ağartma toprağı ile %0.1, %0.5 ve %0.9 olmak üzere üç farklı miktarda renk açma işlemine tabi tutulmuşlardır. İşlem sonrasında farklı alkalilerin işlem performansı üzerine etkisi SYA ve rafinasyon kaybı ile, renk açma işleminin performansı ise toplam karotenoid ve klorofil miktarları üzerinden değerlendirilmiştir. İşlemlerin oksidasyon üzerine etkisi K232, K270, peroksit sayısı, p-anisidin sayısı ve TOTOX değeri ile, biyoaktif bileşen üzerine etkisi ise toplam fenolik madde miktarı ve α-tokoferol miktarı ile incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Rafinajlık zeytinyağı örneği, İzmir’de faaliyet gösteren bir rafinasyon tesisinden temin edilmiştir. Rafinajlık zeytinyağı laboratuvara getirildikten sonra 500mL lik amber şişelere paylaştırılmış ve kapak altı boşluklarındaki hava hafif bir azot akımı altında süpürülmüştür. Rafinajlık zeytinyağı örneği, denemelerin gerçekleştirileceği güne kadar -20°C sıcaklıktaki depoda bekletilmiştir. Analizlerde kullanılan tüm kimyasal maddeler uygun saflık derecelerinde temin edilmişlerdir. Renk açma denemeleri için Balıkesir’de faaliyet gösteren bir ağartma toprağı üreticisinden temin edilen bentonit bazlı asitle aktive edilmiş ve natürel olmak üzere iki çeşit ağartma toprağı kullanılmıştır.

Yöntem

Asitlik giderme işlemi

Gerçekleştirilecek alkali nötralizasyon işlemlerinde kullanılacak NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ için uygun miktar; rafinajlık zeytinyağının serbest yağ asidi içeriği baz alınarak stokiyometrik olarak hesaplanmıştır. Denemelerde hesaplanan alkali miktarı kadar kullanılmış, fazla alkali ilavesi (excess) uygulanmamıştır. Stokiyometrik olarak hesaplanan alkali miktarları; NaOH 0.52g, MgO 0.26g, Ca(OH)₂ 0.48g olup, bu miktarlar asitlik giderme denemelerinde kullanılmıştır.

Rafinajlık zeytinyağı örneklerinin asitliğinin giderilmesinde Ghazani vd. (2013) tarafından açıklanmış olan “kanola yağında minimal rafinasyon prensibiyle alkali nötralizasyon işlemi” modifiye edilerek uygulanmıştır. Asitlik giderme işlemi için 100g yağ 60°C sıcaklığa ısıtılmıştır. Alkaliler ile hazırlanan sulu çözeltiler (saf su oranı yağın %2.5’i olacak şekilde) yağa eklenerek yağ 60°C sıcaklıkta 600 devir/dk hızda 20 dakika karıştırma ile sabunlaşma reaksiyonunun tamamlanması sağlanmıştır. Reaksiyon sonrasında 5200g (yerçekimsel güç) kuvvetinde 10 dk santrifüj sonucu oluşan sabun fazı çöktürülmüştür. Sabun fazından ayrılan yağ örneğinde kalıntı sabunun uzaklaştırılması için yağ 80°C sıcaklığa ısıtılarak yağın içerisine %1 trysil (sentetik silika) ile %1 Magnesol R60 (magnezyum silikat)

eklenerek 600 devir/dakika hızda tekrar 20 dakika karıştırılmıştır. Karıştırma sonrasında eklenen adsorbantlar; 5200g kuvvetinde 10 dakika santrifüj uygulaması ve filtrasyon ile yağdan uzaklaştırılmıştır (Ghazani ve diğerleri, 2013).

Renk açma işlemi

Renk açma işlemi için Ghazani vd. (2013) ve Sabah ve Çelik (2005) tarafından açıklanmış olan laboratuvar ortamında renk açma işlemleri birlikte modifiye edilerek uygulanmıştır. Asitliği giderilmiş olan zeytinyağı bir cam reaktöre alınarak 30mm-Hg (40mbar) basınç altında karıştırma eşliğinde 55°C sıcaklığa kadar ısıtılıp farklı oranlarda (%0.1 - %0.5 - %0.9) ağartma toprağı (asitle aktive edilmiş veya natürel) eklenmiştir. Ağartma toprağının eklenmesinden sonra, 90°C sıcaklıkta, 20 dakika süreyle karıştırma eşliğinde renk açma işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlemler sonrasında rengi açılmış olan zeytinyağları filtre kağıdından süzülerek elde edilmişlerdir (Ghazani ve diğerleri, 2013; Sabah ve Çelik, 2005).

Analiz yöntemleri

Serbest yağ asitliği (SYA), IUPAC Metot no:2.201 temel alınarak etanollü potasyum hidroksit çözeltisi titrasyonu ile tayin edilmiş ve sonuçlar % oleik asit cinsinden verilmiştir. Asitlik giderme işleminde gerçekleşen rafinasyon kaybını tespit etmek için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır. Bu eşitliğe göre rafinasyon kaybının sifıra yakın olması rafinasyon kaybının düşük olduğunu göstermektedir.

$$\text{Rafinasyon kaybı} = 1 - \frac{m_{\text{nötr yağ}}}{(m_{\text{ham yağ}} - m_{\text{SYA}})}$$

$m_{\text{ham yağ}}$ = Alkali nötralizasyon öncesinde yağın toplam ağırlığı (g)

m_{SYA} = Ham yağın içerdiği toplam serbest yağ asitlerinin miktarı (g)

$m_{\text{nötr yağ}}$ = Asitliği giderilmiş olan yağın miktarı (g)

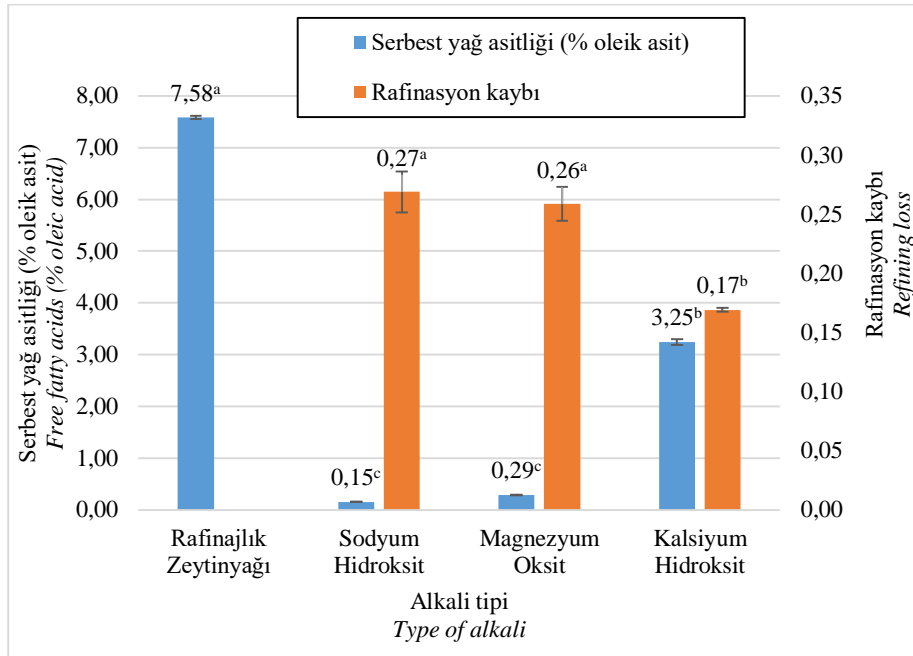
Peroksit değeri (PV) IUPAC Metot no: 2.501 kullanılarak sodyum tiyosülfat titrasyonu ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar meq O₂/kg yağ cinsinden sunulmuştur. p-anisidin değerinin (p-anV) belirlenmesi için IUPAC Metot no: 2.504’da belirtilen spektrofotometrik yöntem izlenmiş ve sonuçlar mmol/kg yağ cinsinden verilmiştir. Toplam oksidasyon değeri (TOTOX),

Oksidasyonun birincil ve ikincil ürünlerinin toplamı üzerinden genel bir oksidasyon süreci değerlendirmesi yapmayı mümkün kılan bir değerdir ve TOTOX= p-anV + 2 x PV formülü ile hesaplanır. UV ışığında özgül absorbans (K232 ve K270) analizi için Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Analiz Metodları Tebliği (Tebliğ No: 2014/53) kullanılmıştır. Toplam Fenolik Madde Miktarının (mg/kg) belirlenmesi için Uluslararası Zeytinyağı Konseyi Metot No: COI/T.20/Doc No 29 kullanılmıştır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GEA) olarak verilmiştir. Zeytinyağı örneklerinde α -tokoferol miktarlarının tespiti, Uluslararası zeytin konseyinin COI/T.20/Doc No 29 numaralı metodu takip edilerek HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Renk açma işlemi sonrasında ve öncesinde zeytinyağı örneklerinin toplam karotenoid ve toplam klorofil miktarları IUPAC Metot no:5.301'da belirtilen spektrofotometrik yöntem ile tespit edilmiştir.

Tüm denemeler iki kez ve analizler en az üç kez tekrarlanarak sonuçların kesinliği varyasyon katsayılarının devamlı kontrolü ile sağlanmıştır. İstatistiksel olarak farkların tespitinde ANOVA ve Tukey post-hoc testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel testler $\alpha=0.05$ önem düzeyinde gerçekleştirilmiş ve $P<0.05$ olan tüm farklılıklar "istatistiksel olarak önemli bir fark vardır" şeklinde yorumlanmıştır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışma öncelikle farklı alkali tipleri (NaOH, MgO ve Ca(OH)₂) ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri daha sonra farklı tip ağartma toprakları ile gerçekleştirilen renk açma işlemleri ile devam etmiştir. Öncelikle asitlik giderme işleminin performansı, işlemin temel amacı olan SYA miktarındaki azalma ve işlem sırasında gerçekleşen rafinasyon kaybı üzerinden değerlendirilmiştir (Shahidi, 2005).



Aynı veri serisi boyunca değişen üst indis harfler Tukey testine göre grup farklılıkları ifade etmektedir. *Superscript letters located on same sample group indicate statistical difference according to Tukey's test.*

Şekil 1. Farklı alkaliler ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında yağların serbest yağ asitliği değerleri ve her alkali için rafinasyon kaybı değerleri

Figure 1. Free fatty acidity and refining loss for each alkali after the neutralization process performed with different alkalis

Serbest yağ asitliğindeki azalma ve işlemler sırasında gerçekleşen rafinasyon kayıpları Şekil 1’de verilmiştir. Rafinajlık zeytinyağının başlangıç serbest yağ asidi miktarının %7.58 olduğu görülmektedir. NaOH ve MgO ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sonrasında serbest yağ asitliğinin sırasıyla %0.15 ve %0.29’a düştüğü tespit edilmiş olup serbest yağ asitliğindeki azalma yönünden bu iki alkalinin istatistiksel bir fark göstermediği tespit edilmiştir. Ancak serbest yağ asitliği miktarında Ca(OH)₂ kullanımı sonrasında etkin bir azalma yaşanmamış ve %3.25 düzeyinde kalmıştır. Gerçekleşen rafinasyon kayıpları karşılaştırıldığında NaOH ve MgO’nun arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Ancak Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında rafinasyon kaybının daha düşük olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, asitlik giderme işleminin temel amacı olan serbest yağ asitliği

miktardaki azalma açısından geleneksel olarak kullanılan NaOH ile orta kuvvetteki alkali olan MgO’nun benzer etkiler gösterdiği ve rafinasyon kaybının da benzer düzeylerde gerçekleştiğini göstermiştir. Ca(OH)₂ nin ise her ne kadar diğer alkalilere göre daha düşük bir rafinasyon kaybına sebep olsa da, serbest asitlik miktarını azaltmada istenilen etkiyi sağlayamadığı görülmüştür. Benzer bir çalışmada ise yapışkan maddelerinden arındırılmış kanola yağının %0.55 düzeyindeki SYA miktarı, NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sonrasında sırasıyla %0.02, %0.08 ve %0.03 düzeyine inmiş ve Ca(OH)₂’in asitlik giderme işleminde MgO’dan daha etkin sonuç verdiği ifade edilmiştir. Ancak ulaşılan SYA değerleri çok düşük düzeylerde olduğu için bu miktarlarda istatistiksel bir fark bulgulanmamıştır (Ghazani ve Marangoni, 2013).

Çizelge 1. Farklı alkaliler kullanılarak gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sonucunda zeytinyağının oksidasyon parametrelerindeki değişimler

Table 1. Changes in the oxidation parameters of olive oil before and after of neutralization processes using different alkalis.

	K232	K270	PV (meq O ₂ /kg yağ)	p-anV (mmol/kg yağ)	TOTOX
Rafinajlık Zeytinyağı Lampante olive oil	2.855±0.002 ^a	0.229±0.001 ^b	73.87±0.49 ^a	4.29±0.01 ^a	152.02±0.98 ^a
NaOH	2.468±0.001 ^d	0.200±0.001 ^c	22.64±1.03 ^c	2.55±0.01 ^d	47.82±2.05 ^b
MgO	2.692±0.002 ^c	0.352±0.001 ^a	27.03±0.59 ^c	2.84±0.01 ^c	56.9±1.18 ^b
CaOH ₂	2.751±0.001 ^b	0.188±0.001 ^d	52.27±4.31 ^b	2.96±0.01 ^b	123.53±28.43 ^a

Sütunlar boyunca değişen üst indis harfler, Tukey testine göre grup farklılıklarını ifade etmektedir.

Superscript letters, located along columns, represents statistical groupings according to Tukey’s test.

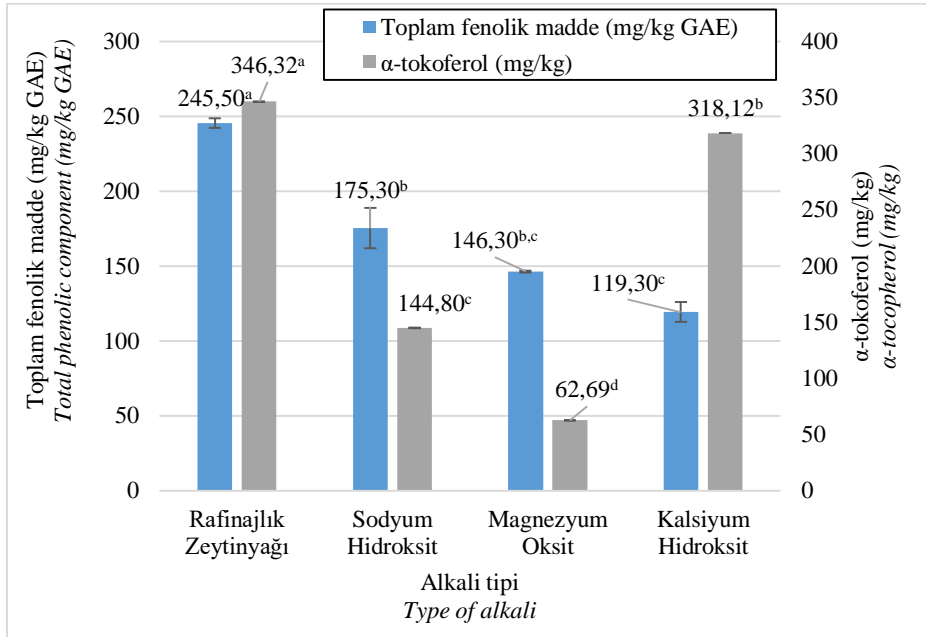
Çizelge 1’de zeytinyağının asitlik giderme işlemi önce ve sonrasında oksidasyon parametrelerindeki değişim görülebilmektedir. Oksidasyonun birincil ürünleri ve iki çift bağ içeren konjuge yağ asidi (konjuge dien) miktarlarının bir göstergesi olan K232 değerinin rafinajlık zeytinyağında başlangıçta 2.855 olduğu tespit edilmiştir. K232 değerlerinde en etkin azalma NaOH ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında gözlemlenmiştir (2.468). Oksidasyonun ikincil ürünleri ile üçlü çift bağ içeren konjuge yağ asidi (konjuge trien) miktarlarının göstergesi olan K270 değerinin rafinasyon öncesinde 0.229 olarak

ölçüldüğü, NaOH ve CaOH₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında sırasıyla 0.200 ve 0.188 düzeyine düştüğü, ancak MgO ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında bu değer 0.352 düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir. K232 ve K270 değerlerindeki azalma için genel bir yorum yapıldığında NaOH’ın her iki değerde etkin azalma sağladığı görülmüştür.

Asitlik giderme işlemi öncesinde rafinajlık zeytinyağının PV düzeyinin 73.87 meq O₂/kg yağ olduğu görülmektedir. TGK’ye göre PV düzeyi 20’nin üzerinde olan natürel zeytinyağları lampant

(rafınlık) olarak tanımlanmaktadır. Genel olarak rafınlık aşamasının birincil amacı oksidasyon ürünlerinin miktarında azalma sağlanması olmasa da, özellikle rafınlık aşamalarındaki yükün azaltılması için tüm istenmeyen maddelerin miktarında gerçekleşecek azalmanın önemli olduğu düşünülmektedir. PV'nin istatistiksel olarak en etkin biçimde NaOH ve MgO ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sonrasında azaldığı tespit edilmiştir (sırasıyla 22.64 meq O₂/kg yağ ve 27.03 meq O₂/kg yağ). Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sırasında ise PV'nin 52.27 meq O₂/kg yağ seviyesine düştüğü görülmüştür. Peroksit sayısı, kanola yağı ile gerçekleştirilen farklı bir çalışmada ise NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemlerinde yükselmiştir (Ghazani ve Marangoni, 2013). Oksidasyonun ikincil ürünleri olan aldehitlerin miktarının bir ifadesi olarak kullanılan p-anV, işlem öncesinde rafınlık zeytinyağında 4.29 mmol/kg yağ olarak tespit edilmiştir. Asitlik

giderme işleminin, kullanılan alkali tipinden bağımsız olarak p-anV değerini azalttığı tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak p-anV değerinde en fazla düşüş NaOH ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sırasında gerçekleşmiştir (2.55 mmol/kg yağ). Oksidasyonun genel bir ifadesi olan TOTOX değeri, PV ve p-anV değerleri ile hesaplanan bir göstergedir. Asitlik giderme işlemleri öncesinde rafınlık zeytinyağı örneğinin TOTOX değerinin 152.02 olduğu, NaOH ve MgO alkallerinin bu değerini önemli düzeyde azalmasını sağladığı (NaOH ve MgO için sırasıyla 47.82 ve 56.9), Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sırasında ise TOTOX değerinde önemli bir azalma gerçekleşmediği (123.53) görülmektedir. Çizelge 1'de verilen tüm oksidasyon göstergelerinin genel bir yorumu yapılmak istendiğinde ise çalışmamızın sonuçlarına göre NaOH ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemlerinde, oksidasyon ürünlerinin diğer alkalilere göre daha etkin biçimde azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 2. Farklı alkaliler kullanılarak gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri sonucunda zeytinyağının biyoaktif bileşenlerindeki değişimler.

Figure 2. Changes in the bioactive components of olive oil as a result of neutralization reactions using different alkalis.

Toplam fenolik madde ve zeytinyağı tokoferollerinden en baskın izomer α -tokoferolün konsantrasyonlarında, asitlik giderme denemeleri

sırasında kullanılan alkali tipine bağlı olarak gerçekleşen değişimler Şekil 2'de verilmiştir. Rafınlık zeytinyağında asitlik giderme işlemleri

öncesinde toplam fenolik madde ve α -tokoferol sırasıyla 245.50 mg/kg GAE ve 346 mg/kg olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarındaki en fazla azalma, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile asitliği giderilmiş zeytinyağında (119.3 mg/kg GAE) tespit edilmiştir. Her ne kadar Tukey grupları incelendiğinde NaOH ve MgO ile MgO ve $\text{Ca}(\text{OH})_2$ alkali ikilileri arasında istatistiksel grup farkı tespit edilmemiş olsa da, NaOH ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında tespit edilen toplam fenolik madde konsantrasyonu (175.3 mg/kg GAE), diğer alkalilere göre daha yüksektir. α -tokoferol miktarları karşılaştırıldığında ise $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile

gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında α -tokoferol konsantrasyonundaki (318.12 mg/kg) azalmanın çok düşük olduğu, MgO'da ise α -tokoferol miktarındaki azalmanın (62.69 mg/kg) en fazla gerçekleştiği tespit edilmiştir. Genel olarak, çalışmamızda kullanılan alkali tiplerinin asitlik giderme işlem performansları dikkate alınmadan sadece biyoaktif bileşenler üzerindeki etkileri karşılaştırılacak olursa, Toplam fenolik madde konsantrasyonunda en az düşüşe neden olan alkalinin NaOH, α -tokoferol konsantrasyonunda en az düşüşe neden olan alkalinin ise $\text{Ca}(\text{OH})_2$ olduğu görülmektedir.

Çizelge 2. Farklı alkaliler ile asitliği giderilmiş zeytinyağı örneklerinde toprak tipi ve toprak miktarının zeytinyağının genel kalite kriterleri üzerine etkisi

Table 2. The effect of bleaching earth type and amount on the general quality criteria of olive oil neutralized with different alkalis.

NaOH	SYA (% oleik asit)	K232	K270	PV (meq O ₂ /kg yağ)	p-anV (mmol/kg)	TOTOX
Nötr Yağ <i>Neutralized oil</i>	0.09±0 ^b	2.469±0 ^c	0.200±0 ^g	22.64±0.73 ^a	2.55±0 ^g	47.82±1.45 ^a
Asit aktive ağartma toprağı <i>Acid activated bleaching earth</i>						
% 0.1	0.64±0.01 ^a	2.620±0.001 ^{ab}	0.305±0.01 ^d	22.54±0.34 ^a	8.06±0 ^b	53.15±0.68 ^a
% 0.5	0.66±0.04 ^a	2.136±0 ^d	0.389±0 ^b	19.30±1.46 ^a	5.2±0 ^c	43.78±2.91 ^a
% 0.9	0.68±0.01 ^a	2.549±0.002 ^b	0.503±0 ^a	19.52±0.71 ^a	8.57±0 ^a	47.61±1.41 ^a
Natürel ağartma toprağı <i>Natural bleaching earth</i>						
% 0.1	0.13±0.01 ^b	2.648±0.001 ^a	0.230±0 ^f	24.00±1.57 ^a	5.32±0 ^d	53.3±3.13 ^a
% 0.5	0.15±0.02 ^b	2.646±0.025 ^a	0.255±0 ^c	23.66±1.77 ^a	5.61±0 ^c	52.92±3.54 ^a
% 0.9	0.16±0.01 ^b	2.451±0.001 ^c	0.333±0 ^c	23.01±4.05 ^a	4.16±0 ^f	50.18±8.09 ^a
MgO	SYA	K232	K270	PV (meq O ₂ /kg yağ)	p-anV (mmol/kg)	TOTOX
Nötr Yağ <i>Neutralized oil</i>	0.19±0.01 ^b	2.692±0.001 ^d	0.352±0 ^{ab}	27.03±0.42 ^d	2.84±0 ^c	56.9±0.83 ^d
Asit aktive ağartma toprağı <i>Acid activated bleaching earth</i>						
% 0.1	0.61±0.01 ^a	2.902±0.005 ^a	0.237±0 ^{cd}	44.84±1.86 ^c	3.49±0 ^d	93.17±3.71 ^c
% 0.5	0.64±0.03 ^a	2.705±0.002 ^d	0.290±0.03 ^{bc}	66.12±1.80 ^a	7.37±0 ^a	139.6±3.6 ^a
% 0.9	0.66±0 ^a	2.559±0.001 ^a	0.420±0 ^a	52.44±3.05 ^{bc}	5.88±0 ^b	110.75±6.1 ^{b,c}
Natürel ağartma toprağı <i>Natural bleaching earth</i>						
% 0.1	0.77±0.01 ^a	2.860±0.003 ^b	0.194±0 ^d	50.32±2.26 ^{bc}	2.24±0 ^f	102.87±4.52 ^{b,c}
% 0.5	0.57±0.18 ^{ab}	2.736±0 ^c	0.205±0 ^{cd}	58.38±1.78 ^{ab}	3.49±0 ^d	120.25±3.56 ^{ab}
% 0.9	0.39±0 ^{ab}	2.748±0 ^c	0.231±0 ^{cd}	55.08±0.05 ^{bc}	3.51±0 ^c	113.65±0.11 ^{b,c}

Ca(OH) ₂	SYA	K232	K270	PV (meqO ₂ /kgyağ)	p-anV (mmol/kg)	TOTOX
Nötr Yağ <i>Neutralized oil</i>	5.69±0.06 ^a	2.750±0.001 ^c	0.188±0 ^g	52.27±3.05 ^a	2.96±0 ^e	123.53±16.42 ^a
<i>Asit aktive ağartma toprağı</i> <i>Acid acitivated bleaching earth</i>						
% 0.1	0.09±0 ^c	2.830±0.005 ^c	0.327±0 ^d	54.49±2.87 ^a	6.92±0 ^c	115.9±5.74 ^a
% 0.5	0.1±0.01 ^c	2.984±0 ^a	0.424±0 ^b	56.17±4.19 ^a	7.07±0 ^a	119.4±8.38 ^a
% 0.9	0.11±0 ^c	2.904±0.005 ^b	0.470±0 ^a	44.06±1.51 ^a	6.71±0.01 ^d	94.82±3.01 ^a
<i>Natürel ağartma toprağı</i> <i>Natural bleaching earth</i>						
% 0.1	0.5±0.01 ^b	2.833±0.005 ^c	0.279±0 ^f	22.64±3.01 ^b	1.63±0 ^g	46.91±6.02 ^b
% 0.5	0.49±0.01 ^b	2.799±0.002 ^d	0.316±0 ^e	50.11±0.75 ^a	2.55±0 ^f	102.75±1.51 ^a
% 0.9	0.5±0 ^b	2.767±0.001 ^e	0.359±0 ^c	27.91±1.58 ^b	7.02±0 ^b	62.83±3.17 ^b

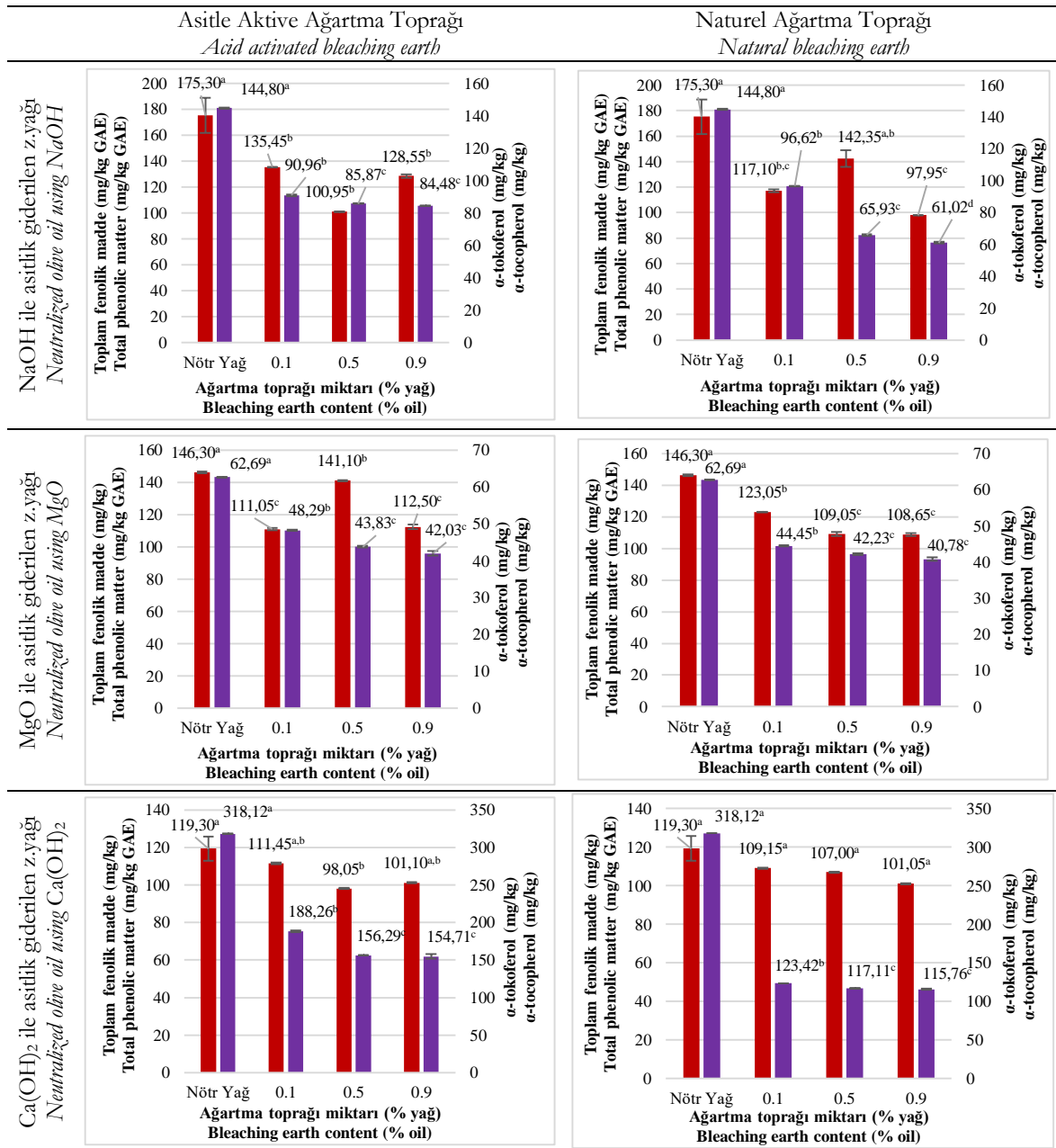
Her farklı alkali ile asitlik giderilmiş zeytinyağı örneği için ayrı ayrı olacak şekilde sütunlar boyunca değişen üst indis harfler, Tukey testine göre iki farklı ağartma toprağı ve üç farklı toprak miktarı için istatistiksel grup farklılıklarını ifade etmektedir.

The superscript letters varying along the columns for each different alkali express the statistical group differences for two different bleaching soils and three different soil amounts according to the Tukey's test.

Çizelge 2'de NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ ile asitlik giderme işlemi uygulanan rafınajlık zeytinyağlarının ayrı ayrı olacak şekilde asitle aktive ve natürel ağartma topraklarının farklı oranları (%0.1 - %0.5 - %0.9) ile gerçekleştirilen renk açma işlemi sonrasında genel kalite kriterlerinin değişimi sunulmuştur. Öncelikle SYA'da en etkin azalmanın sağlandığı NaOH ile asitliği giderilmiş yağlarda natürel ağartma toprağı ile yapılan renk açma işlemlerinde %0.09 olan SYA'nın toprak miktarının etkisi olmaksızın %0.13-%0.16 aralığında kaldığı, ancak asitle aktive ağartma toprağı kullanıldığında bu değer %0.64-%0.68 aralığına yükseldiği görülmektedir. Bu durum, renk açma aşamasında asitle aktive ağartma toprağı kullanılmasının SYA yükselmesine neden olabileceği ile açıklanabilmektedir. MgO ve Ca(OH)₂ ile asitliği giderilen örneklerde ise SYA değerinin etkin biçimde azaltılamaması nedeniyle asitle aktive ve natürel ağartma toprakları hakkında benzer bir etkinin tespiti net olarak yapılamamaktadır.

NaOH ve Ca(OH)₂ ile asitliği giderilmiş yağlarda ağartma toprağı tipi ve miktarından bağımsız olarak K232 ve K270 değerlerinde belirli bir yükselme tespit edilmiştir. MgO ile asitliği giderilmiş zeytinyağında ise K232 değerinde

benzer bir artış gözlemlenirken K270 değerinde azalma söz konusudur. Her ne kadar K232 ve K270 değerlerindeki bu değişimlerin çoğu istatistiksel olarak önemli olarak tespit edilmiş olsa da değişim miktarlarının düşük olduğu söylenebilmektedir. Genel olarak NaOH dışındaki alkaliler ile gerçekleştirilen renk açma işlemlerinde, toprak miktarından bağımsız olarak PV değerlerinde istatistiksel bir artış söz konusudur. NaOH ile asitliği giderilen zeytinyağlarının renk açma denemelerinde PV değerinde istatistiksel bir artış tespit edilmemesi, asitlik giderme aşamasında NaOH kullanımının, renk açma işleminde bu açıdan avantaj sağladığı söylenebilmektedir. Oksidasyonun ikincil ürünlerinin göstergesi olan p-anV değeri, tüm alkali tipleri için incelendiğinde renk açma işlemleri sonrasında belirli oranda yükselmiştir. Ancak, bu yükselişler natürel ağartma topraklarının kullanılması durumunda daha düşük düzeydedir. Örneğin NaOH ile asitliği giderilen zeytinyağlarında 2.55 mmol/kg yağ olan p-anV düzeyi, asitle aktive ağartma toprağı kullanıldığı zaman toprak miktarına bağlı olarak 5.2 mmol/kg yağ - 8.57 mmol/kg yağ aralığına yükselirken, natürel ağartma toprağında bu değer 4.16 mmol/kg yağ - 5.61 mmol/kg yağ aralığında değişmektedir.



Her grafik için ayrı ayrı olacak şekilde kendi veri serisi içinde değişen üst indis harfler (toplam fenolik madde ve α -tokoferol için ayrı ayrı değerlendirilmelidir), Tukey testine göre grup farklılıklarını ifade etmektedir. Kırmızı barlar ile ifade edilen toplam fenolik madde solda bulunan birincil eksen, eflatan renkli barlar ile ifade edilen α -tokoferol ise sağda bulunan ikincil eksende gösterilmektedir.

Superscript letters (*which should be evaluated separately for total phenolic content and α -tocopherol*) represent group differences according to Tukey's test. The total phenolic content represented by red bars and is shown on the primary axis on the left, and α -tocopherol expressed by the magenta bars on the secondary axis on the right.

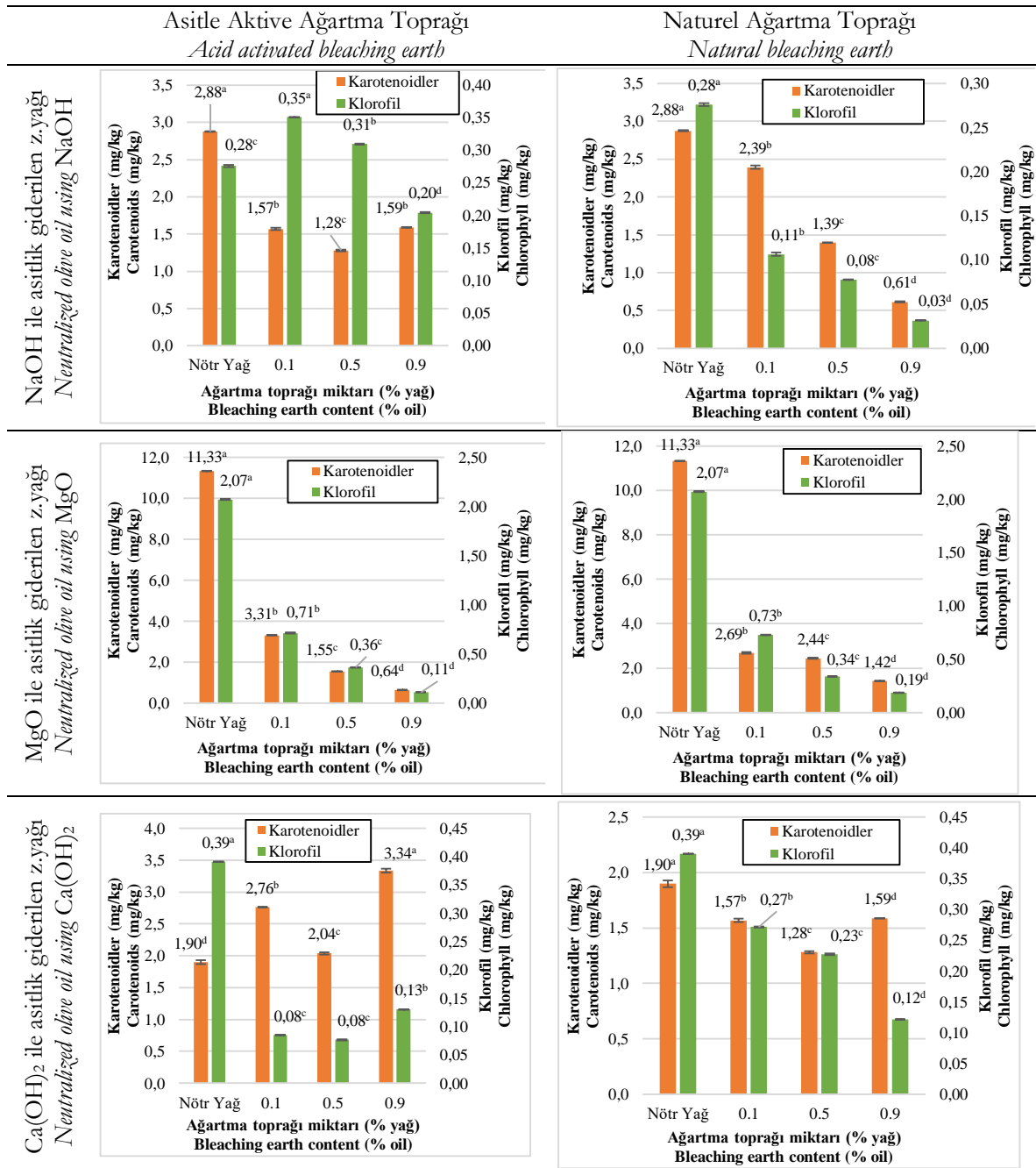
Şekil 3. NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ ile asitlik giderme uygulanmış zeytinyağı örneklerinin değişken miktarlarda farklı ağartma topraklarıyla renk açma işlemine tabi tutulması sonucunda yağların biyoaktif bileşen miktarındaki (toplam fenolik madde ve α -tokoferol konsantrasyonları) değişimleri.

Figure 3. Changes in the amount of bioactive components (total phenolic and α -tocopherol concentrations) of olive oil samples, which were neutralized with NaOH, MgO and Ca(OH)₂, and bleaching with varying amounts of different bleaching earths.

Farklı alkali tipleri ile asitliği giderilen zeytinyağlarında toprak tipi ve miktarının toplam fenolik madde ve α -tokoferol konsantrasyonları üzerine etkisini gösteren Şekil 3'de verilmiş olan grafikler incelendiğinde, renk açma işlemi sonrasında biyoaktif bileşen miktarlarında bir düşüş yaşandığı görülmektedir. NaOH ile asitliği giderilen zeytinyağlarında toplam fenolik madde konsantrasyonlarının toprak miktarı artışı ile düzenli bir değişiklik göstermediği ancak toprak miktarı arttıkça α -tokoferol miktarlarının azaldığı görülmektedir. NaOH ile asitliği giderilen zeytinyağlarında %0.9 oranda asitle aktive ağartma toprağı kullanılarak gerçekleştirilen renk açma işlemleri sonrasında α -tokoferol düzeyi 84.48 mg/kg'e inerken aynı oranda kullanılan natürel ağartma toprağında ise bu değer 61.02 mg/kg'a kadar düşmüştür. Benzer etkiler, MgO ve $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile elde edilen nötr yağlardaki α -tokoferol değerlerinde de gözlemlenmektedir. Özellikle $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile asitliği giderilen zeytinyağlarının %0.1 oranda natürel ağartma toprağı ile renk açma işlemine tabi tutulması sonunda α -tokoferol değerlerinin 318.12 mg/kg seviyesinden 123.42 mg/kg'a indiğı görülmektedir. Yapılan denemeler genel olarak değerlendirildiğinde, artan ağartma toprağı miktarları genel olarak biyoaktif bileşen kaybını arttırdığı görülmektedir. Biyoaktif bileşenler üzerinde benzer bir etki kanola yağının farklı alkaliler ile nötralizasyonu sonrasında da gözlenmiştir. Özellikle α -tokoferol miktarının asitlik giderme ve renk açma aşamalarında 135 mg/kg düzeyinden önce 107.3 mg/kg seviyesine, oradan da renk açma sonrasında 92.3 mg/kg düzeyine inmesi, rafinasyon işleminin biyoaktif bileşenler üzerine etkisini net biçimde ortaya koymaktadır (Ghazani ve Marangoni, 2013).

Renk açma işleminin temel amacı olan karotenoid ve klorofil gibi yağlarda bulunan renk maddelerinin azaltılmasıdır. Farklı alkali tipleri ile asitliği giderilen zeytinyağlarında toprak tipi ve miktarının toplam karotenoid ve klorofil miktarları üzerine etkisini gösteren grafikler Şekil 4'de verilmiştir. NaOH ile asitlik giderme işlemi yapılan zeytinyağı örneklerinde asit aktive ağartma toprağının %0.1 oranında kullanılması durumunda bile karotenoid miktarı 2.88 mg/kg

seviyesinden 1.57 mg/kg'a azalmıştır. Natürel ağartma toprağında ise benzer karotenoid miktarlarına ulaşmak için %0.5 oranında ağartma toprağı kullanılması gerekmiştir. Ancak natürel ağartma toprağının artan miktarları kullanıldığında karotenoid ve klorofil seviyeleri kademeli biçimde daha fazla azalırken asitle aktive ağartma toprağı için aynı durum söz konusu değildir. MgO ile asitlik giderme uygulanan zeytinyağlarında başlangıç karotenoid (11.33 mg/kg) ve klorofil (2.07 mg/kg) düzeyleri diğer alkaliler ile asitlik giderme işlemi uygulanmış yağlara göre çok daha yüksektir. Bu nedenle, MgO örneklerinde renk açma işlemi sonrasında pigment maddelerindeki düşüşün fazla olduğu görülüyor olsa da her iki toprak tipi için de bu değerlerin NaOH örneklerinden daha yüksek seyrettiğı görülebilmektedir. Renk açma işlemlerinin $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile asitliği giderilen zeytinyağlarındaki etkinlikleri incelendiğinde başlangıç karotenoid miktarlarının diğer alkalilere göre daha düşük olduğu (1.9 mg/kg) görülmektedir. Bu örneklerin renk açma denemelerinde asitle aktive toprak kullanıldığında toprak miktarındaki artışın klorofil miktarı üzerine düzenli bir etkisi tespit edilemezken klorofil miktarları 0.39 mg/kg başlangıç seviyesinden %0.1 ve %0.5 toprak miktarlarında 0.08 mg/kg seviyesine indiğı görülmektedir. Buna rağmen, %0.9 natürel ağartma toprağı kullanıldığında bile $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile asitliği giderilen zeytinyağlarında karotenoid ve klorofil seviyesinin sırasıyla 1.59 mg/kg ve 0.12 mg/kg seviyesine geldiğı görülmektedir. Bu değerler aynı oranda asitle aktive ağartma toprağı kullanıldığında sırasıyla 3.34 mg/kg ve 0.13 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Diğer alkali tipleri ile kıyaslandığında $\text{Ca}(\text{OH})_2$ örneklerinde renk açma etkinliğinin daha düşük olduğu görülmektedir. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile asitliği giderilen zeytinyağlarında başlangıç SYA, PV düzeylerinin diğer alkali tiplerine ait örneklere kıyasla daha yüksek olması, bu örnekler için eklenen ağartma topraklarında kirletici unsur olarak rol oynadığı, bu nedenle pigment maddelerinin adsorbsiyonunda beklenen azalma miktarlarına ulaşamadığı düşünülmektedir (Brien, Farr ve Wan, 2000).



Her grafik için ayrı ayrı olacak şekilde kendi veri serisi içinde değişen üst indis harfler (karotenoid ve klorofil için ayrı ayrı değerlendirilmelidir), Tukey testine göre grup farklılıklarını ifade etmektedir. Karotenoid miktarı solda bulunan birincil eksen, klorofil miktarı ise sağda bulunan ikincil eksen gösterilmektedir.

Superscript letters (for carotenoid and chlorophyll must be evaluated separately), represent group differences according to Tukey test. The amount of carotenoid is shown on the primary axis on the left, and the amount of chlorophyll on the secondary axis on the right.

Şekil 4. NaOH, MgO ve Ca(OH)₂ ile asitlik giderme uygulanmış zeytinyağı örneklerinin değişen miktarlarda farklı ağartma topraklarıyla renk açma işlemine tabi tutulması sonucunda yağlardaki renk maddelerinin (toplam karotenoid ve klorofil miktarları) değişimi.

Figure 4. The change in the amount of coloring bodies (total carotenoid and chlorophyll amounts) as a result of the bleaching of olive oil samples treated with NaOH, MgO and Ca(OH)₂ at varying amounts of different bleaching soil.

SONUÇ

Bu çalışmada, bitkisel yağlara uygulanan rafinasyon işlemleri sırasında gerçekleşen biyoaktif bileşen kayıpları üzerinde asitlik giderme işleminde kullanılan alkalinin kuvveti ve renk açma işleminde kullanılan ağartma toprağının tipi ve miktarının etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada ayrıca uygulanan işlemlerin performans kriterleri de izlenerek çift yönlü yorumlama yapılmaya çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar öncelikle asitlik giderme işleminde NaOH ve MgO'nun SYA miktarını %7.58'dan sırasıyla %0.15 ve %0.29'a düşürürken rafinasyon kayıplarının sırasıyla 0.27 ve 0.26 düzeyinde olduğu görülmüştür. Ca(OH)₂ ile asitliği giderilen zeytinyağlarında rafinasyon kaybı değerleri 0.17 olarak daha düşük bulunmuş olsa da SYA ancak 3.25'e düşürülebilmektedir. Ca(OH)₂ ile etkin bir nötralizasyon işleminin gerçekleşmemesi sonucunda özellikle α-tokoferol değerinin diğer alkalilere göre daha yüksek seviyede (318.12mg/kg) kalması dikkat çekicidir. Asitliği giderilmiş örnekler arasında toplam fenolik madde miktarındaki en yüksek değer 175.3 mg/kg ile NaOH ile asitliği giderilmiş olan zeytinyağında tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen asitlik giderme işlemleri rafinajlık zeytinyağının oksidasyon değerlerinde belirli bir azalmayı da sağlamıştır. Alkali tipleri arasında NaOH ve MgO ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemlerinde 152.02 olarak tespit edilen başlangıç TOTOX değeri sırasıyla 47.82 ve 56.9'a düşerken Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen asitlik giderme işlemi sonrasında bu değer 123.53'de kalmıştır. Asitlik giderme deneme sonuçları yorumlandığında, NaOH ve MgO'nun işlem etkinliği ve biyoaktif bileşen kaybını azaltma açısından genel anlamda Ca(OH)₂'ye göre daha başarılı olduğu görülmüştür. Renk açma işlemleri genel olarak SYA ve TOTOX değerlerinde artışa neden olmuştur. Ancak asitlik giderme işlemi sonrasındaki SYA düzeyi düşük olan NaOH örneklerinde natürel ağartma toprağı kullanımının SYA değerlerinde önemli bir artışa neden olmadığı söylenebilmektedir. Ca(OH)₂ ile asitliği giderilmiş olan zeytinyağlarının renk açma işlemleri sonrasında oksidasyon değerlerinde önemli bir artış gözlenmemesi, başlangıç TOTOX değerinin yüksek olması ile açıklanabilmektedir.

MgO ile asitliği giderilmiş olan zeytinyağlarının renk açma işlemleri sonrasında ise ulaştığı TOTOX değerleri, NaOH örneklerinin yaklaşık iki katı olmuştur. Renk açma işleminin etkinliğini gösteren pigment miktarları incelendiğinde Ca(OH)₂ ile asitliği giderilmiş örneklerde istenilen renk açma etkisinin her iki ağartma toprağı tipinde de gerçekleşmediği, bunun ise Ca(OH)₂'nin yeterli miktarda asitlik ve oksidasyon ürünlerinde azalma sağlamaması ve muhtemel olarak bu maddelerin ağartma toprağının etkinliğini azaltması ile açıklanabilmektedir. MgO ile asitliği giderilmiş zeytinyağı örneklerinde ise artan miktarlarda ağartma toprağı kullanılması, hem etkin bir pigment maddesi adsorpsiyonu hem de toplam fenolik madde kaybında diğer alkalilere göre daha fazla azalma gerçekleşmesini sağlamıştır. α-tokoferol kaybının en az yaşandığı renk açma denemesi ise NaOH ile asitliği giderilen zeytinyağı örneklerinin asitle aktive ağartma toprağı ile renk açma işlemine tabi tutulması sonrasında elde edildiği söylenebilmektedir. Yapılan çalışma asitlik giderme ve renk açma işlemlerinde alkali ve toprak tiplerinin bir optimizasyon süresi içerisinde değerlendirilmesiyle daha kesin sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu maddelerin reaksiyon sırasında yağ ile karıştırılmasında ultrases gibi mekanik tekniklerden daha etkin yöntemlerin denenmesinin ileriki çalışmalarda araştırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Merve Yazılıkaya Parasız: Denemelerin yapılması, sonuçların tablollaştırılması, metin yazımı. İlgili projede "bursiyer" olarak görev almıştır.

Onur Özdikicierler: İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi, literatürün derlenmesi, sonuçların yorumlanması, metin yazımı, iletişimdeki yazar olarak yayın sürecinde iletişimin yürütülmesidir. İlgili projede araştırmacı olarak görev almıştır ve "hak sahibi" konumundadır.

Fahri Yemişçiöğlü: Çalışmaların koordinasyonu. İlgili projede “yürütücü” olarak görev almıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya 118O183 numaralı proje kapsamında destek sağlayan TÜBİTAK’a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

Boskou, D. (2009). *Olive Oil: Minor Constituents and Health*. (D. Boskou, Ed.). Boca Raton: CRC Press.

Brien, R. D. O., Farr, W. E., Wan, P. J. (2000). *Introduction to Fats and Oils Technology*. (R. D. O. Brien, W. E. Farr ve P. J. Wan, Ed.). Champaign, Illinois: AOCS Press.

Cmolik, J., Pokorny, J. (2000). Physical refining of edible oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102:472–486.

De, B. K., Patel, J. D. (2011). Refining of rice bran oil by neutralization with calcium hydroxide. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113(9):1161–1167. doi:10.1002/ejlt.201000343

Ghazani, S. M. (2012). *The Influence of Traditional and Minimal Refining on the Minor Constituents of Canola Oil*. The University of Guelph.

Ghazani, S. M., García-Llatas, G., Marangoni, A. G. (2013). Minor constituents in canola oil processed by traditional and minimal refining methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90:743–756. doi:10.1007/s11746-013-2215-2

Ghazani, S. M., Marangoni, A. G. (2013). Minor components in canola oil and effects of refining on these constituents: A review. *JAOCS, J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90:923–932. doi:10.1007/s11746-013-2254-8

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. (2017). Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği. *Türk Gıda Kodeksi*.

<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/09/20170917-9-1.pdf> adresinden erişildi.

Lucci, P., Bertoz, V., Pacetti, D., Moret, S., Conte, L. (2020). Effect of the refining process on total hydroxytyrosol, tyrosol, and tocopherol contents of olive oil. *Foods*, 9(3):1–11. doi:10.3390/foods9030292

Pan, F., Wen, B., Wang, X., Ma, X., Zhao, J., Liu, C., ... Dang, W. (2019). Effect of the chemical refining process on perilla seed oil composition and oxidative stability. *J. Food Process. Preserv.*, (November 2018):1–10. doi:10.1111/jfpp.14094

Preedy, V., Watson, R. (2010). *Olives and Olive oil in Health and Disease Prevention*. (V. R. Preedy ve R. R. Watson, Ed.). London, UK: Elsevier Academic Press.

Sabah, E., Çelik, M. S. (2005). Sepiolite: An effective bleaching adsorbent for the physical refining of degummed rapeseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 82:911–916. doi:10.1007/s11746-005-1164-4

Shahidi, F. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. (F. Shahidi, Ed.) (6. Edition.). New York: John Wiley & Sons, Inc.

Sönmez, A., Özdikicierler, O., Gümüşkesen, A. S. (2018). Evaluation of olive oil quality during the ripening of the organic cultivated olives and multivariate discrimination of the variety with a chemometric approach. *La Riv. Ital. Delle Sostanze Grasse*, XCV:173–181.

Verhé, R., Verleyen, T., Van Hoed, V., De Greyt, W. (2008). Influence of refining of vegetable oils on minor components. *Proc. - 2008 Jt. Cent. Eur. Congr. 4th Cent. Eur. Congr. Food, CEFood 2008 6th Croat. Congr. Food Technol. Biotechnol. Nutr.*, 1:55–69.

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL EFFECT OF THE AQUEOUS EXTRACT OF STINGING NETTLE (*URTICA DIOICA*) ON BIOFILM FORMATION OF *SALMONELLA ENTERICA* SEROVARS

Aylin Cesur, Yeşim Soyer*

Middle East Technical University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey

Received /Geliş: 20.01.2021; Accepted /Kabul: 02.03.2021; Published online/ Online baskı: 11.03.2021

Cesur, A., Soyer, Y. (2021). Determination of antimicrobial effect of the aqueous extract of stinging nettle (*Urtica dioica*) on biofilm formation of *Salmonella enterica* serovars. GIDA (2021) 46(2) 324-338 doi: 10.15237/gida.GD21016

Cesur, A., Soyer, Y. (2021). Isırgan otu (*Urtica dioica*) sulu ekstraktının *Salmonella enterica* serovarlarının biyofilm oluşumu üzerine antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi. GIDA (2021) 46(2) 324-338 doi: 10.15237/gida.GD21016

ABSTRACT

Due to health concerns associated with the increase of antimicrobial resistance in foodborne pathogens such as *Salmonella*, plant extracts have become important natural alternatives to known antimicrobials. The eradication effect of the water-soluble stinging nettle extracts with 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL, and 20 mg/mL concentrations, on pre-formed biofilms and swimming motility of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovars, including Newport, Typhimurium, Enteritidis, Virchow, Othmarschen and Mikawasima, was investigated *in vitro*. Degradation of biofilm formation on spinach inoculated with each serovar was ascertained within different exposure time of 40 mg/mL concentrated extract as well. Moreover, major genes responsible for biofilm formation (i.e., *rpoS*, *mlrA*, *yefR*, *fimA*, *spiA* and *cgA*) were screened in these isolates. The extract significantly decreased swimming motilities of Mikawasima and Virchow serovars. The highest reductions were found as 0.88 Log CFU/mL and 2.00 Log CFU/cm² *in vitro* and on spinach, respectively.

Key words: Antimicrobial effect, biofilm, *Salmonella*, stinging nettle, swimming motility

ISIRGAN OTU (*URTICA DIOICA*) SULU EKSTRAKTININ *SALMONELLA ENTERICA* SEROVARLARININ BİYOFİLM OLUŞUMU ÜZERİNE ANTİMİKROBİYEL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

ÖZ

Salmonella gibi gıda kaynaklı patojenlerde antimikrobiyel direncin artması yol açacağı sağlık problemleri nedeniyle endişelendirmektedir. Bu bağlamda, bitki özleri bilinen antimikrobiyellere önemli doğal alternatifler haline gelmiştir. Suda çözünür ısırgan otu ekstraktlarının 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL ve 20 mg/mL konsantrasyonları ile eradikasyon etkisi, Newport, Typhimurium, Enteritidis, Virchow, Othmarschen ve Mikawasima dahil olmak üzere *Salmonella enterica* alt türü *enterica* serovarlarının önceden oluşturulmuş biyofilmleri ve yüzme hareketliliği *in vitro* olarak araştırılmıştır. Her serovar ile bulaştırılan ıspanakta, izolatların oluşturduğu biyofilm oluşumunun engellenmesi için 40 mg/mL konsantre ekstraktın etkin olduğu tespit edilmiştir.

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: ysoyer@metu.edu.tr

☎: (+90) 312 210 56 33

☎: (+90) 312210 27 67

Aylin Cesur ORCID ID: 0000-0002-5737-798X

Yeşim Soyer ORCID ID: 0000-0001-9687-9715

Ayrıca, biyofilm oluşumundan sorumlu ana genler (yani *rpoS*, *mtrA*, *yefR*, *fimA*, *spiA* ve *csqA*) bahsi geçen tüm izolatlarda taranmıştır. Buna ilave olarak, ekstrakt, Mikawasima ve Virchow serovarlarının yüzme hareketlerini önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. En yüksek azalma sırasıyla in vitro ve ıspanakta 0.88 Log CFU/mL ve 2.00 Log CFU/cm² olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyel etki, biyofilm, *Salmonella*, ısırgan otu, yüzme hareketliliği

INTRODUCTION

Due to health concerns, the demands to fresh produce have been increasing in the United States (US) and Europe (Faour-Klingbeil and Todd, 2018). Fresh food produces are generally consumed without any preprocessing processes. Therefore, if biofilms are present on the fresh produces, they might stay on the fresh product for a long time. Unless biofilms are removed, they might lead to foodborne diseases and shorten the shelf life of the products. In addition to this, contamination factors during growing, harvesting, handling, processing and transportation trigger biofilm formation of enteric pathogens such as *Salmonella enterica* spp. (Patel et al., 2013; Pyatkovskyy et al., 2017). Foodborne outbreaks associated with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (*Salmonella*) serovars, due to contaminated fresh produce, including green leaves such as spinach, lettuce, alfalfa sprouts, and tomatoes, have been incrementally overspreading (Yaron and Römling, 2014). For instance, tomatoes contaminated with *Salmonella* serovars Typhimurium and Newport, packed salad contaminated with *Salmonella* serovars Enteritidis and Newport (Callejón et al., 2015) and salad items contaminated with *Salmonella* Virchow (Heaton and Jones, 2008) might be some examples. Moreover, *Salmonella* serovar Mikawasima, a rare serotype, has shown an unusual increase in outbreaks related to fresh waters, vegetables, meat and fish products (Synnott et al., 1993; Polo et al., 1999; EFSA and ECDC, 2013), and antibiotic resistance (Myšková et al., 2013) in the recent years. In addition to this, *Salmonella enterica* serovar Othmarschen, which is also an uncommon serovar, was isolated from eggs, seafood and squash (Kim et al., 2007).

Antibiotic resistance has become more critical problem, when these bacteria have biofilm forming ability, since biofilm enables bacteria to protect themselves from the environmental stresses such as chemical disinfectants and antibiotics. Hence, it becomes exceedingly

difficult to remove bacteria. Biofilm formation might be expressed as clusters of bacterial cells encompassed by secreting extracellular polymeric substances (EPS) on abiotic and/or biotic surfaces in order to insulate themselves from environmental stresses, antibiotics, sanitizers, and the host (Steenackers et al., 2012). After aggregation and attachment of bacteria, they reveal quorum-sensing (QS) signals, which provide bacteria with communicating each other to regulate gene expression (Sperandio et al., 2003). Curli (amyloid fimbriae) are assigned in adherence to surfaces, biofilm forming, cell aggregation and host cell invasion (Römling et al., 1998). Flagellar motility enables *Salmonella* to swim in liquid media and on surfaces (Deditius et al., 2015), which might enhance the biofilm formation and pathogenicity.

Crude extracts of medicinal plants might function as alternatives to antibiotics, due to various secondary metabolites including tannins, alkaloids, and polyphenols (Gupta and Birdi, 2017). Plant extracts might change or inhibit the protein domains (Koehn and Carter, 2005). At this point, the detection of sufficient concentration of plant extract that can penetrate into the biofilm matrix to make the bacteria ineffective is crucial because EPS defends the microorganisms by constituting biological, physical and chemical protective barriers (Lu et al., 2019). Since each bacterium has different QS system and cell matrix, distinct types of plant extracts are applied in order to inhibit EPS production and QS signals. For example, the leaves of stinging nettle (*Urtica dioica*) include tannins taking parts in inhibition of cell envelope transport proteins and adhesiveness of bacteria, and terpenes participating in deterioration of membrane in bacteria (Gupta and Birdi, 2017). Water, hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol extracts of stinging nettle have shown antimicrobial activities on human pathogenic bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*,

Staphylococcus aureus, *Salmonella* Typhi, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterococcus faecalis* (Gülçinet al., 2004; Daret al., 2013). Our aim in this study was to determine the eradication effects of aqueous extract of stinging nettle on biofilm forming of different *Salmonella* serovars *in vitro*, as well as on spinach leaves. Moreover, the effects of different concentrated water-soluble extracts of stinging nettle on swimming motility of each serovar were investigated *in vitro*. To sum up, the usage of alternative edible plant extracts has a huge potential on prevention of bacterial growth due to health concerns. Therefore, more studies should be conducted to determine the effective concentration of plant extracts that can also penetrate the biofilms of foodborne pathogens.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains

Salmonella enterica serovar Virchow (MET S1-003), Newport (MET S1-166), Typhimurium (MET S1-185), Enteritidis (MET S1-217), Othmarschen (MET S1-227) and Mikawasima (MET S1-409), isolated from different sources and locations in our previous studies (Gunel et al., 2015; Acar et al., 2017), were used in this study (Table 1). Each serovar was grown in Brain Heart Infusion (BHI, CM1135 Oxoid) broth medium for 24 h at 37°C at 150 rpm to get the stationary phase cultures (Cui et al., 2016).

Preparation of the stinging nettle extract

Different concentrated crude extracts of lyophilized stinging nettle leaves, which are 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL, 20 mg/mL and 40 mg/mL, were prepared as described (Wolska et al., 2015). Lyophilized stinging nettle (*Urtica dioica* L.) leaves (obtained from Ankara, Turkey) in sterile ddH₂O at 90°C were shaken for 10 min in a water bath, and then cooled to the room temperature (Wolska et al., 2015). The solution was vacuum-filtered by using a sterile mixed cellulose esters filter (0.45 µm, MF-Millipore membrane filter, Merck).

Detection of curli expression in *Salmonella* serovars

Salmonella serovars were grown in Tryptic Soy Broth (TSB, CM0129 Oxoid) for 18 h at 37°C.

Overnight cultures of individual *Salmonella* serovars were streaked on tryptone agars containing congo red (40 µg/mL, C6767 Sigma-Aldrich) and coomassie brilliant blue (20 µg/mL, B0770 Sigma-Aldrich), and incubated at 22°C and 37°C for 48 h, respectively. Curli expression in strains was indicated by red colonies as a result of dye uptake (Patel et al., 2013).

Detection of swimming motility in *Salmonella* serovars

Bacterial strains in BHI (CM1135 Oxoid) broth medium were grown for 48 h at 37°C. Soft agar plates (1% tryptone, 0.5% NaCl and 0.3% agar) were inoculated with 2 µL of cell suspension, and incubated at 37°C for 24 h. Then, the diameters of bacterial growth were measured. Moreover, the effects of the extract on swimming motility were observed by using 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL and 20 mg/mL of stinging nettle aqueous extracts.

Biofilm formations and determining the antibiofilm effects of the stinging nettle extract *in vitro*

For each bacterial strain with six replicates, 190 µL of BHI supplemented with 10 µL of overnight cultures of individual *Salmonella* serovars with concentration of ca. 10⁶ CFU/mL in BHI was dispensed into the wells of a 96-well flat-bottomed sterile polystyrene microtiter plate as described method with some modifications (Stepanović et al., 2004). Microtiter plates were incubated at 37°C for 48 h without shaking. Growth medium devoid of bacterial inoculum, and extract of stinging nettle served as negative control. After 48 h incubation in microplate, the medium from the well was discarded. The wells were washed five times with sterile phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.2) to remove the planktonic cells, and were air-dried (Christensen et al., 1985). Subsequently, pre-formed biofilms in the wells were treated with 200 µL water-soluble extract of stinging nettle individually at different concentrations which are 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL and 20 mg/mL for 24 h at 37°C to determine biofilm eradication effect. The microtiter plates were washed with PBS to remove freely moving bacteria and stained with 200 µL of a 1% crystal

violet (CV) solution per well for 5 min at room temperature, followed by washing five times with sterile PBS and air drying for 45 min. 200 μ L of 95% ethanol was added to each well for de-staining (Chen et al., 2013). The absorbance was determined by measuring at 600 nm (A_{600}) using spectrophotometer (SHIMADZU, Japan). *Salmonella* strains were divided into weak, moderate or strong producers, as described (Stepanović et al., 2004). The cut-off OD (OD_c) was expressed as three standard deviations above the mean OD of the negative control. Classification was carried out as following: OD < OD_c for weak biofilm producer, (2×OD_c) < OD ≤ (4×OD_c) for moderate biofilm producer, and (4×OD_c) < OD for strong biofilm producer (Stepanović et al., 2004).

Biofilm formations and determining the antibiofilm effects of the stinging nettle extract on spinach

Spinach leaves were aseptically cut into small rectangular pieces (4×4 cm). The vegetable pieces were submerged in each overnight culture of each bacterial strain with a concentration of ca. 10⁶ CFU/mL. After overnight incubation at 25°C, the pieces were rinsed with sterile PBS to remove freely moving cells. They were transferred to sterile petri dishes and dried in the laminar flow cabinet for 15 min. For biofilm formation, contaminated spinach pieces were incubated at 25°C for 48 h in petri dishes (Cui et al., 2016). Individual spinach pieces, inoculated with each bacterial strain, were treated with 3 mL of the stinging nettle extract (40 mg/mL) for 5, 10, 30 and 60 min, respectively. Higher concentration of the extract was used on spinach leaves compared to *in vitro* since the eradication of biofilm formed on fresh produce is more troublesome, due to the surface area of it and rich medium of the fresh produce for the pathogens. After treatments with stinging nettle extract, 10 pieces of leaves were aseptically transferred into a stomacher bag and mixed with 100 mL PBS (Cui et al., 2016). Subsequently, the mixture was pureed by a homogenizer for 20 min. The numbers of viable bacteria on the leaves were determined by plate count method. Homogenized mixture was diluted in PBS to ranging dilution factor between 10⁻⁶ and

10⁻⁸. Aliquots were spread out using a sterile bacterial spreader of each dilution onto the Plate Count Agar (CM0325, Thermo Fisher Scientific) plates. They were incubated at 37 °C for 48 h. The number of bacterial colonies were counted.

Screening of biofilm related genes in *Salmonella* isolates

Selected genes associated with biofilm formation (i.e. *rpoS*, *mlrA*, *yjgR*, *fimA*, *spiA*, and *csgA*) were screened in *Salmonella enterica* isolates (Table 2). PCR mix was prepared as 1 μ L template, 1 μ L each primer (20 μ M), 25 μ L 2X MyTaq Red Mix (Bioline), and 22 μ L sterile ddH₂O for each gene according to MyTaq Red Mix protocol. PCR was performed with regard to the following conditions: initial denaturation at 95°C for 60 s, denaturation at 95°C for 15 s, annealing at 60°C for 15 s, and extension 72°C for 10 s with 35 cycles (Ledeboret et al., 2006; Lu et al., 2011; Lu et al., 2012; Salazar et al., 2013; Uhlich et al., 2013; Han et al., 2018). 1.7% agarose gel was run at 100 V for 45 min, for confirmation.

Statistical Analysis

All experiments were carried out in six replicates. Statistical analysis was done by using Two Way Analysis of Variance (ANOVA). $P < 0.05$ was considered to be significant.

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, we used different *Salmonella* isolates, representing most common serovars associated with foodborne outbreaks bound up with fresh produces, as well as serovars we collected from fresh produces previously in our laboratory (Gunel et al., 2015; Acar et al., 2017). *Salmonella* Virchow, collected from chicken meat, was the only multidrug-resistant (resistant to ampicillin, ceftiofur, nalidixic acid, streptomycin, sulfisoxazole, trimethoprim, and sulfamethoxazole-trimethoprim) serovar used in this study. Furthermore, *Salmonella* Newport, isolated from cattle, Typhimurium and Othmarschen, isolated from human clinical sources, showed antibiotic resistance to only sulfisoxazole, while *Salmonella* Enteritidis, collected from human clinical source, and Mikawasima, collected from iceberg were susceptible to all antimicrobials tested (Table 1).

Table 1. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolates.

METU-IDs	Serovars	Phenotypic Antimicrobial Resistance Profile ^a	Source	Collected from City-Country
MET S1-003	Virchow	AmpEftNalStrSfTimpSxt	Chicken meat	Ankara-Turkey
MET S1-166	Newport	Sf	Cattle	Şanlıurfa-Turkey
MET S1-185	Typhimurium	Sf	Human	Şanlıurfa-Turkey
MET S1-217	Enteritidis	Susceptible	Human	Şanlıurfa-Turkey
MET S1-227	Othmarschen	Sf	Human	Şanlıurfa-Turkey
MET S1-409	Mikawasima	Susceptible	Iceberg	Ankara-Turkey

^aSusceptible: Susceptible to antibiotics including amikacin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin (Amp), cefoxitin, ceftiofur (Eft), ceftriaxone, cephalothin, chloramphenicol, ciprofloxacin, ertapenem, gentamicin, imipenem, kanamycin, nalidixic acid (Nal), streptomycin (Str), sulfisoxazole (Sf), sulfamethoxazole-trimethoprim (Sxt), tetracycline, trimethoprim (Timp).

Curli expression

Flagella fulfilling adhesion, curli fimbriae, cellulose, lipopolysaccharides, and some outer membrane proteins are factors participating in adherence to surface. Curli proteins, such as amyloids, participate in colonization, durability, invasion and motility (Uhlich et al., 2013). Moreover, curli help to build attachment between cell and surface, and then the interactions among cell cultures (Steenackers et al., 2012). Furthermore, the previous studies revealed that curli expression depends on the strain and certain conditions (Barnhart and Chapman, 2006). Furthermore, curli are in need of initial phases of biofilm formation.

In our isolates, representing serovar Virchow was weak curli producer at 37 °C, while Newport, Typhimurium, Enteritidis, Othmarschen and Mikawasima serovars were strong curli producers at 37 °C. On the other hand, none of the isolates expressed curli production on congo red medium at 22 °C. Hence, the results indicated that the incubation temperature is a key point for curli expression of *Salmonella* isolates used in this study. In another research the greatest level of curli expression was observed by *S. Seftenberg*, followed by *S. Enteritidis* and *S. Thompson*, while *S. Newport* and *S. Typhimurium* developed lower intensity of colony staining with congo red at 28 °C (Patel et al., 2013). Yet, further studies

are required to determine the certain inducements.

Effect of plant extracts on swimming motility

Different concentrated aqueous extracts of stinging nettle (i.e. 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL and 20 mg/mL) had various effects on swimming motility of *Salmonella* Virchow, Newport, Typhimurium, Enteritidis, Othmarschen, and Mikawasima serovars (Table 3). Swimming motility based on flagella enhances the adherence to surface and biofilm maturation. *Salmonella* isolates swim in liquid medium and surfaces by the help of flagellar motility triggering the biofilm formation and attachment to surface (Deditius et al., 2015). In general, when the bacteria get through to plant surfaces, motility and chemotaxis might help them to form biofilm in adherence areas. In plant-bacterial interactions, the bacteria respond to plant-produced signals, including spatial and nutritional signals (Mohan et al., 2018). Flagella and fimbriae play a crucial role in the mobility and attachment for settlement in the formative stages of biofilm development by bacteria on host plants (Mohan et al., 2018).

In our study, motility abilities of bacterial strains were determined according to the diameter (cm) of the halos grown on soft agar plates without stinging nettle extract as control. The highest ability for swimming motility was observed in *S.*

Virchow (8.5 ± 0.01) followed by *S. Typhimurium* (8.0 ± 0.02), *S. Enteritidis* (8.0 ± 0.02), *S. Othmarschen* (8.0 ± 0.01), *S. Newport* (7.5 ± 0.01), and *S. Mikawasima* (6.0 ± 0.02) on soft agar plates without extract (Table 3). Motility inhibition of extracts was ascertained as the percentage (%) decrease in diameter on soft agar plates. The most inhibitory effects on motility in percentages were found as 83.33% (*S. Mikawasima*, 1.0 ± 0.22 ; 4 mg/mL) followed by 80.00% (*S. Virchow*, 1.7 ± 0.13 ; 4 mg/mL), 55.00% (*S. Othmarschen*, 3.6 ± 0.30 ; 6 mg/mL), 53.75% (*S. Typhimurium*, 3.7 ± 0.24 ; 12 mg/mL), 40.00% (*S. Newport*, 4.5 ± 0.58 ; 6 mg/mL), and 32.50% (*S. Enteritidis*, 5.4 ± 0.62 ; 6 mg/mL) (Table 3). More interestingly, these highest inhibitory effects resulted from the

usage of different concentrated aqueous extracts of stinging nettle, including 4 mg/mL, 6 mg/mL, and 12 mg/mL. While 4 mg/mL concentrated stinging nettle extract inhibited the mobility of *S. Virchow* and *Mikawasima* serovars in considerable level, 6 mg/mL extract had inhibitory effect on *S. Othmarschen*, *Newport*, and *Enteritidis* serovars. Additionally, in case of *S. Typhimurium*, 12 mg/mL extract was determined as the most inhibitory concentration for the swimming motility. Although the concentrations of the extract were different, the highest similar reductions were ascertained in swimming motilities of *Typhimurium* and *Othmarschen* serovars (Table 3).

Table 2. Selected *Salmonella* biofilm associated genes.

Gene	Primer Sequence (5'→3') ^a	Function	Reference
<i>rpoS</i>	F: TATCGCCTGGATTACTGGCAAC R: TAGGACGCTGACGTGTCTTATC	Stationary-phase sigma factor	Uhlich et al., 2013
<i>mlrA</i>	F: ACATACCCGCAAACCACACTTC R: AGCTATGCGCATAATGCACCTCC	Regulator of curli and extracellular matrix formation	Uhlich et al., 2013
<i>ycfR</i>	F: ACGCCAGAAGGTCAACAGAA R: GGGCCGGTAAACAGAGGTAA	Putative membrane protein included in biofilm	Han et al., 2018; Salazar et al., 2013
<i>fimA</i>	F: TTGCGAGTCTGATGTTTGTCG R: CACGCTCACCGGAGTAGGAT	Fimbrial unit	Ledeboer et al., 2006
<i>spiA</i>	F: GAGATATGCCATTATTTACTACTGAGG R: TGACTTCACCCCTTATGCCAGAC	Outer membrane protein involved in biofilm	Lu et al., 2012
<i>csgA</i>	F: TATTATCCGCACCCTGGCCTAC R: GCAATAGTTCGGGCCCG	Curli subunit	Lu et al., 2011

^aF: Forward Primer, R: Reverse Primer.

To the best of our knowledge, this is the first study determining the effects of different concentrated aqueous extracts of stinging nettle (*U. dioica*) on swimming motilities of *Salmonella* serovars. In another research, 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL and 20 mg/mL aqueous extract of stinging nettle reduced the motility of *Escherichia coli* rods as ~22%, ~6%, ~14%, and ~34%, respectively, while 0.125 mg/mL increased the motility ~32% (Wojnicz et al., 2012). Besides that, motilities of *S. Newport*, *S.*

Typhimurium, and *S. Enteritidis* increased in agar supplemented with apitoxin (512 µg/mL) compared to control without apitoxin in another study (Arteaga et al., 2019).

Our results showed that some concentrations reduced the bacterial motility, while others increased it as well. It is difficult to explain this phenomenon, because there are no reports defining these kinds of points. However, another study demonstrated that bacteria growing at pH

6.0 and 7.0 were more motile than those grown at pH 5.8-10.0 (Hattermann and Ries, 1989). Further studies are required in order to understand the effects of different concentrated extracts on swimming motility. It might be concluded that particular concentration is

required to inhibit considerably the swimming motility of each serovar. In addition to this, aqueous extract of stinging nettle might play a crucial role in limiting the motilities of *Salmonella* serovars during the formative stages of biofilm development on host plants.

Table 3. Swimming mobility capacities of biofilm forming *Salmonella* isolates in presence of the aqueous extract of stinging nettle in different concentrations.

Serovars	Control ^a (cm)	Diameter (cm) on plates, including extract of stinging nettle ^b							Decrease in diameter ^c (%)
		2	4	6	8	12	16	20	
		mg/m L	mg/m L	mg/m L	mg/m L	mg/m L	mg/m L	mg/m L	
Virchow	8.5±	8.5±	1.7±	5.0±	8.5±	6.4±	7.0±	7.0±	80.00
	0.01	0.01	0.13	0.28	0.03	0.14	0.20	0.01	
Newport	7.5±	7.5±	4.8±	4.5±	5.1±	5.6±	5.5±	5.5±	40.00
	0.01	0.01	0.25	0.58	0.26	0.23	0.16	0.23	
Typhimurium	8.0±	8.0±	5.5±	5.1±	6.8±	3.7±	5.9±	6.5±	53.75
	0.02	0.02	0.38	0.41	0.32	0.24	0.46	0.38	
Enteritidis	8.0±	8.0±	8.0±	5.4±	7.5±	7.5±	7.5±	7.5±	32.50
	0.02	0.02	0.10	0.62	0.09	0.02	0.10	0.12	
Othmarschen	8.0±	8.0±	4.5±	3.6±	4.5±	7.5±	7.5±	7.5±	55.00
	0.01	0.01	0.32	0.30	0.15	0.03	0.05	0.02	
Mikawasima	6.0±	6.0±	1.0±	5.0±	6.5±	5.5±	6.5±	8.5±	83.33
	0.02	0.02	0.22	0.35	0.07	0.04	0.04	0.03	

^aAgar medium of control groups includes 1% tryptone, 0.5% NaCl and 0.3% agar without stinging nettle extract.

^bAgar media consists of 1% tryptone, 0.5% NaCl, 0.3% agar, and different concentrated extracts of stinging nettle, which are 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL and 20 mg/mL.

^cDiameters were measured according to the most inhibitory concentration specified as bold number narrow for each serovar. Calculation was done as specified: $[100 - (\text{Diameter in the most inhibitory concentration} \times 100 / \text{Diameter in the control})]$. Diameters are the average values of the six replicates. P -value < 0.05 for stinging nettle concentrations used to inhibit swimming motility. There is a significant difference between stinging nettle concentrations.

Effect of plant extracts on pre-formed biofilms *in vitro*

Optical density at 600 nm (OD₆₀₀) for each *Salmonella* serovar was found as 2.2802±0.30 (Mikawasima), 2.2321±0.26 (Othmarschen), 2.0389±0.24 (Enteritidis), 0.8502±0.15 (Typhimurium), 0.7985±0.10 (Virchow), and 0.6201±0.01 (Newport) *in vitro* as control groups untreated with stinging nettle extract, respectively (Table 4). Mikawasima, Othmarschen and Enteritidis serovars were determined as strong biofilm producers, while Typhimurium, Virchow and Newport serovars were ascertained as moderate biofilm producers *in vitro*, as described classification (Stepanović et al., 2004). Although Mikawasima is a rare serovar, in this study Mikawasima was found out as the strongest

biofilm producer. In another study, biofilm development capacity of *S. Mikawasima* isolated from laying hens was determined as the highest compared to Enteritidis, Typhimurium, and Virchow serovars as well (Marin et al., 2009). Another rare human pathogen, which is *S. Othmarschen*, was also found as one of the strongest biofilm producers in this study. On the other hand, *S. Newport*, which was characterized as a strong biofilm producer in a broad array of environmental conditions in another study (Lianou and Koutsoumanis, 2012), was typified as a moderate biofilm producer in our study. Different biofilm forming abilities in *Salmonella* serovars are strongly considered to derive from strain-dependence (Lianou and Koutsoumanis, 2012).

Additionally, eradication effects of water-soluble stinging nettle extracts including 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 12 mg/mL, 16 mg/mL, and 20 mg/mL on pre-formed biofilm formations of *Salmonella* serovars were specified (Table 4). The findings indicated that for each serovar these extracts had different eradication effects on pre-formed biofilm. For instance, the highest Log CFU/mL reduction (0.55 ± 0.16) on pre-formed *S. Mikawasima* biofilm was observed using 2 mg/mL aqueous extract of stinging nettle. In *S. Othmarschen* 0.88 ± 0.20 Log CFU/mL reduction was noticed applying 20 mg/mL extract. Surprisingly, higher concentration (20 mg/mL) partially eradicated biofilm formation of *Othmarschen* serovar, while lower concentration (2 mg/mL) resulted in the highest eradication effect on biofilm of *Mikawasima* serovar. It is difficult to explain the reason of this finding. Yet, the complex interactions governing biofilms might be distinctly affected by the components of stinging nettle extract. The greatest reduction in pre-formed biofilm of *S. Enteritidis in vitro* was

obtained as 0.68 ± 0.20 Log CFU/mL within 4 mg/mL extract. Among the strong biofilm producers including *Mikawasima*, *Othmarschen* and *Enteritidis* serovars, water-soluble stinging nettle extract had the greatest eradication effect on pre-formed biofilm of *Othmarschen*. On the contrary, in moderate biofilm producers, which are *Typhimurium*, *Virchow* and *Newport* serovars, 0.08 ± 0.02 Log CFU/mL (2 mg/mL), 0.28 ± 0.12 Log CFU/mL (4 mg/mL), and 0.30 ± 0.15 Log CFU/mL (4 mg/mL) were found as the greatest reductions, respectively (Table 4). Findings showed that aqueous stinging nettle extract did not have any pivotal effect on eliminating pre-formed biofilm of *Typhimurium* serovar, while same concentrated extract (4 mg/mL) demonstrated similar eradication effect on biofilm formations of *Virchow* and *Newport* serovars. More interestingly, no reduction on biofilms of *Typhimurium* and *Newport* was determined using 8 mg/mL extract although lower and higher concentrations than 8 mg/mL indicated some reductions (Table 4).

Table 4. The Log CFU/mL reductions of *Salmonella* isolates *in vitro* with the aqueous extract of stinging nettle in different concentrations.

Isolates METU- IDs	Serovars	Control, OD ₆₀₀	Log CFU/mL Reduction ^a						
			2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	12 mg/mL	16 mg/mL	20 mg/mL
MET S1-003	Virchow	0.7985± 0.10	0.17± 0.05	0.28± 0.12	0.24± 0.17	0.22± 0.14	0.23± 0.11	0.26± 0.10	0.25± 0.10
MET S1-166	Newport	0.6201± 0.01	0.27± 0.10	0.30± 0.15	0.28± 0.16	No reduction	0.13± 0.05	0.25± 0.10	0.27± 0.11
MET S1-185	Typhimurium	0.8502± 0.15	0.08± 0.02	0.01± 0.01	0.02± 0.01	No reduction	0.02± 0.01	0.05± 0.02	0.01± 0.01
MET S1-217	Enteritidis	2.0389± 0.24	0.66± 0.13	0.68± 0.20	0.35± 0.09	0.25± 0.18	0.49± 0.18	0.48± 0.13	0.54± 0.16
MET S1-227	Othmarschen	2.2321± 0.26	0.57± 0.11	0.60± 0.14	0.70± 0.16	0.85± 0.20	0.83± 0.21	0.14± 0.04	0.88± 0.20
MET S1-409	Mikawasima	2.2802± 0.30	0.55± 0.16	0.23± 0.11	0.26± 0.12	0.32± 0.12	0.35± 0.10	0.47± 0.10	0.48± 0.15

^aOptical densities of each control group were calculated by taking the average values of the six replicates. Bold values were representing statistically significant values between Log CFU/mL reductions resulting from the usage of different concentrated extracts of stinging nettle with *P*-value < 0.05.

It might be concluded that for each serovar there is a certain threshold for the concentration of stinging nettle extract in order to eradicate the pre-formed biofilms. To understand deeply the reason of these, more studies related to biofilm matrix are required. In another study, the use of

glutaraldehyde, formaldehyde, and peroxygen at concentration of 1.0% in field conditions was determined as inadequate for *Salmonella* elimination irrespective of the serotype, the biofilm development capacity, and the disinfectant contact time (Marin et al., 2009). In

addition to this, aqueous extract of stinging nettle used in this study demonstrated better elimination of biofilms compared to most common disinfectants including glutaraldehyde, formaldehyde, and peroxygen. Apitoxin destroyed the pre-formed biofilms of *S. Enteritidis*, Newport, and one of Typhimurium strains on polystyrene surface as 0.16 Log, 0.28 Log, and 0.40 Log reduction, respectively (Arteaga et al., 2019). In comparison with this result, our study showed higher eradication effect on pre-formed biofilms of Enteritidis and Newport. Moreover, carvacrol and thymol, which are the main components of oregano and thyme oils, reduced *S. Typhimurium* biofilms about 5 Log, and *S. Enteritidis* biofilms about 4 Log on polypropylene surface (Amaralet al., 2015). Although carvacrol and thymol indicated much greater destructive effect on biofilm formations compared to stinging nettle, the roles of biofilm formation surfaces on eliminating effect should also be taken into consideration. Nevertheless, a little or nothing is known related to eradication effects of plant extracts on pre-formed biofilms of *S. Mikawasima*, Othmarschen, Newport and Virchow serovars. Therefore, our study might contribute important findings to literature about disruptive effects of aqueous extract of stinging nettle on pre-formed biofilms of *Salmonella* serovars *in vitro*.

Effect of plant extract on pre-formed biofilms on spinach leaves

Surface structures and genotypic features of the plant, the regional physicochemical properties, the ecological conditions, such as temperature, wind, soil and rainfall, and the processes from field to fork have crucial impacts on the biofilm forming ability of microbial communities on plants (Carter and Brandl, 2015). Moreover, biofilms on fresh produce enable bacteria to endure against environmental stress conditions, exchange genetic elements, such as antibiotic resistance genes among bacteria, and interoperate in metabolic and physical way. Thus, 40 mg/mL, a higher concentration compared to the ones used for *in vitro*, was applied to the biofilms *Salmonella* serovars on spinach leaves, since eradication of biofilms on fresh produce has been harder than

of *in vitro*. Furthermore, exposure time also plays a crucial role in obstructing the biofilm formation on fresh products. In other words, efficient exposure time is required to impair the biofilm matrix of bacteria, and diffuse the bioactive compounds of the extracts and/or essential oils into the bacterial cells.

Salmonella colonies on samples without treatments were counted as controls. Initial microbial loads of *Salmonella* serovars were recovered from spinach leaf surface as 8.30 ± 2.00 Log CFU/cm² (*S. Mikawasima*), 8.30 ± 1.00 Log CFU/cm² (*S. Othmarschen*), 8.00 ± 2.00 Log CFU/cm² (*S. Enteritidis*), 7.95 ± 2.00 Log CFU/cm² (*S. Virchow*), 7.78 ± 1.00 Log CFU/cm² (*S. Newport*), and 7.30 ± 1.00 Log CFU/cm² (*S. Typhimurium*), respectively (Table 5). Biofilm forming ability on spinach leaf surface was found similar between *Salmonella* serovars ($P > 0.05$) without exposure to water-soluble stinging nettle extract. In another study, *Salmonella* Tennessee and *S. Thompson* produced stronger biofilms *in vitro* compared to *S. Newport*, *S. Negev*, and *S. Braenderup* attached more strongly to lettuce than other serovars (Patel and Sharma, 2010). Furthermore, *S. Typhimurium* growth was inhibited when cultured in rocket extract and when grew directly to rocket leaves (Doulgeraki et al., 2016). Another research indicated that *Salmonella* persistence on spinach leaves is affected by the source of contamination and the biofilm forming ability of the strain (Patel et al., 2013). Although *Salmonella* serovars used in this study were isolated from different sources including chicken meat, cattle, human, and iceberg, and *S. Typhimurium*, Virchow and Newport serovars ascertained as moderate biofilm producers *in vitro*, all serovars demonstrated similar biofilm forming ability on spinach leaf. Moreover, *S. Virchow* showed a little higher biofilm forming capability on spinach leaf compared to that of representing Newport and Typhimurium serovars despite being weak producer (*S. Virchow*) in curli expression. The reason of that might be connected to strain and characteristics of the biofilm formation. In addition to this, greater biofilm forming ability of *S. Mikawasima* and Othmarschen, which are rare serovars compared

to *S. Enteritidis*, Typhimurium, Virchow and Newport, on spinach might pose a serious threat to food safety. In other words, if leafy green vegetables consumed as raw salad are contaminated with pathogenic *Salmonella*, the eradication of them from fresh produce gains prominence.

Different exposure time, including 5 min, 10 min, 30 min, and 1 h, of 40 mg/mL aqueous extract of stinging nettle were applied to pre-formed biofilms of *Salmonella* serovars. The greatest reductions were recovered for *S. Newport*, Enteritidis, Othmarschen, Mikawasima, Typhimurium, and Virchow serovars as 2.00 ± 0.21 Log CFU/cm² (1 h exposure of extract), 1.70 ± 0.23 Log CFU/cm² (1 h exposure of extract), 1.70 ± 0.26 Log CFU/cm² (1 h exposure of extract), 1.70 ± 0.18 Log CFU/cm² (1 h exposure of extract), 1.40 ± 0.21 Log CFU/cm² (30 min exposure of extract), and 0.88 ± 0.20 Log CFU/cm² (5 min exposure time), respectively (Table 5). The results demonstrated that serovar-dependence is also important information as well as time-dependence for the eradication efficiency of water-soluble stinging nettle extract on pre-

formed biofilms of *Salmonella* serovars ($P < 0.05$). For instance, 5 min treatment with 40 mg/mL stinging nettle extract exhibited the greatest disruption performance on pre-formed biofilm of *S. Virchow*, while no reduction was observed on pre-formed biofilm of *S. Mikawasima* which is an emerging serovar causing outbreaks recently. Besides, 5 min treatment was found as the second highest effective exposure time for the pre-formed biofilm of *S. Newport*. In contrast, 30 min treatment showed a considerable eradication effect on *S. Typhimurium*, which is a common serovar associated with numerous foodborne outbreaks. Additionally, greater considerable reductions were determined within 1 h exposure of the extract on biofilms of *S. Newport*, Enteritidis, Othmarschen, and Mikawasima serovars. Even though it is hard to clarify the interaction between serovar-dependence and time-dependence to eliminate pre-formed biofilm within the extract, importance of exposure time of the stinging nettle extract on biofilm formations of each *Salmonella* serovar were enlightened to observe antibiofilm effects on spinach leaves.

Table 5. The Log CFU/cm² reductions of *Salmonella* isolates on spinach leaf at different exposure times with 40 mg/mL stinging nettle extract.

Isolates METU-IDs	Serovars	Initial Microbial Load, (Log CFU/cm ²) ^a	Log CFU/cm ² Reduction ^b			
			5 min	10 min	30 min	1 h
MET S1-003	Virchow	7.95±2.00	0.88±0.20	No reduction	0.21±0.05	0.80±0.11
MET S1-166	Newport	7.78±1.00	1.52±0.12	0.77±0.14	0.68±0.15	2.00±0.21
MET S1-185	Typhimurium	7.30±1.00	1.00±0.15	0.82±0.23	1.40±0.21	0.70±0.20
MET S1-217	Enteritidis	8.00±2.00	0.49±0.13	0.06±0.01	1.40±0.10	1.70±0.23
MET S1-227	Othmarschen	8.30±1.00	0.15±0.09	0.14±0.03	1.10±0.20	1.70±0.26
MET S1-409	Mikawasima	8.30±2.00	No reduction	0.20±0.05	1.00±0.10	1.70±0.18

^a CFU: Colony Forming Unit. Colony forming units were given as the average values of the six replicates.

^b Bold values were representing significant difference between exposure times with P -value < 0.05 .

Studies related to the eradication of pre-formed biofilms of *Salmonella* on biotic surfaces such as plants within plant extracts are limited and/or not found in the literature. A study detected 2.26 Log CFU/cm² reductions in lettuce samples inoculated with *E. coli* O157:H7 after 4 mg/mL clove oil treatment for 30 min (Cui et al., 2016).

Rather than biotic surfaces, there are more studies about elimination of biofilm formation by *Salmonella enterica* on different food-contact surfaces using essential oils, plant extracts and/or chemical disinfectants in the literature. For example, the levels of *Salmonella* spp. biofilm cells were reduced by 3.3 Log CFU/cm² when treated

with thyme essential oil and by 3.1 Log CFU/cm² when treated with tea tree essential oil at 0.1% v/v within 2 h-exposure on stainless steel surface (Sadekuzzaman et al., 2018). However, the reductions were lesser on rubber surface than those found on the stainless steel surface (Sadekuzzaman et al., 2018). More interestingly, 1, 15, or 60 min exposure of chemical solutions which are glutaraldehyde, formaldehyde, and hydrogen peroxide at 1.0% concentration were inadequate for *Salmonella* elimination on abiotic surfaces (Marin et al., 2009). Our findings might contribute to the literature about the elimination of pre-formed biofilms of *Salmonella* on raw vegetables such as spinach using water-soluble stinging nettle extract.

Biofilm related genes

In molecular level, biofilm associated genes (i.e. *rpoS*, *mlrA*, *ycfR*, *fimA*, *spiA* and *csgA*) were screened in all *Salmonella* isolates including Virchow, Newport, Typhimurium, Enteritidis, Othmarschen and Mikawasima serovars in this study. *rpoS* is an important control unit in expression of many genes related to stress response, regulation and metabolism (Chen et al., 1996). RpoS, stationary-phase sigma factor, is also assigned in curli gene expression (Arnqvist et al., 1994) and cellulose production (Wang et al., 2010). Moreover, *rpoS* plays a crucial role in adhering to the plants for *Salmonella enterica* (Wang et al., 2010). RpoS regulates the curli gene expression by actuating MlrA expression as well (Brown et al., 2001). Thus, MlrA takes part in the generation of RpoS-based curli, and extracellular matrix formation of *Salmonella* isolates. YcfR promotes the surface attachment in *Salmonella* and triggers biofilm formation (Salazar et al., 2013). In another research, it was ascertained that the deletion of *ycfR* in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Saintpaul decreased the attachment of them to spinach leaves after chlorine treatment (Salazar et al., 2013). *fimA*, encoding the major fimbrial protein subunit (Cohen et al., 1996), takes charge in adherence, pathogenesis and colonization during the biofilm formation (Zeiner et al., 2012). *spiA* secreting type III outer membrane protein is assigned to virulence factors in biofilm formations, and curli

expression (Dong et al., 2011). CsgA which is the major structural subunit is expressed by *csgBAC* operon required for curli secretion in *Salmonella* (Römling et al., 1998). In this study, among *Salmonella* Virchow, Newport, Typhimurium, Enteritidis, Othmarschen and Mikawasima serovars, *rpoS*, *mlrA*, *ycfR*, *fimA*, *spiA*, and *csgA* genes were detected. Our findings as regards selected biofilm formation related genes (Table 2) were compatible by taking into consideration the biofilm forming abilities of *Salmonella* serovars *in vitro* and spinach, and curli expression except for *Salmonella* Virchow, due to being weak in curli production. However, further investigation should be conducted to determine the expression levels of each gene in biofilm production *in vitro* as well as on spinach leaves.

CONCLUSION

All in all, this study indicated various eradication impacts of the different concentrated aqueous extracts of stinging nettle (*Urtica dioica*) on biofilm forming foodborne pathogen *Salmonella enterica* isolates. Cellular properties of the strains, bioactive constituents of the stinging nettle, and QS molecules and extracellular polysaccharides of biofilm forming *Salmonella* might be adduced for the reasons of distinct destructive effects. Moreover, the results showed that the significance of the exposure time of the extract in order to disrupt the biofilm structure on spinach. In conclusion, biofilm forming abilities of *Salmonella* isolates, representing Virchow, Newport, Typhimurium, Enteritidis, Othmarschen and Mikawasima serovars, were affected by different concentrations of aqueous extract of stinging nettle (*Urtica dioica*) in this research. By taking into consideration the natural, antimicrobial, nourishing features of stinging nettle, it might contribute to solution for biofilm spreading on fresh produce, which is a common problem of the world.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Aylin Cesur performed research. Aylin Cesur and Yeşim Soyer analyzed data, designed research, and wrote the paper.

REFERENCES

- Acar, S., Bulut, E., Durul, B., Uner, I., Kur, M., Avsaroglu, M.D., Kirmaci, H.A., Tel, Y.O., Zeyrek F.Y., Soyer, Y. (2017). Phenotyping and genetic characterization of *Salmonella enterica* isolates from Turkey revealing arise of different features specific to geography. *Int J Food Microbiol*, 241: 98-107, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.031>.
- Amaral, V.C.S., Santos, P.R., da Silva, A.F., dosSantos, A.R., Machinski, J.M., Mikcha, J.M.G. (2015). Effect of carvacrol and thymol on *Salmonella* spp. biofilms on polypropylene. *Int J Food Sci Tech*, 50: 2639-2643, <https://doi.org/10.1111/ijfs.12934>.
- Arnqvist, A., Olsén, A., Normark, S. (1994). Sigma S-dependent growth-phase induction of the csgBA promoter in *Escherichia coli* can be achieved in vivo by sigma 70 in the absence of the nucleoid-associated protein H-NS. *Mol Microbiol*, 13: 1021-1032, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1994.tb00493.x>.
- Arteaga, V., Lamas, A., Regal, P., Vázquez, B., Miranda Cepeda, J.M.A., Franco, C.M. (2019). Antimicrobial activity of apitoxin from *Apis mellifera* in *Salmonella enterica* strains isolated from poultry and its effects on motility, biofilm formation and gene expression. *Microb Pathog*, 137: 103771, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103771>.
- Barnhart, M.M., Chapman, M.R. (2006). Curli Biogenesis and Function. *Annu Rev Microbiol*, 60: 131-147, <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142106>.
- Brown, P.K., Dozois, C.M., Nickerson, C.A., Zuppardo, A., Terlonge, J., Curtiss, R. (2001). MlrA, a novel regulator of curli (Agf) and extracellular matrix synthesis by *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Mol Microbiol*, 41: 349-363, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02529.x>.
- Callejón, R.M., Rodríguez-Naranjo, M.I., Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., Garcia-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M. (2015). Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. *Foodborne Pathog Dis*, 12: 32-38, <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1821>.
- Carter, M.Q., Brandl, M.T. (2015). Biofilms in fresh vegetables and fruits. In: *Biofilms in the food environment*, Pometto III, A. L., Demirci, A. (ed.), WILEY Blackwell, Malaysia, pp. 176-204.
- Chen, C.Y., Eckmann, L., Libby, S.J., Fang, F.C., Okamoto, S., Kagnoff, M.F., Fierer, J., Guiney, V. (1996). Expression of *Salmonella typhimurium* rpoS and rpoS-dependent genes in the intracellular environment of eukaryotic cells. *Infect Immun*, 64: 4739-4743.
- Chen, C.Y., Hofmann, C.S., Cottrell, B.J., Strobaugh, T.P.J., Paoli, G.C., Nguyen, L.H., Yan X., Uhlich, G.A. (2013). Phenotypic and genotypic characterization of biofilm forming capabilities in non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *PLoS One*, 8: e84863, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084863>.
- Christensen, G.D., Simpson, W.A., Younger, J.J., Baddour, L.M., Barrett, F.F., Melton, D.M., Beachey, E.H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol*, 22: 996-1006.
- Cohen, H.J., Mechanda, S.M., Lin, W. (1996). PCR amplification of the fimA gene sequence of *Salmonella typhimurium*, a specific method for detection of *Salmonella* spp. *Appl Environ Microbiol*, 62: 4303-4308.
- Cui, H., Ma, C., Lin, L. (2016). Synergetic antibacterial efficacy of cold nitrogen plasma and clove oil against *Escherichia coli* O157: H7 biofilms on lettuce. *Food Control*, 66: 8-16, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.035>.
- Dar, S.A., Ganai, F.A., Yousuf, A.R., Balkhi, M.U., Bhat, T.M., Sharma, P. (2013). Pharmacological and toxicological evaluation of

- Urtica dioica*. *Pharm Biol*, 51: 170-180, <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.715172>.
- Deditius, J.A., Felgner, S., Spöring, I., Kühne, C., Frahm, M., Rohde, M., Weiß, S., Erhardt, M. (2015). Characterization of novel factors involved in swimming and swarming motility in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *PLoS One*, 10: e0135351, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135351>.
- Dong, H., Peng, D., Jiao, X., Zhang, X., Geng, S., Liu, X. (2011). Roles of the spiA gene from *Salmonella enteritidis* in biofilm formation and virulence. *Microbiology*, 157: 1798-1805, <https://doi.org/10.1099/mic.0.046185-0>.
- Doulgeraki, A.I., Papaioannou, M., Nychas, G.J.E. (2016). Targeted gene expression study of *Salmonella enterica* during biofilm formation on rocket leaves. *LWT-Food Sci Technol*, 65: 254-260, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.017>.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2013). Unusual increase of *Salmonella* Mikawasima infections in humans. *EFSA Supporting Publications*. 10: 512E, <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2013.EN-512>.
- Faour-Klingbeil, D., Todd, E.C.D. (2018). A review on the rising prevalence of international standards: threats or opportunities for the agri-food produce sector in developing countries, with a focus on examples from the MENA region. *Foods*, 7: 33, <https://doi.org/10.3390/foods7030033>.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö.I., Oktay, M., Büyükkuroğlu, M.E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol*, 90: 205-215, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.028>.
- Gunel, E., Polat Kilic, G., Bulut, E., Durul, B., Acar, S., Alpas, H., Soyer, Y. (2015). *Salmonella* surveillance on fresh produce in retail in Turkey. *Int J Food Microbiol*, 199: 72-77, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.01.010>.
- Gupta, P.D., Birdi, T.J. (2017). Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *J Ayurveda Integr Med*, 8: 266-275, <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.05.004>.
- Han, D., Hung, Y.C., Bratcher, C.L., Monu, E.A., Wang, Y., Wang, L. (2018). Formation of sublethally injured *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis cells after neutral electrolyzed oxidizing water treatments. *Appl Environ Microbiol*, <https://doi.org/10.1128/AEM.01066-18>.
- Hattermann, D.R., Ries, S.M. (1989). Motility of *Pseudomonas syringae* pv. glycinea and its role in infection. *Phytopathology*, 79: 284-289.
- Heaton, J.C., Jones, K. (2008). Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: A review. *J Appl Microbiol*, 104:613-626, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03587.x>.
- Kim, S., Choi, Y.G., Eom, J.W., Oh, T.J., Lee, K.S., Kim, S.H., Lee, E.T., Park, M.S., Oh H.B., Lee, B.K. (2007). An outbreak of *Salmonella enterica* serovar Othmarschen at a funeral service in Guri-si, South Korea. *Jpn J Infect Dis*, 60: 412-413.
- Koehn, F.E., Carter, G.T. (2005). The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 4: 206-220, <https://doi.org/10.1038/nrd1657>.
- Ledeboer, N.A., Frye, J.G., McClelland, M., Jones, B.D. (2006). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium requires the Lpf, Pef, and Tafi fimbriae for biofilm formation on HEp-2 tissue culture cells and chicken intestinal epithelium. *Infect Immun*, 74: 3156-3169, <https://doi.org/10.1128/IAI.01428-05>.
- Lianou, A., Koutsoumanis, K.P. (2012). Strain variability of the biofilm-forming ability of *Salmonella enterica* under various environmental conditions. *Int J Food Microbiol*, 160: 171-178, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.10.002>.
- Lu, L., Hu, W., Tian, Z., Yuan, D., Yi, G., Zhou, Y., Cheng, Q., Zhu, J., Li, M. (2019). Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chin Med*, 14:11, <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0232-2>.

- Lu, Y., Dong, H., Chen, S., Chen, Y., Peng, D., Liu, X. (2011). Characterization of biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar Pullorum strains. *Afr J Microbiol Res*, <https://doi.org/10.5897/AJMR11.035>.
- Lu, Y., Chen, S., Dong, H., Sun, H., Peng, D., Liu, X. (2012). Identification of genes responsible for biofilm formation or virulence in *Salmonella enterica* serovar Pullorum. *Avian Dis*, 56:134-143, <https://doi.org/10.1637/9806-052411-Reg.1>.
- Marin, C., Hernandez, A., Lainez, M. (2009). Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. *Poult Sci*, 88: 424-431, <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00241>.
- Mohan, R., Benton, M., Dangelmaier, E., Fu, Z., Sekhar, A.C. (2018). Quorum sensing and biofilm formation in pathogenic and mutualistic plant-bacterial interactions. In: Implication of quorum sensing system in biofilm formation and virulence, Bramhachari, P. V. (ed), Springer, Singapore, pp. 135-137.
- Myšková, P., Karpíšková, R., Dědičová, D. (2013). Salmonellosis outbreaks in the Czech Republic in 2012. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 62: 59-63.
- Patel, J., Sharma, M. (2010). Differences in attachment of *Salmonella enterica* serovars to cabbage and lettuce leaves. *Int J Food Microbiol*, 139: 41-47, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.005>.
- Patel, J., Singh, M., Macarasin, D., Sharma, M., Shelton, D. (2013). Differences in biofilm formation of produce and poultry *Salmonella enterica* isolates and their persistence on spinach plants. *Food Microbiol*, 36: 388-394, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.019>.
- Polo, F., Figueras, M.J., Inza, I., Sala, J., Fleisher, J.M., Guarro, J. (1999). Prevalence of *Salmonella* serotypes in environmental waters and their relationships with indicator organisms. *Anton Leeuw Int J G*, 75: 285-292.
- Pyatkovskyy, T., Shynkaryk, M., Yousef, A., Sastry, S.K. (2017). Fresh produce sanitization by combination of gaseous ozone and liquid sanitizer. *J Food Eng*, 75: 285-292, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.031>.
- Römling, U., Bian, Z., Hammar, M., Sierralta, W.D., Normark, S. (1998). Curli fibers are highly conserved between *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* with respect to operon structure and regulation. *J Bacteriol*, 180: 722-731.
- Sadekuzzaman, M., Mizan, M.F.R., Kim, H.S., Yang, S., Ha, S.D. (2018). Activity of thyme and tea tree essential oils against selected foodborne pathogens in biofilms on abiotic surfaces. *LWT-Food Sci Technol*, 89: 134-139, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.042>.
- Salazar, J.K., Deng, K., Tortorello, M.L., Brandl, M.T., Wang, H., Zhang, W. (2013). Genes *ycfR*, *sirA* and *yigG* contribute to the surface attachment of *Salmonella enterica* Typhimurium and Saintpaul to fresh produce. *PLoS ONE*, 8: e57272, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057272>.
- Sperandio, V., Torres, A.G., Jarvis, B., Nataro, J.P., Kaper, J.B. (2003). Bacteria-host communication: the language of hormones. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 8951-8956, <https://doi.org/10.1073/pnas.1537100100>.
- Steenackers, H., Hermans, K., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S.C.J. (2012). *Salmonella* biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Res Int*, 45: 502-531, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.038>.
- Stepanović, S., Ćirković, I., Ranin, L., Švabić-Vlahović, M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Lett Appl Microbiol*, 38: 428-432, <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01513.x>.
- Synnott, M., Morse, D.L., Maguire, H., Majid, F., Plummer, M., Leicester, M., Threlfall, E.J., Cowden, J. (1993). An outbreak of *Salmonella mikawasima* associated with doner kebabs. *Epidemiol Infect*, 111: 473-481, <https://doi.org/10.1017/s0950268800057204>.
- Uhlich, G.A., Chen, C.Y., Cottrell, B.J., Hofmann, C.S., Dudley, E.G., Strobaugh, T.P., Nguyen, L.H. (2013). Phage insertion in *mlrA* and

variations in rpoS limit curli expression and biofilm formation in *Escherichia coli* serotype O157: H7. *Microbiology*, 159: 1586-1596, <https://doi.org/10.1099/mic.0.066118-0>.

Wang, S., Phillippy, A.M., Deng, K., Rui, X., Li, Z., Lou Tortorello, M., Zhang, W. (2010). Transcriptomic responses of *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium to chlorine-based oxidative stress. *Appl Environ Microbiol*, 76: 5013-5024, <https://doi.org/10.1128/AEM.00823-10>.

Wojnicz, D., Kucharska, A.Z., Sokół-Łętowska, A., Kicia, M., Tichaczek-Goska, D. (2012). Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. *Urol Res*, 40:683–697, <https://doi.org/10.1007/s00240-012-0499-6>.

Wolska, J., Janda, K., Szkyrpan, S., Gutowska, I. (2015). The influence of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) extracts on the activity of catalase in THP1 monocytes/macrophages. *Pomeranian J Life Sci*, 61: 315–318.

Yaron, S., Römling, U. (2014). Biofilm formation by enteric pathogens and its role in plant colonization and persistence. *Microb Biotechnol*, 7: 496–516, <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12186>.

Zeiner, S.A., Dwyer, B.E., Clegg, S. (2012). FimA, FimF, and FimH are necessary for assembly of Type 1 fimbriae on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Infect Immun*, 80: 3289–3296, <https://doi.org/10.1128/IAI.00331-12>.

SİYAH ÇAY ÜRETİM ATIKLARINDAN KONSANTRE ÇAY EKSTRAKTI ÜRETİMİNDE KREMA OLUŞUM KOŞULLARININ VE BİLEŞİMİNİN BELİRLENMESİ

Ferhan Balcı-Torun¹, Kübra Sultan Özdemir², Rukiye Mavuş³, Mehmet Torun^{1*}

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

²Konya, Gıda ve Tarım Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş / Received: 30.12.2020; Kabul / Accepted: 03.03.2021; Online baskı / Published online: 11.03.2021

Balcı-Torun, F., Özdemir, K.S., Mavuş, R., Torun, M. (2021). Siyah çay üretim atıklarından konsantre çay ekstraktı üretiminde krema oluşum koşullarının ve bileşiminin belirlenmesi. *GIDA* (2021) 46(2) 339-350 doi: 10.15237/gida. GD20145.

Balcı-Torun, F., Özdemir, K.S., Mavuş, R., Torun, M. (2021). Determination of cream formation conditions and its composition during production of concentrated tea extract from black tea manufacturing wastes. GIDA (2021) 46(2) 339-350 doi: 10.15237/gida. GD20145.

ÖZ

Bu çalışmada, Türk siyah çayı işletme atıklardan konsantre çay ekstraktı üretimi gerçekleştirilmiş, üretim sırasında oluşan krema miktarı ve bileşimi ile son ürünün bazı özellikleri belirlenmiştir. Bu doğrultuda en uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla üç farklı sıcaklık (75, 85 ve 95 °C), 5 farklı süre (15, 30, 45, 69 ve 90 dakika) ve 2 farklı atık çay/su besleme oranında (1/15 ve 1/20) ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon çalışmaları en uygun şartların 95 °C, 30 dakika ve 1/15 besleme oranı olduğunu göstermiş ve elde edilen ekstraktın suda çözünür kuru madde miktarı 1.8 °Bx, kafein miktarı 0.45 g/100 g ve bulanıklık 27.6 NTU olarak ölçülmüştür. Ön konsantre (15 °Bx) edilen ekstraktlarda 4 °C'de 12 saat sonunda en fazla miktarda (1.98 g/100 mL) çay kreması oluşumu gözlenmiş ve kremanın %15.88 kafein, %17.08 protein, %8.72 epigallokateşin, %5.89 epigallokateşin gallat, %5.38 kateşin gallat, %4.04 epikateşin gallat, %2.83 gallokteşin, %2.15 epikateşin ve %1.37 kateşinden oluştuğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Siyah çay atığı, çay kreması, konsantrasyon, bulanıklık, kateşin

DETERMINATION OF CREAM FORMATION CONDITIONS AND ITS COMPOSITION DURING PRODUCTION OF CONCENTRATED TEA EXTRACT FROM BLACK TEA MANUFACTURING WASTES

ABSTRACT

In this study, concentrated tea extract was obtained from Turkish black tea manufacturing wastes, the amount and composition of cream formed during production and also some properties of the concentrated product were determined. Accordingly, in order to determine the best extraction conditions, the treatments were carried out at three different temperatures (75, 85 and 95 °C), five different time (15, 30, 45, 69 and 90 minutes) and two different waste tea/water feeding ratios (1/15

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: torun@akdeniz.edu.tr,

☎: (+90) 242 310 6520

☎: (+90) 242 310 6306

Ferhan Balcı-Torun; ORCID no: 0000-0002-8972-1087

Kübra Sultan Özdemir; ORCID no: 0000-0002-7428-1840

Rukiye Mavuş; ORCID no: 0000-0002-6423-8561

Mehmet Torun; ORCID no: 0000-0002-6287-2993

and 1/20). Extraction experiments showed that the best conditions were 95 °C for 30 minutes in 1/15 ratio and the water soluble dry matter content of the obtained extract was measured as 1.8 °Bx, caffeine amount and turbidity value were 0.45 g/100 g and 27.6 NTU, respectively. The highest amount (1.98 g/100 mL) of tea cream formation was observed after 12 hours at 4 °C in the pre-concentrated (15°-Bx) extracts, the cream consisted of 15.88% caffeine, 17.08% protein, 8.72% epigallocatechin, 5.89% epigallocatechin gallate, 5.38% catechin gallate, 4.04% epicatechin gallate, 2.83% gallo catechin, 2.15% epicatechin and 1.37% catechin.

Keywords: Black tea waste, tea creaming, concentration, turbidity, catechin

GİRİŞ

Birçok bitkinin tohumu, çiçeği, dalları, yaprağı, meyvesi, meyvesinin çekirdekleri veya kabukları değişik toplumlarda yüzyıllardır çay olarak tüketilmektedir. Bunlar içerisinde çay (*Camellia sinensis*) bitkisinin sürgün ve taze yapraklarından elde edilen çay ise kendine özgü tadı, aroması ve sağlığa faydalı özellikleri nedeniyle beş kıtaya yayılmış ve dünya genelinde sudan sonra en çok tüketilen alkolsüz içecek haline gelmiştir (Yılmaz vd., 2020). Çay yapraklarının farklı şekillerde işlenmesiyle siyah, yeşil ve oolong çay gibi farklı görünüş, tat ve lezzette çaylar elde edilebilmektedir. Bu çayları diğer bitki çaylarından farklı ve özel kılan en önemli maddeler ise bileşimlerinde bulunan kateşinler ve kafeindir (Balcı ve Özdemir, 2016). Son yıllarda gıda bileşenlerinin antioksidan özelliklerinin ve gıda sağlık ilişkilerinin belirlenmesi konusuna araştırmalar artmış ve bu araştırma sonuçları çayın önemli bileşenlerinden kateşinler ve bunların oksidasyon ürünü olan theaflavin (TF) ve thearubiginlerin (TR) sağlık üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir (Pou vd., 2019; Sen vd., 2020). Kendine has duyuşal özellikleri yanında çayın insan sağlığı üzerine olan olumlu etkileri de çay tüketimini arttırmıştır (de Mejia vd., 2009; Fatima ve Rizv, 2011). Bu durum, geleneksel çay tüketiminin dışında çaydan elde edilen yeni ürün arayışları ile çay katkılı ya da içeriğinde çay ekstrakt veya etken bileşenlerinin bulunduğu yeni ürünler geliştirme konusunda yapılan çalışmaları arttırmıştır. Nitekim, günümüzde farklı meyve aromalı soğuk çay, çay katkılı şekerlemeler, dondurmalar, kahvaltılık ve pastacılık ürünleri, gıda takviye edici çay ürünleri tüketicilerin hizmetine sunulmuştur. Bu konuda araştırmalar tüm dünyada devam etmektedir.

Soğuk çay üretiminde kullanılan çay ekstraktı, konsantre edilmiş ekstraktın (>65 °Bx) istenilen

oranda seyreltilmesi ya da hızlı çözünür formda üretilen çayların tekrar çözündürülmesiyle sağlanmaktadır. Ancak soğuk çay üretimindeki en önemli problem; çay ekstraktı içerisindeki bazı bileşenlerin soğukta çözünürlüklerinin azalmasına bağlı olarak ekstraktta krema oluşumudur (Evans ve Bird, 2010). Çay ekstraktı çayın duyuşal ve biyoaktif özelliklerinden sorumlu olan kateşinler ve kafein ile birlikte polisakaritler, proteinler ve mineral maddelerin de bulunduğu kompleks bir yapı içermektedir (Yin vd., 2009). Soğuk suda çözünmeyen maddeler "çay kreması" olarak nitelendirilmektedir. Çay kateşinleri ve siyah çayda kateşinlerin oksidasyon ürünleri (TF ve TR), kafein, protein, pektin ve metal iyonları ile etkileşime girdiğinde, çöken büyük kompleks yapılar (çay kreması) oluşmaktadır. Özellikle kateşinlerin gıllatlanmış formlarının krema oluşumunda önemli bileşenler olduğu bildirilmektedir (Yin vd., 2009; Xu vd., 2012). Ekstrakt soğutulduğunda büyük boyuttaki bu oluşum gözle de görülebilir bir bulanıklık olarak algılanmakta ve soğuk çayda renk, parlaklık ve lezzet açısından tüketici beğenisini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca soğutulmuş çayda gözlenen çay kreması oluşumu çayın duyuşal özelliklerinin yanı sıra ürünün sağlık üzerine olumlu etki gösteren potansiyelini de olumsuz yönde etkilemektedir (Dubey vd., 2020).

Çay kremasının çay ekstraktından ayrılması için farklı yöntemler uygulanabilmektedir. Çay kreması santrifüj edilerek ekstraktan ayrılabilceği gibi farklı boyutlardaki membran filtrelerden geçirilerek de ayrılması sağlanabilmektedir (Argyle ve Bird, 2015). Soğutulmuş ekstraktın membran filtrelerden geçirilmesi ile bulanıklık çoğunlukla engellenebilmekte iken bu işlemin dezavantajı biyoaktif ve duyuşal kaliteye etkili bileşenlerin konsantrasyonunu da azaltabilmesidir. Çay

kremasının ayrılmasında fiziksel yöntemlerin yanı sıra kimyasal yöntemler de kullanılmaktadır. Gallatlanmış formdaki kateşinlerin hidrolize edilmesi için tannaz enziminin kullanılması gibi kimyasal yöntemler, elde edilecek ekstraktta burukluğa ve genel duyu kalitesinde kayba neden olabilmektedir. Ayrıca enzim kullanımının üretim hattında kesikli çalışmayı gerektirmesi ve enzimin geri kazanılmasında yaşanan zorluklar da yöntemin diğer dezavantajları olarak görülmektedir. Düşük pH değerlerinde çay kreması oluşumunun azalmasına bağlı olarak ekstraktta sitrik asit gibi asitliği arttırıcı maddelerin eklenmesi de çay ekstraktında duyu açıdan olumsuzluklara neden olabilmektedir (Argyle ve Bird, 2015; Dubey vd., 2020).

Ülkemizde konsantre çay ekstraktı üretiminde siyah çay işlem atıklarının hammadde olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu bağlamda bu atıkların kullanılarak değerlendirilmesi ve ülke ekonomisine katma değer sağlaması oldukça önemli görülmektedir. Konsantre ekstrakt üretimi amaçlı kullanılan siyah çay atıklarını fabrikalarda oluşan; kurutma havası ile ayrılan lif ve tozlar, elektrostatik lif tutucuları tarafından ayrılan atık, eleme artığı ve tasnif odasında oluşan üretim tozları oluşturmaktadır. Her 100 kg'lık yaş çay, fabrikada işlendikten sonra yaklaşık 22-23 kg tasnif edilmemiş kuru çay elde edilmekte ve bu çayın yaklaşık %13-15'i atık olarak ayrılmaktadır. Nitekim yaş çay hasat normuna, sürgün dönemine ve elde edilen siyah çayın kalitesine bağlı olarak siyah çay fabrikalarında randıman %19-20 arasında değişmektedir. Büyük miktarlarda ortaya çıkan bu atık, üretime alınan taze çay yaprağının yaklaşık %4'ünü oluşturmaktadır. Bu atıklarda selüloz oranı çok fazla olup çöp diye adlandırılmaktadır. Ancak bu atıkların piyasada satışa sunulan siyah çaylara kıyasla kateşin, TF ve TR içeriklerinin daha az olmasına bağlı olarak daha düşük miktarda ekstrakt verimi, zayıf duyu ve fonksiyonel özellikleri söz konusudur. Siyah çay üretim atıklarını değerlendirmek amaçlı çalışmalar ve uygulamalar bulunmakla beraber bu atıklardan konsantre çay ekstraktı üretimi son zamanlarda katma değerli bir üretim olarak dikkat çekmektedir. Böylece geriye kalan organik madde hala gübre, yakıt vb şekillerde kullanılmaya uygun

olabilmektedir. Halihazırda konsantre çay üretim hattı genel olarak ekstraksiyon, süzme, kaba partiküllerin ayrımı için seperasyon, ön konsantrasyon, soğutma ve son konsantrasyon aşamalarından oluşmaktadır, (Özdemir, 1992; Özdemir Vd., 2018).

Yapılan bu çalışmada siyah çay işlem atıklarından elde edilecek çay konsantresinin üretim aşamalarında çay ekstraktının bileşimi ve değişiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda piyasadan temin edilen çay atıkları kullanılarak çay konsantresi üretilmiş ve bu işlem süresince hem çay ekstraktlarında hem de oluşan kremada bazı bileşim analizleri gerçekleştirilmiştir. Literatürde farklı ülkelerin siyah ve yeşil çay ekstraktlarında krema oluşumu ve oluşan kremanın bileşimine yönelik çalışmalar mevcut olsa da Türk çayında ve atıklarında krema oluşumu ve bileşimi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bakımdan çalışma literatürde ilk olma özelliği taşımaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan çay atıkları Doğu Karadeniz Bölgesi'nde siyah çay üretimi yapan bir fabrikadan temin edilmiştir. Kullanılan atıklar siyah çay üretim hattının 2 farklı noktasından (elektrostatik lif tutucularında tutulan ve tasnif odasından) alınmış ve çalışmalar öncesi bu atıklar 1:1 oranında karıştırılarak çalışmalarda kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan kimyasallar Merck (Darmstat, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Ekstraksiyon

Siyah çay atığı örneklerinden en uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla ekstraksiyon çalışmaları üç farklı sıcaklık (75, 85 ve 95 °C), 5 farklı süre (15, 30, 45, 60 ve 90 dakika) ve 2 farklı atık çay/su besleme oranında (1/15 ve 1/20) çalkalamalı su banyosunda (Daihan WSB-30) 150 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 250mL'lik ağız sızdırmaz cam balonlara çay atığı örnekleri tartılarak üzerine 100 mL saf su eklenmiş, eklenen saf su sıcaklıkları termometre ile ölçülüp istenilen ekstraksiyon sıcaklığına ulaşılıp ulaşılmadığı kontrol edilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra

su banyosundan çıkartılıp hızla soğutulan örnekler önce kaba filtre kağıdından (gözenek çapı 2-4 µm) süzülmüş, daha sonra da 15000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek analizler için kullanıma hazır hale getirilmiştir. Ekstraksiyon aşamasının en uygun şartlarının belirlenmesinde ekstraktların briks değeri (°Bx) ve kafein miktarı cevap olarak kullanılmıştır.

Ekstraktların ön konsantrasyonu

En uygun koşullarda elde edilen ekstraktlar krema ayrımı öncesi ön konsantrasyon amacıyla döner buharlaştırıcı (Laborota 4000, Heidolph) yardımı ile 60 °C sıcaklıkta 15 °Bx değerine kadar konsantre edilmiştir.

Ekstraktlarda krema oluşumunun izlenmesi ve oluşan kremanın ayrılması

Ön konsantre çay atığı ekstraktlarında krema oluşumunun sağlanabilmesi için 15 °Bx'e getirilen ekstrakt 4 °C'de farklı sürelerde (3, 6, 9, 12, 18 ve 24 saat) bekletilmiştir. Belirtilen sürelerde ekstraktlarda oluşan kremanın ayrılabilmesi için 4 °C'de 15000 g'de santrifüj işlemi uygulanmıştır.

Konsantre çay ekstraktının eldesi

65 °Bx'lik konsantre çay atığını elde etmek amacıyla kreması ayrılmış 15 °Bx'lik çay ekstraktları döner buharlaştırıcı (Laborota 4000, Heidolph) yardımı ile 60 °C sıcaklıkta konsantre edilmiştir. Siyah çay atığından konsantre ekstrakt üretimi amaçlı bu aşamaya kadar yapılan ve yukarıda anlatılan tüm işlemler Şekil 1'de gösterilmiştir.

Kuru madde tayini

Elde edilen ekstraktların ve ayrılan kremanın kuru madde miktarı hızlı nem tayini cihazı ile (Kern, DBS-60, Almanya) belirlenmiştir.

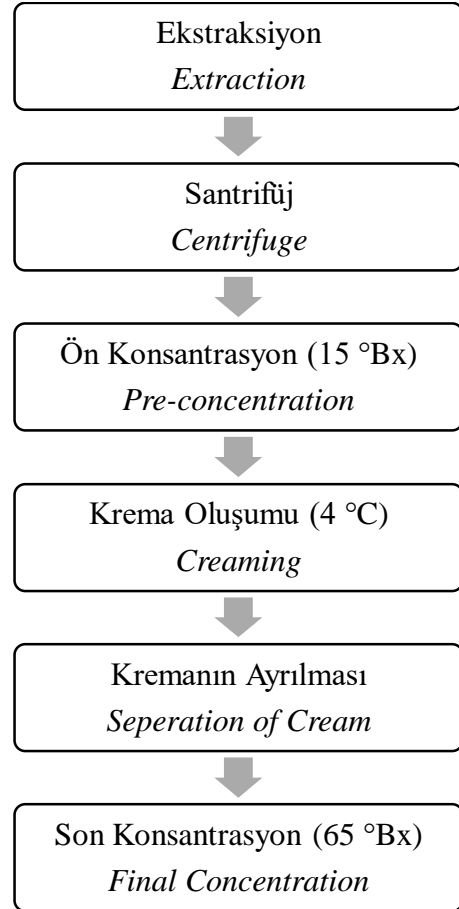
Suda Çözünür Kuru Madde Analizi

Ekstraktların suda çözünür kurumadde değerleri dijital refraktometre (Hanna Digital H10, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler 25±1°C'de gerçekleştirilmiştir.

Krema miktarının belirlenmesi

Çay ekstraktlarında oluşan çay kremasının belirlenmesi Yin vd. (2009)'a göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla elde edilen çay

ekstraktları 10000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz ayrıldıktan sonra altta kalan kısım 2 aşamada toplamda 10 mL saf su ile alınarak darası alınmış petriye aktarılmış ve 80 °C'de 48 saat etüvde bekletildikten sonra ağırlık farkından krema miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 1. Konsantre Çay Atığı Üretim Akım Şeması

Figure 1. The Flow Chart of Concentrated Tea Waste Production

Geri kazanım

Ekstraksiyon işleminde kullanılan suyun laboratuvar şartlarında kendiliğinden gerçekleştirilen süzme işleminde ne kadarlık kısmının çay posasından geri alınabildiğinin saptanması amacıyla kazanım oranı belirlenmiştir. Bu amaçla ekstraksiyonda kullanılan suyun ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraksiyon miktarına oranı geri kazanım değeri (%) olarak ifade edilmiştir.

Bulanıklık tayini

Örneklerin bulanıklık değeri ölçümü için turbidimetre (Hach 2100 N Turbidimeter, A.B.D.) kullanılmış olup, bulanıklık değerleri NTU (Nephelometric Turbidity Unit) değeri cinsinden ifade edilmiştir (Tajchakavit vd., 2001).

HPLC ile kafein ve kateşin profili analizi

Ekstraktların kateşin ve kafein analizleri Wang ve Helliwell (2000)'e göre kısmen modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda çay atığı örnekleri ve ayrılan krema gerekli seyreltmeleri yaptıktan sonra 0.45 µm'lik membran filtreden süzülüp, HPLC (Shimadzu-UV 160A)'ye enjekte edilmiştir. Bileşenlerin ayrımında Inertsil ODS 3 (250 × 4.6 mm, 5µm, GL Sciences, Japan) kolon kullanılmıştır. Analizde mobil faz olarak % 0.1 ortafosforik asit içeren su (A fazı) ve % 0.1 ortafosforik asit içeren metanol (B fazı) kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 1 mL/dakika olup, akış programı 0-5 dakika arası % 20 B fazı, 5-7 dakika arası % 20-24 B fazı, 7-10 dakika arası % 24 B fazı, 10-20 dakika arası % 24-40 B fazı ve son 20-40 dakika arası % 50 B fazı olarak ayarlanmıştır. Analiz süresince kolon sıcaklığı 30 °C olup bileşenlerin tanımlanması 280 nm'de yapılmıştır. Araştırma kapsamında örneklerdeki kafein ve kateşin konsantrasyonunun belirlenebilmesi için örneklerin yürütüldüğü koşullarda standartlar önce farklı konsantrasyonlarda tek olarak, daha sonra da karma halde yine farklı konsantrasyonlarda yürütülmüş ve tutulma zamanları belirlenmiştir.

TF-TR analizi

Çay ekstraktlarının TF ve TR değerleri Gürses ve Artık (1987)'e göre yapılmıştır. Bu amaçla elde edilen çay atığı ekstraktlardan 10 mL alınmış ve üzerine 10 mL %1'lik disodyum hidrojenfosfat eklenip karıştırılmıştır. Karışım 10 mL etil asetat ile ekstrakte edilerek ardından etil asetat tabakasında 2 mL alınıp metanol ile 25 mL'ye seyreltilmiştir (E1). Diğer taraftan 1 mL çay atığı ekstraktına 9 mL distile su karıştırılıp metanol ile 25 mL'ye tamamlanmıştır (E2). Ayrıca 1 mL % 10'luk okzalik asit çözeltisine 1 mL çay atığı ekstraktı ve 8 mL distile su ilave edilip metil alkol ile 25 mL'ye seyreltilmiştir (E3). Elde edilen

ekstraktlar spektrofotometrede 380 nm'de okunmuş ve bu değerler aşağıdaki formüllerde yerlerine konularak TF ve TR değerleri hesaplanmıştır.

$$TF (\%) = 2.25 \times 2E1 \quad (1)$$

$$TR (\%) = 7.06 \times (4E3 - 2E1) \quad (2)$$

İstatistiksel analiz

Siyah çay atıklarından ekstraksiyon, krema ayrımı ve konsantrasyon işlemleri iki tekerrürlü olarak yapılmış, analizler üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen verilere varyans analizi ve önemli bulunan faktörlere ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistiki hesaplamalar SAS programı (SAS, Cary, NC, USA) ile gerçekleştirilmiş olup değerler ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Ekstraksiyon şartlarının bileşime etkisi

Siyah çay konsantresi üretiminde ilk aşama ekstraksiyon olup, katı-sıvı ekstraksiyonunda katıdan suya geçebilecek maddelerin en yüksek oranda alınabilmesi sonraki aşamalar için işlem süresi ve ekonomisi açısından önem arz etmektedir. Katıdan sıvıya kütle transferinde materyalin partikül boyutu, ekstraksiyon sıcaklığı, süresi ve kullanılan materyal/su oranı etkili faktörler olduğu için çalışma kapsamında ekstraksiyon sıcaklığı, süresi ve kullanılan çay/su oranının etkisi araştırılmıştır. En uygun ekstraksiyon şartlarındaki hedef; çay ekstraktında en yüksek °Bx değerinin ve kafein miktarının sağlanması olmuştur. Ekstrakttaki kuru madde miktarının yüksek olması bundan sonraki konsantrasyon işlemi sırasında enerji maliyetin azalmasına neden olabileceği gibi aynı zamanda evaporasyon süresi azalacağından dolayı üründe ısı işlemler nedeniyle oluşabilecek kontaminantlar da azaltılmış olacaktır. En uygun ekstraksiyon sıcaklığının belirlenmesinde hedef bileşen olarak kafeinin seçilmesinin nedeni ise ÇAYKUR tarafından belirtilen soğuk çay ekstraktının taşınması gereken özelliklerinde kimyasal bileşen olarak kafein alt limitinin (son üründe en az 2.5 g/100 g kuru madde) yer almasıdır. Bu hedefler doğrultusunda öncelikle test edilen 3 farklı ekstraksiyon sıcaklığından (75 °C, 85 °C ve 95 °C)

en uygun sıcaklık belirlenmiştir. En uygun sıcaklığın belirlendiği denemelerde besleme oranı (1:15, çay atığı:su) ve ekstraksiyon süresi (30 dakika) sabit tutulmuştur.

Çizelge 1’de 3 farklı sıcaklıkta elde edilen çay atığı ekstraktlarının °Bx, kafein miktarı (g/100 g KM) ve ekstraksiyon sonucunda kazanılan ekstraktın miktarına (%) ilişkin sonuçlar verilmiştir. Çizelge incelendiğinde ekstraktların °Bx ve kafein miktarı değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığı ile arttığı, bu artışın °Bx değerlerinde istatistiki açıdan önemli ($P < 0.05$) olduğu görülmektedir. En yüksek °Bx değeri (1.80) ve kafein miktarı (0.45 g/100 g KM) 95 °C sıcaklıkta yapılan ekstraksiyon sonucunda belirlenmiştir. Çizelge 1’de verilen ekstraksiyon sonrası çay atığından geri kazanılan ekstrakt miktarlarına ait sonuçlar incelendiğinde ekstraksiyon sonrası sıvının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı olarak % 65.65-67.97 arasında geri alınabildiği, ekstraksiyon sıcaklığının değerler üzerinde etkisinin önemli olmadığı ($P > 0.05$) görülmektedir. Balcı ve Özdemir (2016), yeşil çay için 85 °C ekstraksiyon sıcaklığının kritik bir değer olduğunu, bu sıcaklığa kadar suya madde miktarı geçişinin arttığı, bu sıcaklıktan sonra ise artış hızının azaldığı ve hemen hemen dengeye geldiğini belirtmişlerdir. Elde edilen ekstraktın °Bx ve kafein madde miktarı değerleri 95 °C

sıcaklıkta elde edildiği için en uygun besleme oranı ve ekstraksiyon süresi çalışmaları bu sıcaklıkta yürütülmüştür. Ekstraksiyonda kullanılan katı materyalin oranının azalmasıyla ekstraktın °Bx miktarı değerinin ve ekstrakta bulunan kafein miktarının istatistiki açıdan önemli derecede ($P < 0.05$) azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Katı-sıvı ekstraksiyonlarında konsantrasyon farkı arttıkça ekstraksiyon hızının arttığı, ancak çözüne geçebilecek maddelerin denge konsantrasyonuna ulaştığı noktada ne kadar fazla katı madde beslenirse °Bx değerinin de o oranda artış gösterdiği bildirilmiştir (Torun vd., 2015). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda çay atığı:su oranında en uygun oranın 1:15 olduğu belirlenmiştir. Süreye bağlı sonuçlar değerlendirildiğinde ise ekstraktların °Bx ve kafein içerikleri istatistiki açıdan önemli ($P < 0.05$) bir değişim göstermiştir. Ekstraktların °Bx ve kafein değerleri 15 dakikalık süre sonunda sırasıyla 1.30 ve 0.40 g/100 g KM olarak belirlenirken, 90 dakikalık süre sonunda bu değerler sırasıyla 2.00 ve 0.45 g/100 g KM olarak belirlenmiştir. Ekstraktların °Bx ve kafein değerlerindeki istatistiksel açıdan önemli değişim 30. dakika itibariyle oluşmuş ve bu sürelerden sonraki değişim istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Çizelge 1. Farklı sıcaklık, süre ve besleme oranlarında yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların özellikleri

Table 1. Properties of extracts obtained as a result of extraction at different temperatures, times and ratios

Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	Süre (Dakika) Time (Minute)	Katı/Sıvı oranı Solid/Liquid ratio	SÇKM (°Bx) WSDM (°Bx)	Kafein Miktarı (g/100 g KM) Caffeine content (g/100g DM)	Sıvı kazanımı (%) Liquid gain (%)
75			1.40±0.07 ^c	0.41±0.03	65.65±1.13
85	30	1/15	1.60±0.06 ^b	0.43±0.00	67.37±1.74
95			1.80±0.08 ^a	0.45±0.07	67.97±0.74
95	30	1/15	1.80±0.05 ^a	0.44±0.02 ^a	68.03±0.95
		1/20	1.20±0.04 ^b	0.27±0.00 ^b	68.28±2.57
	15		1.30±0.04 ^b	0.40±0.04 ^b	67.53±1.74 ^c
	30		1.80±0.05 ^b	0.46±0.05 ^a	67.97±1.38 ^c
95	45	1/15	1.90±0.07 ^{ab}	0.47±0.00 ^a	70.65±3.57 ^{bc}
	60		1.90±0.06 ^{ab}	0.48±0.02 ^a	75.17±3.90 ^{ab}
	75		2.00±0.07 ^a	0.46±0.01 ^a	76.88±2.48 ^a
	90		2.00±0.04 ^a	0.45±0.03 ^a	76.56±2.58 ^a

Sonuçlar Ortalama±Standart Hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade etmektedir ($P < 0.05$). SÇKM: Suda Çözünür Kuru Madde

Values are given as Mean±Standard Error. Different letters in same column mean the statistical significance ($P < 0.05$). WSDM: Water Soluble Dry Matter

En uygun olarak belirlenen koşullarda (95 °C, 45 dakika, 1:15 atık çay:su oranı) yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktın bazı kalite özelliklerine ilişkin sonuçlar Çizelge 2’de, kateşin kompozisyonuna ait sonuçlar ise Çizelge 3’de verilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde çay atıkları ile elde edilen ekstraktın °Bx değerinin 1.8, kafein miktarının 0.45 g/100 g KM ve bulanıklık değerinin 27.6 NTU olduğu görülmektedir. Çay atığının bileşimi üzerine yapılmış olan bir çalışmada çay atığındaki kafein oranı 0.14-0.18 g/100 g (Gürü ve İçen, 2004), İran’da üretilen siyah çay atığının bileşimini araştırıldığı çalışmada (Shalmashi vd., 2010) ise kafein miktarı 0.77 g/100 g olarak rapor edilmiştir. Çalışmada elde edilen kafein miktarı rapor edilen sonuçlarla kısmen benzerlik göstermekte olup, aradaki farklılıkların materyalin sürgün dönemi, işlenme şekli, bekleme süresi ve ekstraksiyon şartlarından

kaynaklanabileceğini söylemek mümkündür. Siyah çaydaki kafein miktarı çay yaprağının varyetesi, bakım budama ve gübreleme gibi kültürel tedbirler, toplama standardı, sürgün dönemi, ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak % 2-5 arasında değişmektedir (Zhu vd., 2019). Kafein bir yeşil çay sürgününde en yüksek yaprak tomurcuğu ve takip eden 1. ve 2. taze yapraklarda bulunmakta olup, yaşlı yapraklarda, yaprak sapı ve sürgün gövdesinde miktarı azalmaktadır. Kaliteli bir siyah çay üretimi çay terminolojisinde 2.5 yaprak (tomurcuk+2 takip eden iki yaprak) olarak bilinen kısımdan üretilmekte olup, materyalde kart yaprak ve sap oranı arttıkça kalite düşmektedir. Nitekim bu çalışmada kullanılan çay atığı da açıklandığı üzere sap ve kart yapraklardan oluştuğu için örneğin kafein miktarı satışa sunulan siyah çaylara göre daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 2. Çay atığı ekstraktlarının bazı kalite özellikleri

Table 2. Some quality properties of tea waste extracts

	SÇKM (°Bx) WSDM (°Bx)	Kafein miktarı (g/100g KM) Caffeine content (g/100g DM)	Bulanıklık (NTU) Turbidity (NTU)	TF (%) TF (%)	TR (%) TR (%)
Ekstrakt Extract	1.80±0.01 ^c	0.45±0.02 ^c	27.60±2.48 ^a	0.33±0.06	23.22±2.42
Ön konsantre ekstrakt Pre-concentrated extract	15.00±0.94 ^b	3.37±0.07 ^b	34.00±4.76 ^a	0.24±0.10	19.50±2.08
Konsantre ekstrakt Concentrated extract	65.00±1.43 ^a	20.77±1.76 ^a	3.93±0.59 ^b	0.21±0.05	18.01±1.67

Sonuçlar Ortalama±Standart Hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade etmektedir ($P < 0.05$). SÇKM: Suda Çözünür Kuru Madde
Values are given as Mean±Standard Error. Different letters in same column mean the statistical significance ($P < 0.05$). WSDM: Water Soluble Dry Matter

En uygun şartlarda elde edilen ekstraktların ön konsantrasyonu

Kaba filtre kağıdında yapılan süzme işlemi ardından daha küçük partiküllerin de santrifüj seperasyonla ayrılması sonrasında 1.8 °Bx’lik çay atığı ekstraktı rotary evaporatörde 15 °Bx’e kadar konsantre edilmiştir. Briks değeri 1.8 olan 250 mL’lik çay ekstraktı 60 °C’de 2 saat süre sonunda 15 °Bx’e getirilmiştir. Yapılan konsantrasyon işlemi sonrasında elde edilen 15 °Bx’lik çay atığı ekstraktının bazı kalite özelliklerine ilişkin sonuçlar Çizelge 2’de, kateşin kompozisyonuna ait sonuçlar ise Çizelge 3’de verilmiştir. Çizelge 2

incelendiğinde ön konsantre ekstraktın bulanıklık değerinin istatistiki açıdan önemsiz olmakla birlikte 27.60 NTU’dan 34.00 NTU’ya arttığı görülmekte olup bu durum bulanıklık unsuru oluşturan bileşenlerin konsantre olması ile ilişkilendirilmiştir. Çizelge 2’de verilen TF ve TR değerleri ise çay yaprağında bulunan kateşinlerin siyah çay üretimindeki oksidasyon aşamasında yükseltgenmesiyle oluşan bileşikler olup bu bileşenler siyah çayın içim özelliklerinden (dolgunluk, burukluk, renk ve parlaklık) sorumludurlar. Kaliteli bir siyah çayda TF/TR oranının 1/10-1/12 arasında olması gerektiği

bilinmektedir. Sonuçlar incelendiğinde çay atığı ekstraktının TF ve TR değerlerinin konsantrasyona bağlı önemli derecede ($P > 0.05$) değişmediği görülmüştür.

Çizelge 3. Çay atığı ekstraktlarının ve oluşan kremanın kateşin kompozisyonu (g/100 g KM)

Table 3. Catechin composition of tea waste extract and formed cream

	EGCG	GA	C	EGC	EC	GC	ECG	CG
Ekstrakt Extract	0.16±0.01 ^d	0.07±0.00 ^d	0.08±0.00 ^d	0.12±0.01 ^d	0.41±0.04 ^d	0.06±0.01 ^b	0.07±0.00 ^b	0.06±0.03 ^c
Ön konsantre ekstrakt Pre- concentrated extract	0.59±0.02 ^c	0.45±0.01 ^c	2.06±0.07 ^b	0.39±0.01 ^c	6.93±0.01 ^b	0.86±0.02 ^b	0.90±0.00 ^b	1.14±0.03 ^c
Konsantre ekstrakt Concentrated extract	5.89±0.37 ^a	0.60±0.15 ^b	1.37±0.17 ^c	8.72±1.83 ^b	2.15±0.55 ^c	2.83±0.18 ^a	4.04±0.25 ^a	5.38±0.15 ^a
Krema Cream	4.97±0.17 ^b	0.75±0.09 ^a	3.60±0.47 ^a	5.88±0.99 ^a	14.21±1.54 ^a	2.69±0.13 ^a	2.82±0.11 ^a	3.64±0.16 ^b

Sonuçlar Ortalama±Standart Hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade etmektedir ($P < 0.05$). EGCG: Epigallokateşin gallat, GA: Gallik asit, C: Kateşin, EGC: Epigallokateşin, EC: Epikateşin, GC: Gallokateşin, ECG: Epikateşin gallat, CG: Kateşin gallat

Values are given as Mean±Standard Error. Different letters in same column mean the statistical significance ($P < 0.05$). EGCG: Epigallocatechin gallate, GA: Gallic acid, C: Catechin, EGC: Epigallocatechin, EC: Epicatechin, GC: Gallocatechin, ECG: Epicatechin gallate, CG: Catechin gallate.

Çizelge 3'de verilen ekstraktların kateşin kompozisyonuna ilişkin veriler incelendiğinde başlangıç ekstraktlarında en fazla epikateşin (0.41 g/100 g KM), epigallokateşin gallat (0.16 g/100 g KM) ve epigallokateşin (0.12 g/100 g KM) tespit edilmiştir. Ön konsantre edilen ekstraktlarda ise en fazla sırasıyla epikateşin (6.93 g/100 g KM), kateşin (2.06 g/100 g KM) ve kateşin gallat (1.14 g/100 g KM) belirlenmiştir. Ekstraktların konsantre edilmesi ile beklendiği gibi tüm kateşinlerin miktarı artmış, ancak epigallokateşin gallat gibi bazı kateşinlerin artışının kuru madde artışına bağlı oransal olarak gerçekleşmediği görülmüş, bu durumun kateşinlerin ısıl hassasiyetlerinin farklı olmasından ve ısı uygulaması ile epimerizasyona uğramış olmalarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim çay kateşinlerinin sıcaklıkla birlikte epimerizasyona uğradığı bildirilmiştir (Balcı ve Özdemir, 2016)

Çay ekstraktının bekletilme süresinin krema oluşumuna etkisi

Ön konsantre edilen örneklerin zamana bağlı krema oluşumunun belirlenmesi amacıyla örnekler 4 °C'de farklı sürelerde (3, 6, 9, 12, 18 ve 24 saat) bekletilerek, bekletme sürelerinin

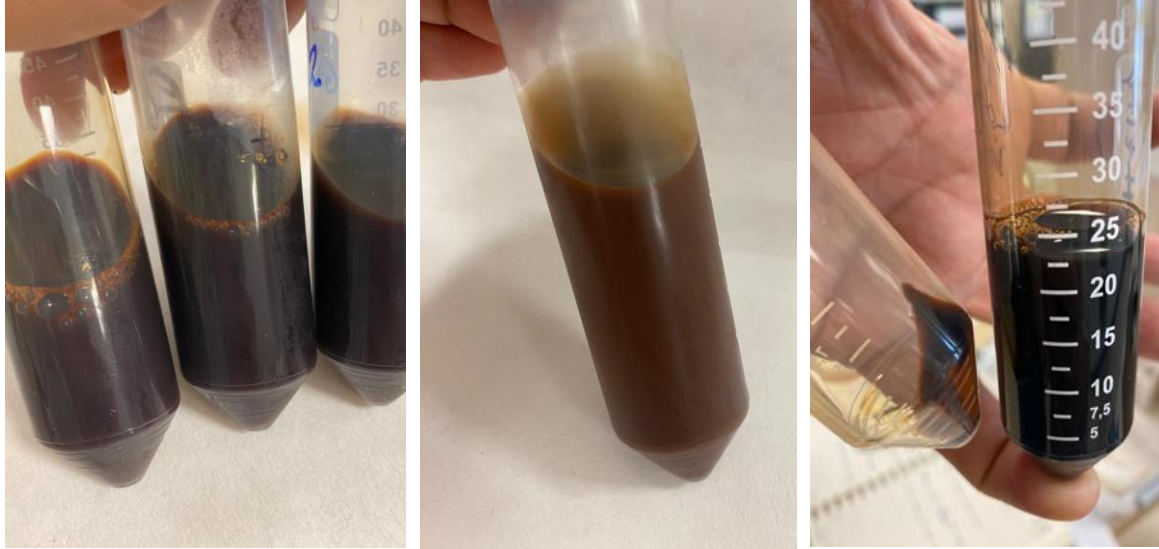
sonunda ekstraktta oluşan krema santrifüj ile ayrılmış (Şekil 2) ve miktarları Çizelge 4'de, kremanın kafein, protein, TF ve TR değerleri ise Çizelge 5'de verilmiştir. Ayrıca kremanın kateşin kompozisyonu da belirlenerek Çizelge 3'de sunulmuştur.

Çizelge 4 incelendiğinde ekstraktan ayrılan krema miktarının zamana bağlı olarak istatistiksel açıdan farklılık ($P < 0.05$) gösterdiği, 12 saate kadar artarak 12 saat sonunda en yüksek miktara (1.98/100 mL) ulaştığı görülmektedir.

Oluşan 1.98 g miktarındaki krema çay atığından elde edilen ve 15 °Bx'e konsantre edilen 100 mL ekstraktın kuru maddesinin yaklaşık %13'ünü oluşturduğu göz önüne alındığında çayın önemli bir kısmının krema ile uzaklaştırıldığı söylenebilir. Nitekim Çizelge 5'de verilen sonuçlar incelendiğinde kremanın 15.88 g/100 g KM oranında kafein ve 17.08 g/100 g KM oranında protein içerdiği görülmektedir. Bu çalışma kapsamında analiz edilmese de kremayı oluşturan diğer önemli bileşenlerin karbonhidratlar ve minerallerden oluştuğu bilinmektedir. Lin vd. (2015) tarafından siyah ve yeşil çay ekstraktlarında oluşan kremanın bileşiminin belirlendiği çalışma

sonucunda siyah çay ekstraktından ayrılan kremanın bileşiminin %24 TR, %23 protein, %18 kateşin, %10 kafein, %6 karbonhidrat, %3 aminoasit ve %1 TF'den oluştuğu rapor edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada bulgularımızı destekler nitelikte çay kremasında kafein oranının yaklaşık %20 olduğu ifade edilmiştir. Aynı çalışmada yeşil çayda oluşan çay kremasının

içeriğinin çayın elde edildiği taze çay yaprağı kısımlarına göre değişiklik gösterdiği belirlenmiş, çayın tomurcuğundan elde edilen çaydan oluşan kremadaki kateşin ve kafein içeriğinin dördüncü yapraktan elde edilen çayda oluşan kremadakine göre 10 kat fazla olduğu bildirilmiştir (Yin vd., 2009).



Şekil 2. Soğutulma sonrası kremalaşma ve kremanın ayrımı
Figure 2. Creaming after Cooling and Separation of Cream

Çizelge 4. Soğutma süresi sonrasında ekstraktlarda oluşan krema miktarı (g/100 mL) ve süpernatantların bulanıklık değerleri (NTU)

Table 4. The content of cream (g/100 mL) formed in the extracts after the cooling period and the turbidity values of the supernatants

Soğutma süresi (Saat) Cooling time (Hour)	Krema miktarı (g/100 mL) Cream content (g/100 mL)	Süpernatantın bulanıklık değeri (NTU) Turbidity value of supernatant (NTU)
3	0.71±0.24 ^c	5.4±0.17 ^a
6	1.51±0.57 ^b	4.9±0.14 ^{ab}
9	1.90±0.16 ^{ab}	4.3±0.21 ^{bc}
12	1.98±0.36 ^a	3.4±0.28 ^d
18	1.65±0.39 ^{ab}	4.0±0.11 ^{cd}
24	1.60±0.28 ^{ab}	4.3±0.25 ^{bc}

Sonuçlar Ortalama±Standart Hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade etmektedir ($P < 0.05$).

Values are given as Mean±Standard Error. Different letters in same column mean the statistical significance ($P < 0.05$).

Çizelge 5. Çay kremasının bileşimi
Table 5. Composition of tea cream

	Kafein miktarı (g/100g KM) Caffeine content (g/100g DM)	Protein miktarı (g/100g KM) Protein content (g/100 g DM)	TF (%) TF (%)	TR (%) TR (%)
Çay kreması Tea cream	15.88±3.55	17.08±2.18	0.41±0.14	22.44±1.64

Sonuçlar Ortalama±Standart Hata olarak verilmiştir.

Values are given as Mean±Standard Error

Siyah çayda, TF, TR, gallatlanmış kateşinler, EGC, metilksantinler ve proteinler çökmeye, kateşinler, gallik asit, karbonhidratlar ve aminoasitler ise supernatant kısmında kalmaya meyillidir. TF'lerde gözlenen yüksek kremleşme eğilimi, öncelikle moleküllerin kendi içinde birleşmesi ve siyah çayın içinde doğal olarak bulunan glikoz ve kalsiyumun etkisiyle de artmasına bağlı olduğu belirtilmiştir (Jöbstl vd., 2005). Buna bağlı olarak, saflaştırılmış kateşinler, çay polifenol oksitleri, metilksantinler ve proteinler, tespit edilen diğer bileşenlerden daha güçlü kremleşme afinitelerine sahiptirler ve büyük ölçüde çay kreması oluşumunda etkili olmaktadır (Lin vd., 2015).

Çizelge 4'de krema ayırımından sonra elde edilen ekstraktın bulanıklık değerleri verilmiştir. Çizelge incelendiğinde 12 saat bekleme süresi sonunda oluşan kremanın ayrılması sonrasında elde edilen ekstraktın bulanıklık değerinin 3.40 NTU olduğu görülmektedir. Başlangıçta 27.60 NTU olan bulanıklık değeri ön konsantrasyon sırasında 34.00 NTU'ya artmış ve bu değer krema ayırımı sonrasında kabul edilebilir ölçüde azaltılmıştır. Chandini vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada siyah çay ekstraktının bulanıklık değeri 25.23 NTU olarak belirlenmiş ve çay ekstraktında kabul edilebilir (tüketicinin gözle algılayamadığı) bulanıklık değerinin 5 NTU'nun altında olması gerektiği bildirilmiştir.

Çizelge 3'de verilen kremanın kateşin kompozisyonu incelendiğinde kremada %8.72 epigallokateşin, %5.89 epigallokateşin gallat, %5.38 kateşin gallat, %4.04 epikateşin gallat, %2.83 gallokateşin, %2.15 epikateşin ve %1.37

kateşinden oluştuğu görülmektedir. Kremada bulunan toplam kateşin miktarı hesaplandığında kremanın yaklaşık %30'unun kateşinlerden oluştuğu belirlenmiştir. Literatürde siyah çay kremasının %18'inin kateşinlerden oluştuğu bildirilmiş (Lin vd., 2015) olup, çalışmamızda elde edilen sonuçlar bildirilenden daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığı ekstraktın bileşimi ve krema oluşumu şartları ile ilişkilendirebilmek mümkündür.

Konsantre siyah çay atığı ekstraktının bileşimi

Krema ayırımı yapılan 15 °Bx'lik ekstrakt ticari üretim koşulları göz önünde bulundurularak mikrobiyolojik açıdan stabil depolanabileceği 65 °Bx değerine konsantre edilmiş ve elde edilen ekstraktın analiz edilen özellikleri Çizelge 2 ve Çizelge 3'de verilmiştir. Konsantre ekstraktın kafein miktarı 20.77 g/100 g KM, TF değeri %0.21, TR değeri %18.01, bulanıklık değeri 3.93 NTU, epikateşin miktarı 14.21 g/100 g KM, epigallokateşin miktarı 5.88 g/100 g KM, epigallokateşin gallat miktarı 4.97 g/100 g KM, kateşin gallat 3.64 g/100 g KM, kateşin 3.60 g/100 g KM, epikateşin gallat 2.82 g/100 g KM, gallokateşin 2.69 g/100 g KM ve gallik asit 0.75 g/100 g KM olarak belirlenmiştir. Konsantre siyah çay atığı ekstraktının kateşin profili incelendiğinde kuru maddedeki oransal artışa bağlı olarak her bir kateşinin konsantrasyonunun artış göstermediği görülmüştür. Elde edilen bu sonuç kateşinlerin termal stabilitesinin birbirlerinden farklı olması ile ilişkilendirilebilir. Lun-Su vd. (2003) tarafından kateşinlerin farklı sıcaklıklardaki termal stabilitesinin araştırıldığı çalışma sonucunda epikateşin ve epigallokateşinin

termal stabiliteleri epigallokateşin gallata göre daha yüksek bulunmuştur.

SONUÇ

Siyah çay üretim miktarıyla dünyada ilk 5 ülke arasında yer alan ülkemizde üretilen çayın ihracat potansiyelinin artırılması için yüksek kalitede yeni çay ürünlerinin üretilmesine, üretim sırasında oluşan atıkların katma değeri artırılmış ürünlere dönüştürülerek değerlendirilmesine ve bu ürünlerin üretimine olanak sağlayan proseslerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma ile ülkemiz siyah çay atıklarından soğuk çay başta olmak üzere çay içerikli farklı ürünlerde kullanılması mümkün olan konsantre çay ekstraktı üretimi gerçekleştirilmiş, üretim aşamalarında oluşan krema ile oluşan kayıplar ve her bir aşamada elde edilen ekstraktın bazı özellikleri belirlenmiştir. Araştırma sonuçları Türk siyah çay işlem atıklarından kateşin ve kafein içeriğiyle çayı temsil eden konsantre çay elde edilebileceğini göstermiş, ancak krema ile ekstrakttaki kateşinlerin ve kafeinin önemli bir kısmının ayrıldığı da belirlenmiştir. Bu bakımdan daha nitelikli konsantre çay üretimi için krema ayrımı yerine oluşumunun engellenmesi ve oluşan kremanın değerlendirilmesine yönelik çalışmaların yapılması gerekliliği sonucuna ulaşılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yer alan yazarların ve kurumların arasında herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan ederiz.

YAZARLARIN KATKISI

Ferhan BALCI TORUN, denemenin kurulması, analizlerinin yapılması, istatistik değerlendirme aşamalarında ve makalenin yazım sürecinde; Kübra Sultan ÖZDEMİR, analizlerin yapılması, istatistik değerlendirme aşamalarında ve makalenin yazım sürecinde; Rukiye MAVUŞ, örneklerin temininde, denemenin kurulmasında ve makalenin yazım sürecinde; Mehmet TORUN, denemenin kurulması, analizlerin yapılması, analiz sonuçlarının değerlendirilmesi ve makalenin yazım sürecinde katkıda bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Argyle, I.S., Bird, M.R., 2015. Microfiltration of high concentration black tea streams for haze removal using polymeric membranes. *Desalin Water Treat* 53, 1516-1531.
- Balci, F., Özdemir, F., 2016. Influence of shooting period and extraction conditions on bioactive compounds in Turkish green tea. *Food Sci Techno* 36, 737-743.
- Chandini, S.K., Rao, L.J., Subramanian, R., 2013. Membrane Clarification of Black Tea Extracts. *Food Bioprocess Technol* 6, 1926-1943.
- de Mejia, E.G., Ramirez-Mares, M.V., Puangpraphant, S., 2009. Bioactive components of tea: cancer, inflammation and behavior. *Brain Behav Immun* 23, 721-731.
- Dubey, K.K., Janve, M., Ray, A., Singhal, R.S., 2020. Ready-to-Drink Tea, *Trends in Non-“alcoholic Beverages*. Elsevier, pp. 101-140.
- Evans, P.J., Bird, M.R., 2010. The role of black tea feed conditions upon ultrafiltration performance during membrane fouling and cleaning. *J Food Process Eng* 33, 309-332.
- Fatima, M., Rizvi, S.I., 2011. Health beneficial effects of black tea. *Biomedicine* 31, 3-8.
- Gürü, M., Icen, H., 2004. Obtaining of caffeine from Turkish tea fiber and stalk wastes. *Bioresour Technol* 94, 17-19.
- Gürses, Ö.L. ve Artık, N. 1987. Çay Analiz Yöntemleri, Çaykur Yayını, No: 7, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Jöbstl, E., Fairclough, J.P.A., Davies, A.P., Williamson, M.P., 2005. Creaming in Black Tea. *J Agr Food Chem* 53, 7997-8002.
- Lin, X., Chen, Z., Zhang, Y., Luo, W., Tang, H., Deng, B., Deng, J., Li, B., 2015. Comparative characterisation of green tea and black tea cream: Physicochemical and phytochemical nature. *Food Chem* 173, 432-440.
- Lun Su, Y., Leung, L.K., Huang, Y., Chen, Z.-Y., 2003. Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chem* 83, 189-195.

- Özdemir, F., 1992. Farklı kıvırma metodlarının üç sürgün dönemi çayın siyah çaya işlenmesinde uygulanma etkinliği ve üretilen siyah çaylarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi, Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye, 151 s.
- Özdemir, F., Nadeem, H. Ş., Akdoğan, A., Dinçer, C., Topuz, A., 2018. Effect of altitude, shooting period, and tea grade on the catechins, caffeine, theaflavin, and thearubigin of Turkish black tea. *Turk J Agric For*, 42(5), 334-340, doi:10.3906/tar-1710-21.
- Pou, K.J., Paul, S.K., Malakar, S., 2019. Industrial Processing of CTC Black Tea, Caffeinated and Cocoa Based Beverages. Elsevier, pp. 131-162.
- Sen, G., Sarkar, N., Nath, M., Maity, S., 2020. Bioactive components of tea. *Arch Food Nutr Sci* 4, 001-009.
- Shalmashi, A., Abedi, M., Golmohammad, F., Eikani, M.H., 2010. Isolation of Caffeine From Tea Waste Using Subcritical Water Extraction. *J Food Process Eng* 33, 701-711.
- Tajchakavit, S., Boye, J.I., Couture, R., 2001. Effect of processing on post-bottling haze formation in apple juice. *Food Res Int* 34, 415-424.
- 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, 2797-2805.
- Wang, H., Helliwell, K., 2000. Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chem* 70, 337-344.
- Xu, Y.-Q., Chen, S.-Q., Yuan, H.-B., Tang, P., Yin, J.-F., 2012. Analysis of cream formation in green tea concentrates with different solid concentrations. *J Food Sci Technol* 49, 362-367.
- Yılmaz, C., Özdemir, F., Gökmen, V., 2020. Investigation of free amino acids, bioactive and neuroactive compounds in different types of tea and effect of black tea processing. *LWT-Food Sci Technol* 117, 108655.
- Yin, J.-F., Xu, Y.-Q., Yuan, H.-B., Luo, L.-X., Qian, X.-J., 2009. Cream formation and main chemical components of green tea infusions processed from different parts of new shoots. *Food Chem* 114, 665-670.
- Zhu, B., Chen, L.-B., Lu, M., Zhang, J., Han, J., Deng, W.-W., Zhang, Z.-Z., 2019. Caffeine Content and Related Gene Expression: Novel Insight into Caffeine Metabolism in *Camellia* Plants Containing Low, Normal, and High Caffeine Concentrations. *J Agr Food Chem* 67, 3400-3411.

İRÖN SAZLIĞI'NDA (BİTLİS, TÜRKİYE) YETİŞEN KARABURUN BALIĞININ [*Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)] BESİN ÖGELERİNİN İNCELENMESİ

Şeyda Kaya^{1*}, Hülya Durmaz Bekmezci²

¹Muş Alparslan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Muş, Türkiye

²Bitlis Eren Üniversitesi, Bitlis, Türkiye

Geliş / Received: 28.08.2020; Kabul / Accepted: 16.02.2021; Online baskı / Published online: 12.03.2021

Kaya, Ş., Durmaz-Bekmezci, H. (2021). İron sazlığı'nda (Bitlis, Türkiye) yetişen karaburun balığının [*Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)] besin ögelerinin incelenmesi. *GIDA* (2021) 46(2) 351-357 doi: 10.15237/gida. GD20103.

Kaya, Ş., Durmaz-Bekmezci, H. (2021). Investigation of proximate composition of brond-snout [*Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)] growing in iron reeds (Bitlis, Turkey). *GIDA* (2021) 46(2) 351-357 doi: 10.15237/gida. GD20103.

ÖZ

İron Sazlığı Bitlis İli'nde yer alan Türkiye'nin önemli sulak alanlarından biridir. Alanda yaşayan karaburun balığı (*Chondrostoma regium* Heckel, 1843) bölge halkı tarafından yoğun bir şekilde tüketilmektedir. Bu çalışmada, balıkçılar tarafından Kasım (2019) tarihinde yakalanan balıkların besin kompozisyonunun belirlenerek yöre halkı için besinsel değerinin incelenmesini amaçlanmıştır. Bu kapsamda; balıkçıdan temin edilen balıklar soğuk zincir ile laboratuvara getirilmiş ve disekte edilerek analizlere kadar -18 °C'de saklanmıştır. Analizler sonucunda numunelerde protein %18.62±2.10, yağ %2.61±1.08, kül %1.44±0.35, nem %75.66±0.99 ve kuru madde %24.33±0.99 olarak bulunmuştur. Literatürde *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un besin değerlerinin incelendiği çalışmalar oldukça kısıtlı olup çalışmanın bu anlamda literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: İron Sazlığı, *Chondrostoma regium*, Karaburun Balığı, Besin Değerleri, Bitlis

INVESTIGATION OF PROXIMATE COMPOSITION OF BROND-SNOUT [*Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)] GROWING IN IRON REEDS (BITLIS, TURKEY)

ABSTRACT

Iron Reeds, located in Bitlis Province is one of the most important wetlands in Turkey. Karaburun fish (*Chondrostoma regium* Heckel, 1843) living in the area is heavily consumed by the people of the region. This study aimed to determine the nutritional composition of the fishes caught by fishermen in November (2019) and to examine the nutritional value for the local people. The fish obtained from fishermen were brought to the laboratory with a cold chain, dissected and stored at -18°C until analysis. As a result of the analysis, the average levels of crude protein, lipid, ash, moisture and dry matter were found to be; 18.62 ± 2.10%, 2.61 ± 1.08%, 1.44 ± 0.35%, 75.66 ± 0.99%, 24.33 ± 0.99%, respectively. Studies relating the nutritional values of *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843) are quite limited in the literature, and it is thought that study may contribute to the literature in this area.

Keywords: Iron Reeds, *Chondrostoma regium*, Brond-Snout, Proximate Composition, Bitlis

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: s.gungor@alparslan.edu.tr, ☎: (+90) 0553 147 89 86, 0436 249 49 49

☎: (+90) 436 249 13 13

Şeyda Kaya; ORCID no: 0000-0003-0333-8966

Hülya Durmaz Bekmezci; ORCID no: 0000-0001-5164-7750

GİRİŞ

Balıkleri, sağlıklı ve dengeli bir beslenme düzeni için son derece önemli ve temel bir besin ögesidir (Baysal vd., 2013). Protein bakımından zengin, az yağlı ve omega-3 yağ asitleri açısından son derece zengin olan balıkleri tüketimi, başta kardiyovasküler rahatsızlıklar ve obezite olmak üzere pek çok hastalıktan korunmada etkin rol oynamaktadır (Domingo, 2007; Burger ve Gochfeld, 2009).

Doğu Anadolu Bölgesinde Bitlis ili/Güroyamak ilçesi ile Muş ili/Korkut ilçesi arasında bulunan, oldukça geniş bir fauna ve floraya sahip, RAMSAR sözleşmesi açısından da önemli sulak alanlardan biri olan İron Sazlığı, bölge halkı tarafından ciddi bir balık tüketim kaynağı olarak görülmektedir (Eken vd., 2006; Anonymous, 2019; Türkoğan, 2012; Aşın vd., 2019). Doğa koruma Şubesinde alınana sözlü bilgiye göre sazlık içerisinde pek çok balık türü yaşamakta ve karaburun balığı (*Chondrostoma regium* Heckel, 1843) özellikle sonbahar mevsiminde bölge halkı tarafından yoğun olarak tüketilmektedir.

Bu çalışmada İron Sazlığı'nda yetişen ve bölgede yoğun olarak tüketilen *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un besin kompozisyonunun incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada özellikle balığın bol ve lezzetli olduğu sonbahar mevsiminde (Kasım, 2019) bölgedeki yerel balıkçıların serpm balıkçılığı ile avladıkları ve satışa sundukları balıklardan en fazla olanı seçilerek, ısı yalıtımlı kaplarda soğuk zincir ile Bitlis Eren Üniversitesi Çevre Mühendisliği Laboratuvarına getirilmiştir. Yirmi adet balık örneği ilk olarak numaralandırılmış, musluk suyu ile yıkanmış ve filtre kâğıdıyla kurutulmuştur. Tam boy ve çatal boyları milimetrik cetvel ile total ağırlıkları ve gonad ağırlıkları 0.01 gr hassasiyetli Akpınar marka hassas terazi ile ölçülmüştür. Gonad ağırlıkları ve görünümüne bakılarak balıklarda cinsiyet tayini yapılmıştır. Balıkların yenilebilen tüm kas dokuları çıkartılarak saf su ile yıkanmış önce polietilen streç film ile ardından alüminyum folyo ile paketlenmiş ve bazı analizler

bir başka birimde gerçekleşeceği için analiz gününe kadar -18 °C'de saklanmıştır.

Besin kompozisyonu analizleri kapsamında ham protein, yağ, toplam kül, nem ve toplam kuru madde oranları incelenmiştir. Ham protein yüzdesi tayini ve yağ yüzdesi tayini Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Ön işlemler kapsamında -18 °C'den alınan numuneler ev tipi blender ile homojenize edilip 1.5 ml'lik eppendorf ve 15 ml'lik polipropilen falkon tüplere konularak ısı yalıtımlı kapta buz aküsü ile birlikte paketlenmiş ve soğuk zincir ile ilgili birime gönderilmiştir. İlgili birimde ham protein yüzdesinin analizinde Gerhardt-Dumatem marka 124 seri numaralı protein analiz cihazı kullanılmıştır. Uygulamada Dumas yönteminin temel prensipleri esas alınmış, 0.20-0.25 g numune alınarak 800-900 °C'de saf oksijenle yakılmış bu sayede gıda içerisindeki tüm azot formlarının azot oksit gazına dönüşmesi sağlanmıştır. Daha sonra bu gazlar elemental azot formuna indirgenerek gıda içerisindeki toplam azot miktarı saptanmıştır. Elde edilen %nitrojen balıklar için 6,25 olan protein çevirme faktörü ile çarpılmış ve numunelerin ham protein yüzdesi bulunmuştur (Olgun vd., 2013). Yağ yüzdesinin analizi ise Velp Scizentifica marka 148 seri numaralı ekstraksiyon cihazıyla yapılmıştır. Yağ yüzdesinin analizinde soxhlet ekstraksiyonu yönteminin temel prensipleri esas alınmıştır. Sabit tartıma gelinceye kadar etüvde kurutulan numuneler soxhlet cihazı içerisinde kimyasal çözücüler ile karıştırılarak numuneden yağın ekstraksiyonu sağlanmıştır. Daha sonra ise çözücü uçurularak kalan numunenin tartımı ile numunedeki yağ yüzdesi saptanmıştır (Büyüktuncel, 2012).

Nem ve kuru madde ve kül analizleri ise AOAC (1990)'a göre Bitlis Eren Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Laboratuvarında tarafımızca gerçekleştirilmiştir. Nem ve kuru madde analizlerinde sıcak hava ile kurutma yöntemi kullanılmıştır. Daha önceden daraları ölçülen petri kaplarına örneklerden 5'er g konulmuş, kaplar maşa ile tutularak önceden ısıtılmış Wisd marka etüve yerleştirilmiş ve 105 °C'de 18 saat boyunca sabit tartıma gelinceye kadar bekletilmiştir.

Ardından kaplar tekrar hassas terazide tartılmıştır. Aradaki farkın toplam ağırlığa bölünüp 100 ile çarpılması ile örneklerin nem yüzdesi tespit edilmiştir. Kalan yüzdeler kısmı ise toplam kuru madde yüzdesini ifade etmiştir. Kül miktarı tayini için ise örnekler Akpınar marka hassas terazide tartılarak daha önceden darası alınmış porselen krozeler içerisine 1-2'şer g alınmış, kül yakma fırınına yerleştirilip 550 °C'de 8 saat boyunca yakılmıştır. Ardından örnekler soğutularak tartılmıştır. Toplam kül miktarı, porselen krozelerin kül fırınından çıktıktan sonraki ağırlığının dara ağırlığından çıkartılmasıyla bulunmuştur. Bu ağırlığın başlangıçta kullanılan örnek ağırlığına bölünüp 100 ile çarpılması ile de örnekteki kül miktarının yüzdelik oranı saptanmıştır (AOAC, 1990; Gökalp ve Kaya, 1993).

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 23 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programı ile yapılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında, $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir. Verilerin normallik testleri örnek sayısı 25'ten

küçük olduğu için Shapiro-Wilk testi kullanılarak ve Skewness-Kurtosis katsayıları incelenerek yapılmıştır. Skewness-Kurtosis katsayılarının -2 ile +2 arasında olduğu durumlarda verilerin normal dağılım gösterdiği kabul edilmiştir (George ve Mallery, 2010). Normal dağılım gösteren değişkenlerde parametrik istatistiksel yöntemlerden bağımsız örneklem t testi ile dişi ve erkek grupları arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı analiz edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada kullanılan balıklarının (n=20) %80'i dişi, %20'si erkektir. Balıkların besin içerikleri analizleri tekrarsız olarak gerçekleştirilmiş olup analizler sonucunda elde edilen bulgular oransal olarak, cinsiyet bazında ve populasyon genelinde olmak üzere Çizelge 1'de verilmiştir. Balıkların besin değerlerine ait verilerin normallik testine ait sonuçlar Çizelge 2'de verilmiş olup verilerin tümünün normallik varsayımını karşıladığı görülmüştür. Balıkların besin değerlerinin cinsiyet bazında değerlendirildiği bağımsız örneklem t testine ait sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 1. *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un ortalama yüzde besin değerleri
Table 1. Proximate composition of *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)

	Protein % / Protein %	Yağ % / Lipid %	Nem % / Moisture %	Kül % / Ash %	Kuru madde % / Dry matter %
Dişi (n=16) / Female (n=16)	19.02±2.10	2.50±0.97	75.56±0.89	1.46±0.37	24.43±0.89
Erkek (n=4) / Male (n=4)	17.04±1.34	3.07±1.55	76.04±1.44	1.34±0.21	23.95±1.44
Genel (n=20) / All (n=20)	18.62±2.10	2.61±1.08	75.66±0.99	1.44±0.35	24.33±0.99

Yapılan analizlerde, ortalama protein oranı dişi balıklarda %19.02±2.10, erkek balıklarda %17.04±1.34, populasyon genelinde ise %18.62±2.10 olarak saptanmıştır. Balıklarda protein oranının dişi ve erkek balıklarda anlamlı bir şekilde farklılaşmadığı görülmüştür ($P = 0.094$). Ortalama yağ oranı dişi balıklarda %2.50±0.97, erkek balıklarda %3.07±1.55, populasyon genelinde ise %2.61±1.08 olarak bulunmuştur. Balıklarda yağ oranının dişi ve erkek balıklarda anlamlı bir şekilde farklılaşmadığı görülmüştür ($P = 0.365$). Ortalama nem oranı dişi balıklarda %75.56±0.89, erkek balıklarda %76.04±1.44,

populasyon genelinde ise %75.66±0.99 olarak bulunmuştur. Balıklarda nem oranının dişi ve erkek balıklarda anlamlı bir şekilde farklılaşmadığı görülmüştür ($P = 0.408$). Ortalama kül oranı dişi balıklarda %1.46±0.37, erkek balıklarda %1.34±0.21, populasyon genelinde ise %1.44±0.35 olarak bulunmuştur. Balıklarda nem oranının dişi ve erkek balıklarda anlamlı bir şekilde farklılaşmadığı görülmüştür ($P = 0.554$) (Çizelge 3).

Çizelge 2. Balıkların besin değerlerinin normallik analizi sonuçları
Table 2. Results of the normality analysis of nutritional values of fish

	Protein % / Protein %	Yağ % / Lipid %	Nem % / Moisture %	Kül % / Ash %	Kuru madde % / Dry matter %
P	0.122	0.021	0.394	0.423	0.394
Skewness	0.293	1.170	0.292	0.476	-0.292
Kurtosis	-1.312	1.222	-1.070	-0.593	-1.070

*P < 0.05

Çizelge 3. Balıkların besin değerlerinin cinsiyet bazında değerlendirildiği t-testi sonuçları
Table 3. T-test results evaluating the nutritional values of fish on the basis of gender

Parametre / Parameter	Cinsiyet / Gender	N	X	SD	F	P
Protein / Protein	D	16	19.0201	2.10827	2.550	.094
	E	4	17,0455	1,34106		
Yağ / Lipid	D	16	2.5062	.97116	1.173	.365
	E	4	3.0720	1.55308		
Nem / Moisture	D	16	75.5656	.89382	4.110	.408
	E	4	76.0425	1.44133		
Kuru Madde / Dry matter	D	16	24.4344	.89382	4.110	.408
	E	4	23.9575	1.44133		
Kül / Ash	D	16	1.4659	.37920	1.856	.554
	E	4	1.3454	.21585		

*D=dişi / female, E=erkek / male

*P < 0.05

Literatürde *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un besin değerlerinin incelendiği çalışmalar oldukça kısıtlı olup Çizelge 4'te derlenmiştir. Balıkların besinsel bileşimlerini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Bunlar arasında; üreme dönemi, ortamın besin stoku, sıcaklık, mevsim, ortamın kirliliği, balığın yaşı, cinsiyeti veya içinde bulunduğu ortam koşulları sayılabilir (Köprücü ve Özdemir, 2003; Güneş, 2007). İron Sazlığı'nda yetişen *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un besin değerleri aynı tür üzerinde yapılan çalışmalarla (Çizelge 4) karşılaştırıldığında; protein, nem ve kül oranları açısından benzer olduğu fakat sonbahar mevsimi ve kasım ayı için yağ oranı açısından kısmen yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun sebebi olarak bölgedeki balıkların bölgenin yüksek rakımından dolayı suların erken soğuması ile diğer bölgelerdeki balıklardan daha erken yağ tutmaya başlıyor olabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan Kara (2001), *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un kas dokusundaki yağ asidi miktarlarını üreme periyotları bazında incelemiş, yağ asidi

miktarının üreme sonrasında anlamlı şekilde azaldığını bildirmiştir. Çalışmamızda balıklarda yağ tayini yapılmaması nedeniyle balıkların eşeyssel olgunluğa ulaşip ulaşmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle, farklı çalışma alanlarında (Kaçar vd., 2018; Çoban ve Şen, 2006; Oymak, 2001) üreme dönemi Mart-Haziran arası olarak bildirilen *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un üreme dönemi sonrasında yağ depolarını eritmiş, ardından yeniden yağlanmaya başlamış ve avlandığı Kasım ayında bu kısmi yüksek yağ yüzdesine sahip olmuş olabileceği hipotezimizi destekleyebilecek güçlü bir kanıt bulunmamaktadır.

Çizelge 4. *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'a ait önceki çalışmalar
Table 4. Previous studies of *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)

	Protein % / Protein %	Yağ % / Lipid %	Nem % / Moisture %	Kül % / Ash %	Karbonhidrat- Kas Glikojen % / Carbohydrate- Muscle Glycogen %
Özyılmaz vd., (2016)	(Kasım / November) 18.48±0.38	(Kasım / November) 2.76±0.13	(Kasım / November) 77.73±0.91	(Kasım / November) 0.77±0.04	(Kasım / November) 0.55±0.03
(Kaçar vd., 2018)		(Kasım / November) 0.92±0.23			
(Dağlı, 2009)		(Sonbahar / Autumn) 1.40±0.15			(Sonbahar / Autumn) %0.07±0.005
(Kaya, 2017)		(Kasım / November) D=%1.46±0.04 E=%2.14±0.10			
(Erdoğan vd., 2005)		(Ocak-Haziran/ January-June) 1.63			

*D=dişi / female, E=erkek / male

SONUÇ

Bu çalışmada; Kasım (2019) ayında bölge halkının balık tüketim kaynağı olan İron Sazlığı'dan yerel balıkçılar tarafından serpmeye ağ ile avlanan *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un besin kompozisyonu incelenmiş ve literatür verileri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan analizlerde İron Sazlığı'nda yetişen *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un protein oranı %18.62±2.10, yağ oranı %2.61±1.08, nem oranı %75.66±0.99, kül oranı %1.44±0.35 ve kuru madde oranı %24.33±0.99 olarak saptanmıştır. Ayrıca bu oranların dişi ve erkek bireyler arasında anlamlı bir şekilde farklılaşmadığı görülmüştür. Diğer yandan verilerimizin, *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un besin değerlerinin incelendiği diğer çalışmalarla benzer olduğu görülmüş, kısmen yüksek olan yağ oranının ise kabul edilebilir olduğu ve bu durumun çevresel farklılıklarla açıklanabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada yöre halkı tarafından yoğun bir şekilde tüketilen ve ekonomik öneme sahip olan Karaburun balığının iyi bir besin bileşimine sahip olduğu anlaşılmış olup, ekosistemin devamlılığı ile

besin kaynaklarının ve türlerin sürdürülebilirliğinin sağlanabilmesi için etkili su yönetim planlarının ve balıkçılık stratejilerinin geliştirilmesi tarafımızca önerilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma Şeyda Kaya'nın yüksek lisans tezinin bir bölümünden üretilmiştir. Tüm yazarlar bu çalışmanın planlanmasında, saha araştırmalarında, makalenin taslağının oluşturulmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında katkı sağlamışlardır. Ayrıca çalışmaya olan teknik desteklerinden ötürü Sayın Erdem Kaya'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

Anonymous, (2019). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Su Yönetimi Genel Müdürlüğü, Su Kalitesi Yönetimi Hizmet İçi Eğitimi. 3-5 Nisan 2019, Antalya. https://www.tarimorman.gov.tr/SYGM/Belgeler/Su_Kalitesi_HIE_Haber

- 2019/Sulak Alanlar ve Onemi.pdf (Erişim Tarihi: 26 Eylül 2019).
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 15th Edition. Washington DC, the USA.
- Avşın, N., Kıvrak, A., Kavak, E. (2019). Budaklı (Bitlis) kaplıcasının jeokimyasal özellikleri ile alanın jeolojik ve coğrafi yapısı arasındaki ilişki. *Van Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, Ek-1(Özel Sayı): 105–124.
- Baysal, A., Aksoy, M., Besler, T.H., Bozkurt, N., Keçecioglu, S., Mercanlıgil, S.M., Merdol, T.K., Pekcan, G., Yıldız, E. (2013). *Diyet el kitabı*. Hatipoğlu Yayınları, Ankara, Türkiye, 654s. ISBN: 9789757527978
- Burger, J., Gochfeld, M. (2009). Perceptions of the risks and benefits of fish consumption: individual choices to reduce risk and increase health benefits. *Environ Res*, 109(3): 343-349, doi: 10.1016/j.envres.2008.12.002.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri 1. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2): 209–242.
- Çoban, M.Z., Şen, D. (2006). Keban Baraj Gölü'nde yaşayan *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un üreme özellikleri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18(1): 41-48.
- Dağlı, M. (2009). Karakaya Baraj Gölü'nde yaşayan *Acanthobrama marmid* (Heckel, 1843), *Leuciscus cephalus* (Nordmann, 1840), *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un total glikojen, total lipid ve total yağ asidi bileşiminin mevsimsel incelenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Malatya, Türkiye, 143s.
- Domingo, J.L. (2007). Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: is all that glitters gold?. *Environ Int*, 33(7): 993-998, doi: 10.1016/j.envint.2007.05.00.
- Eken, G., Bozdoğan, M., İsfendiyaroğlu, S., Kılıç, D.T., Lise, Y. (eds.). (2006). *Türkiye'nin önemli doğa alanları*. Doğa Derneği, Ankara, Türkiye, 79s.
- Erdoğrul, O., Covaci, A., Schepens. P. (2005). Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaraş, Turkey. *Environ Int*, 31(5): 703–711, doi: 10.1016/j.envint.2005.01.002.
- George, D., Mallery, M. (2010). *SPSS for windows step by step: a simple guide and reference, 17.0 update*. 10a Ed. Pearson, Boston, UK.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M. (1993). Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, Türkiye.
- Güneş, M. (2007). Tercan Baraj Gölü ve Tuzla Çayı'nda yaşayan *Capoeta Capoeta Umbla* Heckel, 1843 populasyonlarının bazı biyo-ekolojik özellikleri, total yağ ve yağ asidi kompozisyonlarının karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye, 115s.
- Kaçar, S., Başhan, M., Oymak, S.A. (2018). *Chondrostoma regium*'un kas ve gonad dokusu total lipid, fosfolipit ve triaçilgiserol yağ asidi kompozisyonu. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(1): 20-25, doi: 10.18016/ksudobil.292857.
- Kara, C. (2001). Sır baraj gölü (Kahramanmaraş)'nda yaşayan *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un dişi ve erkek bireylerinin kas dokusu yağ asitlerinin değişimi. *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 4(1): 74-78.
- Kaya, H. (2017). Munzur Nehri'nde yaşayan *Capoeta umbla* (Heckel, 1843) ve *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un total lipid ve yağ asitlerinin mevsimsel değişimi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Diyarbakır, Türkiye, 307s.
- Köprücü, K., Özdemir, Y. (2003). *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843)'nın Keban Baraj Gölü ve Hazar Gölü (Elazığ)'nda yaşayan populasyonlarının et verimi ve bazı büyüme özelliklerinin karşılaştırılması. *Su Ürünleri Dergisi*, 20(3-4): 337-343.
- Olgun, M., Başçiftçi, Z.B., Ayter, N.G., Kutlu, İ., Akın, A., Karaduman, Y., (2013). Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinde protein

oranının üç farklı analiz yöntemine göre karşılaştırılması üzerine bir araştırma. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(2): 80–87.

Oymak, A.S. (2001). Atatürk Baraj Gölü'nde yaşayan *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)'un üreme biyolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(1): 166-175.

Özyılmaz, A., Erguden, S.A., Erguden, D., Özeren, A., Semerci, R.S.N. (2016). The proximate compositions, carbohydrate contents

and energy values of three freshwater fish from Seyhan River in Adana/Turkey. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(4): 1153-1155.

Türkdoğan, K. (2012). Üst sindirim sistemi kanserlerinde diyet ve çevresel faktörlerin rolü: Doğu anadolu gerçeği. *Sağlık Düşüncesi ve Tıp Kültürü Dergisi*, 21: 56–59.



DEODORIZATION OF GARLIC ODOR BY FRESH AND DRIED HERBS USING SIFT-MS

Gülsah Ozcan-Sinir^a, Sheryl Ann Barringer^{b*}

^aBursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Bursa, TURKEY

^bThe Ohio State University, Department of Food Science and Technology, Columbus, OH, USA

Received / Geliş: 08.02.2021; Accepted / Kabul: 09.03.2021; Published online / Online baskı: 12.03.2021

Ozcan-Sinir, G., Barringer, S.A. (2021). Deodorization of garlic odor by fresh and dried herbs using SIFT-MS. GIDA (2021) 46(2) 358-366 doi: 10.15237/gida.GD21029

Ozcan-Sinir, G., Barringer, S.A. (2021). Sarımsak kokusunun taze ve kuru bitkiler ile SIFT-MS kullanılarak deodorizasyonu. GIDA (2021) 46(2) 358-366 doi: 10.15237/gida.GD21029

ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum* L.) has a very strong odor, which lingers on the breath for approximately a day, after consumption. The deodorization mechanism for garlic odor has been associated with the phenolic content and enzymatic activity of the deodorizing food. In this study, the effectiveness of both fresh and dried form of the herbs (mint, oregano, rosemary and thyme) were examined to reduce the garlic volatile content of allyl mercaptan, allyl methyl disulfide, allyl methyl sulfide and diallyl disulfide. The concentration of garlic volatiles was measured in the headspace for 30 min by Selected Ion Flow Tube Mass Spectrometry (SIFT-MS). In general, dried herbs were found to be more effective at deodorizing selected volatiles than fresh herbs. Fresh rosemary had the strongest deodorization effect among the fresh herbs, while dried mint had the strongest effect among the dried herbs. Fresh thyme had the lowest effectiveness on deodorization of garlic volatiles.

Keywords: *Allium sativum* L., volatile sulfur compounds, deodorization, SIFT-MS, rosemary, mint

SARIMSAK KOKUSUNUN TAZE VE KURU BİTKİLER İLE SIFT-MS KULLANILARAK DEODORİZASYONU

ÖZ

Sarımsağın (*Allium sativum* L.) tüketimden yaklaşık bir gün sonra nefeste kalan çok güçlü bir kokusu vardır. Sarımsak kokusunun giderilme mekanizması, koku giderici gıdanın fenolik içeriği ve enzimatik aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, çeşitli bitkilerin (nane, kekik, biberiye ve kekik) hem taze hem de kuru formunun çiğ sarımsaktaki uçucu bileşiklerden alil merkaptan, alil metil disülfür, alil metil sülfür ve dialil disülfidin içeriğinin azaltılması üzerine etkinliği incelenmiştir. Sarımsaktaki uçucu bileşenlerin konsantrasyonu, seçilen iyon akış tüpü kütle spektrometresi (SIFT-MS) ile 30 dakika boyunca tepe boşluğundan ölçülmüştür. Genel olarak, kurutulmuş bitkilerin, seçili uçucu bileşenlerden kaynaklanan kokularının giderilmesinde taze bitkilerden daha etkili olduğu saptanmıştır. Taze biberiye, taze otlar arasında en güçlü koku giderme etkisine sahipken, kurutulmuş otlar arasında en güçlü etkiyi kurutulmuş nane göstermiştir. Taze kekik, sarımsak uçucularının deodorizasyonunda en düşük etkiyi göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Allium sativum* L., uçucu sulfur bileşenleri, deodorizasyon, SIFT-MS, biberiye, nane

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ barringer.11@osu.edu,

☎ (+90) 224 294 14 94

☎ (+90) 224 294 14 02

Gülsah Ozcan-Sinir; ORCID no: 0000-0003-3954-0058

Sheryl Ann Barringer; ORCID no: 0000-0002-9194-0596

INTRODUCTION

Garlic (*Allium sativum* L., Family Liliaceae) is one of the most valuable vegetables in the world. The overall harvested fields of dry bulbs are 1.634.634 ha and the yearly production is 30.708.243 tonnes (FAO, 2019). Garlic has been commonly consumed as food and medicine all over the world since ancient times. It produces enhancements in culinary, therapeutic, and medicinal areas. Some research shows that garlic lowers blood cholesterol and blood sugar (Thomson *vd.*, 2006), and acts as an antiaging agent, which improves memory (Kim *vd.*, 2013). It is a good source of several vitamins and minerals, also it helps in lowering blood pressure and cholesterol and reduces the risk of cancer (Block *vd.*, 1992; Yeh *ve* Liu, 2001).

Garlic is consumed as a raw or dried vegetable, garlic oil, garlic extract and garlic powder. Regardless of its beneficial effects, garlic consumption ends up producing a strong and lingering odor, which may stay up to 24 h on the breath after consumption (Mirondo *ve* Barringer, 2016). High levels of volatile sulfur compounds are responsible for the distinctive odor and flavor (Lawson, 1996). The formation of the characteristic flavor of garlic is a consequence of several biochemical reactions, which produce volatile organosulfur compounds and non-volatile amino acids (Amagase *vd.*, 2001; Martins *vd.*, 2016). The major volatile compounds responsible for garlic breath are diallyl disulfide, allyl mercaptan, allyl methyl disulfide, and allyl methyl sulfide (Suarez *vd.*, 1999; Rosen *vd.*, 2001; Tamaki *vd.*, 2008). Even though the precursors of these volatile compounds are present inside the cells, formation doesn't start until garlic is crushed or chopped, when the conversion of alliin to allylsulfenic acid to allicin occurs by the enzyme alliinase. Allicin converts to allyl methyl disulfide and diallyl disulfide (Negishi *vd.*, 2002). Allyl methyl disulfide originates from allicin and does not convert into other garlic volatiles (Suarez *vd.*, 1999). Diallyl disulfide is reduced to form allyl mercaptan (Iciek *vd.*, 2009). These volatiles are formed in raw garlic; only allyl methyl sulfide can be formed both in garlic and inside of the body

(Lawson, 1998; Hansanugrum *ve* Barringer, 2010).

Researchers have proposed that the deodorization of garlic odor is connected to the total amount of phenolic constituents in several fruits and vegetables, and that polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) are the main enzymes present in plant tissues responsible for the reactions (Negishi *ve* Ozawa, 1997; Negishi *ve* Negishi, 1999; Negishi *vd.*, 2002). The suggested deodorization process involves the reaction of phenolic radicals with garlic volatiles. Oxidation of the phenolic compounds results in the development of radical quinones that bind with thiols and other organosulfur compounds. This process leads to formation of odorless phenol-organosulfur complexes. The enzymes PPO or POD increase the rate of oxidation of phenolic compounds, and further increase the ensuing addition reaction of volatile compounds to radical quinones (Yasuda *ve* Onogi, 1996; Negishi *ve* Negishi, 1999; Negishi *vd.*, 2002). For that reason, a higher deodorization effect will be observed in the presence of both enzymes and phenolic compounds. This mechanism is not completely understood, but current studies have focused on the effectiveness of food and food components, including tea and tea-like beverages, raw fruits, raw vegetables, and some dairy products on lowering the level of the volatile compounds related to malodorous odor (Yasuda *ve* Arakawa, 1995; Negishi *vd.*, 2002; Negishi *vd.*, 2004; Hansanugrum *ve* Barringer, 2010; Munch *ve* Barringer, 2014; Mirondo *ve* Barringer, 2016; Castada *vd.*, 2017).

The aim of present study was to compare the deodorization effectiveness of mint, oregano, rosemary, and thyme, both dried and fresh, by measuring the reduction in headspace concentration of allyl mercaptan, allyl methyl disulfide, allyl methyl sulfide, and diallyl disulfide with SIFT-MS.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Garlic, fresh thyme, oregano, mint, and rosemary, and dried thyme were obtained from a local

market (Giant Eagle, Columbus, Ohio, U.S.A.). Dried oregano, mint, and rosemary were obtained from a spice bazaar (Bursa, Turkey). All materials were stored at room temperature until use.

Headspace volatile measurements

5 g peeled garlic cloves (raw), 5 g fresh herb or the equivalent amount of dried herb to produce the same dry weight content as the fresh sample, and 50 mL of HPLC grade water were blended (Magic Bullet model MB1001B, Ningbo Great Height Commodity, Ningbo, China) for 30 sec. The same procedure was also applied to control measurements without herb addition. The blended mixture was transferred in 500 mL Schott glass bottles and covered with a Teflon sealed screw cap. After capping, the headspace volatiles of the mixture were analyzed using selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) immediately. Volatile compound measurements were conducted at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) from 0 to 30 min at 5 min intervals. Total SIM scan time was 120 s.

Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS)

Table 1 outlines the volatile compounds analyzed in this study with their corresponding ion

product, precursor ions, mass-to-charge ratios (m/z), and the reaction rates used in SIFT-MS. SIFT-MS utilizes chemical ionization with H_3O^+ , NO^+ and O_2^+ . The concentration (M) of volatile compounds were obtained via product count rate (I_p), reaction rate constant (k), precursor ions count rate (I), and reaction time (t) as follows: $(M) = I_p / Ikt$ (Spaněl ve Smith, 1999). Trace volatile analyte compounds were introduced in the reactor at an optimized sample inlet flow rate of 0.35 Torr•L/s (26 cm^3/min). The validation was performed before usage of the instrument by quantifying properly via linearity, range, accuracy, precision and limit of detection using a pressurized mixture of certified gas standards (benzene, ethylene, isobutane, octafluorotoluene, hexafluorobenzene, toluene, p-xylene, and 1,2,3,4-tetrafluorobenzene) each having a concentration of 2 ppm ($\pm 5\%$) in nitrogen (Air Liquide America Specialty Gases LLC, Plumsteadville, PA, USA) and standardized to a pressure of 21 kPa. Conflicts between selected volatiles were removed by selecting different masses or different precursor ions for each compound in the method.

Table 1. Detailed SIFT-MS information of measured volatile compounds

Volatile Compound	Ion Product	Precursor Ion	m/z	Reaction rate (k) ($10^{-9} \text{ cm}^3/\text{s}$)
Allyl mercaptan	$\text{C}_3\text{H}_6\text{S}$	NO^+	74	2.4
Allyl methyl disulfide	$\text{C}_4\text{H}_8\text{S}_2$	NO^+	120	2.4
Allyl methyl sulfide	$\text{C}_4\text{H}_8\text{S.H}^+$	H_3O^+	89	2.6
Diallyl disulfide	$(\text{C}_3\text{H}_5)_2\text{S}_2^+$	NO^+	146	2.4

Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test was applied to assess the normality of the distribution of variables. The Kruskal-Wallis test was employed to determine whether significant differences existed among the groups. The Mann-Whitney U-test was used for comparing two groups after the Kruskal Wallis test was performed, in cases in which significances was determined. The Mann-Whitney U-test was applied for comparing the continuous variables not meeting normality assumption.

Continuous variables were presented as the median. The significance level was set to $\alpha = 0.05$. Statistical analyses were performed with IBM SPSS Statistics version 25.0 (IBM Corporation, New York, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Mint, oregano, rosemary and thyme showed a very significant deodorization capacity against allyl mercaptan, allyl methyl disulfide, allyl methyl sulfide and diallyl disulfide (Figures 1-4). These

volatile compounds produce the aroma unique to garlic and have been measured in breath and headspace analyses by several researchers (Hansanugrum ve Barringer 2010; Munch ve Barringer, 2014; Mirondo ve Barringer, 2016). Control samples, without addition of an herb, had a continuous increase in the concentration of measured garlic volatiles over time, because of the continued enzymatic formation of volatile sulfur compounds (Figures 1-4). When garlic is cut, ground or crushed, the enzyme allinase is released and hydrolyzes alliin, a non-proteinogenic amino acid. Several enzymatic reactions follow, resulting in formation of allicin, which has a garlic odor, and is the main precursor for the other volatiles responsible for garlic odor. Allicin rapidly degrades into other sulfur compounds (Lawson, 1996; Negishi vd., 2002).

In general, dried herbs were at least twice as effective as fresh herbs, at deodorizing the volatile compounds in garlic. This may be explained by the higher total phenolic content in dry herbs than fresh herbs, at the same total dry matter content. Vaidya vd. (2014) investigated the total phenolic content and antioxidant activity of fresh and dried rosemary. They determined that dried samples had higher total phenolic content and antioxidant activity compared to fresh samples. Sharma vd. (2020) investigated several extraction method to identify differences in bioactive compound content in rosemary. Caffeic acid, rosmarinic acid, luteolon-7-o-glucoside, carnosic acid, carnosol, and ursolic acid content was significantly higher in the dry leaf decoction compared to the fresh leaf decoction. Hossain vd. (2010) investigated total phenolic content, rosmarinic acid, and antioxidant capacity of dried rosemary, oregano, marjoram, sage, basil, and thyme after drying and compared to fresh samples. They determined that the fresh samples had lower total phenolic content, rosmarinic acid, and antioxidant capacity than the dry samples.

The higher levels of phenolics and terpenoids in dry herbs compared to fresh herbs, may be explained by the difference in biomass that can be extracted. Dried samples have a higher extracted compound concentration, due to the fragility of

the tissues. The drying process makes tissues more fragile, so cell walls break more easily during the extraction procedure. These broken cells result in higher extraction of the phenolic compounds by the solvents during the process (Hossain vd., 2010).

Enzymatic degradation is another possible explanation for the lower antioxidant capacity of fresh herbs. Fresh samples have active enzymes which can cause degradation during processing. To maximize antioxidant extraction, it is recommended to use dried or frozen herbs, rather than fresh samples, due to enzymatic activity (Suhaj, 2006). Many enzymes are inactivated by decreased water activity, thus dried samples maintain a higher antioxidant capacity and total phenolic content in herbal extracts.

Fresh rosemary had the highest deodorization effect among the fresh herbs, while all of the dried herbs were equally effective (Figure 1-4). The main phenolic compound in rosemary is rosmarinic acid, which has a higher trolox equivalent antioxidant capacity than other phenolic compounds such as catechin and quercetin (Berker vd., 2013). However, fresh thyme had the lowest effectiveness in deodorization of garlic volatiles (Table 2). The total lipid content of fresh rosemary is more than twice that of fresh thyme (USDA, 2021). Oil significantly lowers the volatility of garlic volatiles in the headspace due to the hydrophobicity of the volatiles (Hansanugrum ve Barringer, 2010). Thus the oil content may contribute to the better deodorization effect of fresh rosemary. Mirondo ve Barringer (2016), reported the deodorizing effect of fresh spearmint leaves against garlic breath volatiles. Munch ve Barringer (2014) also reported that parsley, spinach, and mint leaf applications were all efficient in removing allyl methyl disulfide, diallyl disulfide, allyl mercaptan, and allyl methyl sulfide, which are malodorous garlic breath volatiles by enzymatic deodorization. The dried mint was significantly effective at deodorizing all measured volatiles (Table 2).

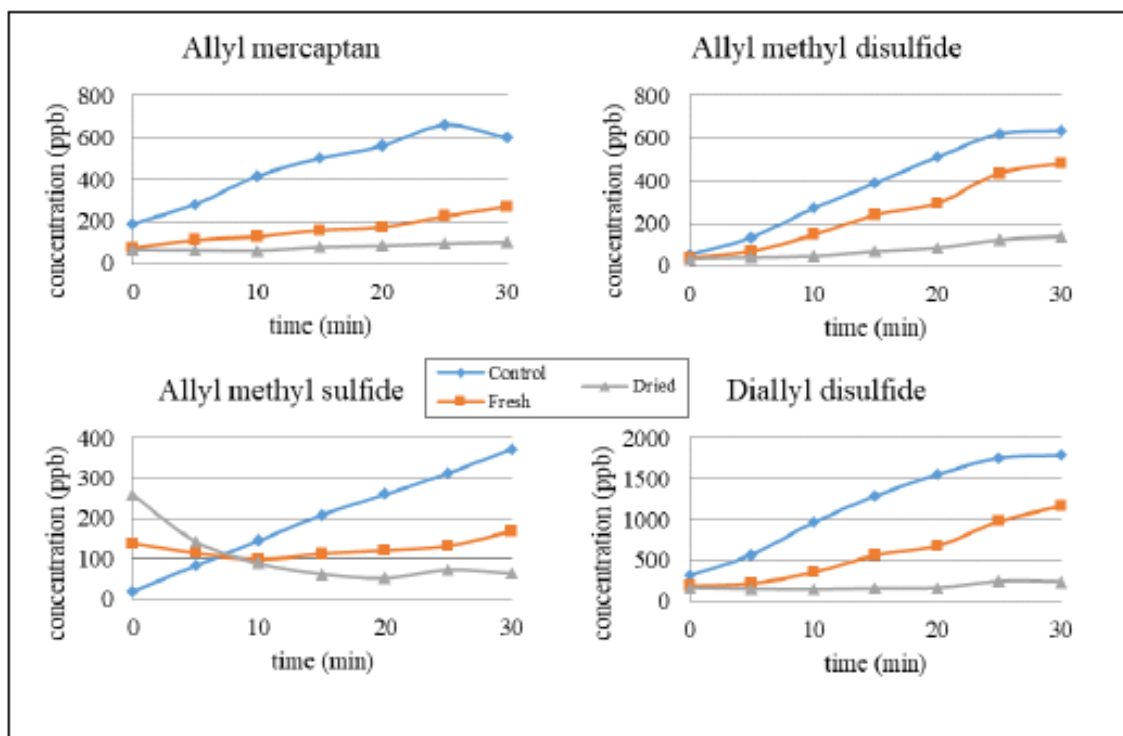


Figure 1. Effect of fresh and dried mint on concentration changes of selected volatiles

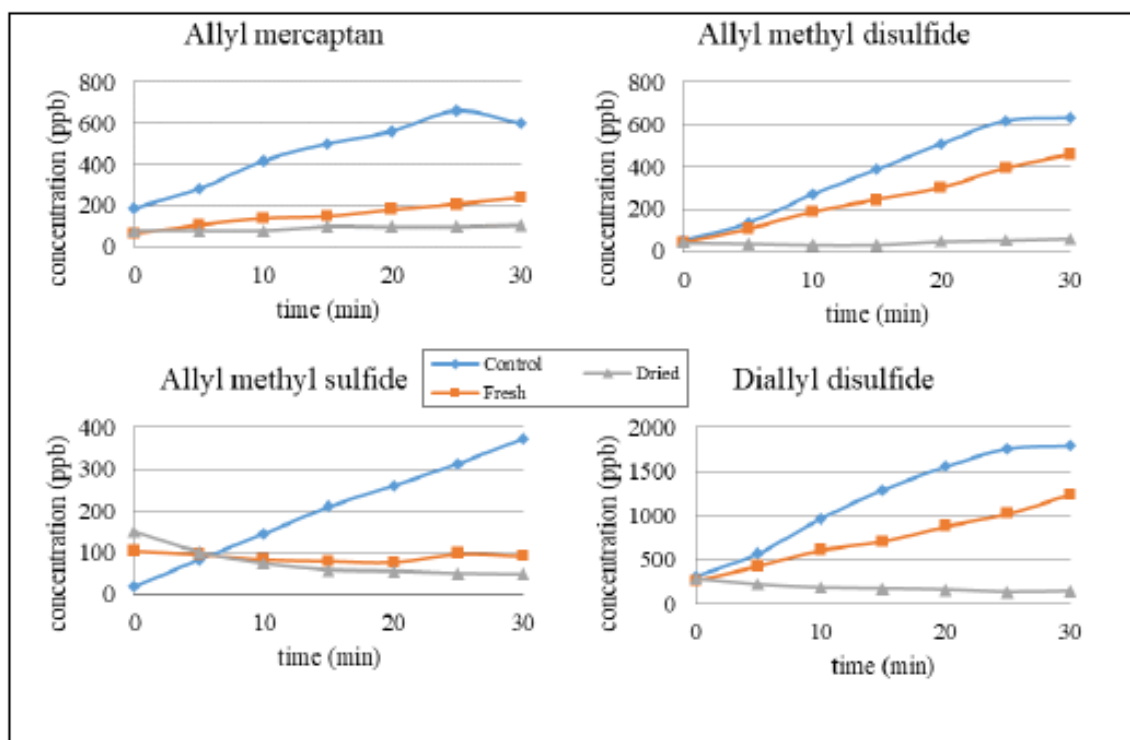


Figure 2. Effect of fresh and dried oregano on concentration changes of selected volatiles

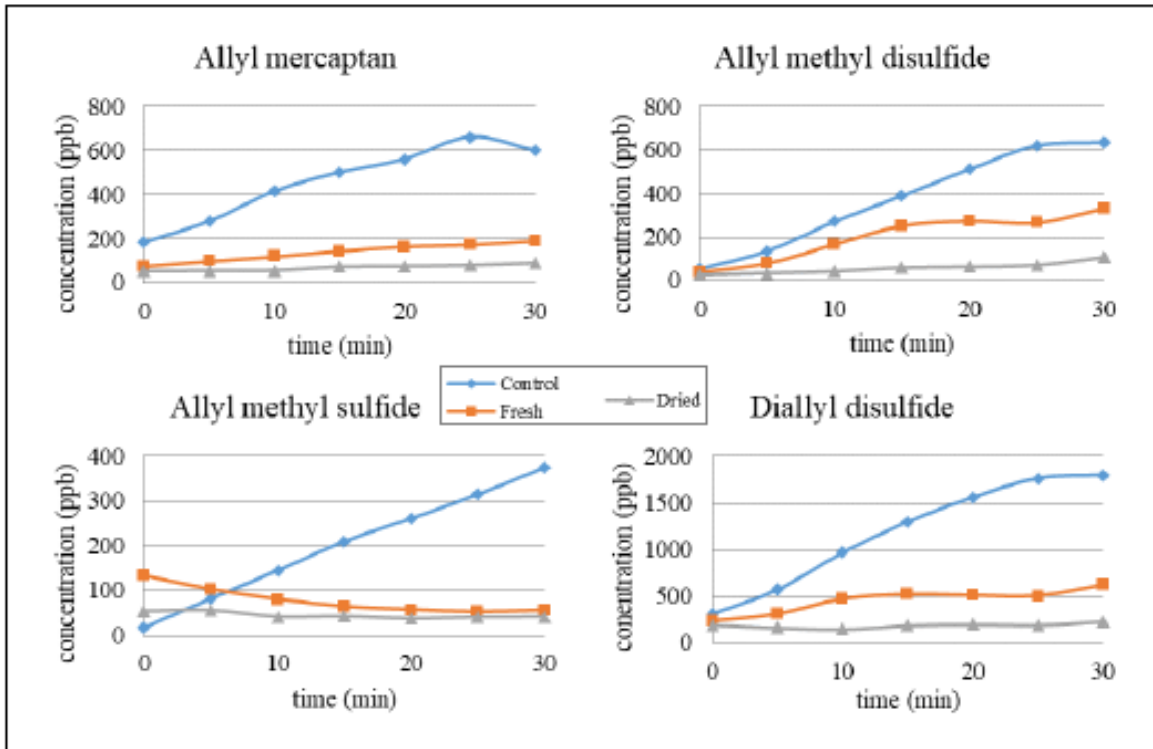


Figure 3. Effect of fresh and dried rosemary on concentration changes of selected volatiles

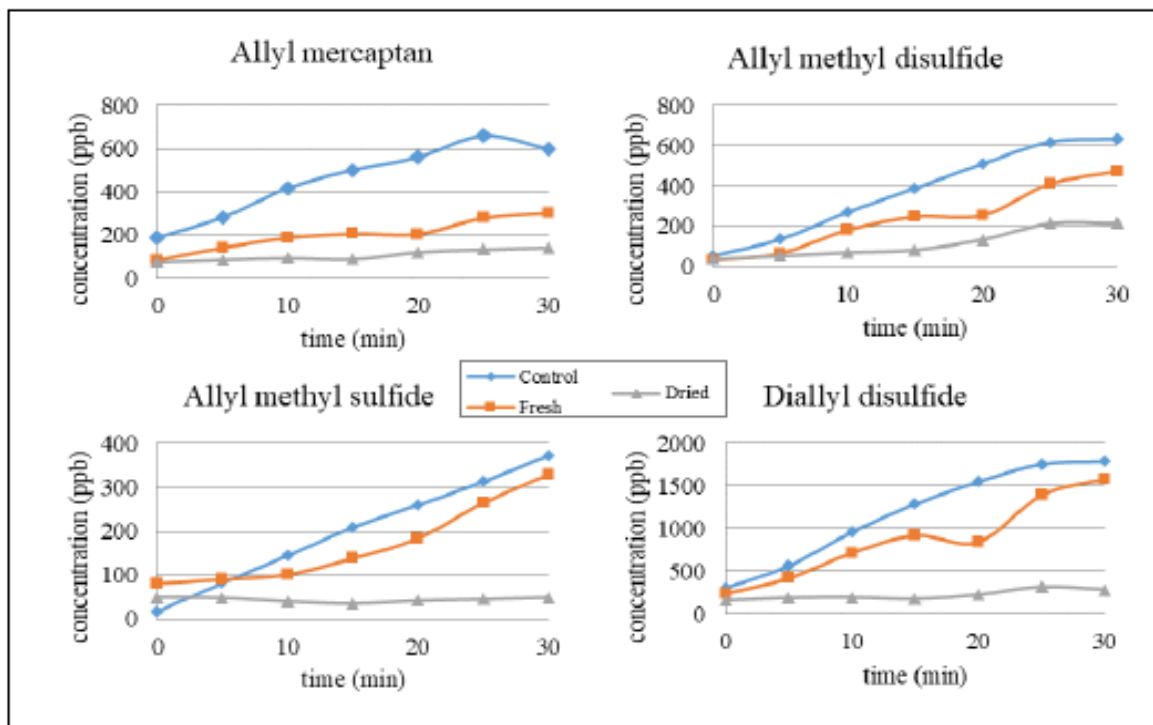


Figure 4. Effect of fresh and dried thyme on concentration changes of selected volatiles

Table 2. *P*-value of difference in garlic volatile concentration at 30 min, for fresh vs. dried herb, fresh herb vs. control, and dried herb vs. control

		Allyl mercaptan	Allyl methyl disulfide	Allyl methyl sulfide	Diallyl disulfide
Fresh vs. Dried Herb	Mint	0.014	0.025	0.014	0.014
	Oregano	0.007	0.011	>0.05	0.011
	Rosemary	0.013	0.013	>0.05	0.013
	Thyme	0.025	>0.05	0.025	0.025
Fresh Herb vs. Control	Mint	0.007	>0.05	>0.05	0.050
	Oregano	0.005	>0.05	0.024	0.050
	Rosemary	0.005	>0.05	0.031	0.050
	Thyme	0.050	>0.05	>0.05	>0.05
Dried Herb vs. Control	Mint	0.034	0.034	0.034	0.034
	Oregano	0.034	0.034	0.034	0.034
	Rosemary	0.034	0.034	0.034	0.034
	Thyme	0.034	0.034	0.034	0.034

CONCLUSION

Mint, oregano, rosemary and thyme significantly reduced the headspace volatile sulfur compounds present in garlic and suppressed malodorous odor. Fresh rosemary had the highest deodorization effect among the fresh herbs, while dried mint had the strongest effect among the dried herbs. Fresh thyme had the lowest effectiveness on deodorization of garlic volatiles. In general, the dried forms of these herbs were found to be more effective than the fresh herbs. This may be due to a drying process effect, which causes cell walls to break more easily and expose more phenolic compounds. Another reason may be fractionation of phenolic compounds into smaller components which have higher antioxidant activity, or higher enzymatic degradation of phenolic compounds in fresh herbs. In conclusion, the present study suggests that the odor of garlic volatiles can be reduced by herbs, especially dried herbs.

ACKNOWLEDGEMENT

Gülşah OZCAN-SINIR acknowledges the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) for 2219-post-doctoral scholarship.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Gülşah OZCAN-SINIR: methodology, investigation, data curation, writing-original draft. Sheryl Ann BARRINGER: supervision, resources, investigation, writing - review & editing. All authors approved the submitted version.

REFERENCES

- Amagase, H., Petesch, B.L., Matsuura, H., Kasuga, S., Itakura, Y. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *J Nutr*, 131(3): 955–962., <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.955S>.
- Berker, K.I, Ozdemir Olgun, F.A., Ozyurt, D., Demirata, B., Apak, R. (2013). Modified Folin–Ciocalteu Antioxidant Capacity Assay for Measuring Lipophilic Antioxidants. *J Agric Food Chem*, 61(20): 4783-4791., <https://doi.org/10.1021/jf400249k>.
- Block, G., Patterson, B., Subar, A. (1992). Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer*, 18(1): 1–29., <https://doi.org/10.1080/01635589209514201>.
- Castada, H.Z., Mirondo, R., Sigurdson, G.T., Giusti, M.M., Barringer, S. (2017). Deodorization of garlic odor by spearmint, peppermint, and chocolate mint leaves and rosmarinic acid.

- Lebensm-Wiss Technol*, 84(8): 160-167., <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.064> .
- FAO (2019). Production and trade statistics., <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Hansanugrum, A., Barringer, S. (2010). Effect of Milk on the Deodorization of Malodorous Breath after Garlic Ingestion. *J Food Sci*, 75(6)., <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01715.x>.
- Hossain, M., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A., Brunton, N. (2010). Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chem*, 123(1): 85-91., <https://doi.org/10.21427/D74628>.
- Iciek, M., Kwicien, I., Wlodek, L. (2009). Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environ Mol Mutagen*, 50(3): 247-265., <https://doi.org/10.1002/em.20474>.
- Kim, S.R., Jung, Y.R., An, H.J., Kim, D.H., Jang, E.J., Choi, Y.J., Moon, K.M., Park, M.H., Park, C.H., Chung, K.W., Bae, H.R., Choi, Y.W., Kim, N.D., Chung, H.Y. (2013). Anti-wrinkle and anti-inflammatory effects of active garlic components and the inhibition of MMPs via NF-Kb signaling. *PLoS One*, 8(9): e73877., <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073877>.
- Lawson, L.D. (1996). The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. In: *Garlic: the science and therapeutic application of Allium sativum L. and related species*, Koch, H.D., Lawson, L.D. (chief ed.), Williams & Wilkins, Baltimore, MD, pp. 37–107.
- Lawson, L.D. (1998). Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds. In: *Phytomedicines of Europe: Chemistry and Biological Activity*, Lawson, L.D., Bauer R., (editors). American Chemical Society, Washington, DC, pp.176–209.
- Martins, N., Petopoulos, S., Ferreira, I. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum L.*) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chem*, 211: 41-50., <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.029>.
- Mirondo, R., Barringer, S. (2016). Deodorization of garlic Breath by Foods, and the Role of Polyphenol Oxidase and Phenolic Compounds. *J Food Sci*, 81(10): 2425-2430., <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13439>.
- Munch, R., Barringer, S. (2014). Deodorization of garlic breath volatiles by food and food components. *J Food Sci*, 79(4): 526-533., <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12394>.
- Negishi, O., Negishi, Y. (1999). Enzymatic Deodorization with Raw Fruits, Vegetables and Mushrooms. *Food Sci Technol*, 5(2): 176-180., <https://doi.org/10.3136/fstr.5.176>.
- Negishi, O., Ozawa, T. (1997). Effect of polyphenoloxidase on deodorization. *Biosci Biotechnol Biochem*, 61(12): 2080-2084., <https://doi.org/10.1271/bbb.61.2080>.
- Negishi, O., Negishi, Y., Ozawa, T. (2002). Effects of Food Materials on Removal of Allium-Specific Sulfur Compounds. *J Agric Food Chem*, 50(13): 3856-386., <https://doi.org/10.1021/jf020038q>.
- Rosen, R.T., Hiserodt, R.D., Fukuda, E.K., Ruiz, R.J., Zhou, Z., Lech, J., Rosen, S.L., Hartman, T.G. (2001). Determination of allicin, S-allylcysteine and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or simulated gastric fluids. *J Nutr*, 131(3s): 968–971., <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.968S>.
- Španěl, P., Smith, D., (1999). Selected ion flow tube-mass spectrometry: detection and real-time monitoring of flavours released by food products. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 13(7): 585-596., [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19990415\)13:7<585::AID-CM527>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19990415)13:7<585::AID-CM527>3.0.CO;2-K).
- Suarez, F., Springfield, J., Furne J., Levitt, M. (1999). Differentiation of mouth versus gut as site of origin of odoriferous breath gases after garlic ingestion. *Am J Physiol*, 276(2): 425–430., <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.276.2.G425>.
- Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: A review. *J Food Compos Anal*, 19: 531–537., <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.005>.

- Tamaki, K., Sonoki, S., Tamaki, T., Ehara, K. (2008). Measurement of odour after in vitro or in vivo ingestion of raw or heated garlic, using electronic nose, gas chromatography and sensory analysis. *Int J Food Sci Technol*, 43(1): 130-139., <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01403.x>.
- Thomson, M., Al-Qattan, K.K., Bordia, T., Ali, M. (2006). Including Garlic in the Diet May Help Lower Blood Glucose, Cholesterol and Triglycerides. *J Nutr*, 136(3): 800–802., <https://doi.org/10.1093/jn/136.3.800S>.
- USDA, United States Department of Agriculture (2021). National nutrient database for standard reference from FoodData Central. www.usda.gov (Accessed: 27 January 2021).
- Vaidya, B.N., Brearley, T.A., Joshee, N. (2014). Antioxidant Capacity of Fresh and Dry Leaf Extracts of Sixteen Scutellaria Species. *Journal of Medicinally Active Plants*, 3(2): 42-49., <https://doi.org/10.7275/R5J9649K>.
- Yasuda, H., Arakawa, T. (1995). Deodorizing mechanism of (–)-epigallocatechin gallate against methyl mercaptan. *Biosci Biotechnol Biochem*, 59(7): 1232-1236., <https://doi.org/10.1271/bbb.59.1232>
- Yasuda, H., Onogi, A. (1996). Effects of Ascorbic acid on the Deodorizing Activity of Polyphenols against Methanethiol. *Biosci Biotechnol Biochem*, 60(10): 1703-1704., <https://doi.org/10.1271/bbb.60.1703>.
- Yeh, Y.Y., Liu, L. (2001). Cholesterol-lowering effect of garlic extracts and organo sulfur compounds: human and animal studies. *J Nutr*, 131(3): 989-993., <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.989S>.
- Sharma, Y., Velamuri, R., Fagan, J., Schaefer, J. (2020). Full-Spectrum Analysis of Bioactive Compounds in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) as Influenced by Different Extraction Methods. *Molecules*, 25(20): 45-99., <https://doi.org/10.3390/molecules25204599>.



YER ELMASI TOZU İLAVESİNİN EKŞİ HAMUR FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Hümeyra Çetin Babaoğlu, Sultan Arslan Tontul*, Nihat Akın
Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş / Received: 02.12.2020; Kabul / Accepted: 16.02.2021; Online baskı / Published online: 15.03.2021

Çetin-Babaoğlu, H., Arslan-Tontul, S., Akın, N. (2021). Yer elması tozu ilavesinin ekşi hamur fermantasyonu üzerine etkisi. *GIDA* (2021) 46(2) 367-375 doi: 10.15237/gida. GD20135.

Çetin-Babaoğlu, H., Arslan-Tontul, S., Akın, N. (2021). The effect of jerusalem artichoke powder incorporation on sourdough fermentation. *GIDA* (2021) 46(2) 367-375 doi: 10.15237/gida. GD20135.

ÖZ

Bu çalışmada yer elması (*Helianthus tuberosus*) tozunun (YET), ekşi hamur fermantasyonu sırasında laktik asit bakterilerinin (LAB) fermentatif aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Ekşi hamur fermantasyon ortamına, %15 oranına kadar YET ikamesinin LAB sayısını arttırdığı ancak bu oranın üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Fermantasyon süresi boyunca örneklerin ortalama LAB sayısı 6.77 log kob/g değerinden 9.15 log kob/g değerine ulaşmıştır. Ekşi hamur örneklerinin pH değeri 48 saatlik süre içerisinde tüm örneklerde ortalama olarak 6.26 değerinden 3.88 değerine azalmış ve YET ilavesinin asitliği baskılayıcı bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Titrasyon asitliği değeri, fermantasyon süresi boyunca artarak ortalama %0.24 değerinden %0.85 değerine yükselmiş ve en yüksek titrasyon asitliği değeri %15 YET ilave edilmiş ekşi hamur fermantasyon ortamında elde edilmiştir. En yüksek indirgen şeker içeriği ise 136.38 g/kg değeri ile %20 YET içeren örneklerde tespit edilmiş olup fermantasyon süresi örneklerin indirgen şeker içeriğinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır.

Anahtar kelimeler: Yer elması tozu, ekşi hamur, laktik asit bakterileri, fermantasyon

THE EFFECT OF JERUSALEM ARTICHOKE POWDER INCORPORATION ON SOURDOUGH FERMENTATION

ABSTRACT

In this study, the effect of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) powder (JAP) on the fermentative activity of lactic acid bacteria (LAB) in sourdough fermentation was researched. The enrichment of sourdough fermentation medium with 15% JAP led to increase total LAB count, but over this level, there was insignificant effect. The total average LAB count of samples increased from 6.77 to 9.15 log CFU/g during fermentation period. The mean pH value of samples decreased from 6.26 to 3.88 as average, and it was also determined that JAP utilization suppressed the acidity. Titration acidity value increased from 0.24% to 0.85% during fermentation, and the highest value was recorded in sourdough containing 15% JAP. Additionally, the highest reducing sugar content was detected in 20% JAP containing samples to be 136.38 g/kg, and fermentation period had insignificant effect on reducing sugar content of samples.

Keywords: Jerusalem artichoke powder, sourdough, lactic acid bacteria, fermentation

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: sultan.arslan@selcuk.edu.tr,

☎: (+90) 332 223 2937

☎: (+90) 332 241 0108

Hümeyra Çetin Babaoğlu; ORCID no: 0000-0001-9115-6470

Sultan Arslan Tontul; ORCID no: 0000-0003-1557-7948

Nihat Akın; ORCID no: 0000-0002-0966-1126

GİRİŞ

Ekşi hamur ekmeği bilinen en eski ekmek üretim yöntemlerinden birisidir. Bu üretim tekniğinde ekmeğe mayası olarak, saf starter kültürlerle veya spontan fermantasyonla laktik asit ve maya fermantasyonuna tabi tutulmuş ekşi hamur kullanılmaktadır. Ekşi hamur ekmeği, fermantasyon ile ortaya çıkan mikrobiyal metabolitler sayesinde besinsel olarak zenginleşmektedir. Son yıllarda ekşi hamur ekmeğine olan bilimsel ve teknolojik ilgi hızla artmaktadır. Ekşi hamur ekmeği, yalnızca *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak üretilen ticari beyaz ekmekle kıyaslandığında içeriğindeki antifungal bileşenler ve yüksek asitlik nedeniyle daha uzun raf ömrüne sahip olmakta ve aromatik bileşenler açısından zengin olduğundan duyuşal olarak daha fazla beğenilmektedir (Siepmann vd., 2018).

Ekşi hamur fermantasyonu sırasında LAB ve maya aktivitesi sonucu birçok kimyasal reaksiyon aynı anda gerçekleşmekte ve besin bileşenleri değişime uğramaktadır. Fermantasyon sırasında üretilen organik asit ve ekzopolisakkaritler sayesinde ekmeğin tekstürel özellikleri gelişmekte ve fiziksel-mikrobiyolojik raf ömrü uzamaktadır. Ekzopolisakkarit türevi bileşikler, hamurun viskoelastik özelliklerini geliştirmekte, ekmek hacmini artırmakta, ekmek içi sertliğini azaltmakta ve bu yolla ekmeğin bayatlamasını geciktirmektedir (Torrieri vd., 2014). Corsetti vd. (2000) ekşi hamur içeren ekmek örneklerinin nişasta retrogradasyon oranının, içermeyen kontrol örneklerine göre daha az olduğunu rapor etmiştir. Tüm bunlara ilaveten ekşi hamur fermantasyonu ile birlikte minör gıda bileşenlerinin miktarında da artış olduğu rapor edilmektedir (Clement vd., 2018; Heitmann vd., 2018; Koistinen vd., 2018). Tüm bunlara ilaveten ekşi hamur fermantasyonu ile hassas bağırsak sendromuna (Irritable Bowel Syndrome, IBS) sebep olan FODMAP (fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, and polyols) seviyesi de azaltılmaktadır (Loponen ve Ganzle, 2018).

Ekşi hamur fermantasyonu, LAB ve mayaların ko-fermantasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Ekşi

hamur mikroflorasında 50 farklı LAB ve 20 farklı maya türü izole edilmiş olup LAB olarak *Lactobacillus* ve maya olarak ise *Saccharomyces* ve *Candida*'nın baskın olduğu rapor edilmiştir (De Vuyst ve Neysens, 2005). Ekşi hamur fermantasyonunda LAB ve mayaların fermentatif aktivitesinin artırılması ve mikrofloranın zenginleştirilmesi için farklı formülasyonlar kullanılabilmektedir. Gaglio vd. (2020) *Lactobacillus b. sanfranciscensis*/*Leuconostoc citreum*/*Weissella cibaria* karışık kültürü ile hazırladıkları ekşi hamur formülasyonuna çam fıstığı tozu ilave ederek kültürlerin fermentatif etkisini arttırmayı amaçlamışlardır. Saa vd. (2018) ekşi hamur fermantasyonunda süt ve sarı olum olmak üzere iki farklı zamanda hasat edilmiş olgunlaşmamış tam buğday ununu kullanmışlardır. Nutter vd. (2017) ekşi hamur fermantasyon ortamına farklı oranlarda bal ilave edilmesinin, LAB sayısını ve fermentatif aktiviteyi arttırdığını bildirmişlerdir. Daha önce yürütülen çalışmalardan görüldüğü gibi ekşi hamur ortamına LAB ve maya gelişimini teşvik edici farklı kaynaklardan ikameler yapılabilmektedir. Bu amaçla diyet lif açısından zengin kaynaklar da kullanılabilmektedir. Özellikle suda çözünebilir inülin gibi diyet liflerin, prebiyotik etkileri sayesinde ekşi hamur fermantasyon ortamında mikrobiyal aktiviteyi artırıcı rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Tahıl kepekleri diyet lifçe zengin kaynaklar olup genellikle gıda formülasyonlarında bu amaçla kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda inülin gibi meyve ve sebze kaynaklı diyet lifler, yüksek lif oranı ve fitik asit gibi anti-besinsel faktörleri içermemesi gibi avantajları sayesinde tahıl kepeğine tercih edilmektedir (Garcia-Amezquita vd., 2018). Yer elması önemli bir inülin kaynağıdır. Yer elması köklerinin kuru madde ağırlığının yaklaşık %8-21'i oranında inülin içerdiği bildirilmektedir (Radovanovic vd., 2014; Sirbu ve Arghire, 2017). İnülin içeriğindeki bu varyasyon, yer elmasının yetiştirilmesi sırasında karşılaşılan ekolojik ve genetik farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Puttha vd. 2012). İnülin, β -(2-1) glikozidik bağ ile bağlanmış fruktoz moleküllerinden ve en uçtaki fruktoza α -(1-2) bağıyla bağlı tek bir glukoz biriminden oluşmuş

bir karbonhidrat polimeridir (Morris ve Morris, 2012; Rubel vd., 2015). İnülin bu yapı sayesinde üst gastrointestinal sistemde enzimatik sindirime dirençli olup ancak kalın bağırsakta endojen mikroflora tarafından fermente edilebilmektedir (Sirbu ve Arghire, 2017). Prebiyotik etki olarak tanımlanan bu özellik sayesinde inülin, probiyotiklerin ve laktik asit bakterilerinin (LAB) gelişimlerini ve aktivitelerini seçici olarak teşvik edebilmektedir (Oliveira vd., 2012).

Yapılan literatür taramalarında ekşi hamur fermantasyonunda diyet lif ilavesinin, LAB aktivitesi üzerine etkisinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma tespit edilmiştir. Ayrıca inüline zengin bir kaynak olan yer elması tozunun ekşi hamur fermantasyonunda kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada ekşi hamur formülasyonuna farklı oranlarda yer elması tozu (%5, 10, 15 ve 20) ilave edilmesi ve fermantasyon sırasında LAB sayısı, pH, titrasyon asitliği ve indirgen şeker miktarının 48 saatlik süre boyunca takip edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Araştırmada kullanılan yer elması, Konya'da yerel bir üreticiden herhangi bir ön işlem görmemiş şekilde temin edilmiş olup 2019 yılı hasadına aittir. Yer elması örnekleri yıkandıktan ve kabukları soyulduktan sonra dilimlenerek döner tepsili kurutma cihazında (Eksis, Konya, Türkiye) 50°C'de nem içeriği %5'in altına düşene kadar kurutulmuştur. Kurutulan yer elması dilimleri laboratuvar tipi diskli değirmen (Mill 120, Perten, İsviçre) kullanılarak 250 µm büyüklüğüne kadar öğütülmüştür.

Ekşi hamur fermantasyonunda ekmeklik un (Hekimoğlu, Konya) kullanılmış olup analizlerde kullanılacak genel kimyasal malzemeler Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

LAB kültürlerinin hazırlanışı

Ekşi hamur fermantasyonunda kullanılan izolat LAB kültürleri (*Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* ve *Lactobacillus rhamnosus*) Bayburt Üniversitesi, Gıda

Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir. LAB, önceden sterilize edilerek oda sıcaklığına kadar soğutulmuş 50 mL MRS Broth (de Man Rogosa Sharp, Merck, Almanya) besiyeri içerisinde ayrı ayrı olarak 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda hücre peletleri iki kez steril ringer çözeltisi ile yıkandıktan sonra steril %20'lik gliserol çözeltisi (Merck, Almanya) içerisinde -18°C'de ekşi hamur fermantasyonuna kadar bekletilmiştir.

Ekşi hamur fermantasyonuBu amaçla 100 g ekmeklik beyaz un, 100 mL iyi kalitede içme suyu ile karıştırılmıştır. Fermantasyon ortamı içerisine, un ağırlığının %5, %10, %15 ve %20'si oranında yer elması tozu ilave edilmiştir. Hazırlanan karışımlara her bir LAB kültüründen 0.2 mL inoküle edilmiş, karışımlar steril bir kaşık yardımıyla aseptik koşullarda karıştırıldıktan sonra 30°C'de 48 saat fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon sırasında 0., 24. ve 48. saatlerde aseptik koşullarda örnekleme yapılmış ve alınan ekşi hamur örneklerinde toplam LAB, pH, titrasyon asitliği ve indirgen şeker analizi gerçekleştirilmiştir.

Hammadde temel bileşen analizleri

Ekmeklik un ve yer elması tozu örneklerinin nem (Metod no: 44-15.02), kül (Metod no: 08-01.01), protein (Metod no: 46-12.01), ham yağ (Metod no: 30.10.01) ve toplam diyet lif (Metod no: 32-07.01) içeriği AACC Standart metodları kullanılarak belirlenmiştir (AACC, 2000).

Toplam LAB sayısı

Aseptik koşullarda alınan 10 g örnek 90 mL steril ringer solüsyonu ile homojen bir şekilde karıştırılarak ilk dilüsyon hazırlanmıştır. Diğer örnek dilüsyonları, ilk dilüsyonun 10 kat oranında seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. Toplam LAB sayımında besiyeri olarak 10 mg/L oranında sikloheksimid ilave edilmiş MRS agar kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan ekim yapılan petriler, 37°C'de 48 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakıldıktan sonra sayım yapılmıştır (Nutter vd., 2017).

pH ve toplam titrasyon asitliği analizi

5 g ekşi hamur örneği tartılıp üzerine 25 mL saf su ilave edilerek homojenize edilmiştir. Örneğin pH değeri, pH metre (WTW, Weilheim, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Toplam titrasyon asitliği ise pH ölçümü için homojenize edilen örneklerin fenol fitalein indikatörlüğünde, 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmesi sonucu belirlenmiştir. Toplam titrasyon asitliği değeri laktik asit eşdeğeri kullanılarak % olarak hesaplanmıştır (Metot no: 02-31.01; AACC, 2000).

İndirgen şeker analizi

0.1 g ekşi hamur örneği üzerine 3.9 mL saf su ve 0.08 mL HCl ilave edilerek örnek homojenize edilmiş ve 90 °C'de 10 dk bekletilerek inversiyon sağlanmıştır. Süre sonunda örnek üzerine, 0.2 mL 5 N KOH ilave edilerek rekasyon durdurulmuş ve örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. 3 mL örnek üzerine 3 mL DNS çözeltisi (%1 dinitro salisilik asit, %0.05 sodyum sülfat, %1 sodyum hidroksit) ilave edilerek 90 °C'de 15 dk bekletilmiştir. Süre sonunda örnek tüpü içerisine 1 mL %40'luk potasyum sodyum tartarat çözeltisi ilave edilmiş ve örnek absorbanları 574 nm dalga boyunda spektrofotometrede (OPTIZEN™, Daejeon, Kore) ölçülmüştür. İndirgen şeker miktarı ise 0, 0.5, 1, 2.5, 5 ve 10 g/kg konsantrasyonunda hazırlanan glukoz standardına ait kurvenin eğimi kullanılarak hesaplanmıştır (Ai vd., 2015).

İstatistiksel analizler

Ekşi hamur fermantasyonu iki tekerrürlü ve analizler ise iki paralel halinde yapılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen verilere varyans analizi ve önemli bulunan faktörlere ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar SAS istatistik programı ile gerçekleştirilmiş olup değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde düzenlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Ham madde bileşen kompozisyonu

Yer elması tozu ve un örneklerine ait temel kimyasal bileşenlerin miktarı Çizelge 1'de sunulmuştur. Hammaddeler arasında en önemli fark diyet lif içeriğinde ortaya çıkmıştır. Un örneğinin diyet lif içeriği %2.50 düzeyinde tespit edilirken bu oran yer elması tozunda %23.99 olarak belirlenmiştir. Yer elması tozunun tespit edilen çözünebilir diyet lif içeriği %14.96 ve çözünmeyen diyet lif içeriği ise %9.02'dir. Bu durum, yer elmasının oldukça yüksek oranda diyet lif olarak sınıflandırılan inülin bileşenini içermesinden kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda yer elması yumrularının karbonhidrat içeriğinin yaklaşık %80'inin inülininden oluştuğu rapor edilmiştir (Barta ve Patkai, 2007). Ayrıca yer elmasının en önemli inülin kaynağı olduğu bildirilmekte olup kuru ağırlığın yaklaşık %8-21'inin inülininden oluştuğu bildirilmektedir (Radovanovic vd., 2014; Sirbu ve Arghire, 2017).

Çizelge 1. Buğday unu ve yer elması tozunun kimyasal kompozisyonu (N=2, \pm std hata)

Table 1. Chemical composition of wheat flour and Jerusalem artichoke (N=2, \pm std error)

Örnek Sample	Nem (%) Moisture (%)	Kül (%) Ash (%)	Protein (%) Protein (%)	Yağ (%) Fat (%)	Diyet lif (%) Dietary fiber (%)
Un	13.11 \pm 0.01	0.51 \pm 0.01	13.99 \pm 0.44	1.19 \pm 0.01	2.50 \pm 0.01
Yer elması	4.66 \pm 0.17	5.54 \pm 0.10	5.47 \pm 0.15	0.40 \pm 0.01	23.99 \pm 0.11

Yer elması tozunun üretimi sırasında uygulanan kurutma nedeniyle nem içeriği, un örneğinin nem içeriğinden daha düşük olarak belirlenmiştir. Yer elması tozu örneklerinin kül içeriği un örneğinin kül içeriğinden yaklaşık 11 kat daha fazla olarak tespit edilmiştir. Yer elması örneklerinin ham protein miktarı ise, un örneğinden daha düşüktür.

Protein içeriği ile benzer bir şekilde yer elması tozunun ham yağ miktarı, un örneği ile kıyaslandığında genel olarak daha düşük seviyede tespit edilmiştir.

YET ilavesinin ve fermantasyon süresinin ekşi hamur örneklerinin toplam LAB sayısı üzerine etkisi

Farklı oranlarda yer elması tozu ile yapılan ikamenin ekşi hamur örneklerinin toplam LAB sayısı üzerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde etkili olmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 2). Ekşi hamur fermantasyonda en düşük LAB sayısı 8.04 log kob/g değeri ile yer elması tozu içermeyen kontrol grubunda tespit edilmiştir. En yüksek LAB sayısı ise %10 ve %15 oranında katkı içeren ekşi hamur örneklerinde sırasıyla 8.51 ve 8.45 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Yer elması tozu ilavesi ekşi hamur fermantasyon ortamının LAB sayısını arttırmakla birlikte artan oranları (%20) negatif etkiye neden olmuştur. Bu durumun, belli bir seviyeye kadar yer elması içeriğindeki prebiyotik

etkili bileşenlerin LAB gelişimini teşvik etmesi ancak bu sınırın üzerinde, içeriğindeki yüksek mineral kompozisyonu gibi faktörlerin antagonistik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan yer elması tozu geleneksel beyaz un ile karşılaştırıldığında yaklaşık 10 kat daha fazla toplam kül içeriğine sahiptir. Dimitrovski vd. (2016) sinbiyotik özellikle fermente yeni bir içecek üretmeyi amaçladıkları çalışmalarında yer elması suyunu ve probiyotik *L. plantarum* kültürünü kullanmışlardır. Bu çalışmada yer elması suyunun herhangi bir enzimatik ön işleme gerek duymaksızın *L. plantarum* gelişimini destekleyici etki gösterdiğini ve bu durumun ise yer elmasının yüksek fruktooligosakkarit içeriğine sahip olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Çizelge 2. Farklı oranlarda yer elması tozu ilave edilerek üretilen ekşi hamur örneklerinin toplam LAB sayısı, pH, titrasyon asitliği ve indirgen şeker içeriği (ortalama \pm standart hata)

Table 2. Total LAB count, pH, titration acidity and reducing sugar content of sourdough samples utilized by different ratios of Jerusalem artichoke powder (mean \pm error)

YET JAP	N	Toplam LAB sayısı (log kob/g) Total LAB count (log CFU/g)	pH pH	Titrasyon asitliği (%) Titration acidity (%)	Toplam indirgen şeker içeriği (g/kg) Total Reducing sugar content (g/kg)
%0	6	8.04 \pm 0.51 ^b	4.74 \pm 0.50 ^c	0.48 \pm 0.11 ^b	83.75 \pm 4.23 ^d
%5	6	8.40 \pm 0.51 ^{ba}	4.80 \pm 0.48 ^{bc}	0.56 \pm 0.11 ^{ba}	97.15 \pm 6.14 ^{dc}
%10	6	8.51 \pm 0.53 ^a	4.86 \pm 0.46 ^b	0.52 \pm 0.10 ^{ba}	109.55 \pm 5.71 ^{bc}
%15	6	8.45 \pm 0.49 ^a	4.91 \pm 0.43 ^{ba}	0.58 \pm 0.13 ^a	119.38 \pm 2.14 ^{ba}
%20	6	8.38 \pm 0.51 ^{ba}	5.00 \pm 0.41 ^a	0.56 \pm 0.11 ^{ba}	136.38 \pm 7.31 ^a
Fermantasyon süresi (saat) Fermentation time (hour)					
Başlangıç	10	6.77 \pm 0.06 ^b	6.26 \pm 0.01 ^a	0.24 \pm 0.02 ^c	106.03 \pm 8.01 ^a
24	10	9.14 \pm 0.14 ^a	4.44 \pm 0.06 ^b	0.53 \pm 0.02 ^b	113.74 \pm 7.01 ^a
48	10	9.15 \pm 0.06 ^a	3.88 \pm 0.04 ^c	0.85 \pm 0.03 ^a	107.95 \pm 6.66 ^a

YET; yer elması tozu

JAP; Jerusalem artichoke powder

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade etmektedir ($p<0.05$)

Different letters in same column statistical significance ($p<0.05$)

Fermantasyon süresi, ekşi hamur örneklerinin toplam LAB sayısı üzerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde etkili olmuştur ($P<0.05$). Fermantasyonun ilk periyodunda (0-24 s), LAB sayısı dikkate değer bir artış göstererek tüm ekşi hamur örneklerinde ortalama olarak 6.77 log kob/g değerinden 9.14 log kob/g değerine

ulaşmıştır. Fermantasyonun ikinci periyodu değerlendirildiğinde ise (24-48 s), LAB sayısının yükseliş trendini kaybettiği ve 9.15 log kob/g seviyesinde kaldığı görülmektedir. Elde edilen veriler daha önce gerçekleştirilen çalışmalar ile uyumlu olup ekşi hamur fermantasyonunda LAB sayısı genellikle benzer seviyelerde tespit

edilmektedir. Sterr vd. (2009) spontan fermantasyon ile yürüttükleri ekşi hamur çalışmasında 10 günlük fermantasyon süresi boyunca örneklerin toplam LAB sayısının 10^9 - 10^{10} kob/g seviyesinde olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışma sonuçlarından %15 oranına kadar yapılan yer elması tozu ikamesinin ekşi hamur fermantasyonu sırasında LAB'nin gelişimini teşvik ettiği ve fermantasyon için istenilen sayıya 24 saat içerisinde ulaşabildiği anlaşılmaktadır.

YET ilavesinin ve fermantasyon süresinin ekşi hamur örneklerinin pH içeriği ve titrasyon asitliği üzerine etkisi

Ekşi hamur örneklerinin pH ve titrasyon asitliğindeki değişime ait veriler Çizelge 2'de verilmiştir. Ekşi hamur örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerine yer elması tozu ilavesinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Ekşi hamur örneklerinin fermantasyon süresince tüm örneklerde elde edilen en yüksek ortalama pH değeri olan 5.00, %20 yer elması tozu içeren ekşi hamur örneğinde tespit edilmiştir. Bu durum açıkça ortaya koymaktadır ki örneklerin pH değeri, LAB aktivitesinden çok yer elması tozu katkısından etkilenmiş ve yer elması tozu asit oluşumunu baskılayıcı rol oynamıştır. Bu durumun temel nedeninin yer elmasında bulunan bazik karakterli bileşiklerin pH arttırıcı etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Rakhimov et al. (2014) yer elması yumrusunun bazik karakterli bir amino asit olan lizin içeriğinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Benzer bir sonuç Cankurtaran vd. (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada da tespit edilmiş olup tarhana örneklerinde en yüksek pH değerini %20 oranında yer elması tozu içeren formülasyonda bildirmişlerdir. Diğer taraftan 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca LAB aktivitesi sonucu örneklerin pH değeri 6.26 değerinden 3.88 değerine azalmıştır. Tespit edilen ekşi hamur pH değerleri daha önce yürütülen çalışmalar ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Bartkiene vd. (2013) lupin unundan hazırladıkları ekşi hamurlarda pH değerini 4.13 olarak rapor etmişlerdir. Daha önce gerçekleştirmiş olduğumuz bir çalışmada ise olgunlaşmamış

buğday içeren ekşi hamur örneklerinin pH değerinin 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda 6.57 değerinden 3.50 değerine düştüğü tespit edilmiştir (Çetin-Babaoğlu vd., 2020).

pH verilerinin aksine titrasyon asitliği analizinde elde edilen veriler, LAB sayısı ile uyum göstermektedir. Fermantasyon süresince en yüksek titrasyon asitliği değeri %0.58 ile %15 yer elması tozu içeren ekşi hamur örneklerinde ve en düşük değer ise %0.48 ile kontrol örneğinde elde edilmiştir. Fermantasyon süresi boyunca fermentatif aktivite nedeniyle titrasyon asitliği %0.24 değerinden %85 değerine artış göstermiştir. Titrasyon asitliğinde meydana gelen bu artış LAB'nin metabolit olarak ürettiği organik asitlerden kaynaklanmaktadır. Ekşi hamur fermantasyonu sırasında LAB tarafından üretilen temel organik asitler, laktik ve asetik asittir (Poutanen vd. 2009). Ekşi hamur ekmeğinin en önemli özelliklerinden birisi sağladığı asidik-ekşimsi tattır. Bu nedenle ekşi hamur fermantasyonu sırasında titrasyon asitliğinin yükselmesi beklenmektedir. Üretilen organik asitler sayesinde ekmeğin asitlik değeri artarak mikrobiyal bozulmalara karşı korunmakta ve böylece raf ömrü artmaktadır. Daha önce yürütülen çalışmalarda da ekşi hamur fermantasyonu sırasında titrasyon asitliği değerlerinde önemli artışlar kaydedilmiştir. Çetin-Babaoğlu vd. (2020) ekşi hamur fermantasyonu sırasında örneklerin titrasyon asitliğinin 48 saatlik periyotta yaklaşık 8 kat arttığını bildirmiştir.

YET ilavesinin ve fermantasyon süresinin ekşi hamur örneklerinin indirgen şeker içeriği üzerine etkisi

Yer elması tozu ilavesinin ekşi hamur örneklerinin indirgen şeker içeriğinde meydana getirdiği değişim Çizelge 2'de verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarına göre yer elması tozu ilave oranının, ekşi hamur örneklerinin indirgen şeker içeriği üzerine istatistiksel olarak önemli düzeyde etkisinin olduğu ($p<0.01$), buna karşın fermantasyon süresinin ise herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

pH analizinde elde edilen sonuçlar ile benzer şekilde, örneklerin indirgen şeker içeriğinde

meydana gelen değişim LAB aktivitesinden çok yer elması tozu ilavesi ile şekillenmiştir. Bu durumun nedeni ise yer elmasının önemli bir inülin ve fruktan kaynağı olmasıdır (Barta ve Patkai, 2007). Bu anlamda en düşük indirgen şeker içeriği yer elması tozu içermeyen kontrol örneğinde, en yüksek değer ise %20 yer elması tozu içeren ekşi hamur örneğinde belirlenmiştir. Barta ve Patkai, (2007) yer elmasının indirgen şeker içeriğini %3-6 olarak rapor etmiştir. Fermantasyon süresi boyunca örneklerin indirgen şeker içeriğinde dikkate değer bir artış veya azalış gerçekleşmemiştir. LAB ve mayalar fermantasyon sırasında karbon kaynağı olarak ortamdaki şekerleri kullanmakta ve böylelikle gelişerek farklı metabolitler üretmektedirler. Marti vd. (2014) ekşi hamur fermantasyonu sırasında sukroz ve rafinoz miktarının LAB aktivitesi sonucu azaldığını bildirmiştir. Rizzello vd. (2010) ise buğday rüşeyminin spontan fermantasyonu sırasında arabinoz, fruktoz, glikoz, maltoz ve rafinoz içeriğinde azalma olduğunu rapor etmiştir. Mevcut çalışmada beklenenin aksine ortaya çıkan bu durumda mikrobiyal aktivite sonucunda fermente edilen şeker miktarı ve yer elmasından gelen yüksek indirgen şeker içeriğinin birbirini dengelemesinin etkili olduğu düşünülmektedir. Yer elmasının yüksek oranda serbest şeker içerdiği daha önce yürütülen çalışmalarda da ortaya konulmuştur. Yapılan bir çalışmada beş farklı yer elması çeşidinin 70-90 g/kg fruktoz ve 10-30 g/kg glikoz içerdiği bildirilmiştir (Barta ve Patkai, 2007).

SONUÇLAR

Bu çalışma ile inulin açısından zengin bir kaynak olan yer elması tozunun ekşi hamur fermantasyonunda kullanım imkanları araştırılmıştır. Sonuç olarak ekşi hamur fermantasyon ortamına %15 oranına kadar yer elması tozu ilavesinin laktik asit bakterilerinin fermentatif etkisini arttırıcı bir rol oynadığı ancak bu oranın üzerinde yapılan ilavenin LAB gelişimini negatif olarak etkilediği tespit edilmiştir. Ayrıca yer elması tozu ilavesi ile birlikte artan LAB aktivitesi sayesinde ekşi hamur fermantasyonunda arzu edilen asitlik değerlerine 48 saat yerine 24 saatte ulaşılabilirdiği ve böylece fermantasyon süresinin kısaltılabildiği belirlenmiştir. Bu çalışma

ile yer elması tozunun ekşi hamur fermantasyonunda kullanılabilirliği ortaya konulmuştur. Mevcut araştırma ile prebiyotik bileşenlerce zengin bitkisel kaynaklar kullanılarak ekşi hamur fermantasyonunda rol alan LAB ve mayaların fermentatif aktivitesinin artırılabilirdiği belirlenmiştir. Tüm bunlara ilaveten önemli bir diyet lif kaynağı olan ancak sınırlı tüketim oranına sahip yer elmasının, toz forma getirildikten sonra ekşi hamur ekmeğine ikame edilerek değerlendirilebileceği de ortaya konulmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya verdikleri destek nedeniyle Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu'na (Proje no: 119O134) ve bakteri kültürlerinin teminini sağlayan Doç. Dr. Enes Dertli'ye teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATISMASI BEYANI

Bu makalede yazarların, diğer kişilerin ve kurumların arasında herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan ederiz.

YAZAR KATKILARI

Hümeysra Çetin Babaoğlu ve Sultan Arslan Tontul çalışmayı gerçekleştirmiş ve makale haline dönüştürmüştür. Nihat Akın ise makaleyi okuyarak son kontrollerini gerçekleştirmiştir. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

- AACC. (2000). Metod no: 44-15.02, Metod no: 08-01.01, Metod no: 46-12.01, Metod no: 30.10.01, Metod no: 32-07.01. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, Inc, St.
- Ai, J., Li, A.L., Su, B.X., Meng, X.C. (2015). Multi-cereal beverage fermented by *Lactobacillus helveticus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Food Sci*, 80(6): 1259-1265, doi: 10.1111/1750-3841.12859
- Barta, J., Patkai, GY. (2007). Chemical composition and storability of Jerusalem artichoke tubers. *Acta Aliment*, 36 (2): 257-267, doi: doi.org/10.1556/aalim.36.2007.2.13
- Bartkiene, E., Schleining, G., Rekstyte, T., Krungleviciute, V., Juodeikiene, G., Vaiciulyte-Funk, L., Maknickiene, Z. (2013). Influence of the

- addition of lupin sourdough with different lactobacilli on dough properties and bread quality. *Int J Food Sci Technol*, 48: 2613-2620, doi: 10.1111/ijfs.12257
- Cankurtaran, T., Ceylan, H., Bilgicli, N. (2020). Effect of partial replacement of wheat flour by taro and Jerusalem artichoke flours on chemical and sensory properties of tarhana soup. *J. Food Proces Preserv*, 44: e14826, doi: 10.1111/jfpp.14826
- Cetin-Babaoğlu, H., Arslan-Tontul, S., Akin, N. (2020). Effect of immature wheat flour on nutritional and technological quality of sourdough bread. *J Cereal Sci*, doi: 10.1016/j.jcs.2020.103000
- Clement, H., Prost, C., Chiron, H., Ducasse, M. B., Della Valle, G., Courcoux, P., Onno, B., (2018). The effect of organic wheat flour by-products on sourdough performances assessed by a multi-criteria approach. *Food Res Int*, 106: 974-981, doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.053
- Corsetti, A., Gobetti, M., De Marco, B., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., Rossi, J. (2000). Combined effect of sourdough lactic acid bacteria and additives on bread firmness and staling. *J Agr Food Chem*, 48: 3044-3051, doi: 10.1021/jf990853e
- De Vuyst, L., Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trend Food Sci Technol*, 16: 43-56, doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012
- Dimitrovski, D., Velickova, E., Dimitrovska, M., Langerholc, T., Winkelhausen, E. (2016). Synbiotic functional drink from Jerusalem artichoke juice fermented by probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS26. *J Food Sci Technol*, 53(1):766-774, doi: 10.1007/s13197-015-2064-0
- Gaglio, R., Alfonzo, A., Barbera, M., Franciosi, E., Francesca, N., Moschetti, G., Settanni, L. (2020). Persistence of a mixed lactic acid bacterial starter culture during lysine fortification of sourdough breads by addition of pistachio powder. *Food Microbiol*, 86: 103349, doi: 10.1016/j.fm.2019.103349
- Garcia-Amezquita, L.E., Tejada-Ortigoza, V., Serna-Saldivar, S.O., Welti-Chanes, J. (2018). Dietary fiber concentrates from fruit and vegetable by-products: processing, modification, and application as functional ingredients. *Food Bioprocess Technol*, 11: 1439-1463, doi: 10.1007/s11947-018-2117-2
- Heitmann, M., Zannini, E., Arendt, E. (2018). Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: A review. *Cri Rev Food Sci Nutr*, 58(7): 1152-1164, doi: 10.1080/10408398.2016.1244153
- Koistinen, V. M., Mattila, O., Katina, K., Poutanen, K., Aura, A. M., Hanhineva, K. (2018). Metabolic profiling of sourdough fermented wheat and rye bread. *Sci Rep*, 8:1-11, doi: 10.1038/s41598-018-24149-w
- Loponen, J., Ganzle, M.G. (2018). Use of Sourdough in Low FODMAP Baking foods, *Foods*, 7:1-12, doi:10.3390/foods7070096
- Marti, A., Torri, L., Casiraghi, M.C., Franzetti, L., Limbo, S., Morandin, F., Quaglia, L., Pagani, M.A. (2014). Wheat germ stabilization by heat-treatment or sourdough fermentation: Effects on dough rheology and bread properties. *Food Sci Technol*, 59: 1100-1106, doi: 10.1016/j.lwt.2014.06.039
- Morris, C., Morris, G.A. (2012). The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food Chem*, 133: 237-248, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.027
- Nutter, J., Fritz, R., Saiz, A. I., Iurlina, M. O. (2017). Effect of honey supplementation on sourdough: Lactic acid bacterial performance and gluten microstructure. *Food Sci Technol*, 77: 119-125, doi: 10.1016/j.lwt.2016.11.040
- Oliveira, R.P.S., Perego, P., Oliveira, M.N., Converti, A. (2012). Effect of inulin on the growth and metabolism of a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Sci Technol*, 47(2): 358-363, doi: 10.1016/j.lwt.2012.01.031
- Poutanen, K., Flander, L., Katina, K. (2009). Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiol*, 26: 693-699, doi: 10.1016/j.fm.2009.07.011

- Puttha, P., Jogloy, S., Wangsomnuk, P.P., Srijaranai, S., Kesmala, T., Patanothai, A. (2012). Genotypic variability and genotype by environment interactions for inulin content of Jerusalem artichoke germplasm. *Euphytica*, 183: 119–131, doi: 10.1007/s10681-011-0520-0
- Radovanovic, A.M., Milovanovic, O.Z., Kipic, M.Z., Ninkovic, M.B., Cupara, S.M. (2014). Characterization of Bread Enriched with Jerusalem Artichoke Powder Content. *J Food Nutr Res*, 12: 895-898, doi: :10.12691/jfnr-2-12-6
- Rakhimov, D. A., Zhauynbaeva, K. S., Mezhlumyan, L. G., Salikhov, S. A. (2014). Carbonhydrates and Proteins from *Helianthus tuberosus*. *Chem Nat Comp*, 50: 344-345.
- Rizzello, C. G., Nionelli, L., Coda, R., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2010). Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chem*, 119: 1079–1089, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.08.016
- Rubel, I.A., Perez, E.E., Manrique, G.D., Genovese, D.B. (2015). Fibre enrichment of wheat bread with Jerusalem artichoke inulin: Effect on dough rheology and bread quality. *Food Struct*, 3:21-29, doi: 10.1016/j.foostr.2014.11.001
- Saa, D. T., Silvestro, R. D., Dinelli, G., Gianotti, A. (2018). Effect of sourdough fermentation and baking process severity on dietary fibre and phenolic compounds of immature wheat flour bread. *Food Sci Technol*, 83: 26-32, doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.071
- Siepmann, F. B., Ripari, V., Waszczynskyj, N., Spier, M. R. (2018). Overview of Sourdough Technology: from Production to Marketing. *Food Bioprocess Technol*, 11(2): 242-270, doi: 10.1007/s11947-017-1968-2
- Sirbu, A., Arghire, C. (2017). Functional bread: Effect of inulin-type products addition on dough rheology and bread quality. *J Cereal Sci*, 75: 220-227, doi: 10.1016/j.jcs.2017.03.029
- Sterr, Y., Weiss, A., Schmidt, H. (2009). Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth. *Int J Food Microbiol*, 136: 75-82, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.006
- Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *Food Sci Technol*, 56: 508-516, doi: 10.1016/j.lwt.2013.12.005.

**KAYSERİ BÖLGESİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN VE KÜLTÜRE EDİLEN
TIBBİ MANTARLARIN TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİKLERİNİN,
ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİNİN VE ERİTADENİN BİLEŞİĞİNİN
BELİRLENMESİ**

Murat Kaya^{1*}, Serap Berktaş¹, Neşe Adanacioğlu², Mustafa Çam¹

¹Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri, Türkiye

²Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 02.01.2021; Kabul / Accepted: 02.03.2021; Online baskı / Published online: 15.03.2021

Kaya, M., Berktaş, S., Adanacioğlu, N., Çam, M.. (2021). Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen ve kültüre edilen tıbbi mantarların toplam fenolik madde içeriklerinin, antioksidan aktivitelerinin ve eritadenin bileşiminin belirlenmesi. *GIDA* (2021) 46(2) 376-395 doi: 10.15237/gida. GD21007.

Kaya, M., Berktaş, S., Adanacioğlu, N., Çam, M.. (2021). Determination of total phenolic content, antioxidant activity and eritadenine compound of wild mushrooms in Kayseri region and cultivated medicinal mushrooms. *GIDA* (2021) 46(2) 376-395 doi: 10.15237/gida. GD21007.

ÖZ

Bu çalışmada Kayseri’de yetişen 39 ve kültüre edilen 6 tıbbi mantar türünün antioksidan kapasiteleri (AO), fenolik madde miktarları (TFM) ve kolesterol düşürücü özellikteki eritadenin bileşiminin (EA) varlığı araştırılmıştır. TFM açısından ilk iki sıradaki mantarlar *Suillus luteus* (2150 mg GAE/100 g) ve *Agaricus sp.* (1776 mg GAE/100 g)’dır. AO açısından ilk iki sıradaki mantarlar (ABTS yöntemiyle) *Suillus luteus* (2211 mg TE/100 g) ve *Agrocybe aegerita* (1981 mg TE/100 g), (DPPH yöntemiyle) *Leucopaxillus sp.* (1651 mg TE/100 g), *Lentinula edodes* (984 mg TE/100 g) ve *Agaricus bernardii* (983 mg TE/100 g) mantarlarıdır (P <0.005). EA gözlenebilirlik sınırı (LOD) 0.0002 mg/L, tayin sınırı (LOQ) 0.00066 mg/L olarak hesaplanmıştır. Çeşitli mantar türlerinde bulunduğu literatürde bildirilen EA, çalışmamızda şitake mantarında (3338 mg/kg) belirlenmiş, diğer 44 mantar türünde ise belirlenmemiştir. Temel bileşen analiziyle 4 değişkenin 45 mantar üzerindeki etkisi incelenmiş, toplam varyansın %78.89’luk kısmının iki temel bileşence açıklandığı görülmüştür. Mantarların ürün geliştirme çalışmalarında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Tıbbi mantarlar, eritadenin, RP-HPLC, LOD, temel bileşen analizi

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ERITADENINE COMPOUND OF WILD MUSHROOMS IN KAYSERİ REGION AND CULTIVATED MEDICINAL MUSHROOMS

ABSTRACT

In this study, AO, TPC and presence of EA compound of 39 wild mushrooms in Kayseri region and 6 medicinal mushrooms were investigated. The highest TPC was obtained from *Suillus luteus* and *Agaricus sp.* 2150, 1776 mg GAE/100 g, respectively. In terms of the AO, *Suillus luteus* and *Agrocybe*

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: mkaya75@gmail.com,

☎: (+90) 352 338 214 4

☎: (+90) 352 338 0771

Murat Kaya; ORCID no: 0000-0002-3181-2517

Serap Berktaş; ORCID no: 0000-0002-5195-0685

Neşe Adanacioğlu; ORCID no: 0000-0001-9009-8635

Mustafa Çam; ORCID no: 0000-0003-1258-0834

aegeiata, were foregrounding with 2211 and 1981 mg TEAC/100 g. LOD and LOQ of EA was calculated as 0.0002 and 0.00066 mg/L, respectively. The presence of EA in various mushrooms was reported in the literature, it was found only in shitake mushroom in this study, EA was not detected in others. The effect of 4 variables on 45 mushrooms was examined by Principal Component Analysis. As a result, it was determined that 78.89% of the total variance was explained by the first 2 PCs in the whole data set. It was concluded that mushrooms can be used in product development studies.

Keywords: Medicinal mushroom, eritadenine, RP-HPLC, LOD, Principal component analysis

GİRİŞ

Makro ve mikro mantarları kapsayan Fungi aleminde tahminen 1.5 milyon tür olduğu, bu türlerin ise yaklaşık 140000 tanesinin gözle görülebilecek büyüklükte makromantarlardan oluştuğu bilinmektedir (Chan vd, 2009). Mantarlar kendilerine has aromalara sahip olmaları (Pinto, 2008) ve klorofil içermemeleri nedeniyle ışığa ihtiyaç duymaksızın yaşamlarını idame ettirebilme yeteneği ile diğer canlılardan ayrılmaktadır. Mantarlar tarih boyunca insanlığı tarafından gündelik yaşamlarında çeşitli şekillerde değerlendirilmişlerdir. Örneğin, insanlığın mantarları besin maddesi olarak kullanması avcı toplayıcı olduğu tarih öncesi çağlara kadar uzanmaktadır (Pinto, 2008; Pegler, 2002; Wani vd., 2010). Bir besin maddesi olarak tarihte sadece doğadan toplanılarak tüketilen mantarların günümüzde büyük miktarlarda kültüre edildiği ve insan besin zincirinde önemli yere sahip olduğu göze çarpmaktadır. Ayrıca pek çok tıbbi mantar modern tıpta kullanılan ilaçlara alternatif veya destekleyici olarak, geleneksel tıpta da çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde modern tıp tarafından da önemi giderek daha da fazla anlaşılan mantarların Uzakdoğu ülkelerinde binlerce yıldır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Chan vd., 2009). Mantarlar yapılarında önemli aminoasit içeren proteinler, az miktarda lipid, yüksek oranda lif, zengin mineral ve vitaminler bulundurmaktadır. Hayvansal kaynaklı besinlere göre daha az, bitkisel kaynaklı proteinlere göre daha fazla miktarda ve dengeli protein içeren mantarlar yüksek besin değerlerine ilaveten sağlıklı yaşam için önemli olan bazı biyoaktif maddeleri de içermektedir. Şapkalı mantarların antioksidan (Puttaraju vd., 2006; Erdoğan vd., 2017), kolesterol düşürücü (Kaneda ve Tokuda, 1966; Morales vd., 2018), immün sistemi güçlendirici (Kodama vd., 2003; El Enshasy ve

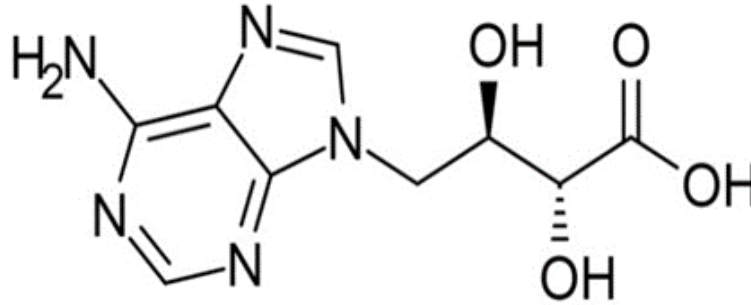
Hatti-Kaul, 2013), antiviral (Doğan vd., 2018), antikanser (Bekçi, 2020; Hetland vd., 2020; Mitra vd., 2020), antimikrobiyal (Bekçi vd., 2011; Kosanić vd., 2012; Eren ve Akyüz, 2018), antialerjik (Hetland vd., 2020), antidiyabetik (Khatun vd., 2007; Khursheed vd., 2020), antiinflamatuvar (Hetland vd., 2020) özellikleri farklı çalışmalarla belirlenmiştir. Ayrıca, *Tricholoma*, *Morchella*, *Fomitopsis*, *Phellinus*, *Ganoderma*, *Fomes*, *Pleurotus*, *Polyporus*, *Poria*, *Coprinus*, *Aleurodiscus* ve *Clitocybe* gibi pek çok mantar türünden de insan sağlığı üzerine faydalı olan biyoaktif bileşikler elde edilmektedir. Mantarlar yapılarında başta β -glukan olmak üzere, polisakkaritler, lentinan, fenolik bileşikler, saponinler, alkaloidler, lovastatin, glikopeptidler ve eritadenin gibi biyoaktif bileşikler bulundurmaktadır. Bulundurdukları bu bileşenlerin sağlık üzerine olumlu etkileri üzerine birçok çalışma ortaya konulmuştur (Wasser, 2002; Rogers, 2006).

Dünyada ve ülkemizde ölüm nedenleri arasında birinci sırada kardiyovasküler hastalıklar yer almaktadır. Kardiyovasküler hastalıklarla kandaki plazma S-adenozil-L-homositin (SAH) seviyesi arasında ilişki olduğu bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur. Moleküler formülü $C_9H_{11}N_5O_4$ olan eritadenin bazı mantar türlerinde bulunduğu rapor edilen, SAH hidrolaz enzimini inhibe ederek hipolipidemik aktivite gösterdiği belirlenen bir bileşiktir (Şekil 1) (Cheung, 2008; Enman vd., 2012; Afrin vd., 2016; Boonsong vd., 2016; Morales vd., 2018). Bununla birlikte angiotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu mekanizması ile de antihipertansif özellik gösterdiği de belirlenmiştir (Enman vd., 2007).

Farklı mantar türlerinin antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalara literatürde sıkça rastlanmaktadır. Ancak Kayseri ilinde doğal olarak

yetişen bazı mantar türlerinin antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içeriği ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Ayrıca, literatürde eritadenin varlığının belirlendiği mantar sayısı (şitake, kültür ve istiridye mantarları) oldukça sınırlıdır (Afrin vd., 2016). İklim koşulları, bitki örtüsü ve rakım gibi coğrafyaya özgü özelliklerin mantarların biyoaktiviteleri üzerinde önemli etkileri olduğu ve literatürde sadece şitake ve birkaç mantar türünde (*Agaricus bisporus* ve *Pleurotus ostreatus*) eritadenin varlığının bildirildiği göz önüne alındığında kolesterol düşürücü etkiye sahip olan bu bileşimin diğer mantar türlerinde de

araştırılması gerektiği düşünölmektedir. Ayrıca, günümüzde sağlıklı gıdalarla beslenme trendinin artmasına paralel olarak doğada kendiliğinden yetişen pek çok mantar türünden elde edilebilecek biyoaktif maddelerin kullanımının giderek artacağı tahmin edilmektedir. Bahsedilen tüm bu gerekçelere dayanarak bu çalışmada, Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen 39 adet makromantarın ve kültüre edilen 6 adet önemli tıbbi mantarın antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılması ve bu mantarlarda kolesterol düşürücü etki gösteren eritadenin bileşiminin belirlenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 1. Eritadenin bileşiminin moleköl yapısı
Figure 1. Molecular structure of eritadenine

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen 39 adet makromantar 2018 yılı mart-ağustos ayları arasında Kayseri ili Yahyalı ilçesi Gökölük Yaylası, Kayseri ili Felahiye ilçesi-Sivas ili Gemerek ilçesi-Yozgat ili Akdağmadeni ilçesi arasında yer alan at Ormanları, Erciyes Dağı amlık bölgesi, Erciyes Dağı Kıranardı Mahallesi Koçdağı Mevkii,

Kayseri ili Melikgazi ilçesi Gesi Mahallesi Vekze Vadisi, Melikgazi ilçesi İldem-Şelale Mevkii, Özvatan ile merkezinden toplanmış, 6 adet kültüre edilmiş tıbbi mantar ise Denizli ilinde faaliyet gösteren Agro Mantarcılık Firmasından temin edilmiştir. Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen mantar türleri ve kültüre edilen tıbbi mantar türleri izelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan kültüre edilen tıbbi ve doğadan toplanan mantar türleri
Table 1. Medicinal and wild mushroom species used in this study

Mantar Kodu Mushroom number	Geleneksel Adı Regional name	Bilimsel Adı Scientific name	Saprofitik/ Mikorizallik Saprophytic/parasitic/mycorrhizalic	Parazitik, Doğal Habitatı Habitat	Lokasyonu Location
1	Şitake mantarı	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Singer	Saprofitik / saprophytic	Ağaç kütüğü/ on log	Üreticiden temin/ from the mushroom producer

Tıbbi mantarların biyoaktif özellikleri

2	Kulak mantarı	<i>Auricularia polytricha</i> (Mont.) Sacc.	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Sıkıştırılmış talaş/ <i>pressed sandust</i>	Üreticiden temin/ <i>from the mushroom producer</i>
3	Hindi kuyruğu mantarı	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Ağaç kütüğü/ <i>on log</i>	Üreticiden temin/ <i>from the mushroom producer</i>
4	Aslan yelesi mantarı	<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Ağaç kütüğü/ <i>on log</i>	Üreticiden temin/ <i>from the mushroom producer</i>
5	Kral mantarı	<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quéf.	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Ağaç kütüğü/ <i>on log</i>	Üreticiden temin/ <i>from the mushroom producer</i>
6	Reishi mantarı	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Parazitik, Saprofitik / <i>parasitic, saprophytic</i>	Geniş ve diken yapraklı ağaç üzeri/ <i>on the broad-leaved tree and coniferous tree</i>	Üreticiden temin/ <i>from the mushroom producer</i>
7	İstiridy mantarı	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Ağaç kütüğü/ <i>on log</i>	Şeker Mevkii / <i>Sugar lake location</i>
8	Mürekkep mantarı	<i>Coprinopsis atramentaria</i> (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Ağaç kütüğü/ <i>on log</i>	Vekse Vadisi / <i>Vekse valley</i>
9	Çakşır mantarı	<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>Ferulae</i> (Lanzj) Sacc.(-)	Mikorizal / <i>mycorrhizal</i>	Çakşır bitkisi kökü ile ortak yaşam / <i>with Ferula communis root</i>	Yahyalı Gökölük Yaylası / <i>Yahyalı Gökölük plateau</i>
10	Kokulu mantar	<i>Leucopaxillus giganteus</i>	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Karakavak kütüğü / <i>Black poplar log</i>	Vekse Vadisi / <i>Vekse valley</i>
11	Kavak mantarı	<i>Agrocybe aegerita</i> (V. Brig.) Singer	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Karakavak kütüğü / <i>Black poplar log</i>	Vekse Vadisi / <i>Vekse valley</i>
12	Sahte kuzugöbeği mantarı	<i>Verpa bohemica</i> (Krombh.) J. Schröt.	Mikorizal / <i>mycorrhizal</i>	Kavak ağacı altı / <i>under the poplar</i>	Erciyes Mevkii / <i>Erciyes Koçdağı location</i>
13	Pösteki mantarı	<i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Pers.	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Çayırılık / <i>meadowy</i>	Erciyes Mevkii / <i>Erciyes Koçdağı location</i>
14	Mürekkep mantarı	<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	Saprofitik / <i>saprophytic</i>	Ağaç kütüğü / <i>on log</i>	Vekse Vadisi / <i>Vekse valley</i>

15	Çakşır mantarı	<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>Ferulae</i> (Lanzj) Sacc-2	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	akşır bitkisi kökü ile ortak yaşam/ <i>with Ferula communis root</i>	Yahyalı Ormanları/ <i>Yahyalı Hacer forest</i>
16	-	<i>Hebella acetabulum</i> (L.) Quél.	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Söğüt ağacı altı/ <i>under the willow tree</i>	Vekse Vadisi/ <i>Vekse valley</i>
17	-	<i>Hebella solitaria</i> (P.Karst.) P.Karst.	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Söğüt ağacı altı/ <i>under the willow tree</i>	Vekse Vadisi/ <i>Vekse valley</i>
18	Kokulu mantar	<i>Leucopaxillus</i> sp.	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	alımsı bitki kökü/ <i>shrub root</i>	Erciyes Kocdağı Mevkü/ <i>Erciyes Kodağı location</i>
19	Kaypak mantar	<i>Stiillus luteus</i> (L.) Roussel	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	am ağacı altı/ <i>under the pine tree</i>	at Ormanı/ <i>at forest</i>
20	Mor bacak mantarı	<i>Lepista personata</i> (Fr.) Cooke	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	ayırılık/ <i>meadowy</i>	Kırımışağı Mahallesi/ <i>Kırımışağı 1 village</i>
21	Kızıl ayır mantarı	<i>Agaricus bernardii</i> Quél.	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	ayırılık/ <i>meadowy</i>	at Ormanı/ <i>at forest</i>
22	-	<i>Stropharia coronilla</i> (Bull.:Fr.) Quél.	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	ayırılık/ <i>meadowy</i>	at Ormanı/ <i>at forest</i>
23	Sahte kanlıca	<i>Paxillus vernalis</i> Watling	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Huş ağacı altı, Çayırılık/ <i>under the birch tree, meadowy</i>	Erciyes Dağı yapay am ormanı/ <i>Erciyes pine forest</i>
24	Kara kız mantarı	<i>Tricholoma terreum</i> (Schaeff.) P. Kumm	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	am ağacı altı / <i>under the pine tree</i>	Erciyes Dağı yapay am ormanı/ <i>Erciyes pine forest</i>
25	-	<i>Hebeloma sinapizans</i> (Fr.) Sacc.	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	am ağacı altı / <i>under the pine tree</i>	Erciyes Dağı yapay am ormanı/ <i>Erciyes pine forest</i>
26	Cincile mantarı	<i>Lepista nuda</i> (Bull.) Cooke	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	am ağacı altı / <i>under the pine tree</i>	at ormanları/ <i>at forest</i>
27	Mal mantarı	<i>Leucopaxillus gentianeus</i> (Quél.) Kotl.	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	am ağacı altı/ <i>under the pine tree</i>	at Ormanı/ <i>at forest</i>
28	ayır mantarı	<i>Agaricus</i> sp.	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	ayırılık/ <i>meadowy</i>	at Ormanı/ <i>at forest</i>
29	Amanita-Köygöçüren mantarı	<i>Amanita argentea</i> Huijman	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	am ağacı altı/ <i>under the pine tree</i>	at Ormanı/ <i>at forest</i>

30	-	<i>Entoloma sp.</i>	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	Çam ağacı altı / <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Erciyes Dağı yapay çam ormanı/ <i>Erciyes</i> <i>pine forest</i>
31	Kızılca çayır mantarı	<i>Agaricus silvaticus</i> <i>Schaeff.</i>	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	Çayırılık/ <i>meadowy</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat</i> <i>forest</i>
32	Kara kız mantarı	<i>Tricholoma terreum</i> <i>(Schaeff.) P. Kumm</i> -2	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı/ <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat forest</i>
33	Kızıl kaypak mantar	<i>Stropharia lurida</i> <i>(Schaeff.) Murrill</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı/ <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Erciyes Dağı Koçdağı Mevkii/ <i>Erciyes Koçdağı</i> <i>location</i>
34	Kara kafa mantarı	<i>Boletus regineus D.</i> <i>Arora & Simonini</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Meşe ağacı altı/ <i>under the</i> <i>oak tree</i>	Erciyes Dağı yapay çam ormanı/ <i>Erciyes</i> <i>pine forest</i>
35	-	<i>Hebeloma</i> <i>sinapizans (Fr.)</i> <i>Sacc</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı/ <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Erciyes Dağı yapay çam ormanı/ <i>Erciyes</i> <i>pine forest</i>
36	Puf mantarı	<i>Calvatia gigantea</i> <i>(Batsch) Lloyd</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çayırılık/ <i>meadowy</i>	Gökoluk yaylası/ <i>Gökoluk</i> <i>plateau</i>
37	Çayır mantarı	<i>Agaricus sp.</i>	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	Çayırılık/ <i>meadowy</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat</i> <i>forest</i>
38	Kanlıca mantarı	<i>Lactarius deliciosus</i> <i>(L.) Gray</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı / <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat forest</i>
39	Küflü mantar	<i>Russula virescens</i> <i>(Schaeff.) Fr.</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı / <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat forest</i>
40	Geyik mantarı	<i>Lactarius volemus</i> <i>(Fr.) Fr.</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı / <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat forest</i>
41	Acı sütlü mantar	<i>Lactarius piperatus</i> <i>(L.) Pers.</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı / <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat forest</i>
42	Çayır mantarı	<i>Agaricus sp.</i>	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	Çayırılık/ <i>meadowy</i>	
43	Kırılğan mantar	<i>Russula sp.</i>	Mikorizal/ <i>mycorrhizal</i>	Çam ağacı altı / <i>under the</i> <i>pine tree</i>	Çat Ormanı/ <i>Çat forest</i>
44	Sarı sakal mantarı	<i>Ramaria sp.</i>	Saprofitik/ <i>saprophytic</i>	Söğüt ağacı gövdesi/ <i>on</i> <i>the willow tree</i>	Vekse Vadisi/ <i>Vekse</i> <i>valley</i>
45	Kav mantarı	<i>Fomes fomentarius</i> <i>(L.) Fr.</i>	Parazitik/ <i>parasitic</i>	Söğüt ağacı gövdesi/ <i>on</i> <i>the willow tree</i>	Vekse Vadisi/ <i>Vekse</i> <i>valley</i>

Toplanan mantarların tür teşhisleri Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Biyoçeşitlilik ve Genetik Kaynakları Bolumu'nde yapılmıştır. Mantar teşhisleri makroskobik ve mikroskobik ölümlerden, morfolojik görünümden elde edilen verilerin ilgili literatür (Smith vd., 1980; Lincoff vd., 1981; Barron, 1999; Laessoe, 2013; Gminder ve Böhning, 2007; Fluck, 2019) ve farklı web sitelerinde (Anonymous, 2021a, 2021b, 2021c) bulunan teşhis anahtarları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Mantarların toprak üstü (şapka ve sap) kısımları yabancı unsurlarından arındırıldıktan sonra 0.5-1 cm boyutlarında kucuk parçalar haline getirilerek 40 Ç'de fanlı etüvde (GEMO, DT104, Türkiye) kurutulmuştur. Kurutmayı takiben karanlıkta ve oda sıcaklığında depolanmıştır. Ekstraksiyon öncesinde öğütme işlemine tabi tutularak partikül boyutu 300 m olacak şekilde elekten geçirilmiştir. Elde edilen örnekler analizlere kadar -18 Ç'de muhafaza edilmiştir.

Kimyasallar

Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler analitik ve kromatografik saflıkta olup temin edildikleri yer ve kodları şu şekildedir: Folin&Ciocalteu reaktifi (1.09001.0500, Merck, Almanya), gallik asit (G7384, Sigma-Aldrich, Almanya), DPPH (D9132, Sigma-Aldrich, Almanya), troloks (238813 Sigma-Aldrich, Danimarka), ABTS (A1888 Sigma-Aldrich, Çin), eritadenin (Q4951, Sigma-Aldrich, Almanya).

Ekstraksiyon

Mantarlardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu Afrin vd. (2016) tarafından uygulanan metotta kısmi modifikasyon yapılmış, ekstraksiyon etanol:su (60:40, v/v) ozucusu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 3 g mantar tozu alınmış ve 100 ml etanol:su (60:40, v/v) ile 7000 rpm'de 5 dk boyunca homojenize edilmiştir (Silverson, L5, İngiltere). Elde edilen homojenizat 7000 rpm'de 15 dk santrifüj (Hitachi, Tokyo, Japonya) edilmiştir. Ekstraksiyon basamakları ikinci kez tekrarlanmış ve filtratlar birleştirilmiştir. Filtrasyonu takiben örnekler 50 mbar basınç altında 40 Ç'de 5 ml'ye konsantre edilerek analizlere kadar -18 Ç'de muhafaza edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı

Mantar ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Folin & Ciocalteu reaktifi kullanılarak belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965; Li vd., 2006). Distile su ile 10 kat seyreltilen Folin-Ciocalteu reaktifi reaksiyon tüplerine alınmıştır. Karışım üzerine seyreltilen ekstraktlardan 100 l eklenmiştir. %7.5' lik Na₂CO₃ ozeltisinden 1.6 mL eklenerek analiz tüpleri 10 saniye karıştırılmış ve reaksiyonun gerçekleşmesi için 1 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Kör ozelti için örnek yerine aynı miktarda distile su kullanılmıştır. Süre sonunda 765 nm dalga boyunda spektrofotometrede (SHIMADZU UV 1800, Japonya) rneklerin absorbands okumaları gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrisi için ise 25-125 mg/L konsantrasyon aralığında gallik asit standart ozeltileri kullanılmıştır. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g olarak verilmiştir.

Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivite iki farklı radikal (DPPH ve ABTS) ile gerçekleştirilmiş ancak sonuçlar aynı birim üzerinden ifade edilmiştir. DPPH radikali ile gerçekleştirilen metot (Brand-Williams, Cuvelier ve Berset, 1995) için 2.5 mg DPPH kimyasalı tartularak 100 mL metanolde ozundurulmuştur. nce hazırlanan bu ozeltiden 3.9 mL tüplere konulmuş, sonra farklı konsantrasyonlarda seyreltilen ekstraktlardan 100 l konulmuştur. Tüpler 10-15 saniye karıştırılarak reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika karanlıkta bir ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol rnekleri için ekstrakt yerine 0.1 mL distile su ve kör ozelti için ise metanol kullanılmıştır. 30 dk inkübasyon süresi sonunda 515 nm dalga boyunda spektrofotometrede örnek okumaları gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan troloks standardı ile standart inhibisyon eğrisi çizilerek elde edilen lineer denklem kullanılarak sonuçlar mg troloks eşdeğeri (TE) /100 g olarak belirtilmiştir.

ABTS radikali kullanılan antioksidan aktivite tayininde de spektrofotometrik metot kullanılmıştır (Re vd., 1999). ABTS radikal ozeltisi 12.25 mM K₂S₂O₃ ile 12-16 saat karanlıkta inkübe edilmiş, absorbandsı 734 nm de 0.68-0.72 verecek şekilde fosfat tamponu (PBS)

ile ayarlanmıştır. Absorbansı ayarlanmış ABTS radikalinden 2 mL alınarak mikroküvete aktarılmış ve üzerine yine PBS ile seyreltilmiş ekstraktlardan 20 µL eklenmiştir. Kontrol örnekleri için 20 µL PBS çözeltisi kullanılmıştır. 6 dakika karanlıkta inkübasyonun ardından spektrofotometrede 734 nm de örneklerin absorbans okumaları yapılmıştır. Sonuçlar farklı konsantrasyonlarda hazırlanan troloks standardına karşılık çizilen inhibisyon eğrisinden faydalanılarak mg troloks eşdeğeri (TE)/100 g olarak belirtilmiştir.

HPLC ile eritadenin analizi

Mantar ekstraktlarının eritadenin içeriklerinin belirlenmesi amacıyla Enman vd. (2007) ve Afrin vd. (2016) tarafından uygulanan zıt faz HPLC (RP-HPLC) metodunun modifiye edilmiş şekli kullanılmıştır. Analizde kullanılan HPLC sisteminin özellikleri: CBM-20A kominikasyon modülü, 2 LC20ADXR pompa, SIL-20ACXR otomatik enjeksiyon ünitesi, DGU-20A5 degazör, CTO-20AS VP kolon fırını ünitesi, ODS C18 (15 cm x 4.6 mm, 5µm) kolon ve SPD-M20A fotodiyot array dedektör (DAD) (Shimadzu UPLC, Tokyo, Japonya)'den meydana gelmektedir. Verilerin toplanması ve analizinde LC Solution 1.25 programı kullanılmıştır. Elüsyon çözeltisi olarak çözücü A ve çözücü B olarak nitelenen ikili çözücü sistemi kullanılmıştır. Çözücü A %0.03 trifloro asetik asit içeren saf su ve çözücü B %0.03 trifloro asetik asit içeren asetonitrilden oluşturulmuştur. Çoklu denemeler sonunda akış hızı için 1 ml/dak, sıcaklık için 24 °C ve eritadenin bileşiğinin verdiği pikin saf olması amacıyla dereceli elüsyon metodu geliştirilmiştir. Bu elüsyon programı şu şekilde gerçekleştirilmiştir: 0-10 dk, %0 B; 10-12 dk, %0-60 B; 12-18 dk, %60 B; 18-20 dk, %60-0 B; 20-25, %0 B. Dereceli elüsyon metodunu takiben bir sonraki analiz için kolonu dengeye getirmek amacıyla 5 dk kolondan başlangıç çözücü kompozisyonu geçirilmiştir. Eritadenin bileşiğinin absorbans spektrumu 190-400 nm arasında izlenmiştir. Şitake mantarında bulunan eritadenin bileşiği kantitatif olarak analiz edilmiştir. İlk olarak alıkonma zamanı karşılaştırılmış ardından UV bölge spektrumundan faydalanarak şitake mantarında eritadenin bileşiği kalitatif olarak

belirlenmiştir. Eritadenin teşhisi için 260 nm'deki absorbans spektrumlarının örnek ve standartlar için karşılaştırılması ve alıkonma zamanı esas alınmıştır.

Eritadenin için LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesi

Belirleme sınırı olan LOD değerinin tespit edilmesinde farklı metotlar kullanılmaktadır. Bu çalışmada LOD değerini tespit etmek için sinyal/gürültü (S/G) oranının 3' ü sağladığı konsantrasyona, stok çözeltinin seyreltilmesi ve enjekte edilerek S/G oranının belirlenmesi yoluyla ulaşılmıştır. Eritadenin bileşiğinin belirleme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerlerini belirlemek için, 5 farklı konsantrasyondaki (20, 1, 0.1, 0.01, 0.001 ve 0.0002 mg/L) eritadenin standardı HPLC'ye beş kez enjekte edilmiştir.

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 22 paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, Amerika) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin tüm verileri Tukey testine tabi tutularak ortalamalar arasındaki fark P <0.05 anlamlılık düzeyinde karşılaştırılmıştır. Temel bileşen analizi (PCA), toplam fenolik içeriği, antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) ve eritadenin değişkenlerine göre tüm mantar türlerine uygulanmıştır. Puan ve yükleme grafikleri, analiz edilen 4 parametre ve 45 mantar türü arasındaki ilişkileri gözlemlemek için XLSTAT (Sürüm 2020, Addinsoft, NY, Amerika) kullanılarak oluşturulmuştur.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Toplam fenolik madde miktarları

Etanol (%60) ile ekstrakte edilen mantarların toplam fenolik madde miktarları Çizelge 2' de gösterilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı sonuçları incelendiğinde en yüksek içeriğe (P <0.05) sahip mantar türlerinin *Suillus luteus* (Kaypak mantar) (2150 mg GAE/100g), *Agaricus sp.* (Çayır mantarı) (1776 mg GAE/100 g) ve *Coprinellus micaceus* (Mürekkap mantarı) (1598 mg GAE/100 g) olduğu, en düşük toplam fenolik madde miktarının (P <0.05) ise *Trametes versicolor* (Hindi kuyruğu mantarı) (24.45 mg GAE/100 g) mantarında olduğu görülmüştür. Diğer mantarların toplam fenolik madde miktarları ise

45.92 - 936.9 mg GAE/100 g aralığında tespit edilmiştir.

İki farklı *Agaricus* cinsi mantar türünün özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada *Agaricus bisporus* (Kültür mantarı) ve *Agaricus brasiliensis* (Brezilya çayır mantarı) türlerinin sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 21.47 mg GAE/g ve 15.79 mg GAE/g olarak, %60 etanollü ekstraktlarının ise sırasıyla 10.25 mg GAE/g ve 12.50 mg GAE/g olarak kaydedilmiştir (Gan vd., 2013). Çalışmamızdaki *Agaricus sp.* (Çayır mantarı) mantarının toplam fenolik madde miktarları (569.9-1775 mg GAE/100 g) ile literatür verilerinin oldukça uyumlu olduğu görülmektedir. Bir başka

çalışmada ise %60 metanol ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmış ve *Lactarius volemus* (Geyik mantarı) için toplam fenolik madde içeriği 3.61 g GAE/kg olarak, *Lentinula edodes* (Şitake mantarı) için ise 2.21 g GAE/ kg olarak belirlenmiştir (Butkhuş vd., 2018). Yapılan bu çalışmadaki geyik mantarı ve şitake mantar türleri için elde edilen toplam fenolik madde miktarları çalışmamızdaki aynı tür mantarların değerlerinden (577.6 ve 395.6 mg GAE/100 g) daha düşük sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler ile literatür değerleri arasında farklılıkların mantarların yetiştiği iklim koşulları, ekstraksiyon şartları ve kurutma tekniklerinin farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 2. Kayseri bölgesinden toplanan mantarlar ve kültürel yöntemlerle üretilen tıbbi mantarların toplam fenolik içerileri, antioksidan aktiviteleri ve eritadenin miktarları¹

Table 2. Total phenolic content, antioxidant activity and eritadenine amount of wild mushrooms in Kayseri region and cultured medicinal mushrooms

Mantar Kodu / Mushroom number	Mantar Türü / Mushroom name	Toplam Fenolik Madde İçeriği (mg GAE/100 g) / Total phenolic content	Antioksidan Aktivite / Antioxidant activity (mg TE/100 g)		Eritadenin Miktarı / Eritadenine amount (mg/kg)
			ABTS	DPPH	
1	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Singer (Şitake mantarı)	395.6±41.18 ^{fg}	537.8±16.37 ^{ccdefg}	984.4±3.13 ^ö	3338±73.4
2	<i>Auricularia polytricha</i> (Mont.) Sacc. (Kulak mantarı)	45.92±16.17 ^{ab}	25.26±6.78 ^a	56.07±0.29 ^{ccđ}	<LOD
3	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd (Hindi kuyruğu mantarı)	24.45±0.770 ^a	200.5±2.66 ^{abcđ}	44.57±0.83 ^p	<LOD
4	<i>Hericium erinaceus</i> (Aslan yelesi mantarı)	51.67±0.33 ^{ab}	190.3±12.52 ^{abcđ}	82.78±0.59 ^{efghij}	<LOD
5	<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quéł. (Kral mantarı)	182.7±2.87 ^{ccđ}	267.3±3.54 ^{abcđde}	93.3±2.97 ^{hij}	<LOD
6	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst. (Reishi mantarı)	198.0±1.95 ^{ccđ}	334.4±1.912 ^{abcđde}	68.89±6.54 ^{defgh}	<LOD
7	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. (İstiridye mantarı)	459.9±24.84 ^{fghij}	234.3±1.28 ^{abcđde}	719.2±39.12 ^{öö}	<LOD
8	<i>Coprinopsis atramentaria</i> (Bull.) Redhead, <i>Vulgabys</i> & <i>Moncalvo</i>	449.3±9.8 ^{fghij}	344.6±9.11 ^{abcđdef}	279.0±53.04 ^{defgh}	<LOD

	(Mürekkep mantarı)				
9	<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>Ferulae</i> (Lanzı) Sacc. (Çakşır mantarı)	673.9±26.14 ^{noö}	472.9±32.78 ^{bcdefg}	527.5±46.41 ^{klm}	<LOD
10	<i>Leucopaxillus giganteus</i> . (Kokulu mantar)	861.1±45.76 st	1359±16.39 ⁱ	336.4±16.70 ^{bc}	<LOD
11	<i>Agrocybe aegerita</i> (V. Brig.) Singer (Kavak mantarı)	890.2±37.26 st	1981±25.18 ⁱ	763.8±9.27 ^ö	<LOD
12	<i>Verpa bobemica</i> (Krombh.) J. Schröt. (Sahte kuzugöbeği mantarı)	657.7±27.46 ^{mnoö}	443.2±203.6 ^{abcdefg}	210.9±4.29 ^{ij}	<LOD
13	<i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Pers. (Pösteki mantarı)	728.9±2.61 ^{öprs}	544.1±17.65 ^{cdefg}	655.2±37.26 ^{no}	<LOD
14	<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) <i>Vilgahys</i> , Hoppie & Jacq. Johnson (Mürekkep mantarı)	1598±36.60 ^u	381.2±46.03 ^{abcdef}	391.8±6.52 ^ö	<LOD
15	<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>Ferulae</i> (Lanzı) Sacc. (Çakşır mantarı)	839.4±34.64 st	855.7±12.80 ^{gh}	742.7±3.34 ^{defghii}	<LOD
16	<i>Hebella acetabulum</i> (L.) Quél.	158.3±1.44 ^{bcqd}	468.9±20.52 ^{bcdefg}	289.9±7.17 ^{lmn}	<LOD
17	<i>Hebella solitaria</i> (P.Karst.)	151.2±1.04 ^{bcqd}	446±32 ^{bcdefg}	276.9±41 ^{lmn}	<LOD
18	<i>Leucopaxillus</i> sp. (Kokulu mantar)	519.1±21.17 ^{hijk}	1278±615.9 ⁱ	1651±18.56 ^s	<LOD
19	<i>Suillus luteus</i> (L.) Roussel (Kaypak mantar)	2150±9.15 ^v	2211±23.85 ⁱ	481.5±6.43 ^p	<LOD
20	<i>Lepista personata</i> (Fr.) Cooke (Mor bacak mantarı)	398.4±7.84 ^{fg}	221.7±1.39 ^{abcqd}	453.9±7.07 ^p	<LOD
21	<i>Agaricus bernardii</i> Quel. (Kızıl çayır mantarı)	645.9±1.56 ^{lmnoö}	1328±127 ⁱ	983.6±83.52 ^{ij}	<LOD
22	<i>Stropharia coronilla</i> (Bull.:Fr.) Quél.	368.3±1.95 ^{ef}	314.9±7.54 ^{abcde}	170.2±7.96 ^{bc}	<LOD
23	<i>Paxillus vernalis</i> Watling (Sahte kanlıca)	173.1±3.52 ^{ccd}	452.3±33.83 ^{bcdefg}	111.1±11.93 ^{ab}	<LOD
24	<i>Tricholoma terreum</i> (Schaeff.) P. Kumm (Kara kız mantarı)	547.2±18.95 ^{ijklm}	650.1±22.41 ^{efg}	967.3±5.30 ^p	<LOD
25	<i>Hebeloma sinapians</i> (Fr.) Sacc.	698.4±3.92 ^{öop}	280.4±27.01 ^{abcde}	436.5±50.38 ^{ik}	<LOD

26	<i>Lepista nuda</i> (Bull.) Cooke (Cincile mantarı)	387.3±16.34 ^{fg}	231.8±7.04 ^{abcđ}	553.7±17.24 ^{lm}	<LOD
27	<i>Leucopaxillus gentianus</i> (Quél.) Kotl. (Mal mantarı)	591.2±37.90 ^{klmno}	203.4±21.05 ^{abcđ}	472.1±8.35 ^p	<LOD
28	<i>Agaricus</i> sp. (Çayır mantarı)	1776±26.53 ^ü	1217±51.86 ^{hı}	876.9±23.51 ^{kl}	<LOD
29	<i>Amanita argentea</i> Huşman (Amanita- Köygöçüren)	262.7±13.59 ^{de}	296±10.07 ^{abcđe}	180.9±14.13 ^{ghij}	<LOD
30	<i>Entoloma</i> sp.	875.4±25.49 st	463.1±18.44 ^{bcđefg}	609.1±12.21 ^{mn}	<LOD
31	<i>Agaricus silvaticus</i> Schaeff. (Kızılca çayır mantarı)	825.5±17.64 ^{rsst}	440.8±9.26 ^{abcđefg}	772.3±8.55 ^ö	<LOD
32	<i>Tricholoma terreum</i> (Schaeff.) P. Kumm (Kara kız mantarı)	791.8±65.37 ^{prss}	336.4±6.68 ^{abcđe}	60.21±6.75 ^a	<LOD
33	<i>Suillellus luridus</i> (Schaeff.) Murrill (Kaypak mantar)	535.7±13.06 ^{hijkl}	576.2±46.52 ^{cdefg}	557.9±1.28 ^r	<LOD
34	<i>Boletus regineus</i> D. Arora & Simonini (Kara kafa mantarı)	828.7±26.14 ^{rsst}	498.2±44.82 ^{cđefg}	590.1±0.64 ^r	<LOD
35	<i>Hebeloma sinapi-zans</i> (Fr.) Sacc.	430.8±38.56 ^{fgh}	305.7±5.73 ^{abcđe}	358.4±8.10 ^{ghij}	<LOD
36	<i>Calvatia gigantea</i> (Batsch) Lloyd (Puf mantarı)	469.1±11.76 ^{fghij}	626.7±29.89 ^{defg}	300.7±7.71 ^{mn}	<LOD
37	<i>Agaricus</i> sp. (Çayır mantarı)	720.6±26.14 ^{öpr}	453.2±30.36 ^{bcđefg}	595.4±9.01 ^{cde}	<LOD
38	<i>Lactarius deliciosus</i> (L.) Gray (Kanlıca mantarı)	655.4±4.57 ^{mnoö}	276.3±2.87 ^{abcđe}	353.8±29.67 ^{defg}	<LOD
39	<i>Russula virescens</i> (Schaeff.) Fr. (Küflü mantar)	218.8±7.06 ^{cd}	55.37±1.68 ^{ab}	143.±30.2 ^{defghi}	<LOD
40	<i>Lactarius volemus</i> (Fr.) Fr. (Geyik mantarı)	577.7±11.76 ^{ijklmn}	398.8±2.29 ^{abcđef}	173.1±19.28 ^{fghij}	<LOD
41	<i>Lactarius piperatus</i> (L.) Pers. (Acı sütlü mantar)	97.61±7.69 ^{abc}	178.5±14.49 ^{abcđ}	128.1±24.41 ^{cdef}	<LOD
42	<i>Agaricus</i> sp. (Çayır mantarı)	569.9±54.9 ^{ijklmn}	629.3±20.24 ^{defg}	508.4±10.93 ^{ij}	<LOD
43	<i>Russula</i> sp. (Kırılğan mantar)	815.8±7.84 ^{rsş}	764.4±29.17 ^{fg}	175.9±9.37 ^{bc}	<LOD
44	<i>Ramaria</i> sp. (Sarı sakal mantarı)	175.1±5.43 ^{cđ}	380.9±19.72 ^{abcđef}	178.9±9.01 ^{bc}	<LOD
45	<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr. (Kav mantarı)	115.7±1.83 ^{abcđ}	152.2±18.61 ^{abc}	96.48±3.11 ^{ab}	<LOD

*Çizelge üzerinde verilen değerler ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir.

**Çizelgede kullanılan farklı harfler Tukey testi sonucuna göre ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olduğunu ($P < 0.05$) belirtmektedir.

***Çizelgede mantar kodu 1, 2, 3, 4, 5, 6 olarak verilen türler tıbbi mantarları, diğer kodlar ile belirtilen türler ise makromantarları ifade etmektedir.

****Çizelgede belirtilen "<LOD" ifadesi ilgili mantar türündeki eritadenin bileşiği miktarının tespit edilebilir limitin altında olduğunu ifade etmektedir.

*Each value is expressed as mean \pm S.D.

** The different letters indicate a statistically different ($P < 0.05$) between the means according to the Tukey test.

*** Mushroom number 1, 2, 3, 4, 5, 6 in the chart refer to medicinal mushrooms, others to non-medicinal mushrooms.

**** The expression "<LOD" means that the amount of eritadenine compound is less than the limit of detection.

Antioksidan kapasite değerleri

Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen ve kültüre edilen tıbbi mantarlardan elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri Çizelge 2' de verilmiştir. ABTS radikal kullanılarak gerçekleştirilen antioksidan aktivite tayin yönteminde en yüksek aktiviteye ($P < 0.05$) sahip mantar türlerinin *Suillus luteus* (Kaypak mantar) (2211 mg TE/100 g) ve *Agrocybe aegerita* (Kavak mantarı) (1981 mg TE/100 g) olduğu, en düşük antioksidan aktivitenin ($P < 0.05$) ise *Auricularia polytricha* (Kulak mantarı) (25.26 mg TE/100 g) mantarında görüldüğü tespit edilmiştir. Diğer mantar türlerinin ABTS metoduna göre antioksidan aktivite değerlerinin 55.37-1359 mg TE/100 g arasında değiştiği belirlenmiştir. DPPH yöntemine göre ise en yüksek aktiviteyi ($P < 0.05$) *Leucopaxillus sp.* (Kokulu mantar) (1651 mg TE/100 g), *Lentinula edodes* (Şitake mantarı) (984.4 mg TE/100 g) ve *Agaricus bernadii* (Kızıl çayır mantarı) (983.6 mg TE/100 g) mantar türlerinin gösterdiği, en düşük aktivitenin ($P < 0.05$) ise *Trametes versicolor* (Hindi kuyruğu mantarı) (44.57 mg TE/100 g) mantarında olduğu tespit edilmiştir. Diğer mantarların DPPH metoduna göre antioksidan aktivite değerleri ise 56.07-984.4 mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir.

Makromantarlar içerdikleri aktif bileşikler sayesinde farklı biyoaktif özellikler sergilemektedir. Bu aktif bileşiklerden olan fenolik bileşikler sahip oldukları hidroksil grupları nedeniyle elektron ve serbest radikal giderici aktivite veya hidrojen atomu verme özelliği sayesinde antioksidan aktivite göstermektedirler. Bu nedenle fenolik bileşiklerle antioksidan aktivite arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Gupta,

2013). Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları araştırma materyalindeki antioksidan madde tarafından elektron transferi ile indirgenen oksidan maddenin renginin açılması reaksiyonuna dayalı yöntemler iken diğer bölümü ise hidrojen atomu transferine dayalı olan reaksiyon yöntemleri olarak sınıflandırılmaktadır. Bu çalışmada, mantar ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için basit, hızlı ve stabil olan radikal süpürücü aktivitenin belirlendiği DPPH metodu ve ABTS radikalinin antioksidanlarca sönmülmesi temeline dayanan ABTS antioksidan aktivite metotları kullanılmıştır (Prior vd., 2005).

Antioksidan aktiviteden sorumlu farklı bileşenlerin mantar türlerine göre farklılık göstermesi bilinen bir durumdur. Mantarlardaki fonksiyonel grupların konsantrasyonunu mantarın gelişim durumu da etkileyebilmektedir. Bir çalışmada *Coprinus comatus* (Pösteki mantarı), *Cantharellus cibarius* (Civciv ayağı mantarı), *Lactarius deliciosus* (Kanlıca mantarı) ve *Licoperdon perlatum* (Puf mantarı) mantarlarının su ve etanolü ekstraktlarının DPPH yöntemine göre antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. En yüksek aktivitenin *Licoperdon perlatum* (Puf mantarı) mantarının sulu ekstraktında (%60.3) olduğu ve diğer mantar çeşitlerinde ise en yüksek aktivitenin %95 etanol ile alınan ekstraktlarda olduğu tespit edilmiştir (Nowakowski vd., 2021). Bir diğer çalışmada ise 12 yabani mantar türünde DPPH metodu ile antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Bu mantar türleri arasında *Lactarius piperatus* (Acı sütlü mantar) (316.8 mg TE/100 g) ve *Lactarius deliciosus*' un (Kanlıca mantarı) (402.5 mg TE/100 g) diğer mantar

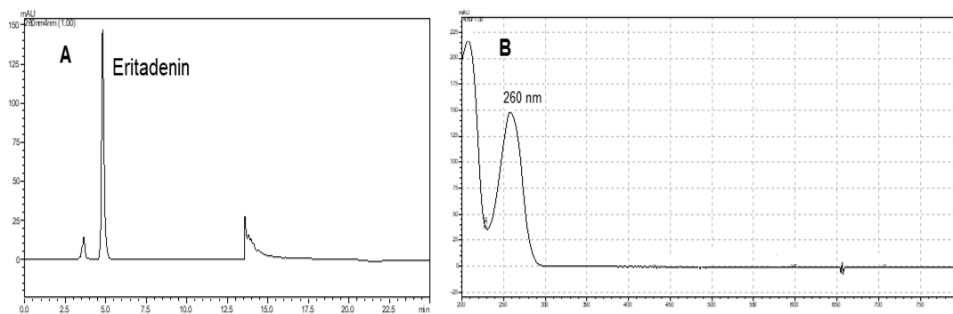
türlerine göre çalışmamızdaki aynı tür mantarların değerlerinin (128.3 ve 353.8 mg TE/100 g) kısmen düşük olduğu görölmektedir (Erdoğan vd., 2017). Literatür verileri ile benzer şekilde araştırmaya alınan mantar türlerinin antioksidan aktivite değerlerinin türden türe farklılık gösterdiği görölmektedir. Bu durum mantar türleri arasındaki genetik varyasyonlardan, yetiştikleri iklim şartları ile toprak yapılarından, mikorizal ya da parazitik yaşam sürdürdükleri bitki çeşitliliğinden, güneş ışığı alma yoğunluğundan ve mantarların toplandıkları dönemdeki gelişim durumu gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünölmektedir.

Mantar türlerinde eritadenin bileşiğinin varlığının araştırılması

Bitkiler alemi başta olmak üzere canlı organizmalarda ikincil metabolitlerin miktar olarak az ancak işlevlerinin önemli olduğu özellikle son 20 yıl içerisinde net olarak anlaşılmıştır. Literatürde mantarların biyoaktif bileşikleri ve bunların sağladığı biyoaktif özellikleri ile ilgili alışmalar (Bekçi, 2020; Doğan vd., 2018; El Enshasy ve Hatti-Kaul, 2013; Erdoğan vd., 2017; Eren ve Akyüz, 2018; Khursheed vd., 2020; Puttaraju vd., 2006) fazla miktarda yer almaktadır. şitake mantarında yer alan ikincil bir metabolit olan eritadenin bileşiği sergilediği özellikler nedeniyle dikkat çekmektedir. Bu bileşiğin S-adenozil-L-homosistein hidrolaz enzimini inhibe ederek kolesterol düşürücü etki gösterdiği in vivo çalışmalar ile ispatlanmıştır (Fukada vd., 2006; Sekiya vd., 2006; Yamada vd., 2007). Literatürde *Lentinula edodes*'in biyoaktif bileşenlerinin kan kolesterolünü ve plazma fosfolipid seviyesini düşürücü etkisi olduğu ve HMG-KoA redüktaz

enzimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Kaneda ve Tokuda, 1966; Rokujo vd., 1970). Kültür mantarı-*Agaricus bisporus* mantarının ise biyoaktif bileşenlerinin toplam kolesterol, LDL ve HDL kolesterolü düşürücü etkisi olduğu (Rokujo vd., 1970; Sekiya vd., 2006; Yamada vd., 2007) belirlenirken, *Pleurotus ostreatus*'un (İstiridye mantarı) yapısındaki biyoaktif bileşenlerin kan kolesterolü, toplam kolesterolü ve LDL, VLDL, plazma trigliserit miktarını ve kan basıncını düşürücü etkisi olduğu bildirilmiştir (Lelik vd., 1997; Hossain vd., 2003; Khatun vd., 2007; Kajaba vd., 2008). Ayrıca, literatürde en yüksek eritadenin içeriğine sahip olan mantar türünün şitake mantarı olduğu (317-633 mg/100g) ve bunun yanı sıra kültür mantarı (375 mg/100 g) ve istiridye mantarının da (212 mg/100 g) bu bileşiği içerdiği bildirilmiştir (Afrin vd., 2016; Enman vd., 2012).

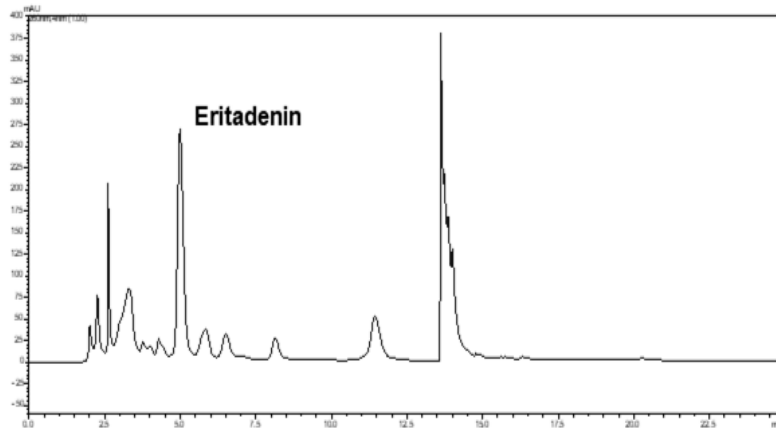
Mantar türlerindeki eritadenin miktarlarını tespit etmek amacıyla farklı konsantrasyonlardaki eritadenin standardı HPLC' ye enjekte edilmiş ve elde edilen kromatogramdaki (şekil 2) pik alanları konsantrasyona karşı grafiğe dönüştürölmüştür. Oluşturulan lineer kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denkleminin ($y = 801036x - 14335$) ile örneklerin eritadenin miktarları belirlenmiştir. Eritadenin bileşiğinin LOD ve LOQ değerlerini belirlemek için elde edilen eritadenin piklerinden 0.0002 mg/L' lik minimum konsantrasyonlu standart pikinin sinyal/güröltü oranının (S/G) 3' ü sağladığı (kromatogramdaki güröltü yüksekliği 0.01 mAU, sinyal yüksekliği 0.03 mAU) belirlenmiştir. Bu verilere göre eritadenin bileşiğinin LOD değeri 0.0002 mg/L olarak tespit edilmiştir.



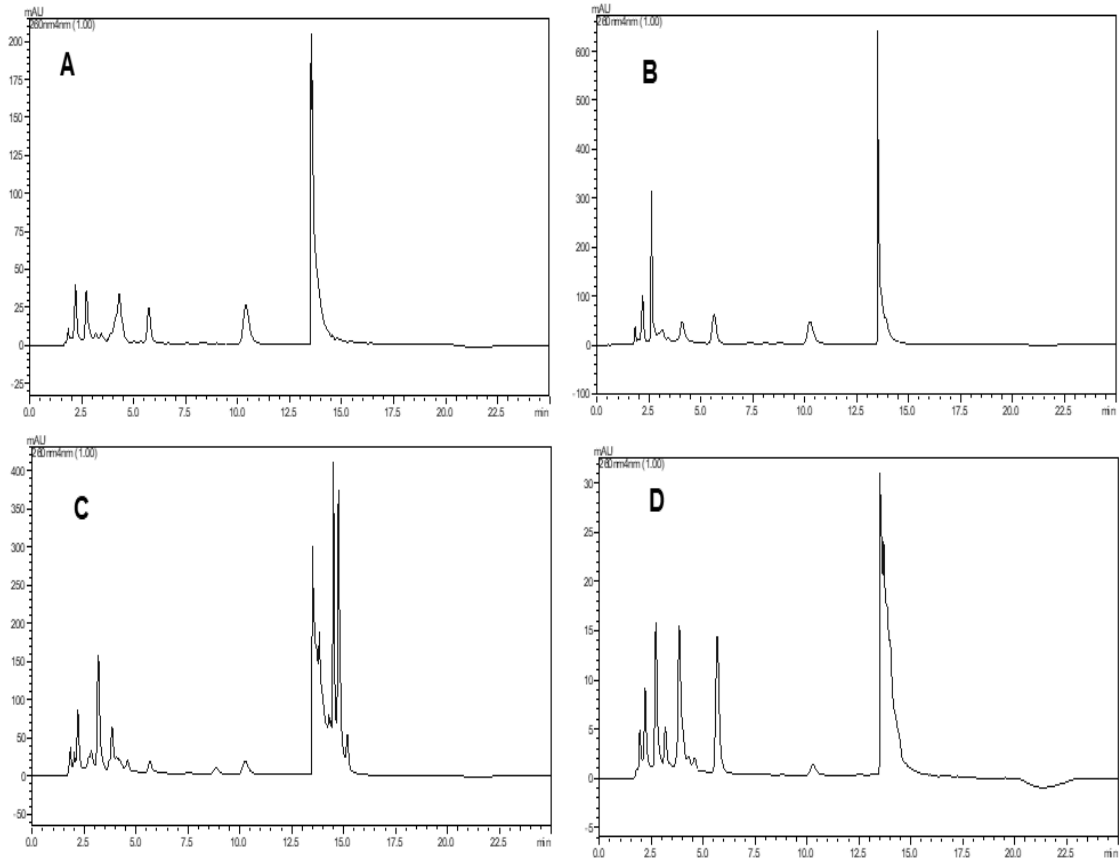
şekil 2. Eritadenin standardının 260 nm dalga boyundaki kromatogramı (A) ve spektrumu (B)
Figure 2. RP-HPLC chromatogram (A) and spectrum (B) of eritadenine at 260 nm

Etanol (%60) ile ekstrakte edilen mantarlardaki eritadenin bileşiği miktarları Çizelge 2' de belirtilmiştir. Şitake mantarında belirlenen eritadenin miktarı 3338 mg/kg iken, diğer çalışılan mantar türlerinin eritadenin miktarlarının LOD değerinin (0.0002 mg/L) altında kaldığı belirlenmiştir. Dört farklı kültüre alınan ticari şitake mantar türünün incelendiği bir çalışmada mantarların metanollü ekstraktlarının eritadenin miktarları 3.17-6.33 mg/g olarak tespit edilirken (Enman vd., 2007), bir diğer çalışmada şitake mantarının şapka kısmının eritadenin içeriğinin 50-70 mg/100 g olarak, sap kısmının ise 30-40 mg/100 g eritadenin içerdiği (Kajaba vd., 2008) belirlenmiştir. Başka bir çalışmada ise şitake mantarının misellerinin 73.7 mg/100 g eritadenin içerdiği tespit edilmiştir (Lelik vd., 1997). Enman vd., (2007)'nin test ettikleri şitake mantarlarının eritadenin miktarları ile çalışmamızdaki aynı tür mantarın eritadenin içeriği ile gayet uyumlu görünmektedir. Ancak şitake mantarının şapka, sap ve misellerinin (Lelik vd., 1997) ayrı ayrı olarak değerlendirildiği çalışmalarda eritadenin verilerinin çalışmamızdaki değerden oldukça düşük olduğu göze çarpmaktadır. Bunun nedeni olarak şitake mantarının bir bütün olarak çalışmaya alınmamış olması ve mantarın diğer kısımlarından da gelebilecek olan bileşiğin değerlendirmeye alınmamış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir başka çalışmada ise *Lentinula edodes* (Şitake mantarı) (642.8 mg/100 g), *Flamullina velutipes* (Saman mantarı) (427.1 mg/100 g), *Hericum*

erinaceus (Aslan yelesi mantarı) (409.7 mg/100 g), *Agaricus blazei* (Brezilya çayır mantarı) (403.2 mg/100 g), *Agaricus bisporus* (Kültür mantarı) (375.5 mg/100 g), *Cordyceps militaris* (Tırtıl mantarı) (367.3 mg/100 g), *Pleurotus eryngii* (Kral mantarı) (335.8 mg/100 g), *Tricholoma matsutake* (Matsutake mantarı) (280.1 mg/100 g), *Pleurotus ostreatus* (İstiridye mantarı) (212.1 mg/100 g), *Ganoderma lucidum* (Reishi mantarı) (21.0 mg/100 g) ve *Phellinus linteus* (Kav mantarı) (9.4 mg/100 g) mantar türlerinin etanollü ekstraktlarında eritadenin bileşiği tespit edildiği bildirilmiştir (Afrin vd., 2016). Bu çalışmadaki şitake mantarının içerdiği eritadenin miktarı ile çalışmamızdaki aynı tür mantarın eritadenin miktarı karşılaştırıldığında kısmen düşük olduğu görülmektedir. Diğer yandan bu çalışma, eritadenin miktarları belirlenmiş olan diğer mantar türlerinin çalışmamızdaki aynı tür mantarlarda bu bileşiğin tespit edilmemiş olması yönünden farklılaşmaktadır. Bu durumun varyete farklılıklarından ve ekstraksiyon prosedürlerindeki olası farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada gerek Kayseri bölgesinden toplanan 39 mantar türünde, gerekse tıbbi özellik taşıyan kültüre edilmiş 5 mantar türünde eritadenin bileşiği tespit edilememiştir. Şitake mantarına ait kromatogram Şekil 3' te gösterilmiştir. Literatürde (Afrin vd., 2016) eritadenin içerdikleri belirtilen ancak bizim çalışmamızda tespit edemediğimiz mantar türlerine ait kromatogramlar Şekil 4' te gösterilmiştir.



Şekil 3. Şitake mantarının 260 nm dalga boyundaki kromatogramı
Figure 3. RP-HPLC chromatogram of shiitake mushroom at 260 nm



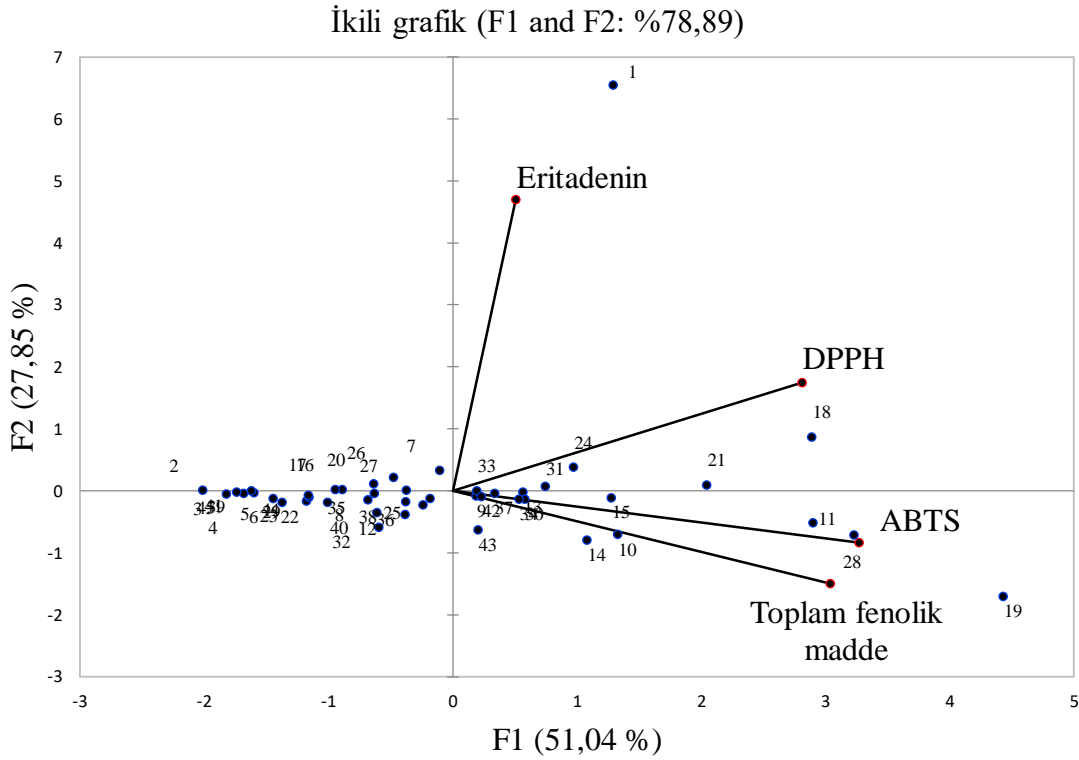
Şekil 4. *Hericium erinaceus* (A), *Pleurotus eryngii* (B), *Ganoderma lucidum* (C), *Auricularia polytricha* (D) kromatogramları

Figure 4. RP-HPLC chromatograms of *Hericium erinaceus* (A), *Pleurotus eryngii* (B), *Ganoderma lucidum* (C), *Auricularia polytricha* (D)

Temel bileşen analizi

Temel bileşen analizi (PCA), karmaşık veri kümesinin boyutunu anlaşılabilir ve kolayca yorumlanabilir bir biçime indirgemek için uygun bir tekniktir. PCA'nın 4 kısmen ilişkili orijinal değişkene uygulanmasından sonra, ilk 2 temel bileşen tüm veri setindeki toplam varyansların %78.89' ini açıklamıştır. Değişkenler ve mantar türleri arasındaki ilişkiler, PCA'nın ikili grafiğini gösteren Şekil 5' te görülmektedir. Bu grafiğe göre ABTS ve toplam fenolik madde içeriğinin birbirleriyle iyi ilişkili olduğu görülmektedir. Tüm mantar türleri arasında mantar kodu 10 olan *Leucopaxillus giganteus* (Kokulu mantar) mantarı, mantar kodu 12 olan *Verpa bohemica* (Sahte kuzugöbeği mantarı) mantarı, mantar kodu 14 olan *Coprinellus micaceus* (Mürekkep mantarı)

mantarı, mantar kodu 19 olan *Suillus luteus* (Kaypak mantar) mantarı, mantar kodu 28 olan *Agaricus sp.* (Çayır mantarı) mantarı ve mantar kodu 43 olan *Russula sp.* (Kırılğan mantar) mantarların toplam fenolik madde içeriği ve ABTS antioksidan aktivite değerleri açısından iyi karakterize edildiği görülmektedir. 1 nolu mantar (*Lentinula edodes*-Şitake mantarı) olan şitake mantarının ise eritadenin içeren tek mantar olarak diğer mantar türlerinden net bir şekilde ayrıldığı ve bu özelliği ile karakterize edildiği PCA'nın ikili grafiğinde görülmektedir. İkili grafiğin sol kısmında yer alan mantar türleri ise analiz edilen değişkenler açısından benzer özellik göstererek birlikte gruplandığı görülmektedir.



Şekil 5. Mantar türleri (45 adet) ve değişkenleri (4 farklı özellik) içeren temel bileşen ikili grafiği
Figure 5. 45 mushroom species and principal component analysis binary data graph with 4 different variables

SONUÇ

Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen 39 adet makromantar türünün ve kültüre edilen 6 önemli tıbbi mantar türünün %60 etanol ile elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri, antioksidan aktiviteleri (ABTS ve DPPH metotları) ve kolesterol düşürücü etkiye sahip olan eritadenin bileşiğinin miktarı araştırılmıştır. En yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip mantar türünün *Suillus luteus* (Kaypak mantar) (2150 mg GAE/100g) olduğu en yüksek antioksidan aktivite gösteren mantar türlerinin ise ABTS metodu ile *Suillus luteus* (Kaypak mantar) (2211 mg TE/100 g), *Agrocybe aegerita* (Kavak mantarı) (1981 mg TE/100 g) ve DPPH metodu ile *Leucopaxillus sp.* (Kokulu mantar) (1651 mg TE/100 g) olduğu tespit edilmiştir. Eritadenin bileşiği şitake mantarı haricinde incelenen başka bir mantarda tespit edilememiş/diğer mantarlarda ki eritadenin varlığı LOD değerinin altındadır. Eritadenin bileşiğinin gözlenebilirme sınırı (LOD değeri) 0.0002 mg/L, tayin sınırı (LOQ değeri) ise

0.00066 mg/L olarak hesaplanmıştır. Literatür verileri incelendiğinde de güçlü fenolik içerik ile güçlü antioksidan aktivitenin birbiriyle ilişkili olduğu ve bu bilginin çalışmamızdaki *Suillus luteus* (Kaypak mantar) mantarının diğer mantar türleri arasında en yüksek fenolik içeriği ile beraber en yüksek antioksidan aktivite göstermesi sonuçları ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar *Suillus luteus* (Kaypak mantar) hakkında daha detaylı çalışılması gerektiği sonucunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, farklı antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinin doğası gereği mantarların antioksidan aktiviteleri de değişiklik göstermektedir. Bu nedenle mantarların antioksidan aktiviteleri belirlenmeye çalışılırken olabildiğince farklı metotla tespit yapmaya çalışmak elde edilen sonuçların daha objektif ve güvenilir olmasını sağlayacaktır. Ayrıca, mantarın türü gibi genetik faktörler, güneş alma durumu, sıcaklık, rakım, bulunduğu enlem derecesi, su (su stresi), toprak yapısı, hasat dönemi değişimleri, büyüme gelişme şartları, hasat sonrası işlemler ve

depolama şartları gibi çevresel faktörlerin mantar türleri arasında biyoaktivite özelliklerinin değişiklik göstermesinin sebepleri olabilmektedir. Uzun yıllardır Uzakdoğu geleneksel tıbbında önemli yer tutan ve günümüzde batı tıbbınca önemi fark edilmeye yeni başlanan mantarların yapılarındaki biyoaktif bileşenler üzerine daha fazla araştırmalar yapılmalı, mantarlardan ekstrakte edilecek biyoaktif maddelerin fonksiyonel gıdalarda kullanım olanaklarına odaklanılmalıdır. Yapmış olduğumuz çalışmalar sonucunda doğadan toplanan bazı mantarların belirlenen bazı biyoaktif özelliklerinin tıbbi mantarlardan daha yüksek olduğu göz önünde bulundurulduğunda ciddi potansiyele sahip oldukları görülmektedir. Bu çalışmadan hareketle doğadan toplanan mantarların üzerinde daha detaylı çalışmaların yapılarak kullanım alanlarının artırılması gerektiği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makale ile ilgili olarak kişilerin kendi arasında ya da başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmadığı beyan olunur.

YAZARLARIN KATKISI

Murat Kaya makale konusunu araştırdı, tasarladı ve çalışmaları gerçekleştirdi. Neşe Adanacıoğlu çalışmada kullanılacak materyallerin teşhislerini yaptı. Murat Kaya ve Serap Berктаş makalenin taslağını oluşturdu. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulundu, Mustafa ÇAM makaleyi tasarladı, makalenin son halini okudu ve onayladı.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FDK-2018-7892 kodu ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Afrin, S., Rakib, M. A., Kim, B. H., Kim, J. O., Ha, Y. L. (2016). Eritadenine from edible mushrooms inhibits activity of angiotensin converting enzyme in vitro. *J Agric Food Chem*, 64(11): 2263-2268 p.

Anonymous (2021a). <https://www.mykoweb.com> (Erişim tarihi: 21 Ocak 2021).

Anonymous (2021b). <https://www.first-nature.com> (Erişim tarihi: 21 Ocak 2021).

Anonymous (2021c). <https://www.mushroomexpert> (Erişim tarihi: 21 Ocak 2021).

Barron, G. L. (1999). *Mushrooms of Northeast North America: Midwest to New England*. Lone Pine Pub, Edminton, AB, Canada, 336 p.

Bekçi, H. (2020). Muğla bölgesi'nden elde edilen yenilebilir yabani mantarların biyolojik aktiviteleri. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Kayseri, Türkiye, 198 s.

Bekçi, H., Altınsoy, B., Sarıkaya, S., Onbaşılı, D. ve Çelik, G. Y. (2011). Kastamonu yöresinden toplanan bazı makrofungusların antimikrobiyal aktivitesi. *Kastamonu Orman Ürünleri Dergisi*, 11 (2):187– 190 s.

Boonsong, S., Klaypradit, W., Wilaipun, P. (2016). Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. *Agric Nat Res*, 50(2): 89-97 p., doi:10.1016/j.anres.2015.07.002.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol*, 28(1): 25-30 p., doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

Butkhup, L., Samappito, W., Jorjong, S. (2018). Evaluation of bioactivities and phenolic contents of wild edible mushrooms from northeastern Thailand. *Food Sci Biotechnol*, 27(1): 193-202 p., doi:10.1007/s10068-017-0237-5.

Chan, G. C., Chan, W. K., Sze, D. M. (2009). The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol Oncol*, 2(25): 1-11 p.

Cheung, P. C. K. (2008). *Mushrooms as Functional Foods*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 227 p.

Doğan, H. H., Karagöz, S., Duman, R. (2018). Antiviral activity, cytotoxic, *Fomes fomentarius*, herpes simplex virus type 1, *Laetiporus sulphureus*, medicinal mushrooms, *Morchella conica*, *Pbellinus igniarius*, *Pleurotus ostreatus*, *Terfezia boudieri*,

- Tricholoma anatolicum*. *Int J Med Mushrooms*, 20(3): 201-212 p.
- El Enshasy, H. A., Hatti-Kaul, R. (2013). Mushroom immunomodulators: Unique molecules with unlimited applications. *Trends Biotechnol*, 31(12): 668-677 p.
- Enman, J., Hodge, D., Berglund, K. A., Rova, U. (2012). Growth promotive conditions for enhanced eritadenine production during submerged cultivation of *Lentinula edodes*. *J Chem Technol Biotechnol*, 87(7): 903-907 p., doi:10.1002/jctb.3697.
- Enman, J., Rova, U., Berglund, K. A. (2007). Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *J Agric Food Chem*, 55(4): 1177-1180 p., doi:10.1021/jf062559+.
- Erdoğan, S., Soylu, M. K., Başer, K. H. C. (2017). Bazı yabancı mantarların antioksidan özellikleri. *Nerşbir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (6): 254-260 s.
- Eren, A., Akyüz, M. (2018). Bazı makrofungus misellerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Mantar Dergisi*, 8(2): 196-205 s.
- Flück, M. (2019). *Welcher Pilz ist das?: 170 Pilze einfach bestimmen*. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Company KG, 128 p.
- Fukada, S., Setoue, M., Morita, T., Sugiyama, K. (2006). Dietary eritadenine suppresses guanidinoacetic acid-induced hyperhomocysteinemia in rats. *J Nutr*, 136(11): 2797-2802 p., doi:10.1093/jn/136.11.2797.
- Gan, C. H., Amira, B., Asmah, R. (2013). Antioxidant analysis of different types of edible mushrooms (*Agaricus bisporous* and *Agaricus brasiliensis*). *Int Food Res J(IFRJ)*, (20): 1095-1102 p.
- Gminder, A., Böhning, T. (2007). Melyik ez a gomba. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co. KG, Stuttgart, 219 p.
- Gupta, D. (2013). Comparative analysis of spices for their phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity. *Am Int J Res in Formal Appl Nat Sci*, 4: 38-42 p.
- Hetland, G., Tangen, J.-M., Mahmood, F., Mirlashari, M. R., Nissen-Meyer, L. S. H., Nentwich, I., Johnson, E. (2020). Antitumor, anti-inflammatory and antiallergic effects of *Agaricus blazei* mushroom extract and the related medicinal *Basidiomycetes* mushrooms, *Hericium erinaceus* and *Grifola frondosa*: A Review of preclinical and clinical studies. *Nutrients*, 12(5): 1339 p., doi:10.3390/nu12051339.
- Hossain, S., Hashimoto, M., Choudhury, E. K., Alam, N., Hussain, S., Hasan, M., Mahmud, I. (2003). Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 30(7): 470-475 p., doi:10.1046/j.1440-1681.2003.03857.x.
- Kajaba, I., Simoncic, R., Freceerova, K., Belay, G. (2008). Clinical studies on the hypolipidemic and antioxidant effects of selected natural substances. *Bratislanské Lekárske Listy*, 109: 267-272 p.
- Kaneda, T., Tokuda, S. (1966). Effect of various mushroom preparations on cholesterol levels in rats. *J Nutr*, 90(4): 371-376 p., doi:10.1093/jn/90.4.371.
- Khatun, K., Mahtab, H., Khanam, P. A., Sayeed, M. A., Khan, K. A. (2007). Oyster mushroom reduced blood glucose and cholesterol in diabetic subjects. *Mymensingh Med JI*, 16(1): 94-99 p.
- Khursheed, R., Singh, S. K., Wadhwa, S., Gulati, M., Awasthi, A. (2020). Therapeutic potential of mushrooms in diabetes mellitus: Role of polysaccharides. *Int J Biol Macromol*, (164): 1194-1205 p., doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.145.
- Kodama, N., Kakuno, T., Nanba, H. (2003). Stimulation of the natural immune system in normal mice by polysaccharide from maitake mushroom. *Mycoscience*, 44(3): 257-261 p.
- Kosanić, M., Ranković, B., Dašić, M. (2012). Mushrooms as possible antioxidant and antimicrobial agents. *Iranian J Pharm Res (IJPR)*, 11(4): 1095-1102 p.
- Laessoe, T. (2013). *Mushrooms at Toadstools. The Illustrated Guide to Fungi*. Dorling Kindersley Publishers Ltd.
- Lelik, L., Vitányi, G., Lefler, J., Hegóczky, I., Nagy-Gasztonyi, M., Vereczkey, G. (1997). Production of the mycelium of shiitake (*Lentinula*

- edodes*) mushroom and investigation of its bioactive compounds. *Acta Aliment*, 26: 271-277 p.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem*, 96(2): 254-260 p., doi:10.1016/j.foodchem.2005.02.033.
- Lincoff, G. H., Lincoff, G., Society, N. A. ve Nehring, C. (1981). *The Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms*. Knopf, 928 p.
- Mitra, S., Bhartiya, P., Kaushik, N., Nhat Nguyen, L., Wahab, R., Bekeschus, S., Kaushik, N. K. (2020). Plasma-treated *Flammulina velutipes*-derived extract showed anticancer potential in human breast cancer cells. *Appl Sci*, 10(23): 8395 p., doi:10.3390/app10238395.
- Morales, D., Taberner, M., Largo, C., Polo, G., Piris, A. J., Soler-Rivas, C. (2018). Effect of traditional and modern culinary processing, bioaccessibility, biosafety and bioavailability of eritadenine, a hypocholesterolemic compound from edible mushrooms. *Food Funct*, 9(12): 6360-6368 p., doi:10.1039/C8FO01704B.
- Nowakowski, P., Markiewicz-Żukowska, R., Gromkowska-Kępk, K., Naliwajko, S. K., Moskwa, J., Bielecka, J., Socha, K. (2021). Mushrooms as potential therapeutic agents in the treatment of cancer: Evaluation of anti-glioma effects of *Coprinus comatus*, *Cantharellus cibarius*, *Lycoperdon perlatum* and *Lactarius deliciosus* extracts. *Biomed Pharmacother*, 133: 111090 p., doi:10.1016/j.biopha.2020.111090.
- Pegler, D. N. (2002). Useful fungi of the world: The Ling-zhi - The mushroom of immortality. *Mycologist*, 16: 100-101 p., doi:10.1017/S0269915X0200304X.
- Pinto, P. G., Ribeiro, B., Gonçalves, R.F., Baptista, P., Valentao, P., Seabra, R.M., Andrade, P.B. (2008). Correlation between the pattern volatiles and the overall aroma of wild edible mushrooms. *J Agric Food Chem*, 56(5): 1704-1712 p., doi/10.1021/jf073181y.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 53(10): 4290-4302 p., doi:10.1021/jf0502698.
- Puttaraju, N. G., Venkateshaiah, S. U., Dharmesh, S. M., Urs, S. M. N., Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *J Agric Food Chem*, 54(26): 9764-9772 P.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10): 1231-1237 p., doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
- Rogers, R. (2006). *A Book Review: The Fungal Pharmacy: Medicinal Mushrooms of Western Canada*. Prairie Deva Press, Edmonton Alberta, 234 p.
- Rokujo, T., Kikuchi, H., Tensho, A., Tsukitani, Y., Takenawa, T., Yoshida, K., Kamiya, T. (1970). Lentysine: A new hypolipidemic agent from a mushroom. *Life Sci*, 9(7): 379-385 p., doi:10.1016/0024-3205(70)90240-7.
- Sekiya, A., Fukada, S., Morita, T., Kawagishi, H., Sugiyama, K. (2006). Suppression of methionine-induced hyperhomocysteinemia by dietary eritadenine in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70(8): 1987-1991 p., doi:10.1271/bbb.60075.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16(3): 144-158 p.
- Smith, A. H., Weber, N. S., Weber, N. S. (1980). *The mushroom hunter's field guide*. University of Michigan Press, Ann Arbor.
- Wani, B. A., Bodha, R. H., Wani, A. H. (2010). Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J Medi Plants Res*, 4(24): 2598-2604 p.
- Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol*, 60(3): 258-274 p.

Yamada, T., Komoto, J., Lou, K., Ueki, A., Hua, D. H., Sugiyama, K., Takusagawa, F. (2007). Structure and function of eritadenine and its 3-deaza analogues: Potent inhibitors of S-adenosylhomocysteine hydrolase and

hypocholesterolemic agents. *Biochem Pharmacol*, 73(7): 981-989 p., doi:10.1016/j.bcp.2006.12.014.

SİYEZ VE EKMEKLİK BUĞDAY KEPEĞİNİN EKŞİ HAMUR ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Fatmanur Örü¹, Müge Hendek Ertop^{1*}

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

Geliş / Received: 03.07.2020; Kabul / Accepted: 19.02.2021; Online baskı / Published online: 15.03.2021

Örü, F., Hendek Ertop, M. (2021). Siyez ve ekmeçlik buğday kepeğinin ekşi hamur üretiminde kullanım olanağının değerlendirilmesi. GIDA (2021) 46 (2) 396-407 doi: 10.15237/gida.GD20087

Örü, F., Hendek Ertop, M. (2021). Evaluation of usage possibilities of einkorn and fine wheat bran in the sourdough production. GIDA (2021) 46(2) 396-407 doi: 10.15237/gida.GD20087

ÖZ

Siyez buğdayının kepek ve endosperm tabakaları morfolojik nedenle birbirine sıkı olarak bağlıdır. Una öğütülmesi sırasında, bu fraksiyonlar tam olarak ayırlamadığından, değirmen atık/yan ürünü olarak endospermce zengin ortalama %25 kepek açığa çıkmaktadır. Bu çalışmada siyez ve ekmeçlik buğday kepeklerinin ekşi hamur üretiminde kullanım olanakları değerlendirilmiştir, farklı hamur veriminde (HV) spontan fermantasyon ile hazırlanan ekşi hamurlar, pH, biyoyararlanım ve fitik asit (PA) değişimleri açısından karşılaştırılmıştır. Siyez kepeğinin, ince buğday kepeğine göre daha iri taneli olduğu, ekşi maya üretimi için ikinci bir öğütme işlemi gerektiği belirlenmiştir. Siyez kepeğinden en az HV:200, buğday kepeğinden ise en az HV:300 oranıyla ekşi hamur hazırlanabildiği tespit edilmiştir. 72 saatlik fermantasyon sonucu (HV:300) ile hazırlanan siyez kepeği ekşi hamurunun (pH 3.27), ince buğday kepeği ile hazırlanandan (pH 4.89) daha fazla asitlik gelişimi gösterdiği belirlenmiştir. Siyez kepeği (%76.9) biyoyararlanımının, buğday kepeğinden (%73.8) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Diyet lif ve mineral madde kaynağı olarak gıdalara ilave edilen kepek fraksiyonunun uygun HV oranında spontan fermantasyonu sonucu, PA degradasyonu ve biyoyararlanım artışıyla, kullanıldığı gıdalarda besinsel kaliteyi yükselteceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Siyez, *Triticum monococcum*, ince kepek, ekşi hamur

EVALUATION OF USAGE POSSIBILITIES OF EINKORN AND FINE WHEAT BRAN IN THE SOURDOUGH PRODUCTION

ABSTRACT

As a result of milling of Einkorn whose bran and endosperm layers are closely bond to each other morphologically, an average of 25% endosperm-rich bran is separated as milling waste/by-product. In this study, usage potential of einkorn and wheat bran for sourdough production was evaluated. For this purpose, sourdoughs prepared by spontaneous fermentation by different dough yield (DY) were compared in terms of pH, bioavailability and phytic acid (PA) degradation. As a result, it was determined that einkorn bran is more coarse than fine wheat bran, therefore it should be subjected to a second grinding for sourdough. It was determined that sourdough could be prepared with least DY:200 ratio from einkorn bran, and least DY:300 ratio from wheat bran. As a result of fermentation for 72 hours (DY:300), einkorn sourdough showed more acidity (pH 3.27) than wheat bran

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mugeertop@kastamonu.edu.tr

☎ (+90) 366 2802968

Fatmanur Örü; ORCID no: 0000-0001-7507-7115

Müge Hendek Ertop; ORCID no: 0000-0003-4300-7790

sourdough (pH 4.89). The bioavailability of einkorn sourdough (76.9%) was also higher than wheat bran sourdough (73.8%). It is thought that the result of the spontaneous fermentation at appropriate DY ratios of the bran fractions, which are added to foods as source of dietary fiber and minerals, will increase the nutritional quality of the foods due to increasing PA degradation and bioavailability.

Keywords: Einkorn, *Triticum monococcum*, fine bran, sourdough

GİRİŞ

Siyez (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) günümüzden yaklaşık 10 bin yıl önce kültüre alınmış günümüz buğdaylarının atasıdır. Yüksek protein, yağ içeriğine sahip siyez buğdayının günümüz ekmeklik buğdaylarına göre çok daha yüksek mineral madde içeriğine sahip olduğu bilinmektedir (Brandolini vd., 2008; Hidalgo ve Brandolini, 2012; Hidalgo ve Brandolini, 2014; Hendek Ertop ve Atasoy, 2019). Siyez buğdayı, sıkı kavuz yapısı ve tek başakçılık olması nedeniyle diğer buğdaylardan farklı olarak kavuzu ile birlikte hasat edilmektedir. Morfolojik yapısı nedeni ile diğer buğdaylardan küçük olan siyezin kepek tabakası (perikarp, testa ve aleuron) endosperm tabakasına (unun elde edildiği merkez kısım) daha sıkı bağlıdır ve kepek tabakası oranı da daha yüksektir (Hendek Ertop ve Atasoy, 2019). Bu morfolojik farklılıklar nedeniyle siyez buğdayı diğer buğdayların işlendiği değirmenlerde işlenememekte ve una dönüştürülmesinde aynı ekipman/diyagram kullanılamamaktadır. Selektörden geçirilerek yabancı maddeleri temizlenen kavuzlu siyez taneleri, merkezkaç kuvvetiyle cidara çarptırılarak mekanik bir ayırma işlemi ile kavuzu uzaklaştırılmaktadır. Tam tane olarak öğütülmekte ve elenerek kepek tabakası ve un fraksiyonları ayrılmaktadır. Klasik buğday öğütme sistemlerindeki çoklu redüksiyon ve kırma vals sistemlerinden geçmediğinden ve tam tanenin öğütülmesi temeline dayandığından dolayı, “siyez unu daima bir miktar kepek, siyez kepeği de daima bir miktar endosperm kalıntısı” içermektedir. Bu nedenle siyez unu üretiminde hem tane yapısının küçük olması, hem de kepek/endosperm ayırımının tam yapılamamasından dolayı yan ürün olarak önemli miktarda kepek çıkmaktadır. Ekmeklik buğdayda %80-85 randımanla çalışılırken, siyezde %55 randımanla çalışılmaktadır. Kastamonu’da siyez için kurulan değirmen sistemlerinde yaklaşık %20 kavuz, %25 düzeyinde de kepek yan/atık ürün çıktığı bildirilmektedir. Una öğütme sırasında kırma ve redüksiyon vals sistemleri

kullanılmadığından dolayı etkin bir ayırım sağlanamamakta ve elde edilen kepeklerde ekmeklik buğdaya göre daha fazla endosperm içeriği kalmaktadır. Endospermi oluşturan nişasta ağırlıklı karbonhidrat içeriğinin ise kepeğin fermente olabilirliliğine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Tarım ve Orman Bakanlığı 2018 yılı verilerine göre Kastamonu’da 45 bin dekar siyez ekimi yapılmıştır. Ortalama verimin 300 kg/dekar olduğu göz önünde bulundurulduğunda 45 bin dekar ekim alanından 13500 ton siyez buğday hasatı elde edilmiştir. Yalnızca Kastamonu ilinde hasat edilen buğdayların yarısının siyez bulguruna, diğer yarısının da una işlendiği düşünüldüğünde, selektör ve kavuz ayırma işlemlerinden geçirilmiş siyez buğdayından yaklaşık 1000-1250 ton siyez kepeği açığa çıktığı tahmin edilmektedir. Elde edilen siyez kepeğinin tamamına yakını ise hayvan yemi olarak satışa sunulmaktadır.

Ekmekçilik sektöründe kepek kullanımı eski ve yaygın bir uygulamadır. Türk Gıda Kodeksine göre bir ekmeğin “kepekli ekmeğin” olabilmesi için un ağırlığı üzerinden en fazla %30 kepek içermesi gereklidir. Bu amaçla ince buğday kepeği ekmeğe hamuruna yoğurma sırasında direkt olarak ilave edilmekte, hamurun su kaldırma oranı ve tekstürü üzerinde de etkili olmaktadır. Ekmekte ekşi maya (ekşi hamur) kullanımı ise ülkemiz başta olmak üzere pek çok ülkede kullanımı devam eden geleneksel ekmeğin yapımlarından biridir. Çok aşamalı spontan fermantasyon veya starter ilaveli fermantasyon ile hamurun ekşitilmesi metoduna dayanan bu yöntemde, temel olarak laktik asit fermantasyonu meydana gelmekle birlikte, mikrobiyotayı 1/100 oranında maya/laktik asit bakterilerinin (LAB) oluşturduğu bilinmektedir (Gobbetti vd., 1994). Bakterilerin çoğunu *Lactobacillus* cinsine ait türler oluştururken (Corsetti ve Settanni, 2007), maya popülasyonunun büyük bölümünün *Saccharomyces cerevisiae* olduğu bilinmektedir (Salovaara ve

Savolainen, 1984). Sonuçta laktik asitin yanı sıra önemli düzeydeki asetik asit, CO₂, alkol ve diğer uçucu bileşikler meydana gelmektedir (De Vuyst ve Neysen, 2005). Ekşi hamur fermentasyonu, homofermentatif ve heterofermentatif LAB'nin faaliyetine dayanmasına rağmen, metabolit oluşumunda maya ve LAB'leri arasındaki interaksiyonun etkili olduğu düşünülmektedir (Martinez Anaya vd, 1990). Yapılan çalışmalar, geleneksel ekşi maya üretiminde kepek kullanımının fermentasyonu teşvik ettiğini, asitliği arttırdığını, hem ekşi maya kütesini hem de kullanıldığı ekmek lezzet profilini zenginleştirdiğini ortaya çıkarmıştır (Katina vd., 2006). Ayrıca diyetle alınan kepekli gıdalar kalsiyum, potasyum, magnezyum, demir, çinko ve fosfor gibi elementler açısından da iyi bir mineral kaynak olmaktadır. Diğer taraftan minerallerin biyoyararlanımları, fitat ve myo-inositol hegzafosfat'ın varlığı ile sınırlı olabilmektedir (Poutanen vd., 2009). Ancak fermentasyon prosesiyle gelişen asitlik ve endojen enzim aktivitesindeki artış, antinutrientlerin yıkımında önemli bir araçtır (Hendek Ertop ve Bektaş, 2018). Yapılan bir araştırmaya göre kepeğin ön fermentasyonu ile LAB'leri, fitat parçalamasını %90'a kadar artırmakta ve bu artış özellikle magnezyum ve fosfor çözünürlüğünde meydana gelmektedir (Poutanen vd., 2009). Ekşi hamur fermentasyonu, tam tahıl unlarının mineral çözünürlüğünde etkili, ancak yalnızca kepek kullanımı durumunda daha az etkili bulunmuştur (Lioger vd., 2007).

Literatürde siyez ununun ekşi hamur üretiminde kullanımına dair oldukça az sayıda çalışma (Antognoni vd., 2017; Çakır vd., 2020) varken, siyez kepeğinin değerlendirilmesine dair araştırmaya ise rastlanmamıştır. Bu çalışma ile değirmencilik yan ürünü olarak önemli düzeyde ortaya çıkan siyez kepeğinin, endüstriyel kullanımı kabul görmüş ekmeklik buğday kepeğine alternatif olarak ekşi hamur üretiminde kullanımı değerlendirilmiştir. Hem ekşi maya üretimi için sektöre yeni bir hammadde, hem de günümüz tüketicilerinin katkısız, fonksiyonel ürün beklentilerine önemli bir alternatif sunulması hedeflenmiştir. Diğer taraftan yüksek düzeyde çıkan değirmencilik atık/yan ürününün

fermantasyonla insan beslenmesinde kullanılabilir forma dönüştürülmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Ekşi maya üretiminde kullanılacak siyez ve ekmeklik buğday kepekleri Üçbaşak un fabrikasından (Devrekani, Kastamonu) 2019 yaz döneminde hasat edilmiş buğdaylardan temin edilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan MRS agar, oksijen tutucu Anaerocult A ile diğer analizlerde kullanılan HNO₃, H₂SO₄, HCl, gibi kimyasallar Merck (Almanya)'dan, pepsin enzimi, C₆H₆O₂₄P₆Na₁₂ ve H₂O₂ ise Sigma Aldrich (Almanya)'dan temin edilmiştir.

Hamur Verimi

Ekşi hamur yapımında performansı etkileyen önemli faktörlerden bir tanesi de un/su oranıdır ve Hamur Verimi (HV) (Dough yield) değeri ile ifade edilir. Un ile yapılan çalışmalarda;

$$HV = \frac{(Kullanılan\ su\ miktarı + Kullanılan\ un\ miktarı)}{Kullanılan\ un\ miktarı} \times 100 \quad (1)$$

formülü (1) ile hesaplanan HV:200 değeri en iyi sonuçları verdiğinden dolayı (Chavan ve Chavan, 2011) bu çalışmada da 1:1 (su:kepek) oranı ile başlanmış, içerikleri birbirinden farklı iki buğday kepeği kullanılacağından dolayı uygun HV oranının tespit edilebilmesi için HV:200, 250, 300, 350, 400 oranlarında çalışmalar yapılmıştır

Spontan Fermentasyonla Ekşi Maya Üretimi

Çalışmada farklı HV oranlarındaki ekşi hamurların hazırlanmasında, kepek miktarı sabit tutularak (100g), HV:200 için 100 mL su; HV:250 için 150 mL su; HV:300 için 200 mL su; HV:350 için 250 mL su, HV:400 için de 300 mL su kullanılarak spontan fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 100 g kepek, 100 mL (HV:200 için) su ile homojen karışım yapılarak soğutmalı inkübatörde (JSR, Kore) 26 °C'de (Chavan ve Chavan, 2011) fermentasyona bırakılmıştır. Çok aşamalı (multiple-step) standart ekşi hamur üretiminde, hamurun iki veya üç defa yenilenmesi (Hansen, 2012), ve pH 4.0-4.5 düzeyinde olması istendiğinden 24 saat aralıkla kepek ekşi mayalarının pH değişimleri tespit edilmiştir. 24 saatlik fermentasyon sonrası HV oranının (200 için) bozulmaması için tekrar 100 g

kepek ve 100 mL su ilave edilip karışım yenilenerek, 26 °C de fermantasyona bırakılmıştır. Bu işlem 48.saat'te tekrar edilerek, fermantasyona 72 saat süreyle devam edilmiştir. Farklı HV oranlarına sahip ekşi hamurların her 24 saat'te pH gelişimleri zamana bağlı olarak belirlenmiştir.

Temel Bileşen Analizleri

Kepek numunelerinden 5 g tartılarak önceden 130 °C'de kurutulmuş darası alınmış kaplara konulmuştur. Etüvde 105 °C'de 12 saat kurutulduktan sonra, kurumadan önceki ve sonraki değerlerin kullanımıyla nem miktarı hesaplanmıştır (AACC Metod 44-19, 1990). Kepek örneklerin kül fırınında 600 °C'de beyaz kül oluşup sabit tartıma gelene kadar yakılmasıyla kül miktarı (%) belirlenmiştir (AACC Metod 08-03, 1990). Kjeldahl yöntemine göre yarı otomatik protein tayin cihazı kullanılarak kepek örneklerinin toplam azot içerikleri tespit edilmiş (AACC Metod 46-12, 1990), sonuçların ifadesi için 5.7 çevirme faktörü ile çarpılmıştır. Soxhlet yöntemi kullanılarak örneklerin toplam yağ içerikleri (AACC Metod 30-25.01, 1990) belirlenmiştir. Tüm değerler 2 paralel olarak çalışılmıştır. Yağ, rutubet, kül ve protein içerik toplamının 100'den çıkartılması ile genel karbonhidrat içeriği hesaplanmıştır. Kepek ekşi hamurlarında asitlik gelişiminin tespiti için pH metre probunun direkt karışıma batırılmasıyla ölçüm yapılmıştır.

Fitik Asit Tayini

0.06 g örnek 10 mL 0.1 N HCl ile 1 saat çalkalayıcıda çalkalanarak ve toplamda 24 saat aynı kaptaki bekletilerek ekstrakte edilmiştir. Bu ekstrakttan paralel olarak 2 adet test tüpüne 0.5 mL alınarak, 1 mL ferrik solüsyonu (23 µg/ml) ilave edilmiş ve ağızları kapalı olarak 105 °C'de kaynar su banyosunda 30 dak tutulmuştur. Tüpler buz banyosunda oda sıcaklığına hızla soğutulmuş, 2 mL 2,2-bipiridin çözeltisi (1%) ilave edilerek vorteks ile karıştırılmış ve 45 sn sonra küvetlere aktararak ve spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda optik yoğunluğu okuma yapılmıştır. Kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasında fitik asitin sodyum tuzu (C₆H₆O₂₄P₆Na₁₂) referans olarak kullanılmıştır. Stok çözelti 0.15 g sodyum fitatın 10 mL saf suda çözündürülmesi ile hazırlanmış,

referans solüsyon ise stok solüsyonun HCl ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır (3-30 µg/mL arasında) (Haug ve Lantzsch, 1983; Ahmad vd., 2013).

Biyoyararlanım

Örnek üzerine 25 mL pepsin çözeltisi (0.03 N HCl + 2 g pepsin) ilave edilip çalkalamalı inkübatörde 37°C'de 3 saat tutulmuş, süre sonunda her bir örnek standart külsüz filtre kâğıdından süzölmüştür. Filtre kâğıdında kalan kısım filtre kâğıdı ile birlikte kül fırınında yakılarak kül miktarı belirlenmiştir. Bulunan değer toplam kül miktarından çıkarılarak sindirilebilir kül miktarı bulunmuştur. Bu değerler kullanılarak aşağıdaki formüle göre mineral biyoyararlanım diğer bir ifadeyle Kül Sindirilebilirlik Oranı (KSO) hesaplanmıştır (2) (Saharan vd., 2001; Bilgiçli ve Türker, 2004; Bilgiçli vd., 2008).

$$KSO (\%) = \frac{\text{Sindirilebilir Kül Miktarı}}{\text{Toplam Kül Miktarı}} \times 100 \quad (2)$$

Mineral Madde Kompozisyonu

Ön yakma işlemi için HNO₃ (67 % v/v) ve H₂O₂ kullanılmıştır. İçerisinde farklı elementler bulunan standart stok çözeltisi kalibrasyon standartlarının hazırlanmasında kullanılmıştır. Örnekler mikrodalga yakma sistemi (Milestone MLS 1200, İtalya) kullanılarak yakılmış, bunun için küçük parçalar halinde sistemin teflon şişeleri içerisine tartılıp, üzerine HNO₃ ve H₂O₂ ilave edilmiştir. Ağızları kapatılarak sisteme yerleştirilen şişelere ön yakma (oda sıcaklığında) 15 dak., yükselme (1200 W'a 150 °C), 10 dak. sabit tutma (1200 W'da 150 °C'de), soğutma (30 dak.) 250W yakma programı uygulanmıştır. Örnek çözeltiler oda sıcaklığına soğutulduktan sonra mineral içeriğin tespiti indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ile gerçekleştirilmiştir.

Laktik Asit Bakteri Sayımı

Farklı HV oranları ile hazırlanan kepek ekşi hamurlarının 72 saat'lik fermantasyon sonunda LAB sayımı yapılmıştır. Bunun için 10 g örnek 90 mL steril fizyolojik tuzlu suda (FTS) homojenize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan 10⁻¹'lik seyreltiden 1'er mL 9 mL'lik FTS'lere aktararak diğer seyreltmeler yapılmıştır. Uygun

dilüsyonlardan MRS Agar besiyeri üzerine, 0.1'er mL yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri kutuları anaerobik kavanozda (Anaerocult A kullanılarak) 36.5 °C'de 2 gün süreyle inkübe edilmiş ve petri kutularındaki koloniler sayılmıştır (Gürgün ve Halkman, 1990).

İstatistiksel Analiz

Çalışmada, temel bileşen analizleri 2 paralel, mineral madde içerikleri 3 paralel olarak ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Analiz sonuçlarına ait

verilerin karşılaştırılmasında SPSS 17.0.1 programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US); çoklu veriler için ANOVA testi; ikili karşılaştırmalarda ise student-*t* testi ($p < 0.05$) kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Kepek Örneklerinin Temel Bileşen Özellikleri

Çalışmamızda kullanılan siyez kepeği ve ekmeklik ince buğday kepeğine dair kimyasal özellikler Çizelge 1.'de verilmiştir.

Çizelge 1. Kepek örneklerinin temel bileşenleri

Table 1. Main component of bran samples

	Rutubet (%) Moisture (%)	Kül (%) Ash (%)	Protein (%) Protein (%)	Yağ (%) Fat (%)	Karbonhidrat (%) Carbohydrate (%)	Fitik asit (mg/100g) Phytic acid(mg/100g)
Ekmeklik ince buğday kepeği <i>Fine wheat bran</i>	10.88±0.01	4.29±0.04	15.96±0.21	4.36±0.13	64.57±0.14	293.18±1.72
Siyez kepeği <i>Einkorn bran</i>	10.27±0.05	2.20±0.01	13.57±0.18	2.42±0.09	71.54±0.08	212.03±1.65
<i>p</i> değeri* <i>p value*</i>	0.010	0.012	0.056	0.043	0.013	0.013

* ($p < 0.05$) değerler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir

*($p < 0.05$) means that the values statistically different

Çizelge 1.'deki sonuçlara göre siyez buğday kepeğinin karbonhidrat içeriği yüksek bulunmuştur. Karbonhidrat içeriğinin lif ve nişastalı endospermden oluştuğu düşünülmektedir. Siyez buğdayı kepek ve endosperm fraksiyonlarının morfolojik olarak bitişik olması nedeniyle normal buğday değirmeninde öğütülememekte ve kabuk kısmı soyulamamaktadır. Bu nedenle kavuzu uzaklaştırılan siyez buğdayı tam buğday formunda taş değirmende öğütülmekte, daha sonra elek sistemlerinden geçirilerek kepeği ayrılmaktadır. Ancak bu süreçte kepek içeriğine önemli düzeyde unlu endosperm fraksiyonu da karışmaktadır. Kepek ile birlikte ayrılan endosperm kısmının ekşi hamur fermantasyonunu teşvik edeceği düşünülmektedir.

Çizelge 1.'de ince buğday kepeğinin özellikle kül miktarı açısından yüksek olduğu tespit edilmiş, buna istinaden her iki numunede de mineral madde dağılımları incelenmiştir (Çizelge 2.).

Ekmeklik buğday kepeğinin toplam kül içeriği gibi, mineral madde dağılımı da siyez kepeğinden daha yüksek ($p < 0.05$) bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda siyez buğdayı mineral madde içerikleri, buğdaydan daha yüksek bulunmasına rağmen (Hendek Ertop ve Atasoy, 2019), mineral maddelerin buğdayın farklı fraksiyonlarında lokalize olmalarından dolayı bu çalışmada farklı sonuç elde edilmiştir. Siyez kepeğinde daha fazla endosperm kalıntısı bulunması, tahıllarda özellikle kabukta yoğunlaşan mineral maddelerin oransal olarak düşük çıkmasına neden olmuştur.

Çizelge 2. Kepek örneklerinin mineral madde içerikleri
Table 2. Mineral content of bran samples

	Na (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	P (mg/kg)
Ekmeklik ince buğday kepeği <i>Fine wheat bran</i>	94.80±0.60	11820.40±21.60	2243.20±13.20	3301.00±18.80	10780.80±10.20
Siyez kepeği <i>Einkorn bran</i>	63.40±0.80	5201.20±18.20	714.60±4.40	899.40±4.20	4940.80±19.00
<i>p</i> değeri* <i>p value*</i>	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000
	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (µg/kg)	Se (µg/kg)
Ekmeklik ince buğday kepeği <i>Fine wheat bran</i>	115.80±0.60	145.60±0.00	99.80±0.40	8872.80±249.20	1418.60±159.40
Siyez kepeği <i>Einkorn bran</i>	55.40±0.20	20.80±0.00	39.00±0.20	<0.00	974.80±50.20
<i>p</i> değeri* <i>p value*</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.220

* ($P<0.05$) değerler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir*($P<0.05$) means that the values statistically differentÇizelge 3. Kepek örneklerinin elek analiz sonuçları
Table 3. Sieve analyses of bran samples

	425 µ üstü (%)	212 µ üstü (%)	212 µ altı (%)
Ekmeklik ince buğday kepeği <i>Fine wheat bran</i>	33.18±1.50	44.90±0.95	21.92±1.00
Siyez kepeği <i>Einkorn bran</i>	79.92±2.20	16.12±1.60	3.96±0.60
<i>p</i> değeri* <i>p value*</i>	0.020	0.021	0.035

Çizelge 3.'de görüleceği üzere siyez kepeğinin 425 µ elek üstü miktarı %79.92'dir, ekmeklik ince buğday kepeğinden çok daha büyük partikül büyüklüğüne sahiptir. 212 µ elek altı ve üstü fraksiyon oranları ise daha düşüktür. Bu sonuçlara göre ekşi maya hazırlama aşamasında örnek kepek materyallerimizin öğütülerek ve elenerek aynı partikül büyüklüğüne getirilmesi gerektiğine karar verilmiştir. Kepek örnekleri laboratuvar değirmeninde 425 µ'dan tamamen geçebilecek boyuta kadar öğütülmüştür.

Kepek Örneklerinin Fermantasyonu ve Ekşi Hamur Üretimi

Ekşi hamur yapımında performansı etkileyen önemli faktörlerden bir tanesi de un/su oranıdır ve Hamur Verimi (HV) değeri ile ifade edilmektedir. Literatürde undan HV:200 ile yapılan çalışmalarda en iyi sonuçların alındığı belirtildiğinden dolayı (Chavan ve Chavan, 2011) ön denemelere bu oranla başlanmıştır. Bu amaçla 100 g kepek+100 mL su (HV:200); 100 g kepek+150 mL su (HV:250); 100 g kepek+200 mL su (HV:300); 100 g kepek+250 mL su

(HV:350) ve 100 g kepek+300 mL su (HV:400) ile homojen karışım yapılarak 26 °C'de fermantasyona bırakılmışlar ve pH değerlerindeki değişim takip edilerek spontan fermente olabirlikleri değerlendirilmiştir. Siyez kepeği ve ince buğday kepek boyutları öğütülerek 425 µ'dan geçebilecek eşit boyuta getirilmelerine rağmen, farklı içeriğe sahip olmaları nedeniyle aynı miktarda su ile karıştırıldıklarında aynı su absorpsiyonunu göstermemişlerdir. Buğday

kepeği, yüksek düzeyde su absorbladığından dolayı HV: 200 ve 250 oranları ile ekşi hamur elde edilememiş, en az HV:300 ve üzeri oranlarda karışım yapılabilmiştir. Siyez buğday kepeğinin ise su absorblama niteliği daha düşük olduğundan dolayı literatürde buğday unu için de tavsiye edilen (Chavan ve Chavan, 2011) HV:200, 250 ve 300 oranlarında ekşi hamur hazırlanabilmiştir. Ayrıca daha yüksek düzeyde su kaldırmamış, HV: 300 üzerinde ekşi hamur elde edilememiştir.

Çizelge 4. Farklı HV oranlarına sahip ekşi mayaların zamana bağlı pH değişimleri, LAB, fitik asit ve biyoyararlanım değerleri

Table 4. pH, LAB digerstibility values and phytic acid content of the sourdough samples prepared with different Dough Yield (DY)

Zaman (saat) Time (hour)	Siyezkepeği Einkorn bran			Ekmeklik ince buğday kepeği Fine wheat bran		
	HV:200 DY:200	HV:250 DY:250	HV:300 DY:300	HV:300 DY:300	HV:350 DY:350	HV:400 DY:400
0	5.87±0.12 ^{a*}	6.08±0.10 ^a	6.00±0.19 ^a	6.02±0.19 ^a	5.97±0.14 ^a	6.07±0.17 ^a
pH 24	5.88±0.12 ^a	5.69±0.14 ^a	4.55±0.10 ^b	5.71±0.09 ^a	5.74±0.08 ^{ab}	5.80±0.11 ^a
48	4.41±0.04 ^b	4.46±0.09 ^b	4.20±0.078 ^b	5.27±0.37 ^a	5.18±0.09 ^b	5.35±0.08 ^a
72	3.87±0.02 ^c	3.63±0.22 ^b	3.27±0.07 ^c	4.89±0.14 ^a	3.67±0.13 ^c	3.71±0.21 ^b
LAB (kob/g)	6.10 ⁹	8.10 ⁹	5.10 ⁹	12.10 ⁹	10.10 ⁹	11.10 ⁹
Fitik asit Phytic acid (mg/100g)	190.98±0.01 ^a	155.14±0.01 ^b	69.47±0.02 ^c	108.56±0.01 ^c	85.92±0.01 ^d	68.44±0.01 ^f
Mineral Biyoyararlanım Mineral Digerstibility (%)	70.40 ^f	71.60 ^e	76.90 ^c	73.08 ^d	78.66 ^b	82.68 ^a

HV: Hamur verimi; LAB: Laktik asit bakteri sayısı

*Farklı harfler örnek değerleri arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$)

DY: Dough Yield; LAB: Counts of lactic acid bacteria

*Different letters means that the values statistically different between the samples ($p < 0.05$)

Ekşi Hamur Örneklerinin Nitelikleri

İlk aşamada belirlenen HV değerlerine göre hazırlanan siyez ve ince buğday kepekleri ile hazırlanan ekşi karışımları 26 °C'de fermantasyona bırakılarak pH değerlerindeki değişim saptanmıştır (Çizelge 4). Ekşi hamurlarda zamana bağlı olarak gelişen fermantasyonla birlikte pH değerlerinde düşüş meydana geldiği, özellikle 72 saat sonunda, pH değerlerinin

başlangıç değerlerine göre istatistiki olarak da farklı ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Gerek siyez kepeği gerekse buğday kepeği kendi içinde değerlendirildiğinde HV oranının yükselmesinin yani ekşi hamurdaki su oranının artırılmasının pH düşüşünü teşvik ettiği belirlenmiştir. Bu durum Çizelge 4.'de 72 saat sonunda aynı buğday kepeklerinin farklı HV oranlarına ait pH değerlerinde açıkça görülmektedir. HV:300

oranında hazırlanmış siyez ve ince buğday kepekli ekşi hamurların 72 saat sonundaki pH düzeyleri karşılaştırıldığında ise siyez kepeği ile hazırlanan örneğin pH seviyesi çok daha düşük (pH:3.27) bulunmuştur. Çakır vd. (2020) yaptıkları çalışmada, siyez unu ve buğday unundan çok aşamalı fermantasyon ile ürettikleri ekşi hamurlardaki asitlik gelişimini incelemişler, aynı süre sonunda siyez buğday unu ekşi hamurundaki pH düzeyinin (3.35), buğday unu ekşi hamurundan (3.47) daha düşük olduğunu bulmuşlardır.

72 saat sonunda kepek ekşi hamur örneklerinin tümünde yapılan laktik asit bakteri (LAB) sayımı sonucunda 10^9 kob/g düzeyinde LAB tespit edilmiştir. Gıdada starter olarak kullanılacak kaynağın 10^7 kob/g düzeyinde mikroorganizma içermesi beklendiğinden, elde edilen sonuca göre kepekli ekşi hamur örneklerinin tamamı ekmeğe hamuruna ilave edilebilecek yeterli mikrobiyotaya düzeyine 24 ve 48. saatlerde yapılan iki yenileme ve toplam 72 saatlik fermantasyon sonucu ulaşmıştır. Ekşi hamurlarla yapılan farklı çalışmalarda LAB içeriğinin 10^5 - 10^9 düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Çakır vd., 2020; Hendek Erto vd., 2018; Lönner vd., 1986)

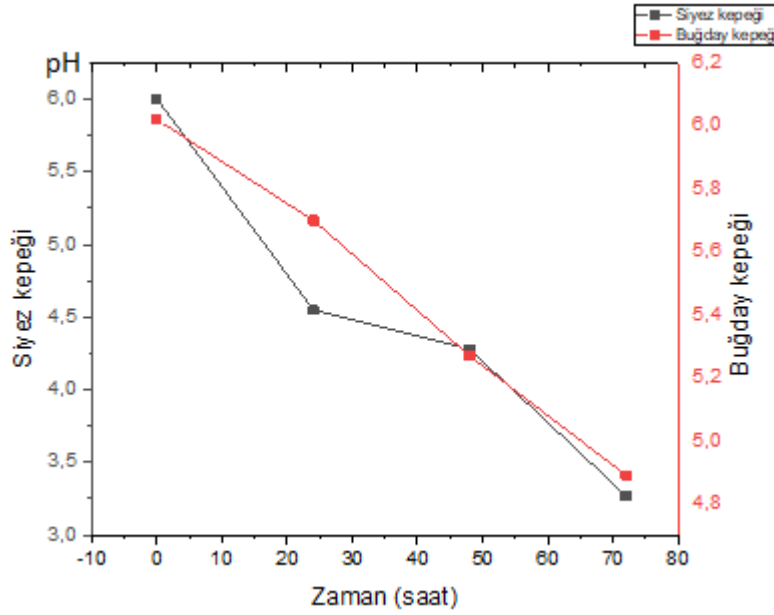
Çalışma başlangıcında fitik asit içerikleri siyez kepeği için 212.03 mg/100g, ince buğday kepeği için 293.18 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Örneklerin 72 saat sonunda fitik asit düzeyleri karşılaştırıldığında, ekşi hamur hazırlamada HV düzeyi yükseldikçe yani su oranı arttıkça fitik asit düzeylerinin de azaldığı, diğer bir ifadeyle fitik asit degradasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4). Özellikle HV: 300 oranlı (kepek 100: su 200 oranı) siyez kepekli ekşi hamurda fitik asit düzeyinin 69.47 mg/100 g düzeyine kadar düştüğü tespit edilmiştir. Aynı HV oranında ince buğday kepeği ekşi mayasında ise 108.56 mg/100g düzeyinde bulunmuştur. İşlem görmemiş kepeklerdeki fitik asit düzeyleri (Siyez kepeği: 212.03 mg/100g, Buğday kepeği: 293.18 mg/100g) göz önüne alındığında fermantasyon ile fitik asit düzeylerinde düşüş sağlandığı açıkça görülmektedir. Benzer şekilde ince buğday kepeğinden üretilen ekşi hamurlarda da su miktarının artmasına bağlı olarak fitik asit

düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiş, HV:400'de 68.44 mg/100 g olarak saptanmıştır. Fermantasyonun, tahıl tanelerindeki antinutrientlerin seviyesini azaltan buna bağlı da *in-vitro* proteinlerin sindirebilirliğini artıran (Elhag vd., 2002), minerallerin biyoyararlanım oranını yükselten (Badau vd., 2005) önemli bir uygulama olduğu da bilinmektedir. Bu çalışmada da azalan fitik asit düzeyine bağlı biyoyararlanım oranlarında artış olduğu tespit edilmiştir. Bir antinutrient olan fitik asitin 6 fosforlu myo-inositol halka yapısının, tahıllarda zaten kısıtlı olan çinko ve demir gibi minerallere karşı bağlayıcı ve biyoyararlanımı kısıtlayıcı bir etmen olduğu bilinmektedir (Hendek Erto vd., 2020).

Fermantasyon süresince etkili en önemli mikroorganizmalar LAB'leri ve mayalardır. Fermantasyonda LAB tarafından glikoz kullanımı ile üretilen laktik asit ve diğer organik asitler ile, mayalar tarafından oksijensiz ortamda alkol fermantasyonu ile üretilen CO₂ gazının suda çözünmesi ile oluşan karbonik asit ortam asitliğinin artmasına neden olur. Bu da fitik asidin yıkımı için doğal ortam ve optimum pH koşullarının oluşmasını (Haard vd.,1989) sağlar. Buna bağlı olarak fitik asit ve diğer bazı antinutrient bileşiklerin miktarında azalış meydana gelmektedir. Gobbetti vd. (2014), fermantasyon prosesi ile artan asitliğin, fitik asidin degradasyonunu sağlayan fitaz enziminin aktif olduğu pH 4.0-6.0 ortamını da oluşturduğunu bildirmiştir. Leenhardt vd. (2005), ise ekşi hamur fermantasyonunda LAB'nin oluşturduğu asitlikle ortam pH'nın 5.5 değerinin altına düştüğünü, artan fitaz aktivitesi sayesinde buğday unundaki fitik asit içeriğinin % 70 oranında azaldığını bildirmiştir. Fitik asitin yıkımında etkili fitaz enzimi kaynağının tanedeki pasif endojen fitazlar olabileceği gibi fermantasyonda çoğalarak ortam mikrobiyotasını oluşturan LAB ve mayaların mikrobiyal fitazları da olabileceği belirtilmektedir (Poutanen vd., 2009). Dolayısıyla fermantasyonla fitik asitte meydana gelen azalışın fermantasyon sırasında mikroorganizmaların direkt veya dolaylı etkilerinden kaynaklandığı söylenebilir (Gupta vd., 2015). Diğer taraftan fitik asitin yıkılmasında fermantasyon süre ve koşullarının da önemli olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada % 2

maya oranına sahip hamurda 3 saat fermantasyon sonucu fitat fosforunun yaklaşık % 25 oranında azaldığı, feremantasyon süresi 5 saate çıkarıldığında ise fitat fosforun % 27 oranında degrade olduğu belirtilmiştir (Tangkonchitr vd., 1981). Ekmek yapım prosesinde ise fitazın, fitik

asidi % 60'a kadar azalttığı rapor edilmiştir (Erdal vd., 1998). Farklı bir araştırmada da kepeğe uygulanan ön fermantasyonla LAB'nin, fitatları % 90'a kadar parçalayabildiği, özellikle Mg ve P iyonlarının çözünürlüğünde etkili artış meydana geldiği belirtilmiştir (Poutanen vd., 2009).



Şekil 1. HV:300 oranında siyez ve buğday kepeği ekşi hamurlarının zamana bağlı pH değişimleri
Figure 1. Time-dependent pH changes of the sourdough samples (Dough Yield:300) prepared with einkorn and fine wheat bran

Aynı kepek ve su oranına sahip olmaları nedeniyle HV:300 oranında siyez kepeği ve buğday kepeğinden hazırlanan ekşi hamurların 26 °C'de fermantasyonlarındaki pH değişimleri incelendiğinde (Şekil 1), siyez kepeği ekşi mayasında özellikle ilk 24 saatten sonra çok daha hızlı ve kesikli olmayan bir pH düşüşü izlendiği görülmektedir. 72 saat sonunda nihai pH değerleri arasında büyük fark olmamakla birlikte Siyez kepeği ekşi hamurunun (3.27) buğday kepeğinden (4.89) daha düşük pH değerine sahip olduğu da tespit edilmiştir.

SONUÇ

Çalışmamızda siyez kepeği ile ekşi maya üretiminin mümkün olduğu, spontan fermantasyon sonucu ince buğday kepeği ile hazırlanan ekşi maya ile aynı LAB düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Diğer taraftan daha az su

absorbe ettiğinden dolayı buğday unu için tavsiye edilen oranda yani HV:200 düzeyinde siyez kepeğinden ekşi maya üretiminin mümkün olduğu belirlenmiş, ince buğday kepeği ise yüksek oranda su çektiğinden dolayı en düşük HV:300 oranında ekşi maya hazırlanabileceği belirlenmiştir. Siyez kepeğinin değirmen çıkışında teknolojik ve morfolojik nedenlerle iri endosperm parçaları içermesi nedeniyle direkt kullanıma uygun olmadığı, ekmek fırınlarında ekşi maya üretilerek ekmek hamuruna ilave edilebilmesi için ilave bir öğütme işlemi ile inceltmesi gerektiği düşünülmektedir. Tahıl ve baklagil kepek/kavuz tabakalarında yüksek düzeyde bulunan ve besinsel biyoyararlılığı kısıtlayan önemli antinutrientlerden olan fitik asitin siyez ekşi hamurunda daha yüksek düzeyde yıkıma uğradığı da belirlenmiştir. Çalışmada, artan HV oranına yani su içeriğindeki artışa bağlı olarak kepek ekşi

mayalarında fitik asit içeriklerinin azaldığı, fermantasyonla degrade olduğu biyoyararlanımların ise arttığı tespit edilmiştir. Artan su içeriğine bağlı olarak LAB sayılarında önemli bir değişim tespit edilmemekle birlikte pH değerlerinin daha fazla düştüğü belirlenmiştir. Fitik asit degradasyonunda ortam asitliğindeki artışa bağlı olarak fitaz enzim aktivitesinin artışının etkili olduğu düşünülmektedir. Fermantasyon hem fitik asit gibi antinutrientlerin degradasyonunu sağlamakta, hem de gıdalardaki besinlerin biyoyararlanımını da arttırmaktadır. Dolayısıyla diyet lif ve mineral madde takviyesi nedeniyle gıdalara ilave edilen kepek fraksiyonuna kullanım öncesi fermantasyon işlemi uygulamasının, kullanıldığı gıdalarda düşük fitik asit içeriğine bağlı olarak, protein/mineral biyoyararlanımında da artış sağlayacağı öngörülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların, başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma FÖ ve MHE tarafından tasarlanmış ve analizleri gerçekleştirilmiştir. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okuyarak onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Fatmanur Örü'nün lisans bitirme proje ödevinden üretilmiştir. Bu proje 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Desteği Programı kapsamında TÜBİTAK-BİDEB tarafından da desteklenmiştir. Yazarlar TÜBİTAK-BİDEB'e teşekkürlerini sunarlar.

KAYNAKLAR

AACC. (1990). American Association of Cereal Chemists International, Approved Methods of the AACC (8th ed.), The Association: St.Paul, MN, USA.

Ahmad, I., Mohammad, F., Zeb, A., Rasool Noorka, I., Akber Jadoon, S. (2013). Determination and inheritance of phytic acid as marker in diverse genetic group of bread wheat. *Am J Mol Biol*, 3:158-164. doi: 10.4236/ajmb.2013.33021

Antognoni, F., Mandrioli, R., Bordoni, A., Di Nunzio, M., Viadel, B., Gallego, E., Villalba, M.P., Tomás-Cobos, L., Taneyo Saa, D.L., Gianotti, A. (2017) Integrated evaluation of the potential health benefits of einkorn-based breads. *Nutrients*, 9 (11): 1232. doi:10.3390/nu9111232.

Badau, M. H., Nkama, I., Jideani, A.I. (2005). Phytic acid content and hydrochloric acid extractability of minerals in pearl millet as affected by germination time and cultivar. *J Food Chem*, 92: 425-435, doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.006

Bilgiçli, N., Türker, S. (2004). Tarhanada sindirilebilir protein ve kül miktarı üzerine maya, malt unu ve fitaz katkılarının etkileri1. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (33): 90 – 97.

Bilgiçli, N., Elgun, A., Türker, S. (2006). Effects of various phytase sources on phytic acid content, mineral extractability and protein digestibility of tarhana. *Food Chem*, 98: 329–337. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.078

Brandolini, A., Hidalgo, A., Moscaritolo, S. (2008). Chemical composition and pasting properties of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) whole meal flour, *J Cereal Sci*. 47: 599–609, doi: 10.1016/j.jcs.2007.07.005

Chavan, R.S., Chavan, S.R. (2011). Sourdough Technology—A traditional way for wholesome foods: A Review. *Food Sci Food Saf*, 10: 170-183. doi:10.1111/j.1541-4337.2011.00148.x

Çakır, E., Arıcı, M., Durak, M.Z., Karasu, S. (2020). The molecular and technological characterization of lactic acid bacteria in einkorn sourdough: effect on bread quality. *J Food Meas Charact*, 14: 1646–1655. doi: 10.1007/s11694-020-00412-5.

De Vuyst, L., Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Technol*, 16:43-56, doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012

Elhag, M. E., El Tinay A. H., Yousif, N. E. (2002). Effect of fermentation and dehuling on starch, total polyphenols, phytic acid content and in vitro protein digestibility of pearl millet, *Food Chem*, 77: 193-196, doi: 10.1016/S0308-8146(01)00336-3

- Erdal, I., Yılmaz, A., Kalaycı, M., Çakmak, I., Hatipoğlu, F., (1998). Effect of Zinc fertilization on phytic acid-zinc molar ratios in different wheat cultivars grown in central anatolia GAP regions, The First National Zinc Congress, Ankara, Turkey.
- Gobbetti, M., Corsetti, A., Rossi, J. (1994). The sourdough microflora: Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of amino acids. *J Microbiol Biotechnol*, 10: 275-279, doi:10.1007/BF00939035
- Gobbetti, M., Rizzello, C.G., Raffaella Di Cagno, Maria De Angelis. (2014). How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiol*, 37: 30-40, doi: 10.1016/j.fm.2013.04.012
- Gupta, R. K., Gangoliya, S. S., Singh, N. K. (2015). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *J Food Sci Technol*, 52(2): 676-684, doi: 10.1007/s13197-013-0978-y.
- Gürgün, V., Halkman, K. (1990). Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:7, Ankara.
- Haard, N., Odunfa, S. A, Lee, C. H., Quintero-Ramirez, A., Lorence Quinones, A., Wachter-Radarte, C. (1989). Fermented Cereals: A Global Perspective, FAO, *Agricultural Service Bulletin*, 138.
- Hansen, A.S. (2012). Sourdough Bread. In: *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology*, Hui, Y.H. (chief ed.), CRC Press; 2nd Edition, the USA, pp.493-515.
- Haug, W., Lantsch, H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytic acid in cereals and cereals products. *J Sci Food Agric*, 34: 1423-1426, doi: 10.1002/jsfa.2740341217.
- Hendek Ertop, M., Bektaş, M. (2018). Enhancement of bioavailable micronutrients and reduction of antinutrients in foods with some processes. *J Food Health Sci*, 4(3): 159-165. doi: 10.3153/FH18016
- Hendek Ertop, M., İlter, Ş.M., Yılmaz, F., Baltacı, C., Gündoğdu, A. (2018). Quality properties of wheat breads incorporated with dried sourdoughs produced with different fermentation and drying methods. *Food Sci Technol Res*, 24 (6): 971-980, doi: 10.3136/fstr.24.971.
- Hendek Ertop, M., Atasoy, R. (2019). Comparison of physicochemical attributes of einkorn wheat (*Triticum monococcum*) and durum wheat (*Triticum durum*) and evaluation of morphological properties using scanning electron microscopy and image analysis. *J Agric Sci*, 25 (2): 93-99, doi: 10.15832/ankutbd.539009.
- Hendek Ertop, M., Bektaş, M., Atasoy, R. (2020). Effect of cereals milling on the contents of phytic acid and digestibility of minerals and protein. *Ukr Food J*, 9(1):136-147. doi:10.24263/2304-974X-2020-9-1-12.
- Hidalgo, A., Brandolini, A. (2012). Lipoygenase activity in wholemeal flours from *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*. *Food Chem*, 131: 1499–1503, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.09.132.
- Hidalgo, A., Brandolini, A. (2014). Nutritional properties of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.). *J Sci Food Agric*, 56:382–394. doi: 10.1002/jsfa.6382.
- Katina, K., Salmenkallio-Marttila, M., Partanen, R., Forsell, P., Autio, K. (2006). Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *LWT Food Sci Technol*, 39: 479–49, doi: 10.1016/j.lwt.2005.03.013.
- Leenhardt, F., Levrat-Verny, M. A., Chanliaud, E., Remy, C. (2005). Moderate decrease of ph by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *J Agric Food Chem*, 53: 98-102, doi: 10.1021/jf049193q.
- Lioger, D., Leenhardt, F., Demigne, C., Remy, C. (2007). Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. *J Sci Food Agric*, 87: 1368–1373, doi:10.1002/jsfa.2862.
- Lönner, C., Welender, T., Molin, N., Dostalek, M. (1986). The microflora in a sourdough started spontaneously on typical swedish rye meal. *Food Microbiol*, 3: 3-12, doi: 10.1016/S0740-0020(86)80019-3.

Martinez-Anaya, M.A., Pitarch, B., Bayarri, P., Benedito de Barber, C. (1990). Microflora of the sourdoughs of wheat flour bread. X. interactions between yeasts and lactic acid bacteria in wheat doughs and their effects on bread quality. *Cereal Chem*, 6: 85-91.

Poutanen, K., Flander, L., Katina, K. (2009). Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiol*, 26: 693-699, doi: 10.1016/j.fm.2009.07.011.

Saharan, K., Kheterpaul, N., Bishnoi, S. (2001). HCl-extractibility of minerals from ricebean and fababean: Influence of domestic processing

methods. *Innov Food Sci Emerg*, 2: 323-325, doi:10.1016/S1466-8564(01)00044-3.

Salovaara, H., J. Savolainen. (1984). Yeast type isolated from Finnish sour rye dough starters. *Acta Aliment Polonica*, 10: 241-245.

Tangkonchitr, U., Seib, P.A., Hosney, R. C. (1981). Phytic acid I. Determination of three forms of phosphorus in flour, dough and bread. *Cereal Chem*, 58(3): 226-228.



SÜRDÜRÜLEBİLİR ET ÜRETİMİ İÇİN YENİLİKÇİ YAKLAŞIMLAR

Kezban Candoğan*, Gizem Özdemir

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

Geliş / Received: 10.12.2020; Kabul / Accepted: 03.03.2021; Online baskı / Published online: 15.03.2021

Candoğan, K., Özdemir, G. (2021). Sürdürülebilir et üretimi için yenilikçi yaklaşımlar. *GIDA* (2021) 46(2) 408-427 doi: 10.15237/gida. GD20137.

Candoğan, K., Özdemir, G. (2021). Sürdürülebilir et üretimi için yenilikçi yaklaşımlar. GIDA (2021) 46(2) 408-427 doi: 10.15237/gida. GD20137.

ÖZ

Geleneksel et üretiminin iklime, doğaya ve dolayısıyla çevreye olan olumsuz etkisi, et ürünlerine olan talebin sürdürülebilir boyutlarda karşılanabilmesi için bazı yeşil teknolojiler, yapay et, böcek proteini ve et analogları gibi yenilikçi uygulamaları gündeme getirmiştir. Et endüstrisinde genetik seçilime uğramış, verimi yüksek hayvan üretiminin ve nesnelerin interneti teknolojisi kullanılarak çevrimiçi sürü takibinin yapılabildiği, etkili atık bertarafına sahip akıllı çiftlik tasarımları yaygınlaşmaktadır. Sınırlı kaynakların verimli kullanılması ilkesiyle üretilen hammaddenin çevre dostu yenilikçi işleme ve muhafaza teknolojileriyle et tedarik zincirinde yer alması da çiftlikten çatala sürdürülebilir et teminini sağlayabilecek uygulamalardandır. Geleceğin umut veren gıdası olarak görülen, ancak, sağlık üzerine etkileri yeterince araştırılmamış, yüksek maliyetli yapay etin, alternatif protein kaynağı olarak böceklerin veya et analoglarının tüketiminin yaygınlaştırılması gibi çözüm yollarının ise tüketici kabul edilişli sınırlıdır. Gelecek nesillerin yaşam kalitesinin artırılmasında, güncel araştırmalara konu olan yenilikçi yeşil uygulamaların, ekonomik, sosyal ve çevresel sürdürülebilirlik ilkeleri göz önünde bulundurularak bütünsel yaklaşımla sektöre kazandırılması sektördeki tüm paydaşların sorumluluğudur.

Anahtar kelimeler: Sürdürülebilir et üretimi, Akıllı çiftlikler, Yenilikçi teknolojiler, Yapay et, Böcek proteini, Et analogları

NOVEL APPROACHES FOR A SUSTAINABLE MEAT PRODUCTION

ABSTRACT

The impact of traditional meat production on the environment has prompted the search for alternative production approaches geared towards sustainable operations. Examples of these novel approaches so-called green technologies include artificial meat, meat analogs, new protein sources like from insects. In the meat sector, smart farms where online herd monitoring is performed using Internet of Things technology are becoming widespread. These farms use genome-wide selection approaches producing high yield animals. To process the raw material produced with these systems using innovative processing and preservation technologies is a promising way to ensure a meat supply in a sustainable framework. Artificial meat, meat analogs and the usage of meat protein alternatives have limited consumer acceptance. These innovative green and sound approaches should be better integrated into the meat sector considering the positive impact on social, economic and sustainability principles. These new opportunities should be embraced by consumers as a good way to improve the

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: candoğan@eng.ankara.edu.tr,

☎: (+90) 312 203 33 00

☎: (+90) 312 317 87 11

Kezban Candoğan; ORCID no: 0000-0002-6721-8835

Gizem Özdemir ORCID ID: 0000-0002-1213-8977

quality of life while protecting the environment through sustainable production of meat and meat-like products.

Keywords: Sustainable meat production, Smart farms, Innovative technologies, Artificial meat, Insect protein, Meat analogs

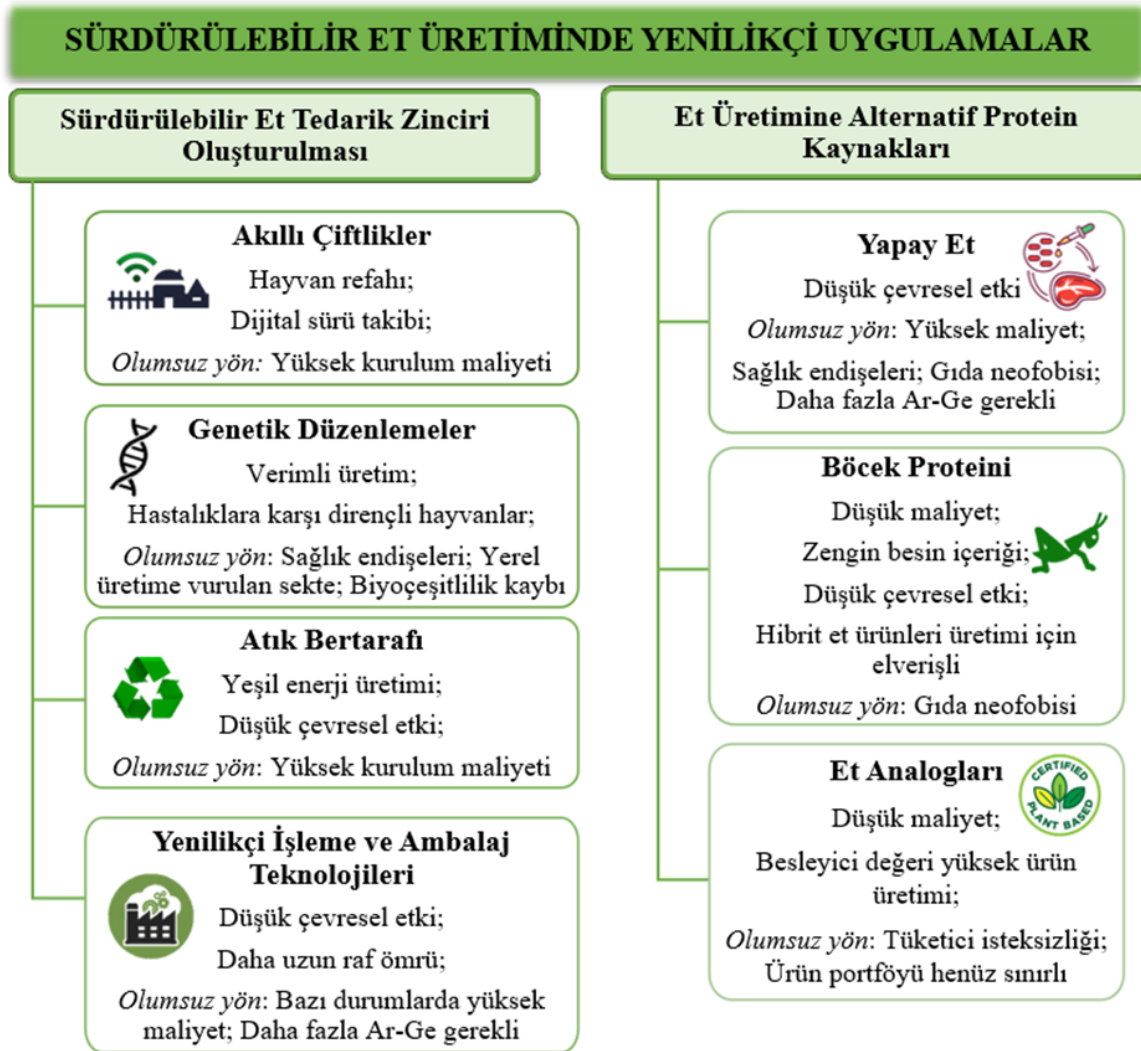
GİRİŞ

Gıda sektöründe küresel açlık, yetersiz beslenme, gıda güvenliği gibi artan dünya nüfusunun getirdiği sorunlara karşı sürdürülebilir çözüm yolları sağlamanın önemi günden güne artmaktadır. “Günümüzün kaynaklarını kullanarak hayata devam ederken gelecek nesillerin de bu konuda aynı olanaklara sahip olabilmeye yeteneğini koruyabilmek” şeklinde tanımlanan sürdürülebilirlik kavramı 1987 yılında Birleşmiş Milletler Genel Kurulu’na sunulan “Ortak Geleceğimiz” isimli raporla hayatımıza girmiştir (Anonymous, 1987). Çevresel, toplumsal ve ekonomik faktörlerin dengelendiği bir gelecek için gerekli olan sürdürülebilirlik, üreticilerin, bu konuda oluşturulan yasal zorunluluklara uyma gerekliliği, müşteri ve yatırımcı taleplerini karşılayabilme, kamuoyu güvenini sağlayabilmeleri ve çevrenin korunabilmesi konusundaki endişeleri giderme gerekliliğinden dolayı daha da fazla önem kazanmıştır (Gedik, 2020).

Yapılan araştırmalara göre gıda ürünlerine yönelik küresel talebin, 2012 ile 2050 yılları arasında %35-50 oranında artacağı tahmin edilmektedir (FAO, 2019). Bu talebi karşılamak için bilinçsizce atılan adımlar doğal kaynakları tüketirken, iklim değişikliği, su kirliliği, biyolojik çeşitlilik kaybı gibi olumsuz çevresel etkiler ortaya çıkarmaktadır. Hayvancılık sektörü de küresel çapta et tüketiminde görülen kaçınılmaz artışa paralel olarak tesislerinin ölçeklerini sürekli artırmakta, genellikle sürdürülebilir olmayan koşullar altında üretim yapmakta ve pek çok çevresel soruna neden olmaktadır (OECD-FAO, 2019). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü’nün (FAO), hazırlanmış olduğu rapora göre küresel hayvancılıktan kaynaklanan sera gazı emisyonu miktarı yıllık 7.1 gigaton CO₂ eş değeri ile tüm insan kaynaklı sera gazı emisyonunun %14.5’ini temsil etmektedir (FAO, 2013). Diğer taraftan, küresel tatlı suyun %20’sini kullanan hayvancılık sektörünün üretim faaliyetleri sonucu ortaya çıkan atıkların su kaynaklarına karışması ise su

kirliliğinin başlıca nedenlerinden biridir (Krauß vd., 2016). Verimli tarım arazilerinin tarım yerine büyük ölçekli hayvancılığın kullanımına sunulması nedeniyle et üretimi için kullanılan buzsuz karasal arazi miktarı, küresel karasal arazi miktarının %35’ini kapsamaktadır (FAO, 2019).

Hayvancılık sektörünün neden olduğu çevresel stresin artması, kaynakların verimsiz kullanılması gibi olumsuz etkiler, hayvan refahı konusundaki endişeler, et tüketimi sonucu ortaya çıkan salgın hastalıklar gibi nedenlerden dolayı üreticiler doğa ile daha uyumlu ve sürdürülebilirlik ilkesine uygun şekilde üretim gerçekleştirebilecek yeni uygulamalara yönelmiştir. Bir insanın sağlıklı bir hayat sürdürebilmesi için kilogram başına günlük yaklaşık 1.6 gram olan protein ihtiyacını tükettiği gıdalardan sağlanması gerekmektedir (Schoenfeld ve Aragon, 2018). Bu açıdan tüketicilerin et ve et ürünlerine olan ve gün geçtikçe katlanarak artan talebinin karşılanması için gündemde olan alternatif uygulamalardan akla ilk gelenler yapay et, böcek proteini ve et analogları gibi protein kaynakları ile ikamedir. Ayrıca, çevresel yönden olumsuz imaja sahip geleneksel et üretim yöntemlerinin yerine, hayvan refahı ile uyumlu, minimum olumsuz çevresel etki ilkesine göre işleyen yenilikçi et üretim, işleme ve muhafaza sistemlerinin kullanılmasının da sürdürülebilir et üretimi üzerinde etkin bir rol oynayacağı öngörülmektedir. Bu çalışmada, et sektöründe sürdürülebilir üretim için geleceğe yönelik yenilikçi yeşil çözüm yolları; geleneksel uygulamaların gözden geçirilerek sosyal, çevresel ve ekonomik hedeflerle bütünleştiği sürdürülebilir tedarik zinciri sağlanması için geliştirilen sistemler ve geleneksel ete olan talebin azaltılmasında et alternatifi yenilikçi yaklaşımlar olmak üzere iki başlık altında (Şekil 1), güncel araştırmalara yer verilerek irdelenmiştir.



Şekil 1. Et üretiminde sürdürülebilir, yenilikçi yaklaşımların şematik özeti

SÜRDÜRÜLEBİLİR ET TEDARİK ZİNCİRİNİN OLUŞTURULMASI

Hayvancılık sektöründe gözlenen büyümenin yol açtığı çevresel etkilerin ve hayvan refahı ile ilgili etik endişelerin geçmişten günümüze birincil protein kaynağı olarak benimsenen et ürünlerine yüklediği olumsuz imaj nedeniyle, sürdürülebilir üretimin teminini amaçlayan çözüm yolları ortaya konulmuştur. Ete olan ihtiyacın azaltılabilmesi için protein kaynaklarını çeşitlendirmek, bir başka deyişle alternatif protein kaynakları aramak akla gelen ilk çözüm olsa da yüzyıllardır süregelen insan alışkanlıklarını değiştirmek oldukça zor olacaktır. Bu yüzden araştırmacılar, çevre dostu hayvan yetiştirme sistemleri ve yenilikçi et işleme

teknolojileri ile hayvancılık endüstrisinin neden olduğu sürdürülemez koşulları tersine çevirme fikrini ortaya atmışlardır (Andonovic vd., 2018).

Akıllı Çiftlikler

Akıllı endüstriyel sistemlerin kurulmasına zemin sağlayan endüstri 4.0 devriminin en büyük getirisi olan nesnelerin interneti (Internet of Things: IoT) sayesinde sürdürülebilir koşullar altında, hayvan refahı ilkeleriyle uyumlu üretim yapan, çevreci ve akıllı çiftlik tasarımlarının hayata geçirilmesi mümkün hale gelmiştir. Endüstriyel reformun itici gücü olan IoT teknolojisi temelde, sensörler, kameralar, cep telefonları ve bilgisayarlar gibi teknolojik ürünlerin birbiri ile etkileşime geçerek,

ortak bir hedefe ulaşmak için uyumlu çalışmalarını sağlayan yenilikçi bir teknolojidir (Pan vd., 2016). Binlerce hayvanı bünyesinde barındıran büyük ölçekli çiftliklerde, her hayvanın hareketinin, yem tüketiminin, gebelik sürecinin ve hastalık durumunun tek tek takip edilmesi oldukça zordur. Bu zorluklara karşı getirdiği çözümlere ek olarak, maliyeti düşürüp, kaynakların verimli kullanılmasını sağlayan, dolayısıyla üretimin artırılmasını amaçlayan hassas sürü yönetim sistemlerinin (Precision Livestock Farming) kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Geleneksel çiftliklerde her bir hayvanın düzenli takibinin yapılamamasından dolayı sürüdeki tek bir hayvanda görülen bulaşıcı hastalığın fark edilememesi tüm sürüyü etkilerken, bu sorunun ortaya çıkmasını önlemek için aşırı antibiyotik kullanımına başvurulabilmektedir. Toplum sağlığını riske atan bu uygulamaların yerini alan hassas sürü yönetim sistemleri sayesinde hayvanların yaşadığı ortam, sağlık ve beslenme durumları izlenerek, sürü sağlığının korunması hedeflenir (Zin vd., 2020). Sosyal, ekonomik ve çevresel olarak sürdürülebilir hayvancılığı teşvik eden bu uygulama aynı zamanda, hayvanların bireysel kapasitesinden en yüksek oranda yararlanmak, koruyucu sağlık önlemleri ile ilaç kullanımını en aza indirmek ve hastalık durumunda erken teşhis ile sürüyü korumak gibi amaçlara da hizmet eder (Vranken ve Berckmans, 2017). Bu sistemler, çiftlik içerisine yerleştirilen kameralar, mikrofonlar ve sensörler (3D ivmeölçer, sıcaklık ve nem sensörleri vb.) ile ortam koşullarının izlenebilirliğinin sağlanmasına, hayvanların kulaklarına, boyunlarına ya da ayak bileklerine takılan akıllı bileklikler sayesinde de kas, boyun ve bilek hareketlerinin verilere dönüştürülmesine olanak tanır. Hayvanlar çiftliklerde kurulan baz istasyonlarının alıcı alanlarına her girdiğinde ölçülen veriler IoT teknolojisi kullanılarak kablosuz olarak ana bilgisayara indirilir. Böylece, her hayvandan elde edilen veriler, bulut tabanlı yazılım ortamında sürekli izlenebilir hale gelmektedir (Andonovic vd., 2018). Normal davranış kalıplarını çıkaran bu akıllı bileklikler, normallikten sapma gibi durumlarda ise hemen çiftçiye uyarı mesajı göndererek, çiftçilerin sürülerini uzaktan izleyip

gerektiğinde erken müdahale yöntemlerini kullanmalarını kolaylaştırmaktadır.

Gerçek dünyada hayata geçirilmek istenen bir sistemin, sanal dünyada kopyasını yaratmayı sağlayan dijital ikiz teknolojisi, 2002 yılında Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi'nin (NASA) çalışmaları sonucu ortaya çıkmış, IoT teknolojileri sayesinde de kullanımı yaygınlaşmıştır. Gerçek zamanlı bir simülasyon olarak da tanımlanan dijital ikiz teknolojisi, sonuçları merak edilen bir uygulamanın gerçek hayatta test edilmesinin maliyetli olacağı durumlarda, istenilen analizlerin sanal ortamda oluşturulan dijital ikiz üzerinde uygulanıp sonuçlarının görülebileceği, sanal ortamda testleri tamamlanan ve stabilizasyonu sağlanan uygulamanın daha sonra gerçek dünyaya aktarılabilceği bir sistemdir. Bu sistem sayesinde yenilikçi teknolojilerin uygulamaları ve sonuçlarının izlenmesi hızlandırılırken, gerçek hayatta sistemlerin stabilizasyonunun sağlanması için gerekli olan yüksek maliyetli denemeler de ortadan kaldırılmış olacaktır (Fuller vd., 2020). Jo vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, çiftliklere yerleştirilen sensörler ve hayvanlara takılan akıllı bileklikler ile toplanan verilerin dijital ortama aktarılmasıyla hayvancılık endüstrisinde dijital ikiz teknolojisinin uygulanabilirliği araştırılmış; bu teknoloji sayesinde gelecekte çiftlikler üzerinde yenilikçi teknolojilerin daha hızlı uygulanabileceği, çiftliklerin izlenebilirliğinin artırılarak hayvan refahı konusundaki endişelerin azaltılabileceği ve yeni teknolojiler denenirken ortaya çıkabilecek ek maliyetin düşürülebileceği belirtilmiştir.

Hollandalı araştırmacılar, çiftliklerin boyutlarının büyütülmesi nedeniyle işgal edilen tarım arazilerini özgür bırakmak, yeni tarım arazileri yaratabilmek için tahrip edilen ormanların ve doğal yaşamın korunmasını sağlamak adına dikey çiftlik fikrini ortaya atmışlardır. Bu çiftlikler teoride neredeyse kendi kendine sürdürülebilir, çok katlı bir yapı bünyesinde binlerce besi hayvanını barındıran ve bu hayvanların hayvan refahı ile tamamen uyumlu bir şekilde stres faktörlerinden uzakta yaşayabilmelerini amaçlayan çiftlikler olarak tasarlanmıştır (Driessen ve Korthals, 2012). Gerçek dünyada ortaya çıkabilecek yüksek

malîyetler ve olumlu sonuç elde edilip edilemeyeceğinin belirsizliği nedeniyle hayata geçirilemeyen bu çiftliklerin, dijital ikiz teknolojisi ile sanal ortamda kurulup, sistem gereklilikleri ve optimizasyonu sağlandıktan sonra gerçek dünyada faaliyete geçirilebileceği öngörülmektedir.

Genetik Düzenlemeler

Et ve et ürünlerine olan talebin karşılanmasında hayvan sayısını artırmak yerine yüksek kesim ağırlığına, maksimum büyüme oranı ve optimum düzeyde karkas bileşimine sahip genetik seçilime uğramış besi hayvanı üretmek, hayvancılık endüstrisinin çevresel etkilerinin azaltılmasında önemli bir rol oynayabilir (Grandin, 2019). Geçmişten günümüze kadar yapılan genetik çalışmalar sonucunda, domuzlarda yavru üretimi %50 oranında artarken, dünyaya gelen yavruların yağsız et miktarlarında yerel ırklara göre %37'lik artış gözlenmiştir. Ayrıca bu hayvanlarda 1 kg yem tüketimi sonucu alınan et verimi geçmiştekine göre iki katına çıkmıştır. Kanatlı üretiminde yapılan yapay seleksiyon ile tavukların 2 kg ağırlığa gelmesi için gereken süre 100 günden 40 güne düşürülmüştür. Seçici üreme sonucu elde edilen tavukların yem tüketim oranları yarıya inerken, göğüs eti miktarları %12'den %20'ye yükselmiş, yılda elde edilen yumurta miktarı da %30 oranında artmıştır. Sığır endüstrisinde ise yapay seleksiyon süt veriminin %67 oranında artmasını sağlamıştır (Tait-Burkard vd., 2020). Yapılan genetik çalışmalar, günümüzde daha az hayvan sayısı ile yüksek verimli üretim yapılabilmesine, genetik seçilime uğramış yüksek verimli hayvanlar kullanılarak yem tüketiminin azaltılabilmesine olanak tanımaktadır. Böylece, çiftliklerin kapasitesinin artırılması nedeniyle artan tarım arazisi kullanımının ve yüksek hayvan sayısı nedeniyle çevreye salınan sera gazı emisyon miktarının azaltılması da mümkün olacaktır. Diğer taraftan, yapay seleksiyonun yerel üretime sekte vurması ve biyoçeşitlilik kaybına neden olması, karşıt gruplar tarafından sürdürülebilirliğe aykırı bir durum olarak değerlendirilmektedir (Tisdell, 2003).

Atık Bertarafı

Güncel teknolojilerle donatılmış modern akıllı çiftliklerin, geleneksel çiftliklere göre artan enerji

ihtiyacının karşılanabilmesi için yenilikçi sürdürülebilir enerji kaynaklarının kullanımını içeren çevre dostu tasarımlar mevcuttur. Hızlı bir büyüme gösteren dünya nüfusuna paralel olarak artan enerji talebini karşılamada yenilenemeyen enerji kaynaklarından olan fosil yakıtlar artık yetersiz kalmaktadır. Bu yakıtların hava kirliliği, küresel ısınma gibi olumsuz çevresel etkilere sahip olmasından dolayı alternatif sürdürülebilir enerji kaynaklarının araştırılması önem kazanmıştır. Çiftliklerde günlük tonlarca üretimi gerçekleştirilen hayvansal atıkların alternatif yenilenebilir bir biyoenerji kaynağı olma potansiyeli mevcuttur. Biyogaz, hayvansal atıklardan anaerobik bir ortamda mikroorganizmaların organik maddeleri parçalaması temeline dayanarak üretilir (Cremiato vd., 2018). Bu işlem sonucunda digestat adı verilen ve organik gübre olarak sera yetiştiriciliğinde kullanım potansiyeline sahip bir katı yan ürün oluşur. Elde edilen biyogaz, çiftliğin üretim yapabilmesi için gerekli olan elektrik enerjisinin temininde kullanılabilir (Khalil vd., 2019). Bunun yanı sıra, et üretimi sonucu oluşan kan, kemikler, traş atıkları, mekanik ayrılmış et gibi atıkların kollajen başta olmak üzere protein hirolizat ve biyoaktif peptitlerin üretiminde değerlendirilmesi de gündemde olan sürdürülebilir üretime katkıda bulunabilecek uygulamalardır (Mora vd., 2014).

Yenilikçi İşleme ve Ambalaj Teknolojileri

Et ve et ürünleri gibi çabuk bozulan gıdalarda, gıda kaynaklı patojenlerin varlığı göz önüne alındığında riskleri etkili bir şekilde azaltmak ve ortaya çıkabilecek gıda israfını önlemek; ayrıca, tüketicinin iyi kalitede, güvenli ve uzun raf ömrüne sahip minimum düzeyde işlenmiş, taze gıda talebini karşılamak amacıyla birtakım yenilikçi işleme ve muhafaza teknolojileri geliştirilmiş ve bunlardan bazıları endüstride kullanılmaya başlamıştır. Yüksek hidrostatik basınç, vurgulu elektrik alan, soğuk plazma, ultrases, radyofrekans, mikrodalga, ohmik ısıtma gibi uygulamalar sürdürülebilir yenilikçi et işleme ve muhafaza teknolojileri olarak öne çıkmaktadır. Bu teknolojiler, ürün kalite özelliklerini koruyarak raf ömrünü uzatmanın yanı sıra, sağladıkları minimum çevresel etki ve düşük enerji sarfıyatı ile

de sürdürülebilirlik açısından tüketici beklentilerini karşılayan gıdaların üretimini gerçekleştirebilmektedir. Et teknolojisinde en fazla uygulama alanı bulan yüksek hidrostatik basınç (HPP), gıda kaynaklı patojenlerin inaktivasyonu için yüksek basınç (100-1000 MPa) uygulamasına dayanan ısı olmayan bir gıda koruma teknolojisidir (Barbosa-Cánovas vd., 2020; Singh vd., 2020). Gıdalarda organoleptik özelliklerde istenmeyen değişikliklere neden olmadan mikroorganizmaları öldürme yetkinliğine sahip olan vurgulu elektrik alan teknolojisi, 2 elektrot arasına yerleştirilen gıdaya kısa süreli, yüksek voltajlı elektrik uygulanması işleminden oluşur. Son yıllarda vurgulu elektrik alan teknolojisinin et ürünlerinde kullanımına dair gerçekleştirilen çalışmalar mevcuttur (Bhat vd., 2019; Dong vd., 2020; Ghosh vd., 2020). Soğuk plazma teknolojisi, et endüstrisini ilgilendiren gıda kaynaklı patojenlere karşı geniş bir aktivite yelpazesine sahip yeni bir uygulama olarak ele alınmaktadır. Bu teknoloji kullandığı reaktif oksijen-nitrojen türleri, ultraviyole (UV) radyasyon ile mikroorganizmaların hücre zarlarında ve DNA yapısında bozulmalara neden olarak mikrobiyal gelişimin kontrol altına alınmasına olanak tanır. Ayrıca, soğuk plazma uygulamasının nitrit içeriği azaltılmış et ürünleri üretimine alternatif olabileceği de bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Lee vd., 2017; Jo vd., 2020). Etlerde verim ve su tutma kapasitesini artırmak, tekstürü iyileştirmek amacıyla kullanılabilen ultrases teknolojisi, 20 kHz-100 MHz arasında değişen ses dalgalarının yarattığı kavitasyon nedeniyle mikroorganizmaların hücre duvarlarını parçalayarak inaktive etmektedir (Alarcon-Rojo vd., 2019). Isıl gıda teknolojileri içerisinde yer alan ohmik ısıtma ise gıdanın içerisinden alternatif elektrik akımı geçirilerek ürünün ısıtılması işlemine dayanır (Singh vd., 2020). Bu alternatif yenilikçi teknolojilerin, gıda sektöründe yüksek kalite ve düşük karbon ayak izine sahip “temiz” etiketli gıda ürünlerinin üretimine getirdikleri yenilikçi bakış açısı nedeniyle gelecekte geleneksel gıda işleme teknolojilerinin yerini almaları beklenmektedir.

Et ve et ürünlerinin depolama ve nakliyesinde kolaylık sağlayan ambalajlar, aynı zamanda ürünün

raf ömrünü uzatarak, kalite özelliklerinin korunması, üzerinde yer alan etiket ile tüketiciye bilgi sağlama ve ürüne dikkat çekici bir özellik kazandırarak ticarileşmesini kolaylaştırmak gibi amaçlara hizmet etmektedir. Plastics Europe’un hazırlanmış olduğu rapora göre 2018 yılında Avrupa’da üretilen 62 milyon ton plastiğin %39.9’u ambalaj sektöründe hammadde kaynağı olarak kullanılmıştır (Anonymous, 2019a). Günümüzde sürdürülebilirlik kavramının üretimin her aşamasına entegre edilmesi ile biyolojik olarak bozunamayan, geri dönüşümü oldukça zor ve maliyetli olan fosil bazlı ambalaj atıklarının neden olduğu çevre kirliliğinin önlenmesi zorunlu hale gelmiştir. Uzun raf ömrü ve kullanım kolaylığı sağlayan geliştirilmiş işlevsel özelliklere sahip ambalaj materyallerinin biyolojik olarak parçalanma veya geri dönüşüm kabiliyetine odaklanılmıştır. Bu bağlamda, biyobozunur ya da yenilebilir ambalaj materyallerinin et sektöründe kullanımının yaygınlaştırılması önem arz etmektedir.

ET ÜRETİMİNE ALTERNATİF OLABİLECEK PROTEİN KAYNAKLARI

Hayvansal proteine alternatif olabilecek protein kaynaklarının çeşitlendirilmesi geleneksel et üretimine olan talebi azaltarak, hayvancılık sektörünün neden olduğu olumsuz etkilerin ortadan kaldırılabilmesi için çözüm sunabilir. Bu amaçla, et analogları, yapay et ve böcek proteini gibi alternatif protein kaynakları üzerinde gerçekleştirilen araştırmalar artarak devam etmektedir. Geliştirilen ürünlerin besin değeri ve duyuşal özellikler açısından, geleneksel üretilen etin özelliklerine denk olabilmesi, geleneksel etten alınan hazza ulaşılması konusunda halen çalışmalar yürütülmektedir.

Yapay Et Üretimi

Geleneksel et üretiminin olumsuz çevresel etkilerinin önüne geçilebilmesi için ortaya çıkan alternatif uygulamalardan biri, hayvan kesimi yapılmadan hücresele tarım yöntemleri ile bir kültür ortamında hayvansal kök hücrelerden üretilen “in vitro et”, “kültür eti” ya da “temiz et” olarak da adlandırılan yapay et üretimidir (Bryant ve Barnett, 2018; Broad, 2020). İlk olarak 2013 yılında, kültür eti kullanılarak üretilen hamburger

köftesi ile tanıtımı yapılan yapay et, hayvancılığın neden olduğu çevresel stresin azaltılabilmesi için umut vadeden bir çözüm olarak doğmuştur (Fernandes vd., 2019).

Yapay et, sıcaklık ve nem kontrollü bir biyoreaktör içerisinde, uygun besiyeri kullanılarak donör hayvanların kas dokusundan elde edilen kök hücrelerin iskele yapı üzerinde geliştirilmesi ilkesine dayanır (Post, 2012; Fernandes vd., 2019; Zhang vd., 2020a). Laboratuvar koşullarında üretimi gerçekleştirilen yapay etin, güvenilir ve sürdürülebilir bir alternatif olarak tüketilebilmesi için geleneksel etin görünüm, koku, doku ve tat gibi özelliklerini taklit edebilmesi gerekmektedir. İskelet kası ve yağ dokusu oluşturmak için gerekli tüm teknolojiler geliştirilmiş olsa da bu zorlu bir süreçtir (Melzener vd., 2020). Günümüzde halen endüstriyel üretimi sağlanamayan yapay etin, kas dokusunun gelişme ortamının çeşitlendirilmesi, üretim koşullarının optimize edilmesi ve tüm sürecin finansal olarak uygulanabilir hale getirilmesi gibi aşması gereken zorluklar mevcuttur (Bonny vd., 2015). Kas hücrelerinin üzerinde çoğalıp, farklılaşabildiği memeli bileşenlerinden oluşan bir yapıya sahip iskelenin, hayvansal bileşenlerden üretilmesinin sürdürülebilirlikle bağdaşmadığını savunan Orellana vd. (2020), ana bileşeni somon jelatini, aljinat ve agaroz olan yenilebilir film yapısında, memeli bileşenlerine bağlı kalmadan sürdürülebilir olarak üretimi mümkün olan yeni bir iskele üretmişlerdir. Acevedo vd. (2018), yapay et üretim süresini kısaltmak için yapmış oldukları çalışmalarda, kas hücrelerinin üzerinde çoğalabildiği yenilebilir film formundaki iskelelerin üretimini sağlayabilecek mikro kalıpları geliştirmişlerdir. Bu mikro kalıplar ile üretilen iskeleler sayesinde, kas hücrelerinin iki katına çıkma süresi 18 saate kadar düşürülmüştür. Bodiou vd. (2020), tıp alanında yaygın olarak kullanılan mikro taşıyıcıları, ilk kez kas kök hücrelerinin gelişimini teşvik edebilecek şekilde modifiye etmişlerdir. Böylece, hücre kültürünün gelişimi hızlandırılarak, yapay et üretim süresinin kısaltılması mümkün olmuştur. Xueliang vd. (2020), üretim aşamasındaki yapay etin gelişimini sağlayacak sıcaklık kontrollü ortam olarak tanımlanan biyoreaktörler üzerinde çalışmışlardır.

Geliştirilen yeni tip air-lift biyoreaktör sayesinde 300 m³lük tek bir reaktör ile 75.000 ailenin et ihtiyacının yapay et ile karşılanabileceği sonucuna varılmıştır. Üretim maliyetlerinin düşürülebilmesi ve yapay ete ulaşılabilirliğin artırılması adına 3D biyoyazıcılar ile yapay et üretimi üzerine de araştırmalar mevcuttur (Dick vd., 2019; Handral vd., 2020). Tüm bu çalışmalar, gelecekte yapay etin sürdürülebilir koşullarda büyük ölçekli endüstriyel üretiminin gerçekleştirilebileceğini göstermektedir.

Yapay etin, sınırlı birkaç örnek dışında henüz ticarileştirilmediği için, çevresel etkileri konusunda belirsizlik taşınmasına rağmen, araştırmacılara göre geleneksel çiftliklerde üretilen etin çevresel etkilerinden daha düşük bir etkiye neden olacağı öngörülmektedir. Tuomisto ve Mattos (2011), büyük ölçekli yapay et üretiminin olası çevresel etkilerini değerlendirmek için gerçekleştirdikleri yaşam döngüsü analizinde (life-cycle assessment: LCA), 1000 kg yapay et üretebilmek için 26.33 gj enerji, 367-521 m³ su, 190-230 m² arazi gerektiğini ve çevreye 1900-2240 kg CO₂ eş değeri sera gazı emisyonunun yayıldığını tespit etmişlerdir. Yapay et üretimi için hesaplanan bu miktarların Avrupa'da geleneksel yolla üretimi gerçekleştirilen etin çevresel etkileri ile kıyaslandığında oldukça düşük olduğu görülmüştür (Tuomisto ve Mattos, 2011). Tuomisto ve Roy (2012)'un yapmış oldukları diğer bir çalışmada ise, Avrupa'da geleneksel yolla üretilen etin yerini yapay et alırsa, sera gazı üretiminin mevcut et üretimine kıyasla %98.8, arazi kullanımının %99.7 ve su kullanımının %94 oranında azalacağı öngörülmüştür.

Olumlu çevresel etkilerinin yanı sıra yapay etin üretimi aşamasındaki koşulların kontrolü sağlanabildiğinden, et bileşiminde bulunan yağ kompozisyonunun düzenlenmesi ve kalitesinin iyileştirilmesi mümkün olacaktır. Böylece, et tüketimi sonucu ortaya çıkması olası kardiyovasküler hastalıkların önüne geçilebilecek, vitaminler gibi sağlık üzerine avantajlı etki sağlayabilecek besin öğelerinin bileşime dahil edilmesi ile fonksiyonel et üretimi gerçekleştirilebilecektir (Korhonen, 2002; Post, 2012). Ayrıca pestisit, arsenik, dioksin gibi toksik

bileşikler, geleneksel et ile ilişkilendirilen hormonlar ve antibiyotiklere maruz kalma riskleri azalacaktır (Bryant ve Barnett, 2018).

Gelecekte endüstriyel boyutlardaki üretiminin kaçınılmaz olacağı düşünülen yapay et konusunda gerçekleştirilen tüketici anket çalışmalarının bazıları Çizelge 1’de verilmiştir. Bu çalışmalarda, yapay et tüketmekten kaçınan bireylerin bu kararı, kişisel kaygıları, doğal olmayan yapı nedeniyle

duyulan sağlık endişeleri, yüksek fiyat, gıda güvenliği, tüketim sırasında beklenen gerçek et tadının sağlanamayacağı gibi konulardaki çekincelerinden dolayı aldıkları görülmüştür. Anket çalışmalarına göre yapay et tüketimi konusunda olumlu görüş bildirenler bu kararı, hayvan refahı, çevresel stresin azaltılabilmesi ve sürdürülebilirliğin gerekliliği konusunda duydukları kaygılardan dolayı aldıklarını belirtmişlerdir (Bryant ve Barnett, 2018).

Çizelge 1. Ülkelere göre yapay et tüketimi konusunda yapılan seçilmiş tüketici anketleri

Ülke / Katılımcı Sayısı	Ankette Yapılan Açıklama	Öne Çıkan Kavramlar		Kaynak
		Olumlu	Olumsuz	
Brezilya / 626 katılımcı	Yapay et konusunda açıklayıcı bir video ile bilgilendirme yapılmıştır.	-Hayvan refahı -Çevrenin korunması	-Satın alınabilirlik -Etik kaygı -Araştırma eksikliği	(Valente vd., 2019)
İtalya / 525 katılımcı	Yapay etin üretim yönteminden bahsedilmiş; yapay et üretiminin daha verimli olduğunu kanıtlamak için bir üniversitenin çalışmasına ait veriler kullanılmış; yapay etin geleneksel etle benzerliğini tanımlamak için “gerçek et” ifadesi kullanılmıştır.	-Hayvan refahı -Gıda güvenliği -Çevrenin korunması -Sürdürülebilirlik	-Lezzet -Besleyicilik -Gıda güvenliği	(Mancini ve Antonioli, 2019)
ABD / 480 katılımcı	Kültür etinin üretim yönteminden, gerçek ete benzer tada ve besleyiciliğe sahip olduğundan bahsedilmiş; “temiz et”, “in vitro et”, “kültür eti” gibi ifadeler kullanılmıştır.	-Lezzet -Güvenlik	-Maliyet	(Bryant ve Dillard, 2019)
Dominik Cumhuriyeti, İspanya / 401 katılımcı	Katılımcılara bilgilendirme yapılmamıştır.	-Çevrenin korunması -Hayvan refahı -Besleyicilik	-Gıda güvenliği -Fiyat -Lezzet	(Gomez-Luciano vd., 2019)
İsviçre / 313 katılımcı	Genetiği değiştirilmiş et/balık, yenilebilir kaplama/film, yapay et/süt ve sentetik gıda katkı maddelerinin üretim yöntemleri konularında bilgilendirme yapılmıştır.	- Besleyicilik	-Doğal olmayan yapı	(Egolf vd., 2019)
Almanya / 713 katılımcı	Yapay etin üretim yöntemi anlatılmış; hayvan refahına katkısı ve henüz süper market ya da kasaplarda yer almadığı belirtilmiş; tanımlamalar yapılırken “in vitro et”, “sentetik et” “kültür eti” gibi isimler kullanılmıştır.	-Hayvan refahı -Çevresel etkiler	-Doğal olmayan yapı -Fiyat	(Weinrich vd., 2020)
Çin / 1004 katılımcı	Yapay etin üretiminden, sağlık üzerine faydalarından ve sağlayacağı olumlu çevresel etkilerden bahsedilmiştir.	-Çevrenin korunması -Gıda güvenliği	-Tat -Besleyicilik -Gıda güvenliği -Sağlık	(Zhang vd., 2020b)
Hollanda / 193 katılımcı	Hayvancılık sektörünün neden olduğu olumsuz çevresel etkilerden, yapay etin üretim yönteminden, tüketim için güvenilir, besin değerinin, tadının, kokusunun ve görünüşünün gerçek et ile benzer olduğundan bahsedilmiştir.	-Çevrenin korunması -Hayvan refahı -Lezzet -Gıda güvenliği	-Fiyat -Aşına olmama duygusu	(Rolland vd., 2020)

Böcek Proteinleri

Yaşamın devamlılığı için elzem olan protein kaynaklarına karşı artan talebin sürdürülebilir yollarla karşılanabilmesinde son yıllarda dikkatleri çeken tüketilebilir böcekler alternatif bir çözüm yolu sunmaktadır. Avrupa Gıda Parlamentosu ve Konseyi'nin 2015/2283 sayılı yönetmeliğine göre, 1 Ocak 2018'den itibaren tüketilebilir böcekler bir gıda haline gelmiştir (Ademek vd., 2018). Batı ülkelerinde yaşayan insanlar protein ihtiyaçlarını genellikle hayvansal kökenli gıdalardan karşılama eğilimindeyken, protein kaynağı olarak böcek tüketimini yoksulluk ile ilişkilendirmektedirler (Looy vd., 2014). Tüketilebilir böcekler, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde hayati bir besin kaynağı olmakla beraber, gıda kültürlerinde de önemli bir yer tutmaktadır (Tang vd., 2019). Entomofaji olarak adlandırılan böcek tüketimi, Kuzey Amerika ve Avrupa'da yeni bir kavram olmasına rağmen, Afrika, Asya ve Güney Amerika gibi bölgelerde yaşayan 2 milyar insan için alışkanlık gösteren bir tüketim türüdür (Venne vd., 2017).

Yüksek protein içeriği ve üretim maliyetlerinin düşüklüğünden dolayı birçok ülkede Çircır (*Acheta domesticus*), bal arısı (*Apis mellifera*), ipek böceği (*Bombyx mori*), tırtıl (*Imbrasia belina*), Afrika hurma kurdu (*Rhynchoporus phoenicis*) ve un kurdu (*Tenebrio molitor*) dahil olmak üzere altı yaygın ticari yenilebilir böcek türünü üretmek için böcek yetiştirme tesisleri kurulmaktadır (Tang vd., 2019). Bu tesislerde üretilen böceklere, fiziksel temizlikten sonra dondurarak kurutma ile ötenazi işlemi uygulanır. Dondurularak kurutulmuş böcekler bu işlemten sonra paketlenir ya da kavurma, öğütme gibi ileri işlemlere de tabii tutulabilir (Venne vd., 2017). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), her ne kadar aroma kaybına neden olsa da güvenlik nedeniyle ısı işlem uygulanmasını önermektedir (Ademek vd., 2018).

Yapılan araştırmalara göre gıda olarak tüketim için uygun olan böceklerin, 100 gramındaki protein oranı %7 ile %48 arasında değişirken, bu oran sığır etinde %19 ile %26 arasındadır. Tüm yaşam evrelerinde zengin bir protein kaynağı olan

böcekler, olgunlaşmamış formları olan pupa ve larva iken zengin aminoasit ve yağ asidi içeriğinden dolayı tercih edilir. Tek bir böcekte var olan ham protein oranı, kuru ağırlık bazında %40-70 arasındadır. Mevcut protein izolösün, lösin, lizin, fenil alanin, treonin, valin, arjinin, histidin ve tirozin gibi elzem amino asitleri yeterli düzeyde içermektedir (Tang vd., 2019). Böcekler erken yaşam evrelerinde yüksek oranda sağlıklı yağ asidi içeriğine sahipken, yetişkinliğe ulaştıklarında bu oran %20'nin altına düşmektedir. Larvalarda doymuş yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asitleri genellikle tüm yağların %80'inden fazlasını oluşturmaktadır (Sales-Campos vd., 2013). Sığır etinin yağ kompozisyonu ile karşılaştırıldığında böcekler, kardiyovasküler hastalıkların önüne geçebilmek için umut vadetmektedir. Ayrıca böcekler, gelişme ve sağlık için gerekli olan A, B1, B12, C, D, E, K vitaminlerini sağlayabilecek düzeyde vitamin kaynağı iken, demir, magnezyum, mangan, fosfor, potasyum, selenyum, sodyum ve çinko gibi çeşitli mineraller açısından da oldukça zengindir (Rumpold ve Schluter, 2013; Kouřimská ve Adámková, 2016). Özellikle batı ülkelerinde tüketici kabulü oldukça düşük olan, ambalajlanmış böcekler ve sporcu beslenmesinde kullanılan süt bazlı protein tozlarına içerik olarak iyi bir alternatif sağlayan yağsız böcek tozları süpermarket raflarında yerlerini almıştır (Venne vd., 2017). Yüksek protein içeriğine rağmen böcek tüketimi konusunda oluşan neofobinin nedenlerini açıklayabilmek için yapılan anket çalışmalarına göre katılımcılar, böceklerin tüketime uygun bir gıda olabileceği konusunda duydukları önyargı, hoşnutsuzluk ve isteksizlik nedeniyle bu ürünleri tüketmekten kaçınmaktadırlar (Venne vd., 2017; Orsi vd., 2019; Poortvliet, 2019; Woolf vd., 2019). Formülasyona duyuşal özelliklerde değişikliğe yol açmayacak oranlarda böcek proteinleri dahil edilerek hibrit et ürünleri üretimi de böceklerin alternatif kullanımları içinde yer almaktadır. Bu amaçla farklı oranlarda böcek tozları ilave edilerek üretilen hibrit et ürünlerinin fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikler açısından incelendiği çalışmalar Çizelge 2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2. Böcek proteini tüketimi ile ilgili yapılan yenilikçi çalışmalar

Böcek Proteini / Ürün	Formülasyonlar	Bulgular	Kaynak
Un kurdu larvası (<i>Tenebrio molitor</i>) ve ipek böceği pupası (<i>Bombyx mori</i>) unları / Sosis	- Kontrol: %60 yağsız domuz eti, %20 buz, %20 sırt yağı - Böcek unlu emülsiyonlar: Böcek unu ile %10 yağsız domuz eti ikamesi	- Böcek unlarının formülasyona ilave edilmesi ile daha yüksek pH değeri, daha yüksek P, K, Ca, Mg, Zn, Mn ve protein içeriği, daha düşük nem içeriği, daha sert yapı, daha koyu renk oluşumu	(Kim vd., 2016)
İpek böceği pupası (<i>Bombyx mori</i>) tozu / Transglutaminaz (TG) ilaveli et hamuru	- Kontrol: %85 domuz eti, %15 su, %1.5 NaCl ve %1 transglutaminaz - %5, %10 ve %15 ipek böceği pupası ilave edilmiş gruplar	- İpek böceği pupası ilaveli gruplarda daha düşük nem, daha yüksek pH değeri, viskozite, protein ve mineral içeriği, daha koyu renk ve daha sert bir yapı	(Park vd., 2017)
Cırcır böceği (<i>Acheta domestica</i>) unu / Et emülsiyonu	- Kontrol: %60 yağsız domuz eti, %20 sırt yağı, %20 buz, %2 tuz - Böcek unlu emülsiyonlar: Yağsız domuz eti ve/veya sırt yağının %5 ile %10 oranında ikame edilmesi	- %5 ve 10 Cırcır böceği unu ikamesi ile protein içeriği ve sertlik artmış, %10 Cırcır böceği unu ikamesi ile nem içeriği azalmıştır.	(Kim vd., 2017)
Öğütülmüş sarı un kurdu (<i>Tenebrio molitor</i> L.) larvaları / Frankfurter sosis	- Kontrol: %50 domuz jambonu, %25 sırt yağı, %25 buz - Öğütülmüş böcek emülsiyonları: Domuz jambonu ile %5, %10, %15, %20, %25, %30 oranında ikame edilmesi	- Sarı un kurdu ilavesi ile üretilen sosislerde daha düşük emülsiyon stabilitesi, nem ve yağ içeriği; daha yüksek pH değeri, protein ve kül içeriği; daha koyu renk - %15'e kadar sarı un kurdu ilavesinin ürün yapısında olumsuz etkisi görülmemiştir.	(Choi vd., 2017)
Siyah asker sineği (<i>Hermetia illucens</i>) larvası (BSFL) konsantresi / Viyana tipi sosis	- Kontrol: Yağsız domuz eti, sırt yağı, tuz, baharat, soya konsantresi, nişasta, lesitin - Böcek konsantresi içeren emülsiyonlar: %34 BSFL, %31 BSFL ve %28 BSFL	- Tüm örneklerde benzer kül ve yağ içeriği - BSFL ilave edilmiş formülasyonlarda daha düşük nem ve protein içeriği - Soğuk depolamada kontrol sertliğini korurken, BSFL gruplarının sertliği azalmıştır.	(Bessa vd., 2019)
Öğütülmüş solucan larvası (<i>Zophobas morio larvae</i>) (ZM) / Hibrit et hamuru	- Böcek model sistemi: %100 ZM - Et model sistemi: %100 domuz sırt eti (DSE) - Hibrit model sistemi: %75 ZM + %25 DSE %50 ZM + %50 DSE %25 ZM + %75 DSE	- Hibrit model sistemler böcek modeli sistemlerine kıyasla daha iyi viskoelastik özellik; benzer su tutma kapasitesi ve dokusal özellik göstermiştir.	(Scholliers vd., 2020)

Protein kaynağı olarak böcek tüketimi beslenme dışında çevresel, ekonomik, tarımsal avantajlara da sahiptir (Gravel vd., 2020). Böcek yetiştirmek için gerekli olan yem ve su ihtiyacı et üretimi amacıyla hayvan yetiştirmek için ihtiyaç duyulan miktardan oldukça azdır. Böcekler, tüketim için

yetiştirilen hayvanlara oranla daha yüksek yenilebilir ağırlık yüzdesine sahiptir. Bir cırcır böceğinin %80'ini tüketilebiliyorken, bir tavuğun %55'i, bir sığırın ise %40'ının tüketilebildiği bildirilmiştir. Bu oranlar yenilebilir böceklerin daha verimli olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca,

böceklerin yavru üretme kapasitesi, geleneksel hayvancılıktan oldukça yüksektir. Örneğin, bir cırcır böceği bir ayda 1500 yumurta üretebilir (Venne vd., 2017). Böceklerin bu hızlı üreme yeteneği sayesinde kısa sürede büyük miktarlarda protein tedariki sağlanarak, hayvansal protein kaynaklarına olan ihtiyacın bir miktar karşılanması ve böylece hayvancılık sektörünün neden olduğu çevresel stresin de azaltılması mümkün olabilir.

Yenilebilir böcekler yüksek besleyici değere sahip olduğundan, hayvancılık ve su ürünleri yetiştiriciliğinde yem olarak kullanımı da araştırma konusu olmuştur. Hayvan beslenmesinde kullanıldığında, böceklerin patojen taşıyıcı veya pestisit kalıntıları içermeye ihtimali nedeniyle ortaya çıkan gıda güvenliği endişeleri bu amaçla kullanımı sınırlandırmaktadır. Bu konuda yapılan bilimsel çalışmalarda kara asker sineği, karasinek, çekirge ve ipek kurdu da dahil olmak üzere 4 böcek türü ilgi çekmektedir. Bu 4 böcek türünden biri olan kara asker sineği (*Hermetia illucens*) böcek hastalıklarına karşı dayanıklı olması ve larvalarının üretiminin kolay olması nedeniyle diğer böcek türlerinden ayrılmaktadır (Stamer, 2015). Popova vd. (2020), tarafından yapılan bir çalışmada, *Hermetia illucens* türüne ait larvalar tavuk beslenmesinde kullanılmış, larvalar ile beslenen tavukların ağırlıklarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Larvalarla beslenen tavuklardan elde edilen etin ise protein, laurik asit ve miristik asit içerikleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. *Hermetia illucens*, *Musca domestica*, *Tenebrio molitor* ve *Zophobas morio* gibi böcek türleri farklı oranlarda karıştırılarak balık yemlerinin aminoasit ve yağ asidi profillerini iyileştirip, besleyici değerini yükseltmek amacıyla kullanılmıştır (Nogales-Merida vd., 2019).

Et Analogları

Alternatif protein sektörünün en çok tercih edilen ürünü olan et analogları veya et ikameleri adı verilen bitkisel bazlı et alternatifleri, estetik olarak ve besin değeri açısından et ürünlerine oldukça benzer özelliklerde üretilen ürünlerdir (Broad, 2020). Bir başka deyişle, bu ürünler bitkilerden elde edilen protein ile üretilip, tekstür, görünüş, tat, koku ve besin değeri gibi özellikleriyle ete alternatif olabilecek ürünlerdir. Üretimin mevsime bağlı olmaması, düşük maliyet, daha uzun raf

ömrü gibi sebeplerden ötürü endüstride son yıllarda gözde ürünler arasında yer almaktadırlar. Yüksek maliyetli hayvansal proteinin, farklı teknolojiler ve uygun formülasyonlar kullanılarak mantar, buğday, bakliyatlar, kolza tohumu ve kanola gibi bitkisel ürünlerden elde edilen proteinler ile ikame edilmesi mümkün olabilmektedir (Kumar vd., 2017). Et alternatiflerinin 2018 yılındaki satış oranlarında, yine aynı yıl Burger King, White Castle, KFC, DelTaco ve Mc Donalds gibi ünlü fast food firmalarının bu ürünleri “etsiz et” veya “vegan et” adı altında menülerine eklemelerinden dolayı %30'luk bir artış yaşanmıştır (Anonymous, 2018). Günümüzde ise küresel gıda pazarında, et analogları endüstrisi sürekli ve hızlı bir büyüme içerisinde. Avrupa ve Kuzey Amerika gibi ülkelerde sadece vejeteryanlara ya da veganlara yönelik değil, et seven ve tüketen insanlara da hitap edebilecek şekilde et analogları pazarı genişletilmiştir (Bohrer, 2019).

Tüketiciler tarafından en çok bilinen bitki bazlı et alternatifleri arasında soyadan üretilen “tofu”, “tempeh”, “yuba”, buğday proteininden üretilen “seitan” gibi ürünlerin kullanımı yaygındır (Kyriakopoulou vd., 2019). Tüketicilerin genellikle et analogları üretimine aşina olmayışları ve ete kıyasla bu ürünleri duyuşal özellikler açısından daha az cazip bulmaları bitkisel bazlı et alternatiflerini tüketmekten kaçınma nedenleri olarak belirtilmektedir (He vd., 2020; Koning vd., 2020; Michel vd., 2021). Michel vd. (2021) et analoglarının biftek ya da eskalop gibi formlarda üretilmesi yerine, işlenmiş et ürünlerinin taklidi olacak şekilde üretilmesinin tüketici kabulünü artırabileceğini bildirmişlerdir. Et analoglarının üretim aşamasında ilk olarak bitkisel hammaddeler hayvan etinin besin değerine uygun olacak şekilde belirli yüzdelerde ürüne dahil edilir. Karışıma daha sonra uygun pişirme teknikleri ile ete benzer doku ve ağız hissi verilirken, doğal katkı maddeleri kullanılarak da et görünümü ve rengi sağlanır (Anonymous, 2018; Kyriakopoulou vd., 2019). Formülasyonda yer alan yüksek su oranı, emülsiyon oluşumunda gerekliyken, tekstürize bitki proteini uygun ağız hissini sağlamak için kullanılmaktadır (Kyriakopoulou vd., 2019). Ayrıca, görünüş, lezzet, renk ve tekstür gibi duyuşal özelliklerin sağlanması amacıyla

formülasyona renklendirici, lezzet artırıcı ve bağlayıcı ajanlar da ilave edilmektedir (Kumar vd., 2017).

Et analoglarının tanımlanmasında belirleyici rol oynayan proteinler, ürüne çözünürlük, emülsifikasyon, köpük oluşumu, lezzet bağlama, uygun viskozitenin sağlanması, jelleşme, tekstüre etme gibi pek çok yapısal özellik sağlarlar. Protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skoru (PDCAAS) ölçeğindeki en yüksek derece olan 1.0 skoru ile hayvansal proteine eşdeğer olduğundan soya proteini iyi bir alternatif protein kaynağı olarak görülmektedir (Malav vd., 2015; Kumar vd., 2017). Bağlanma, hamur oluşturma ve iyi mayalanma derecesi sağlama özellikleri nedeniyle buğday gluteni yaygın olarak kullanılan bir başka et ikamesi hammaddesidir (Kyriakopoulou vd., 2019). Bezelye, nohut, mercimek gibi bakliyat proteinleri ise iyi emülsiyon oluşturma, köpük stabilizasyonu ve uygun jel oluşumu gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Ladjal-Ettoumi vd., 2016). Et analogu üretimi için en umut vadeden bakliyat proteininin ise verdiği uygun tekstür ve ağız hissi nedeniyle bezelye proteini olduğu araştırmalar ile ortaya konmuştur (Kyriakopoulou vd., 2019). Thompson vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, bezelye ve karnabahar eşit oranlarda karıştırılıp *Lactobacillus plantarum* ile fermente edilerek, yüksek besin değerine sahip bir et analogu üretilmiş; üründe yüksek oranda riboflavin ve folat gözlenirken, alanin, glisin, histidin, izolösin, lösin ve valin oranlarında da bir miktar artış tespit edilmiştir. Kiiru vd. (2020), soya proteini izolatu ile çekirge ununu karıştırarak hem bitkisel bazlı protein hem de böcek proteini içeren besin değeri yüksek bir et alternatifi üretmeyi amaçlamışlardır. Rehrah vd. (2009), ürettikleri yer fıstığı bazlı bitkisel et analogunu duyuşal özellikler açısından soya fasulyesi bazlı et analogu ile karşılaştırmışlar ve yer fıstığı bazlı et analogunun, soya fasulyesi bazlı olana benzer ya da daha iyi tatta olduğunu bildirmişlerdir.

Diğer bitki bazlı protein kaynaklarına göre ete benzer lezzet verebilme özelliği nedeniyle öğütülmüş mantar yeni tip karışım et analoglarının üretiminde kullanılan bir başka hammadde kaynağıdır. Hamburger köftesi ve sosis formunda

üretimi gerçekleştirilen ilk et analogları yenilebilir bir mantar olan *Fusarium graminearum*'dan üretilmiştir. Mantar kökenli et analoglarının tadının diğer bitkisel et analoglarına kıyasla ete daha yakın olması, mantarın kimyasal bileşiminde yer alan kükürtlü aminoasitler ve glutamik asitle ilişkilendirilmiştir (Kumar vd., 2017; Lang 2020).

Çeşitli protein kaynakları dışında et analoglarında istenilen ürün kıvamını sağlayabilmek için karbonhidratlar, ürünün tüketilebilirliği üzerine etkili olan lezzet, renk ve görünüş özelliklerinin sağlanabilmesi için ise yağlar, bağlayıcı ajanlar, lezzet bileşikleri ve renklendiriciler kullanılmaktadır. Nişasta, un, metüselüloz, akasya zımkı, ksantan zımkı, karragenan et analoglarının üretiminde yapısal özellikleri geliştirmek için kullanılan karbonhidratlardır (Bohrer, 2019). Karbonhidrat miktarına oranla et analoglarında yağ miktarı oldukça düşüktür. Modern et analogları kanola yağı, hindistan cevizi yağı, ayçiçek yağı, mısır yağı, susam yağı, kakao yağı gibi bitkisel yağ kaynaklarını içerebilmektedir (Bohrer, 2019). Kyriakopoulou vd. (2019)'nin, yapmış olduğu çalışmada et analogu formülasyonunda yer alan katı ve sıvı yağların ürünün sululuğuna, ağız hissine ve aroma salınımına katkıda bulunduğu görülmüştür (Kyriakopoulou vd., 2019). Soya proteini izolatu, buğday gluteni, süt proteinleri, yumurta, karagenan, ksantan zımkı ve pektin et analoglarında hem su hem de yağ bağlayıcısı olarak işlev görmektedir (Arora vd., 2017). Et analoglarının lezzetinin sağlanmasında pek çok baharatın yanı sıra klorofil ve hem grubu içeren proteinler gibi demir kompleksleri ile tadın dengelenmesi son yıllarda oldukça popüler bir uygulama haline gelmiştir (Fraser vd., 2017). Pişirme aşamasında Maillard reaksiyonları sonucu şekerler ve aminoasitlerden yeni karakteristik tatlar elde etmek mümkündür. İndirgen şekerler (örneğin; glikoz, riboz, ksiloz), amino asitler (serin, methionin, prolin, lisin, sistein) ve nükleotitler gibi bileşiklerin et analogu üretiminde et benzeri lezzetin yakalanabilmesi için kullanımı yaygındır (Fraser vd., 2017). Et analogları tüketilmeden önce, pişirilme sırasında ve pişirildikten sonra geleneksel et ürünlerinin rengine benzer bir renkte olmalıdır. Bu yüzden et analoglarında karamel renkleri, malt, anatto, turmin, karoten gibi ısıya oldukça dayanıklı

renklendiriciler kullanılmaktadır (Malav vd., 2015). Son yıllarda renk bileşeni olarak nar tozu, pancar ekstraktı, domates salçası gibi doğal alternatifler de kullanıma sunulmuştur (Anonymous, 2018; Anonymous, 2020a; Anonymous, 2020c). Et analogları için orijinal et yapısında olduğu gibi demir ve oksijen bağlayıcı proteinler kullanılarak da renk elde etmek

mümkündür. Renklendirme ajanı olarak hemoglobin ve miyoglobine benzer yapıda olan ve leghemoglobin adı verilen soya türeviden bir bileşik kullanımı buna örnek olarak verilebilir (Anonymous, 2020b; Anonymous, 2019b). Dünyada ticari olarak et analogu üretimi gerçekleştiren öncü bazı firmalar ve ürünleri Çizelge 3'te özetlenmiştir.

Çizelge 3. Ticari olarak üretilen bazı bitki bazlı et analogları

Firma / Ürün Adı / Gramaj	Günlük Besin Değeri (%)*										
	Toplam Yağ	Doymuş Yağ	Kolesterol	Na	K.H. ¹	Diyet lifi	Protein	Ca	Fe	K	Kalori
Beyond Burger / Beyond burger / 113 gram	23	25	0	15	2	7	40	8	20	6	260
Ürün içeriği: su, bezelye proteini, kanola yağı, hindistan cevizi yağı, pirinç proteini, doğal tatlar, kakao yağı, maş fasulyesi proteini, metilselüloz, patates nişastası, elma ekstraktı, nar ekstraktı, tuz, potasyum klorür, sirke, limon suyu konsantresi, ayçiçeği lesitini, pancar suyu ekstraktı											
Morningstar Farms Burger / Izgara vejetaryen burger / 71 gram	10	5	0	17	2	9	21	2	6	2	150
Ürün içeriği: su, buğday gluteni, bitkisel yağ (mısır, kanola ve / veya ayçiçek yağı), soya proteini izolatu, soya unu, yumurta beyazı, %2 veya daha az doğal aroma, mısır nişastası, metilselüloz, pişmiş soğan ve havuç suyu konsantresi, tuz içerir peynir altı suyu, sarımsak tozu, baharat, soğan tozu, domates salçası (domates), ksantan zankı.											
Impossible Burger / Impossible Burger / 113 gram	18	40	0	16	3	11	31	15	25	15	240
Ürün içeriği: su, tekstüre buğday proteini, hindistan cevizi yağı, patates proteini, doğal tatlar, leghemoglobin (soya), tuz, soya proteini izolatu, ksantan zankı, vitamin C, tiyamin, niasin, vitamin B6, riboflavin, vitamin B ₁₂ .											
Gardein / Ultimate Sığır eti burgeri / 85 gram	7	0	0	13	2	8	21	4	10	-	130
Ürün içeriği: su, tekstüre buğday proteini, buğday gluteni, buğday unu, maltlı arpa ekstraktı, soya proteini konsantresi, soğan, kanola yağı, soya proteini izolatu, organik antik tahıl unu, organik horasan buğday unu, organik amarant unu, organik darı unu, organik kinoa unu, modifiye sebze sakızı, maya ekstraktı, kurutulmuş sarımsak, soğan tozu, maltlı arpa ekstraktı, organik şeker kamışı, deniz tuzu, doğal tatlar (bitki kaynaklı), patates nişastası, baharatlar, sirke, bezelye proteini, havuç lifi, pancar lifi, leghemoglobin.											
Before the Butcher / Bitki bazlı burger / 113 gram	19	35	0	16	3	0	40	8	15	10	240
Ürün içeriği: su, soya unu, soya proteini, kanola yağı, rafine Hindistan cevizi yağı, soya proteini konsantresi, maya ekstraktı (tuz, doğal aromalar), metilselüloz, karamel rengi, tatlandırıcı (maltodekstrin), orta zincirli trigliseritler, sodyum fosfat, ızgara ve duman aroması, pancar suyu tozu (pancar suyu ekstraktı, sitrik asit), doğal kırmızı renk (pancar suyu, annatto, gliserin).											

*Günlük ortalama bir beslenmenin ne kadanni karşıladığını ifade etmektedir (Daily value). ¹:Karbonhidrat

SONUÇ

İçinde yaşadığımız dünya genelini etkileyen küresel eğilimlerin, yüzyıllardır beslenmede temel protein kaynağı olan etlerin üretim zincirine yansımaları sürdürülebilir üretim ve tüketim olgularını gündeme getirmiştir. Günümüzde sürdürülemez yönde ilerlediği düşünülen et tedarik zincirinin, hayvan refahına ve insan sağlığına değer veren, ekonomik ve daha az çevresel etki yaratan bir vizyon izleyebilmesi için hammaddeden son ürüne kadar yenilikçi yeşil teknolojiler ile donatılması, bu sektörün geleceğe taşınabilmesi için önemli bir adım olacaktır. Bu bağlamda, geleneksel çiftliklerin akıllı teknolojiler ile donatılarak hayvan refahı ile uyumlu hammadde üretiminin gerçekleştirilmesi, ayrıca, üretilen hammaddenin işleme ve muhafazasında, mevcut teknolojilerin yerine çevre dostu yenilikçi yeşil teknolojilerin kullanılması için üreticiler teşvik edilmelidir. Genetik seçilime uğramış yüksek karkas verimine sahip, hastalıklara karşı dirençli hayvan türlerinin hammadde üretim ağına dahil edilmesi, biyoçeşitlik ve sosyo-kültürel açıdan olumsuz etkilerinin yanı sıra, toplumun büyük bölümünü etkileyen doğala dönüş trendinden ötürü bazı tartışmaları gündeme getirmektedir. Hormon, antibiyotik gibi veteriner kalıntıları ya da toplum sağlığını riske atabilecek bulaşanları içermeyen yapısı ile geleceğin alternatif protein kaynağı olarak görülen yapay etin sağlık üzerine etkileri ve dünya genelinin ihtiyacına cevap verecek miktarlarda büyük ölçekli üretim olanakları araştırılmalıdır. Yüksek besin değeri ve düşük maliyet gibi avantajlar sunmaları nedeniyle bazı ülkelerde ilgi gören böcek proteinleri ve bitkisel proteinlerden üretilen et analoglarının özellikle batı ülkelerinde tüketimi gıda neofobisi ile karşılanmaktadır. Bu alternatif ürünlerle beslenme tarzının kabul edilebilirliğinin artırılabilmesi için tüketici görüş ve isteklerinin pazara yansıtılması önem arz etmektedir. Bu yenilikçi uygulamaların, yarattıkları etik kaygılar da dikkate alınarak, gıda güvenliği ve yasal düzenlemelerle uyumlu, çevre ve doğa dostu bir yaklaşımla değerlendirilmeleri gerekmektedir. Diğer taraftan, son yıllarda tüm dünyayı etkileyen dijitalleşmenin yansımalarının görüldüğü üstün toplum modellerinde, teknolojinin ve yeni fikirlerin, bir tehdit olarak değil de bir yardımcı

olarak algılanması, bu yeni uygulamaların sürdürülebilir et tedarigi sistemlerine entegre edilmesini kolaylaştıracak, gelecek nesillerin günümüzde mevcut olan aynı olanaklara sahip, güvenli bir yaşam tarzı kurabilmelerine yardımcı olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

KC ve GÖ makaleyi birlikte planlamış, yazım, inceleme ve düzenleme aşamalarında katkıda bulunarak, son halini okumuş ve onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

- Acevedo, C., Orellana, N., Avarias, K., Ortiz, R., Benavente, D., Prieto, P. (2018). Micropatterning technology to design an edible film for in vitro. *Food Bioprocess Technol.*, 11: 1267-1273, doi: 10.1007/s11947-018-2095-4.
- Ademek, M., Adamkova, A., Mlcek, J., Borkovcova, M., Bednarova, M. (2018). Acceptability and sensory evaluation of energy bars and protein bars enriched with edible insect. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 12(1): 431-437, doi: 10.5219/925.
- Alarcon-Rojo A.D., Carrillo-Lopez, L.M., Reyes-Villagrana, R., Huerta-Jiménez, M., Garcia-Galicia, I.A. (2019). Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrason. Sonochem.*, 55: 369-382, doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.09.016.
- Andonovic, I., Michie, C., Cousin, P., Janati, A., Pham, C., Diop, M. (2018). Precision livestock farming technologies. Global Internet of Things Summit. 4-7 June, Bilbao, Spain.
- Anonymous (2019a). *Plastics- the Facts 2019*. Plastics Europe.
- Anonymous (1987). *Our common future*. World Commission on Environment and Development. Oxford University Press.

- Anonymous (2018). The rise of plant based meats. *Tufts University Health & Nutrition Letter*, 37(12): 4-5.
- Anonymous (2019b). www.gardein.com/beefless/and/porkless/classics/meatless/meatballs (Accessed: 27 March 2020).
- Anonymous (2020a). www.beyondmeat.com/about/our-ingredients/ (Accessed: 27 March 2019).
- Anonymous (2020b). www.impossiblefoods.com/burger/ (Accessed: 27 March 2019).
- Anonymous (2020c). www.morningstarfarms.com/en_US/products/burgers/morningstar-farms-grillers-prime-veggie-burgers-product.html (Accessed: 27 March 2020).
- Arora, B., Kamal, S., Sharma, V.P. (2017). Effect of binding agents on quality characteristics of mushroom based sausage analogue. *J. Food Process. Preserv.*, 41(5), doi: 10.1111/jfpp.13134.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Yildiz, S., Oner, M.E., Candoğan, K. (2020). Selected novel food processing technologies used as hurdles. In: *Food Safety Engineering*, Demirci A., Feng H., Krishnamurthy K. (eds). Food Engineering Series. Springer, Cham., pp. 629-657, ISBN: 978-3-030-42659-0, doi:10.1007/978-3-030-42660-6_24.
- Bessa, L.W., Pieterse, E., Sigge, G., Hoffman, L.C. (2019). An exploratory study into the use of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae in the production of a vienna-style sausage. *Meat and Muscle Biolog.* 3(1), doi: 10.22175/mmb2018.11.0038.
- Bhat, Z.F., Morton, J.D., Mason, S.L., Bekhit, A. (2019). Current and future prospects for the use of pulsed electric field in the meat industry. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 59(10): 1660-1674, doi: 10.1080/10408398.2018.1425825
- Bodiou, V., Moutsatsou, P., Post, M. (2020). Microcarriers for upscaling cultured meat production. *Front. Nutr.*, 7:10, doi: 10.3389/fnut.2020.00010.
- Bohrer, B. (2019). An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. *Food Sci. Hum. Wellness*, 8(4): 320-329, doi: 10.1016/j.fshw.2019.11.006.
- Bonny, S.P.F., Gardner, G.E., Pethick, D.W., Hocquette, J.F. (2015). What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? *J. Integr. Agric.*, 14(2): 255-263, doi: 10.1016/S2095-3119(14)60888-1.
- Broad, G.M. (2020). Making meat, better: the metaphors of plant-based and cell-based meat innovation. *Environ. Commun.*, 14(7): 919-932, doi: 10.1080/17524032.2020.1725085.
- Bryant, C., Barnett, J. (2018). Consumer acceptance of cultured meat: a systematic review. *Meat Sci.*, 143: 8-17, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.04.008.
- Bryant, C., Dillard, C. (2019). The impact of framing on acceptance of cultured meat. *Front. Nutr.*, 6: 103, doi: 10.3389/fnut.2019.00103.
- Choi, Y., Kim, T., Choi, H., Park, J., Sung, J., Jeon, K., Paik, H., Kim, Y. (2017). Optimization of replacing pork meat with yellow worm (*Tenebrio molitor* L.) for frankfurters. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, 37(5): 617-625, doi: 10.5851/kosfa.2017.37.5.617.
- Cremiato, R., Mastellone, M.L., Tagliaferri, C., Zaccariello, L., Lettieri, P.E. (2018). Environmental impact of municipal solid waste management using life cycle assessment: the effect of anaerobic digestion, materials recovery and secondary fuels production. *Renewable*

- Energy*, 124: 180-188, doi: 10.1016/j.renene.2017.06.033.
- Dick, A., B. Bhandari, S., Prakash. (2019). 3D Printing of meat. *Meat Sci.*, 153: 35-44, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.03.005.
- Dong, M., Xu, Y., Zhang, Y., Han, M., Wang, P., Xu, X., Zhou, G. (2020). Physicochemical and structural properties of myofibrillar proteins isolated from pale, soft, exudative (PSE)-like chicken breast meat: Effects of pulsed electric field (PEF). *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 59, doi: 10.1016/j.ifset.2019.102277.
- Driessen, C., Korthals, M. (2012). Pig towers and in vitro meat: disclosing moral worlds by design. *Social Studies of Science*, 42(6): 797 –820, doi: /10.1177/0306312712457110.
- Egolf, A., Hartmann, C., Siegrist, M., (2019). When evolution works against the future: disgust's contributions to the acceptance of new food technologies. *Risk Anal.*, 39(7): 1546–1559, doi: 10.1111/risa.13279.
- FAO 2013. Tackling climate change through livestock: A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Rome, Italy.
- FAO 2019. The State of Food and Agriculture. Rome, Italy.
- Fernandes, A.M., Teixeira O., Revillion, J.P.P., Souza, A.R. (2019). Conceptual evolution and scientific approaches about synthetic meat. *J. Food Sci. Technol.*, 57(6):1991-1999, doi: 10.1007/s13197-019-04155-0.
- Fraser, R., Brown, P.O., Karr, J., Holz-Schietinger, C., Cohn, E. (2017). Methods and compositions for affecting the flavor and aroma profile of consumables. US Patents US9700067B2.
- Fuller, A., Fan, Z., Day, C., Barlow, C. (2020). Digital twin: enabling technologies, challenges and open research. *IEEE Access*, 8, doi: 10.1109/ACCESS.2020.2998358.
- Gedik, Y. (2020). Sosyal, ekonomik ve çevresel boyutlarla sürdürülebilirlik ve sürdürülebilir kalkınma. *Uluslararası Ekonomi Siyaset İnsan ve Toplum Bilimleri Dergisi*, 3(3): 197-215.
- Ghosh, S., Gillis, A., Levkov, K., Vitkin, E., Golberg, A. (2020). Saving energy on meat air convection drying with pulsed electric field coupled to mechanical press water removal. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 66, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102509.
- Gomez-Luciano, C.A., Loyola, I.E.D.E.S., Vrieskoop, F., Urbano, B. (2019). Towards food security of alternative dietary proteins: A comparison between Spain and the Dominican Republic. *Amfiteatru Economic*, 21(51): 393-407, doi: 10.24818/EA/2019/51/393.
- Grandin, T. (2019). Principles for commercial supply chain managers of livestock and poultry. In: *Sustainable meat production and processing*, Galanakis, C.M. (chief ed.), Academic Press, pp. 1-15, ISBN:978-0-12-814874-7.
- Gravel, A., Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 59, doi: 10.1016/j.ifset.2019.102272.
- Handral, H.K., Tay, S.H., Chan, W.W., Choudhury, H. (2020). 3D printing of cultured meat products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1-10, doi: 10.1080/10408398.2020.1815172.
- He, J., Evans, N.M., Liu, H., Shao, S. (2020). A review of research on plant-based meat alternatives: Driving forces, history, manufacturing, and consumer attitudes. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 19(5): 2639-2656, doi: 10.1111/1541-4337.12610.
- Jo, K., Lee, S., Yong, H., Choi, Y., Jung, S. (2020). Nitrite sources for cured meat products.

- LWT Food Sci. Technol.*, 129, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109583.
- Jo, S.K., Park, D., Park, H., Kim, S. (2018). Smart livestock farms using digital twin: feasibility study. 2018 International Conference on Information and Communication Technology Convergence, 17-19 October, Jeju, South Korea.
- Khalil, M., Berawi, M., Heryanto, R., Rizalie, A. (2019). Waste to energy technology: the potential of sustainable biogas production from animal waste in Indonesia. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 105: 323-331, doi: 10.1016/j.rser.2019.02.011.
- Kiiru, S.M., Kinyuru, J.N., Kiage, B.N., Marel, A.K. (2020). Partial substitution of soy protein isolates with cricket flour during extrusion affects firmness and in vitro protein digestibility. *J. Insects Food Feed*, 6(2): 169-177, doi: 10.3920/JIFF2019.0024.
- Kim, H., Setyabrata, D., Lee, Y., Jones, O, Kim, Y. (2017). Effect of house cricket (*Acheta domesticus*) flour addition on physicochemical and textural properties of meat emulsion under various formulations. *J. Food Sci.*, 82(12): 2787-2793 doi: 10.1111/1750-3841.13960.
- Kim, H., Setyabrata, D., Lee, Y., Jones, O., Kim, Y. (2016). Pre-treated mealworm larvae and silkworm pupae as a novel protein ingredient in emulsion sausages. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 38: 116-123, doi: 10.1016/j.ifset.2016.09.023.
- Koning, W., Dean, D., Vriesekoop, F., Aguiar, L.K., Anderson, M., Mongondry, P., Oppong-Gyamfi, M., Urbano, B., Luciano, C.A.G, Jiang, B., Hao, W., Eastwick, E., Jiang, Z., Boereboom, A. (2020). Drivers and inhibitors in the acceptance of meat alternatives: the case of plant and insect-based proteins. *Foods*, 9(9), doi: 10.3390/foods9091292.
- Korhonen H. (2002). Technology options for new nutritional concepts. *Int. J. Dairy Technol.*, 55(2): 79-88, doi: 10.1046/j.1471-0307.2002.00050.x.
- Kouřimská, L., Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS J.*, 4: 22-26, doi: 10.1016/j.nfs.2016.07.001.
- Krauβ, M., Drastig, K., Prochnow, A., Rose-Meierhöfer, S., Kraatz, S. (2016). Drinking and cleaning water use in a dairy cow barn. *Water*, 8(7): 302, doi: 10.3390/w8070302.
- Kumar, P., Chatli, M.K., Mehta, N., Singh, P., Malav, O.P., Verma, A. (2017). Meat analogues: health promising sustainable meat substitutes. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(5): 923-932, doi: 10.1080/10408398.2014.939739.
- Kyriakopoulou, K., Dekkers, B., Van der Goot, A.J. (2019). Plant based meat analogues in sustainable meat production and processing. In: *Sustainable meat production and processing*, Galanakis, C.M. (chief ed.), Academic Press, pp. 103-126, ISBN:978-0-12-814874-7.
- Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., Romero, A. (2016). Pea, chickpea and lentil protein isolates: physicochemical characterization and emulsifying properties. *Food Biophys.*, 11: 43-51, doi: 10.1007/s11483-015-9411-6.
- Lang, M. (2020). Consumer acceptance of blending plant-based ingredients into traditional meat-based foods: Evidence from the meat-mushroom blend. *Food Qual. Preference*, 79, doi: 10.1016/j.foodqual.2019.103758.
- Lee, J., Lee, C.W., Yong, H., Lee, H.J., Jo, C., Jung, S. (2017). Use of atmospheric pressure cold plasma for meat industry. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, 37(4): 477-485, doi: 10.5851/kosfa.2017.37.4.477.
- Looy, H., Dunkel, F. V., Wood, J. R. (2014). How then shall we eat? Insect-eating attitudes and sustainable foodways. *Agric. Hum. Values*,

- 31(1): 131-141, doi: 10.1007/s10460-013-9450-x.
- Malav, O.P., Talukder, S., Gokulakrishnan, P. (2015). Meat analog: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 55: 1241-1245, doi: 10.1080/10408398.2012.689381.
- Mancini, M.C., Antonioli, F. (2019). Exploring consumers' attitude towards cultured meat in Italy. *Meat Sci.*, 150: 101-110, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.12.014.
- Melzener, L., Verzijden, K., Buijs, J., Post, M., Flacka, J. (2020). Cultured beef: from small biopsy to substantial quantity. *J. Sci. Food Agric.*, 101(1): 7-14, doi: 10.1002/jsfa.10663.
- Michel, F., Hartmann, C., Siegrist, M. (2021). Consumers' associations, perceptions and acceptance of meat and plant-based meat alternatives. *Food Qual. Preference*, 87, doi: 10.1016/j.foodqual.2020.104063.
- Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. (2014). Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Res. Int.*, 64: 344-349, doi: 10.1016/j.foodres.2014.09.014.
- Nogales-Merida, S., Gobbi, P., Jozefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kieronczyk, B., Jozefiak, A. (2019). Insect meals in fish nutrition. *Rev. Aquacult.*, 11(4): 1080-1103, doi: 10.1111/raq.12281.
- OECD/FAO (2019). OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028, OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, doi: 10.1787/agr_outlook-2019-en.
- Orellana, N., Sanchez, E., Benavente, D., Prieto, P., Enrione, J., Acevedo, C. (2020). A new edible film to produce in vitro meat. *Foods*, 9(2), doi: 10.3390/foods9020185.
- Orsi, L., Voegelé, L. and Straineri, S. (2019). Eating edible insects as sustainable food? Exploring the determinants of consumer acceptance in Germany. *Food Res. Int.*, 125, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108573.
- Pan, L., Xu, M., Xi, L. (2016). Research of livestock farming IoT system based on restful web services. 5th International Conference on Computer Science and Network Technology, 10-11 December, Changchun, China.
- Park, Y., Choi, Y., Hwang, K., Kim, T., Lee, C., Shin, D., Han, S. (2017). Physicochemical properties of meat batter added with edible silkworm pupae (*Bombyx mori*) and transglutaminase. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, 37(3): 351-359, doi: 10.5851/kosfa.2017.37.3.351.
- Poortvliet, P.M., Van der Pas, L., Mulder, B., Fogliano, V. (2019). Healthy, but disgusting: an investigation into consumers' willingness to try insect meat. *J. Econ. Entomol.*, 112(3): 1005-1010, doi: 10.1093/jee/toz043.
- Popova, T., Petkov, E., Ignatova, M. 2020. Effect of black soldier fly (*Hermetia illucens*) meals on the meat quality in broilers. *Agric. Food Sci.*, 29(3): 177-188, doi: 10.23986/afsci.88098.
- Post, M. (2012). Cultured meat from stem cell: challenges and prospects. *Meat Sci.*, 92: 297-301, doi: 10.1016/j.meatsci.2012.04.008.
- Rehrah, D., Ahmedna, M., Göktepe, İ., Yu, J. (2009). Extrusion parameters and consumer acceptability of a peanut-based meat analogue. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 44(10): 2075-2084, doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02035.x.
- Rumpold, B.A., Schluter, O.K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.*, 57(5): 802-823, doi: 10.1002/mnfr.201200735.
- Rolland, N.C.M., Markus, C.R., Post, M.J. (2020). The effect of information content on acceptance of cultured meat in a tasting context. *PLoS One*, 15(10), doi: 10.1371/journal.pone.0231176.

- Sales-Campos, H., Reis de Souza, P., Crema Peghini, B., Santana da Silva, J., Ribeiro Cardoso, C. (2013). An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 13(2): 201-210, doi: 10.2174/138955713804805193.
- Schoenfeld, B.J., Aragon, A.A. (2018). How much protein can the body use in a single meal for muscle-building? Implications for daily protein distribution. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, 15(10), doi: 10.1186/s12970-018-0215-1.
- Scholliers, J., Steen, L., Fraeye, I. (2020). Structure and physical stability of hybrid model systems containing pork meat and superworm (*Zophobas morio larvae*): The influence of heating regime and insect: meat ratio. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 65, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102452.
- Singh, M., Novoa, R.E., Kataria, J., Leone, C., Thippareddi, H. (2020). Emerging meat processing technologies for microbiological safety of meat and meat products. *Meat and Muscle Biology*, 4(2), doi: 10.22175/mmb.11180.
- Stamer, A. (2015). Insect proteins—a new source for animal feed. *EMBO Rep.*, 16: 676-680, doi: 10.15252/embr.201540528.
- Tait-Burkard, C., Doeschl-Wilson, A., McGrew, M.J., Archibald, A.J., Sang, H., Houston, R.D., Whitelaw, C.B., Watson, M. (2020). Livestock 2.0—genome editing for fitter, healthier, and more productive farmed animals. *Genome Biol.*, 19, doi: 10.1186/s13059-018-1583-1.
- Tang, C., Yang, D., Liao, H., Sun, H., Liu, C., Wei, L., Li, F. (2019). Edible insects as a food source: a review. *Food Prod. Process and Nutr.*, 1-8, doi: 10.1186/s43014-019-0008-1.
- Thompson, H.O., Önnig, G., Holmgren, K., Strandler, H.S., Hultberg, M. (2020). Fermentation of cauliflower and white beans with *Lactobacillus plantarum* impact on levels of riboflavin, folate, vitamin B12 and amino acid composition. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 5: 236-242, doi: 0.1007/s11130-020-00806-2.
- Tisdell, C. (2003). Socioeconomic causes of loss of animal genetic diversity: analysis and assessment. *Ecol. Econ.*, 45(3): 365-376, doi: 10.1016/S0921-8009(03)00091-0.
- Tuomisto, H., Mattos, M. (2011). Environmental impacts of cultured meat production. *Environ. Sci. Technol.*, 45(14): 6117-6123, doi: 10.1021/es200130u.
- Tuomisto, H., Roy, A. (2012). Could cultured meat reduce environmental impact of agriculture in Europe? 8th International Conference on LCA in the Agri-Food Sector, 2-4 October, Rennes, France.
- Valente, J.D.P.S., Fiedler, R.A., Heidemann, M.S., Molento, C.F.M. (2019). First glimpse on attitudes of highly educated consumers towards cell-based meat and related issues in Brazil. *PLoS One*, 14(8): 1-12, doi: 10.1371/journal.pone.0221129.
- Venne, T., Pinckaers, P., Loon, J., Loon, L. (2017). Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption. *Nutr. Rev.*, 75(12): 1035-1045, doi: 10.1093/nutrit/nux057.
- Vranken, E., Berckmans, D. (2017). Precision livestock farming for pigs. *Anim. Front.*, 7(1): 32-37, doi: 10.2527/af.2017.0106.
- Weinrich, R., Strack, M., Neugebauer, F. (2020). Consumer acceptance of cultured meat in Germany. *Meat Sci.*, 162, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.107924.
- Woolf, E., Zhu, Y., Emory, K., Zhao, J., Liu, C. (2019). Willingness to consume insect-containing foods: A survey in the United States. *LWT Food Sci. Technol.*, 102: 100-105, doi: /10.1016/j.lwt.2018.12.010.
- Xueliang, L., Zhang, G., Zhao, X., Zhou, J., Du, G., Chen, J. (2020). A conceptual air-lift reactor

design or large scale animal cell cultivation in the context of in vitro meat production. *Chem. Eng. Sci.*, 211, doi: 10.1016/j.ces.2019.115269.

Zhang, G., Zhao, X., Li, X., Du, G., Zhou, J., Chen, J. (2020a). Challenges and possibilities for bio-manufacturing cultured meat. *Trends Food Sci. Technol.*, 97: 443-450, doi: 10.1016/j.tifs.2020.01.026.

Zhang, M., Li, L., Bai, J. (2020b). Consumer acceptance of cultured meat in urban areas of

three cities in China. *Food Control*, 118, doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107390.

Zin, T.T., Misawa, S., Pwint, M.Z., Thant, S., Seint, P.T., Sumi, K., Yoshida, K. (2020). Cow identification system using ear tag recognition. IEEE 2nd Global Conference on Life Sciences and Technologies, 10-12 March, Kyoto, Japan.



PARAPROBİYOTİKLER, POSTBİYOTİKLER VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Esra Uğur^{*}, Atilla Bektaş², Meltem Ulusoy³, Zübeyde Öner¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

²Özel Ankara Cerrahi Tıp Merkezi, Gastroenteroloji Bölümü, Öveçler, Ankara, Türkiye

³Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji bölümü, Uygulamalı Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Geliş / *Received*: 19.12.2020; Kabul / *Accepted*: 15.03.2021; Online baskı / *Published online*: 22.03.2021

Uğur, E., Bektaş A., Ulusoy, M., Öner, Z. (2021). Paraprobiyotikler, postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri. *GIDA* (2021) 46(2) 428-442 doi: 10.15237/gida. GD20141.

Uğur, E., Bektaş A., Ulusoy, M., Öner, Z. (2021). *Paraprobiotics, postbiotics and their effects on health. GIDA* (2021) 46(2) 428-442 doi: 10.15237/gida. GD20141.

ÖZ

İnsan gastrointestinal kanalı (GIT), sindirimde, immünolojide ve bazı hastalıkların oluşumunda önemli rol oynayan zengin, karmaşık bir mikrobiyota içerir. Normal şartlar altında, bağırsak mikrobiyotasının bileşimi karardır. Ancak diyetteki değişiklikler, bazı ilaçların kullanımı ve stres gibi faktörler nedeniyle mikrobiyotanın bileşimi değişebilir. Bağırsak mikrobiyotasını düzenlemek amacıyla yeterli miktarda alındıklarında konağa fayda sağlayan bakteri ve maya gibi canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanan probiyotiklerin, gıda şeklinde ya da gıda takviyesi olarak alınması günümüzde yaygın ve bilinen bir yöntemdir. Son yıllarda, cansız (inaktif) mikroorganizmalar olan paraprobiyotiklerin veya canlı bakterilerden salınan ya da bakteriyel parçalanma sonrasında ortaya çıkan metabolik yan ürünler olan postbiyotiklerin, probiyotikler yerine alternatif olarak kullanımı söz konusudur. Paraprobiyotik ve postbiyotikler uygulandıkları konakçıda tıpkı probiyotikler gibi başta bağırsak sağlığını düzenleme ve immün sistemini güçlendirme gibi birçok sağlık etkileri göstermektedir. Bu çalışmada, probiyotikler yerine kullanılacak ve benzer sağlık etkileri sağlayabilen paraprobiyotikler ve postbiyotikler ile ilgili çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Paraprobiyotik, postbiyotik, bağırsak sağlığı, bağışıklık sistemi

PARAPROBIOTICS, POSTBIOTICS AND THEIR EFFECTS ON HEALTH

ABSTRACT

The human gastrointestinal tract (GIT) contains a rich, complex microbiota that plays an important role in digestion, immunology, and the occurrence of certain diseases. Under normal conditions, the composition of the gut microbiota is stable. However, the composition of the microbiota may change due to changes in diet, use of certain medications and stress. Today, it is a common and known method to take probiotics, which are defined as living microorganisms such as bacteria, yeast, when taken in sufficient quantities to regulate the intestinal microbiota, in the form of food or as a food supplement. In recent years, the use of paraprobiotics, which are non-living (inactive) microorganisms, or postbiotics, which are metabolic by-products released from living bacteria or after bacterial degradation, have started to attract attention as an alternative to probiotics.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

esra.ugr@hotmail.com

GSM: 0538 623 3702

Esra Uğur; ORCID no: 0000-0003-0457-723X

Zübeyde Öner; ORCID no: 0000-0003-2557-0731

Atilla Bektaş; ORCID no: 0000-0001-7775-3770

Meltem Ulusoy ORCID no: 0000-0002-3885-2714

Paraprobiotics and postbiotics demonstrate many health effects such as regulating intestinal health and strengthening the immune system, just like probiotics, in the hosts where they are applied. In this study, studies on paraprobiotics and postbiotics that can be used instead of probiotics and provide similar health effects are reviewed.

Keywords: Paraprobiotic, postbiotic, intestinal health, immune system

GİRİŞ

İnsan vücudundaki gastrointestinal kanalda kolonize olan bakteri, virüs, maya, protozoa gibi mikroorganizmalardan oluşan ve bir organ gibi işlevi olan ekosisteme “bağırsak mikrobiyotası (mikroflorası)” denilmekte ve literatürde bağırsak mikrobiyotasının, insan sağlığı ile ilişkili olduğuna dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Young, 2017). Mikrobiyota gelişimini, bileşimini ve fonksiyonunu etkileyen faktörler arasında; doğum şekli, annenin mikrobiyotası, anne sütü alımı, antibiyotik/probiyotik kullanımı ve beslenme şekli yer almaktadır (Palmer vd., 2007). Bu faktörler arasında beslenme, mikrobiyota oluşumu ve modülasyonu üzerinde %57 oranında etkili olmaktadır. Bu nedenle yeterli ve dengeli bir beslenmeyle beraber makro besin ve mikro besinlerin alınmasının yanı sıra; doğal prebiyotik ve probiyotik gıda tüketimi ön plana çıkmaktadır (Baothman vd., 2016; Bektaş vd., 2020a). Beslenmeyle yeterli miktarda doğal prebiyotik ve probiyotik alımı için “Akdeniz diyeti” önerilmekle birlikte tüm dünyada “Batı tarzı beslenme” şeklinin yaygınlaşmasıyla fazla miktarda hayvansal doymuş yağ içeren işlenmiş ve rafine edilmiş gıda tüketimi artmaktadır (Bektaş vd., 2020b). Bu beslenme tarzı, vücuttaki canlı mikroorganizma topluluğu olan mikrobiyotayı olumsuz etkilemekte ve birçok kronik hastalığa zemin hazırlayan bozulmuş, sağlıklı mikrobiyotaya (disbiyozis) neden olmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizliğin giderilmesi, bağırsak sağlığının iyileşmesi veya modülasyonunu sağlamak amacıyla günümüzde gıda ve ilaç sanayisinde probiyotik, prebiyotik, paraprobiyotik ve postbiyotik gıda takviyeleri ve reçetesiz satılan farmasotik ürünlerin kullanımı önem kazanmaktadır.

Günümüzde beslenme ve sağlık konularına olan ilginin artması ile insan sağlığını koruyan, iyileştiren ve hastalık oluşma riskini azaltan fonksiyonel gıdalara olan talep artmıştır. Fonksiyonel gıdaların en önemli grubunu

probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar oluşturmaktadır. Probiyotikler yeterli miktarda alındığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Buran, 2020). Gıdalarda genellikle *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. gibi bakteriler ile *Saccharomyces* spp. gibi mayalar, probiyotik olarak kullanılan en yaygın mikroorganizmalardır. Normalde mikrobiyotada bulunan probiyotik mikroorganizmalar (bakteri ve maya hücresi), dışarıdan doğal olarak gıdalarla, gıda takviyeleri olarak çeşitli gıdalara ilave edilerek veya farmasotik şekillerde (tablet, kapsül, toz, şase, damla vb.) alınabilmektedir (Yangılar 2015).

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile canlı olmayan mikroorganizmaların ve bunların bileşenlerinin de tıpkı probiyotikler gibi sağlık etkisi gösterdiği anlaşılmıştır. Söz konusu bu canlı olmayan mikroorganizmalara genel olarak paraprobiyotik denilmektedir. Paraprobiyotikler yeterli miktarda tüketildiğinde fayda sağlayan, canlı olmayan mikrobiyel hücreler (bozulmamış veya parçalanmış) veya işlenmemiş hücre özütleri olarak tanımlanmaktadır (Martín ve Langella, 2019). Postbiyotikler ise hücre metabolitleri, biyojenikler, hücre dışı süpernatant, fonksiyonel proteinler/enzimler, hücre dışı polisakaritler (EPS), teikoik asit, pili tipi yapılar, metabiyotikler (mikrobiyota metabolitleri) ve probiyotik aktivitenin metabolik atıkları olarak tanımlanmaktadır (Malashree vd., 2019; Wegh vd., 2019). Fermente süt ürünlerindeki laktik asit bakterileri (LAB), laktik asit, peptidoglikan, bakteriyosin ile postbiyotik olabilecek metabolitleri salgılayarak sağlık açısından fayda sağlarlar. Örneğin, fermantasyonla üretilen laktat ve kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) birer postbiyotik olduğu ve bağırsaktaki antienflamatuar ve antikarsinojenik özellikleri etkilediği bildirilmiştir (Iraporda vd., 2015; Wu vd., 2018; Malashree vd., 2019). Bugüne kadar en çok bilinen laktat, çeşitli peptitler, KZYA, galaktooligosakkaritler gibi farklı postbiyotiklerin,

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* bakterilerine ait suşlar tarafından bağırsakta veya gıda sistemlerindeki fermentasyonla üretildiği bilinse de *Streptococcus* ve *Faecalibacterium* gibi birçok bakteri veya maya tarafından da postbiyotik sayılabilecek metabolitlerin üretildiği bilinmektedir (Aguilar-Toalá vd., 2018; Collado, vd., 2019).

Gıda sistemlerinde postbiyotik ve paraprobiyotiklerin kullanılması için öncelikle detaylı bir şekilde tanımlanmış ve karakterizasyonunun iyi bir şekilde yapılmış olması gerekmektedir. Postbiyotiklerde metabolitlerin tanımlanması, paraprobiyotiklerde ise bozulmamış hücrelerdeki bütünlüğün veya değişikliklerin değerlendirilmesi için kullanılan tekniklerin ve analitik araçların seçimi, analitik amaçlara, mikrobiyel komplekslerin niteliksel ve/veya niceliksel özelliklerine ve incelenen moleküllere bağlıdır (Shenderov vd., 2020). Ek olarak, bunların fonksiyonel amaçlarla üretimini uygun maliyetle sağlamak için kullanılabilir teknolojik ve endüstriyel süreçler üzerinde çalışılmasına da ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla Dunand vd. (2019) yaptıkları çalışmada hem laboratuvar hem de endüstriyel ölçekte postbiyotik üretiminin, biyoaktivitelerinde ve/veya koruyucu etkilerinde farklılık oluşturmadığı sonucuna varmışlardır. Son olarak, postbiyotik / paraprobiyotik ile yapılan sınırlı sayıda çalışmada, probiyotiklerde olduğu gibi yararlı etki sağlamak için gerekli olan spesifik bir doz belirlenmesi, bunlar için henüz tam olarak saptanmamıştır (Nataraj vd., 2020). Bunun için gelecekteki çalışmalarda, *in vitro* aktivitelerinin ve *in vivo* etkilerinin biyoaktivitelerini daha iyi anlamak için mekanistik çalışmalara odaklanılmalıdır.

PROBİYOTİK YERİNE PARAPROBİYOTİK VE POSTBİYOTİK KULLANIMI

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak nitelendirilmesi için bağırsağa kadar canlılığını kaybetmeden ulaşması ve bağırsak çeperine tutunabilme yeteneğinin olması gerekir. Test edilen probiyotik suşları, gelişme ortamı, inkübasyon sıcaklığı ve ön işlem yöntemleri gibi

üretim süreci koşullarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Probiyotik suşların bu tip koşullardan etkilenmesi, belirli gıdalarda kullanımında bazı teknolojik zorluklar getirmektedir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre, bir gıdanın probiyotik ürün olarak kabul edilmesi için en az 10^6 KOB/g ya da ml canlı probiyotik bakteri içermesi ve bunu muhafaza etmesi gerektiği bildirilmiştir (Anonymous, 2006). Probiyotiklerin canlı olma gereksinimi, bunların belirli gıdalarda kullanımını zorlaştırmaktadır. Böylece aynı faydaları sağlayan paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin üretimi ön plana çıkmaktadır. Teknolojik olarak üretimi sırasında yüksek ısı işlem gereken ürünlere kolay ilave edilebilmeleri, canlılık kaybı problemi olmadığı için soğuk zincir gereksiniminin olmaması, depolama ve taşıma kolaylığı, az gelişmiş bölgelere ürün dağıtım ve satışının kolay olması gibi avantajları nedeniyle gıdalarda probiyotikler yerine paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin kullanılması giderek önem kazanmaktadır.

Probiyotikler de dahil olmak üzere canlı bakterilerin sağlık uygulamalarında kullanımı fırsatçı patojenite gelişimine neden olabilmektedir. Bu durum bağışıklık sistemi zayıf bireyler için risk oluşturmakta ve yoğun bakım hastalarında, bağırsak bütünlüğü bozulmuş aktif kanamalı hastalarda (örneğin şiddetli inflamatuvar bağırsak hastalığı- IBH) ve şiddetli pankreatit durumunda probiyotik kullanılması önerilmemektedir (Singhi vd., 2016). Canlı mikroorganizma yerine inaktive edilmiş mikroorganizma ve hücre özütlerinin kullanılması; immün sistemi zayıf ya da baskılanmış bireylerde enfeksiyon veya enflamasyon riski oluşturmadığı için probiyotiklere göre daha fazla güvenlik faktörünün olması, depolama ve dağıtım seçeneklerindeki kolaylıklar nedeniyle de ürünlerde kullanım kolaylığı sunması gibi avantajlar sağlamaktadır (Sawada vd., 2016; Warda vd., 2019).

Gıda sistemlerinde probiyotiklerin kullanımına alternatif olarak geliştirilen paraprobiyotikler; DNA filamentlerinin kırılması, hücre zarı bozulması veya hücre duvarının mekanik hasarı

gibi mikrobiyel hücre yapılarını değiştiren faktörlere maruz kalıp hücre canlılıklarını tamamen kaybeden mikroorganizmalardır. Ek olarak, temel enzimlerin etkisizleştirilmesi veya membran seçiciliğinin devre dışı bırakılması gibi mikrobiyel fizyolojik fonksiyonlardaki değişiklikler de canlılık kaybına neden olur. Canlı bakterilerin inaktivasyonu ile paraprobiyotik elde etmek amacıyla çeşitli yöntemler literatürde uygulanmıştır. Bunlar ısı işlem, kimyasallar (ör. formalin), gama veya ultraviyole ışınlama, sonikasyon ve ohmik ısıtmadır (de Almada vd., 2016; Tiptiri-Kourpeti vd., 2016). Uygulanan işlemler ve normları, hücrenin bütünlüğü üzerinde farklı etkilere sahiptir. Bu etkiler işlemin yoğunluğu, işlemin türü ve uygulanma süresine göre değişmekle birlikte elde edilen paraprobiyotüğün sağlık faydaları üzerinde de etkilidir.

Postbiyotikler, canlı probiyotik mikroorganizmalar tarafından üretilen veya hücre kırılmasından sonra konağa herhangi bir fizyolojik fayda sağlayan biyoaktif çözümler faktörler (ürünler veya metabolik yan ürünler) olarak tanımlanır. Moleküler ağırlığı 50 ila 100 kDa olan, çözümler, cansız bakteri ürünleri olan postbiyotiklerin konakçı üzerinde biyolojik aktiviteleri olduğu bilinmektedir. Postbiyotik üretimi genellikle ısı ve enzimatik işlemler, çözümler ekstraksiyonu ve sonikasyon gibi hücre parçalama tekniklerini içerir. Ardından ilave bir ekstraksiyon ve santrifüj, diyaliz, dondurularak kurutma ve kolon saflaştırma gibi üretim sonrasındaki işlemler, üretim prosedürleri elde etmeye yardımcı olmak için kullanılmaktadır (Aguilar-Toalá vd., 2018).

In vitro ve *in vivo* çalışmalar; postbiyotiklerin ve paraprobiyotiklerin antienflamatuar, immünomodülatör, antioksidan ve antimikrobiyel gibi biyoaktiviteler ile antikarsinogenik, antiproliferatif faydalar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Paraprobiyotikler; alkolün yol açtığı karaciğer hastalıkları, solunum yolu hastalıkları, ishal, inflammatuar bağırsak hastalıkları, antienflamatuar, bağışıklık sistemi ve bağırsak mikrobiyotasının bakteriyel translokasyonunu modüle etmek gibi farklı amaçlar için kullanılmış

ve literatürde olumlu etkiler göstermiştir. Diğer faydalı etkileri; laktoz intoleransının azaltılması, diş çürüğünün iyileştirilmesi, yaşlanma belirtilerinin yavaşlatılması ve kanser hücrelerinin büyümesini kontrol etmesidir (de Almada vd., 2016; Sharma ve Shukla, 2016; Posadas vd., 2017; Aguilar-Toalá vd., 2019; Chuah vd., 2019; de Oliveira Coelho vd., 2019; Moradi vd., 2019; Riaz Rajoka vd., 2019; Cuevas-González vd., 2020).

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Probiyotikler gibi paraprobiyotikler bağışıklık sistemine etki ederler ve bağışıklığı düzenleme üzerindeki etkileri hakkında literatürdeki çeşitli raporlar bulunmaktadır. Paraprobiyotik uygulamasının doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinden olan makrofajların tepkisini *in vitro* olarak arttırdığı ve enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemi üzerinde bir etki yarattığı yapılan çalışmalarla gözlenmiştir. Paraprobiyotik elde etmek için uygulanan ısı ile inaktivasyonlarda, makrofajlarda bağışıklığı destekleyici sitokinlerin üretimindeki artış üzerinde, hücreye uygulanan ısı işlemin engel oluşturmadığı, böylece paraprobiyotüğün bağışıklığı olumlu yönde etkilediği yorumu literatürde bildirilmiştir (de Almada vd., 2016).

Cansız hücreler olan paraprobiyotiklerin elde edilmesinde kullanılan inaktivasyon yöntemlerinin değerlendirildiği bir çalışmada bakteriler 60°C'de 2 saat ısı şoku, 2.5 saat boyunca UV uygulaması ve formalin (%1 v/v) uygulaması olmak üzere 3 farklı yolla inaktive edilmiştir. Çalışma sonunda, ısı işlem görmüş formun en iyi sonucu verdiği belirtilmiştir (Kamilya vd., 2015). Fujiki vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, ısı ile inaktive edilerek elde edilmiş paraprobiyotik *Lb. plantarum* L-137 uygulamasının, bağışıklığı destekleyici IL-12p40 sitokininin üretimini, hücre yapısındaki tekoik asit bileşiminin uyardığı ve *in vitro* immünomodülasyon aktivitesini geliştirdiği gözlenmiştir. Araştırmacılar uygulanan ısının bu asidin bileşimi üzerindeki etkisini netleştirmede önemli olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan bir başka çalışmada ısı ile inaktive edilmiş farklı laktik asit bakteri suşlarının immünostimülasyon özelliklerinin stabilitesinin, ısıya maruz

bırakıldığında ve suşa bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiş ve bu farklılığın lipoteikoik asit ve peptidoglikan gibi hücre çeperi bileşenlerinde meydana gelen değişikliklerle ilişkili olduğu belirtilmiştir (Ou vd., 2011). Hem canlı hem de ısı ile inaktive edilmiş *Lb. brevis* B13-2 yapılan çalışma sonucunda, her iki formun da antioksidan aktivite gösterdiği, paraprobiyotik formun ise hem stabilite hem de immünomodüle edici aktivite sergilediği ve bunların ışığında paraprobiyotiklerin fonksiyonel bileşenler olarak kullanılabileceği yorumu yapılmıştır (Song vd., 2020).

Bifidobacterium bifidum BGN4'ün hücre fraksiyonlarının postbiyotik özelliklerinin Lee vd. (2002) tarafından incelendiği çalışmada, dört farklı fraksiyonun (tüm hücre, hücreden arındırılmış süpernatant, saflaştırılmış hücre duvarı ve kültür süpernatantı) her biri için farklı immün reaksiyon gösteren immünoregülasyon yetenekleri rapor edilmiştir. Balzaretta vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, *Lb. paracasei* DG'den elde edilen postbiyotik bir ekzopolisakkaridin, insan monosit hücre hattı Tamm-Horsfall protein 1'de (THP-1) proinflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunu artırarak immünoestimulan özellikler sergilediği bildirilmiştir. Qi vd. (2020), yüzey tabakası proteini, genomik DNA ve metillenmemiş sitozin-fosfat-guanin içeren oligodeoksiniükleotid dahil olmak üzere *Lb. rhamnosus* GG'den elde edilen farklı postbiyotik bileşiklerin immünomodülatör özelliklerini değerlendirmiş ve çoğu postbiyotik fraksiyonunun olumlu etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yapılan araştırmalar sadece *in vitro* çalışmalar ile sınırlı değildir. Literatürde canlı olmayan mikroorganizma ve bunların preparatlarının oral yolla alındığında deneklerin sağlığı üzerindeki etkilerin araştırıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Oral yolla alınan LAB gibi belirli tipte bağırsak stimülatörlerinin oral yolla alınması ile bağırsak fonksiyonunun modifiye edilmesi mümkün olur. Bu olası fonksiyonel değişiklikler, otonom sinir sistemi, endokrin sistem ve bağışıklık sistemi yoluyla tüm vücudun çeşitli biyolojik işlevlerini etkileyebilir (Sampson ve Mazmanian, 2015). Arai

vd. (2018) yaptıkları çalışmada paraprobiyotik *Lb. paracasei* MC1849 uygulanmasının, farelerin bağırsak dokularında antijene özgü IgA üretimini iyileştirdiğini, bu paraprobiyotüğün, edinilmiş bağışıklık tepkilerini geliştirme potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, inaktive edilmiş *Lactococcus lactis* H61'in oral yoldan farelere 4 ay boyunca verilmesinin bağışıklığı olumlu etkileyip kemik dansitesindeki azalma, cilt ülserlerinin görülme sıklığı, saç dökülmesi gibi yaşlanmaya dair bazı belirtilerin üstesinden gelme potansiyeli olduğu bildirilmiştir (Kimoto-Nira vd., 2007). Benzer bir başka çalışmada, yaşlandırılmış farelere 10 mg/gün dozda (1×10^{11} KOB/g) paraprobiyotik *Lb. gasseri* TMC0356 oral yolla diyetlerinin içine eklenmiş ve bunun sonucunda paraprobiyotik laktobasillerin, konakçı hayvanlarda hücre aracılı bağışıklığı artırabileceğini ve dolayısıyla yaşa bağlı immün yaşlanmayı (yaşlanmaya bağlı olarak bağışıklığın bozulması) değiştirebileceğini göstermiştir (Kawase vd., 2011).

GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ÜZERİNE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Bağırsak mikrobiyotası; insan vücudunun metabolik, sindirim, immünolojik süreçlerinde ve patojen mikroorganizmaları engellemede önemli bir rol oynar. Bağırsak mikrobiyotasının sağlığı ve dengesinin iyileştirilmesinde tıpkı probiyotikler gibi paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin de rol oynadığı yapılan çalışmalarla görülmüştür (Wegh vd., 2019). Bu nedenle, probiyotiklere alternatif olarak paraprobiyotik ve postbiyotik kullanımı popüler olmaya başlamıştır. Bağırsak mukozasının *in vitro* modellerinde ısı ile öldürülmüş çeşitli probiyotik suşların kombinasyonunun uygulanmasının; patojen bakterilerin mukozaya yapışmasını önleyerek, paraselüler geçirgenliğin artmasını engelleyerek, membran bütünlüğünün restorasyonunu ve sitokin gen ekspresyonunu modüle ederek bağırsak hücrelerini *Escherichia coli* enfeksiyonundan koruduğu literatürde öne sürülmüştür (de Servi ve Ranzini, 2017).

Bağırsak bariyer bütünlüğü ile alakalı paraprobiyotikler ve postbiyotiklerin potansiyel kullanımı ile ilgili çeşitli *in vitro* çalışmalar

mevcuttur. Isı ile inaktive edilmiş çeşitli paraprobiyotik bakterileri (*Lb. bulgaricus*, *Lb. acidophilus* ve *Streptococcus thermophilus*) içeren yoğurt tüketiminin etkisinin *in vitro* olarak hücre kültürleri üzerinde araştırıldığı bir çalışmada, insan intestinal Caco-2 hücrelerinde bağırsak epitel bariyer fonksiyonunun bozulmasını önlemede paraprobiyotiklerin önemli ölçüde etkili olduğu bildirilmiştir (Zeng vd., 2015). KZYA, safra asitleri, poliaminler ve aril hidrokarbon reseptör (AhR) ligandları gibi postbiyotik olan metabolitler, hem immün olan hem de olmayan bağırsak hücreleri ile birlikte bağırsak mikrobiyomunu etkilemenin yanı sıra gastrointestinal sistemin bariyer yüzeyini korumak, doğuştan gelen ve uyarlanabilir konakçı immün yanıtlarını modüle etmek gibi çeşitli işlevlere de sahiptir (Postler ve Ghosh, 2017). KZYA'nın, bağırsak mukozal bariyerinin bütünlüğünü koruduğu, antienflamatuar etkileri olan histon deasetilaz inhibitörleri olduklarından doğal bağırsıklıkta ve adaptif bağırsak bağırsıklığında önemli bir rol oynadığı literatürde belirtilmiştir (Koh vd., 2016; Riwes ve Reddy., 2020). Graft Versus Host Hastalığı (GVHH); kök hücre naklinden sonra donörün kemik iliği ya da kan kök hücresinde bulunan T lenfositlerle, alıcının doku grubu antijenleri arasındaki etkileşim sonucu oluşan, donörden alınan T lenfositlerinin alıcıyı (host) yabancı olarak algılaması nedeniyle immün hücrelerinde hasar meydana getiren önemli bir komplikasyondur. Akut ya da kronik olarak sınıflandırılabilir. Farelerde deneysel olarak oluşturulan akut GVHH'de; mikrobiyel metabolitlerin özellikle de KZYA'nın, intestinal epitel hücrelerinde azaldığı gösterilmiştir. KZYA'den bütirat ve propiyonatın doğrudan verilmesinin ya da bağırsakta bu metabolitleri (özellikle de bütirat) üreten bakterileri arttırmanın, farelerde akut GVHH şiddetinde azalma sağladığı gösterilmiştir (Mathewson vd., 2016; Fujiwara vd., 2018).

İnflamatuar bağırsak hastalığının (IBH) iki formu olan Crohn hastalığı ve ülseratif kolit için bazı paraprobiyotiklerin probiyotikler gibi fayda sağladığını gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, ısı ile inaktive edilmiş (121°C'de 20 dakika) *Lb. brevis*

SBC8803'ün, kolitli farelerin bağırsak yaralanmaları üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Ueno vd., 2011). Paraprobiyotik uygulamasının, oksidatif stres altında bağırsak epitelinin bariyer fonksiyonunu geliştirdiği, bu nedenle paraprobiyotik uygulanmış kolitli farelerde inflamasyonu ve intestinal hasarı azalttığı, bağırsak iltihabını iyileştirirken bağırsak homeostazisini de başarıyla sürdürmeye yardımcı olduğu ve probiyotikler gibi bağırsakta kolonize olmadan sağlık etkisi yarattığı görülmüştür. Araştırmacılar, proinflatuar sitokinlerin düzenlenmesi ve hücrelerin farklılaştırılması yoluyla bağırsak iltihabının iyileştiği yorumunu yapmışlardır. Benzer bir sonuç Chiu vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada da görülmüştür. Çalışmada, paraprobiyotik *Lb. plantarum*'un (10⁷ KOB/ml) *in vitro* olarak uygulamasının insan intestinalindeki Caco-2 hücrelerine ait gen ekspresyonlarının düzenleyerek inflamasyonu inhibe ettiği, Gram negatif bakteriler tarafından salgılanıp enflamatuarı indükleyen lipopolisakarite karşı (LPS) bağırsağın dayanımını arttırdığı bildirilmiştir. Aktif ülseratif kolite ve bu hastalığın alevlenmelerine karşı *Bifidobacterium* spp. ile fermente edilmiş sütteki paraprobiyotik Bifidobakterilerin etkisi Imaoka vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada araştırılmıştır. Çalışmada, paraprobiyotik *B. breve* ve *B. bifidum* uygulanmasının, antienflamatuar bir sitokin olan interlökin 10 (IL-10) üretimini tetiklediği ve epitelyal hücrelerde proinflatuar bir sitokin olan interlökin 8 (IL-8) salgılanmasını baskıladığı gözlenmiştir. Postbiyotiklerin kolondaki etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, miyojenik hasara neden olan lipopolisakaritlerden insan kolonundaki düz kas hücreleri *Lb. rhamnosus*'un postbiyotik reaksiyonların gerçekleşmesine aracılık eden postbiyotik kimyasal maddeleri koruduğu Cicenya vd. (2016) tarafından belirtilmiştir. Çalışmalar sonucunda paraprobiyotiklerin ve/veya bunların hücre duvarı özütlerinin, canlı bakterilere benzer yollar ile iltihabı hafifletebildiği sonucuna ulaşılmaktadır.

Paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin etkisinin araştırıldığı sağlık problemlerinden birisi de kolon ve mide kanseridir. Literatürde yapılan çalışmalarda, farklı paraprobiyotik *Lactobacillus*

spp. fraksiyonlarının, ısıyla inaktive edilmiş hücrelerinin, hücre duvarının, peptidoglikan ve sitoplazmatik fraksiyonların insan kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif bir etki gösterebildiği belirtilmiştir (de Almada vd., 2016, Ashwini vd., 2019). Postbiyotikler ile kolon kanseri hücrelerine karşı yapılan çalışmalarda da paraprobiyotiklere benzer olarak antiproliferatif etkiler kanıtlanmış ve bu etkilerin büyük olasılıkla bağıışıklık tepkilerinin düzenlenmesi yoluyla olduğu yorumu literatürde yapılmıştır (Tiptiri-Kourpeti vd., 2016). Maghsood vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *Lb. reuteri* PTCC 1655'ten üretilen postbiyotiklerin (hüresiz süpernatant) ve paraprobiyotiklerin (ısıl işlem görmüş ve sonike edilmiş), kolon kanseri kök hücre benzeri hücreler (HT29-ShE) üzerinde baskılayıcı etkiler göstererek apoptozu (kontrollü hücre ölümünü) artırdığı gözlenmiştir. Probiyotik *S. thermophilus* ve onun postbiyotik EPS'leri ile yapılan bir çalışmada; *Helicobacter pylori* adezyonunun azaldığı, yapışkan insan mide adenokarsinom epitel hücre hattında (AGS hücreleri) sitokin IL-8'in modülasyonu ile enflamasyon hafifleyerek antienflamatuvar etkinin görüldüğü bildirilmiştir (Marcial vd., 2017). Benzer sonuçlar literatürde başka çalışmalarda da görülmüş ve postbiyotik/paraprobiyotik uygulamasının, insan kolon karsinom hücre hattı ile kolon adenokarsinom hücre hattı üzerinde apoptozu artırdığı bildirilmiştir (Karimi Ardestani vd., 2019; Nozari vd., 2019).

Literatürde canlı olmayan mikroorganizma ve bunların preparatlarının oral yolla tüketiminin, deneklerin bağırsak sağlığı ve stabilitesi üzerine olan etkisinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Diyet yolu ile tüketimi ile bağırsak mikrobiyotasının hem kompozisyonunun hem de metabolik aktivitesinin gelişmesine paraprobiyotik tüketiminin olumlu katkıda bulunduğu, bu katkıların peptitler, teikoik asitler gibi hücre duvarı bileşenlerinden dolayı olduğu yapılan çalışmalarla literatürde belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada, hızlandırılmış şekilde yaşlandırılmış farelerin diyetine 0.5 g/kg'da ısı ile inaktive edilmiş *Lc. lactis* ssp. *lactis* G50 ilave edilmiş paraprobiyotik tüketiminin bağırsakta zararlı bakterilerinin gelişimini baskıladığı, bu

farelerin bağırsak mikrobiyotasını iyileştirdiği, bağırsakta H₂S üreten bakterilerin çoğalmasını engellediği belirlenmiştir (Kimoto-Nira vd., 2009). Yapılan klinik bir çalışmada ise 2 hafta boyunca günlük olarak paraprobiyotik kullanan katılımcılarda, günlük ≥ 10 mg doz paraprobiyotik alımının, bağırsak ortamında gözlenen *Bacteroides fragilis* gibi bakterilerin seviyesini önemli şekilde azalttığı, bağırsak hareketlerini ise artırdığı gözlenmiştir (Asama vd., 2016). Ülseratif kolit üzerinde yapılan çalışmada, oral olarak hem canlı hem de paraprobiyotik *Lb. plantarum* Zhang-LL verilen farelerde; serumda proinflamatuvar sitokin miktarının ve kolon dokusunda bağırsak geçirgenliğinin azaldığı, intestinal mikrobiyota stabilitesinin korunduğu ve böylece farelerde ülseratif kolit semptomlarının hafiflediği gözlenmiştir (Jin vd., 2020).

Bağırsak bariyerini korumak ve bakteriyel translokasyonu azaltmak için paraprobiyotik kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışmada, ısı ile etkisiz hale getirilmiş *Saccharomyces boulardii* (10⁹ KOB/ml) uygulamasının, bağırsak geçirgenliğini koruyarak ve bakteriyel translokasyonu azaltarak farelerde bağırsak bariyerini koruduğu belirtilmiştir. Bu faydaların çalışmada kullanılan maya hücresinin duvarına bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle etki mekanizmasında, hücre yapısı bileşenlerinin hücre metabolizmasından daha fazla etkili olduğu yorumu yapılmıştır (Generoso vd., 2011). Visceral ağrı (iç organlardan kaynaklanan ağrılar) rahatsızlığına karşı paraprobiyotiklerin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıçanlarda probiyotik veya paraprobiyotik *Lb. reuteri*'nin ısı (80°C'de 20 dk) veya gama ışını ile etkisiz hale getirilip etkileri araştırılmıştır. Araştırmacılar bu uygulamaların, bağırsaktaki enterik sinirler üzerinde olumlu etki ettiğini, kolorektal distansiyonun (kalın bağırsakta gaz birikimi sonucu şişkinlik ve ağrı) neden olduğu iç organlardan kaynaklanan ağrıları (viseral ağrıyı) önleyebildiğini, lipoteikoik asit gibi bakteri hücre duvarı bileşenlerinin pro ve antienflamatuvar immün tepkilerini düzenleyebileceğini belirtmişlerdir (Kamiya vd., 2006).

Paraprobiyotik ve postbiyotik kullanılarak üretilmiş bazı ilaçların, sindirim sistemi

rahatsızlıkları üzerindeki etkilerini değerlendirmek için çalışmalar yapılmıştır. İshal tedavisi amacıyla ısı ile inaktive edilmiş liyofilize *Lb. acidophilus* içeren paraprobiyotik kapsüller, Fransa'da ticari olarak geliştirilmiş ve insanlarda kronik ishalin tedavisinde kullanılmıştır. Bu kapsülün çocuklarda viral veya bakteriyel kaynaklı ishalin tedavisinde, hastalık süresinin azaltılmasında, irritabl bağırsak sendromu olan hastalarda dışkı kıvamının iyileştirilmesinde fayda sağladığı belirlenmiştir (de Almada vd., 2016). Araştırmacılar bu ticari kapsülün etki şeklinin, *Lb. acidophilus*'un patojenik mikroorganizmanın yapışma ve istilasına karşı kolitli mukozayı koruma kabiliyeti geliştirmesiyle ilgili olduğunu öne sürmüşlerdir. *Lb. rhamnosus* V'den ekstrakte edilen muramil peptidleri içeren ticari bir postbiyotik ilacın, çocuklarda gastrointestinal rahatsızlığın giderilmesine yardımcı olduğu; *B. longum*, *S. thermophilus* ve *Lb. plantarum*'un hücre duvarı izatlarını içeren bir ilacın çocuklarda disbiyozis (bozulmuş, sağlıklı mikrobiyota) ve otizmi önlemede faydalı olduğu; *Lb. acidophilus* ve *Lb. helveticus*'un ürettiği KZYA'ni içeren bir başka ilacın ise kronik gastritli hastalarda sağlıklı mikrobiyotayı düzenlediği yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (West vd., 2013; Omarova vd., 2014). Kabız veya bağırsak hareketliliği artmış olan bireylerde ısı ile inaktive edilmiş *Lb. gasseri* CP2305'i içeren fermente sütün (%10 skimmilk+%0.25 yeast ekstrakt) etkisi araştırılmıştır (Sawada vd., 2016). Çalışma sonunda, 3 hafta boyunca, özellikle kabız olan deneklerde iyileşmeler görülmüş ve bu çalışma ile araştırmacılar, gıda yolu ile paraprobiyotik tüketiminin kabızlığa eğilimi olan hastalarda bağırsak fonksiyonunu düzenlediğini bildirmişlerdir.

PSİKOLOJİYİ DÜZENLEYİCİ ETKİSİ ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen çeşitli kanıtlar, bağırsak mikrobiyotasının otonom sinir sisteminin faaliyetlerini değiştirebileceğini ve bağırsak fonksiyonlarını, serotonin biyosentezi ve ruh sağlığı durumunu değiştirebileceğini göstermiştir. Bu tedaviler için kullanılan canlı mikroorganizmalara "psikobiyotik" denilmektedir (Sampson ve Mazmanian, 2015; Obata ve Pachnis, 2016).

Yapılan bir çalışmada, canlı formda veya ısı uygulaması ile (100°C'de 30 dk) öldürülen *Lb. paracasei* PS23'ün (10⁸ KOB/0.2 ml doz) antidepresan benzeri etkileri araştırılmıştır. Hem canlı hem de paraprobiyotik PS23'ün anksiyete ve depresyon benzeri davranışları tersine çevirebildiği, depresyon yönetimi için potansiyel bir psikobiyotik olabileceği öne sürülmüştür (Wei vd. 2019). Warda vd. (2019) ısı işlem görmüş *Lb. fermentum* ve *Lb. delbrueckii* suşlarını içeren bir paraprobiyotik ürününün (ADR-159) farelerde kullanımının, stres hormonu kortikosteronun seviyesini düşürdüğü ve hayvanların sosyalliğini artırdığını gözlemlemişlerdir. Benzer bir çalışmada, araştırmacılar paraprobiyotiklerin *Lb. helveticus* MCC1848'in subkronik ve hafif sosyal yenilgi stres modeli farelerde anksiyolitik veya antidepresan benzeri etkiler sağladığını bulmuşlardır (Maehata vd., 2019). Varian vd. (2017), *Lb. reuteri* ATCC-PTA-6475'ten elde edilen postbiyotiklerin, farelerde oksitosin seviyelerini artırdığını ve kortikosteronu azalttığını, bunlara ek olarak farelerin cilt yaralarında daha hızlı iyileşme sağladığını gözlemlemişlerdir.

Nishida vd. (2017a) tarafından yapılan çalışmada, paraprobiyotik *Lb. gasseri* CP2305 her bir test içeceği kutusunda 1x10¹⁰ bakteri/kutu olacak şekilde hazırlanan içecekten katılımcılar 5 hafta boyunca günde 1 kere tüketmiştir. Çalışmada paraprobiyotik CP2305'in etkilerinde stres yanıtını düzenleyen potansiyel bir paraprobiyotik olduğu sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde başka bir çalışmada paraprobiyotik *Lb. gasseri* CP2305 1x10¹⁰ KOB/ml dozda olacak şekilde hazırlanıp, içeceklere eklenerek sınav stresi altında olan bireylere 12 hafta boyunca içirilmiş ve bunun sonucunda uyku kalitesinin önemli ölçüde arttığı, parasempatik sinir aktivitesindeki iyileşmeye ek olarak stresli koşullar altında bağırsak alışkanlıklarının normalleştiği tespit edilmiştir (Nishida vd., 2017b). Fiziksel ve zihinsel stres altındaki atletler ile yapılan bir çalışmada, atletler inaktive edilmiş *Lb. gasseri* CP2305 (1x10¹⁰ KOB/kutu) içeren özel hazırlanmış içecekleri 12 hafta boyunca tüketmişlerdir. Çalışma sonucunda katılımcıların yorgunluklarının önemli ölçüde

azaldığı, endişe ve depresif ruh hallerinin hafiflediği görülmüştür (Sawada vd., 2019)

DİĞER SAĞLIK ETKİLERİ ÜZERİNE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Çeşitli paraprobiyotik uygulamalarının; alerjik rinit semptomlarına karşı baskılayıcı etki yapıp hafiflettiği, alerjik solunum yolu hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde potansiyel sağladığı, konakçının savunma mekanizması olan bağırsak immünesini düzenlediği, solunum yollarının aşırı duyarlılığını azalttığı, yaşlı erişkinlerde yaygın soğuk algınlığı oranını düşürdüğü ve genel sağlık durumunun iyileştirdiği gözlenmiştir (de Almada vd., 2016). Yıllarca süren alerjik rinitli hastaların semptomlarının hafifletilmesinde paraprobiyotik uygulamasının olası etkisi klinik bir çalışmada incelenmiştir. Çalışmada ısı ile inaktive edilmiş *Lb. plantarum* YIT 0132 eklenen bir narenciye suyunu katılımcılar 8 hafta boyunca günde bir kez tüketmişlerdir. Sonuçlar, LP0132 tüketen katılımcıların nazal semptom skorunda ve tıkalı burun skorunda önemli bir azalma olduğunu göstermiştir (Harima-Mizusawa vd., 2016).

Paraprobiyotik uygulamasının, farelerde diş çürümesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; diş çürüğü oluşumunun azaldığı, ayrıca oral mikrobiyotayı değiştirmek için potansiyel olarak kullanılabilceği gösterilmiştir (Sañudo vd., 2017). Yapılan başka bir çalışmada 12 hafta boyunca katılımcılara oral yolla ısı ile inaktive edilmiş *Lb. plantarum* L-137'den günlük 10 mg verilmiş ve periodontal tedavideki sonuçları incelenmiştir. Çalışma sonucunda, hastalarda periodontal ceplerin en dip noktasında azalmalar gözlenerek olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Iwasaki vd. 2016).

Laktoz intoleransı olan çocuklarda paraprobiyotik (Dialac) içeren poşet uygulamasının etkisi araştırılmıştır. Yapılan uygulamanın laktoz intoleranslı çocuklarda laktoz intoleransını gösteren hidrojen solunum test sonuçlarını azalttığı görülmüştür (Rampengan vd., 2010). Alkolle tetiklenen karaciğer hastalığına paraprobiyotiklerin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, paraprobiyotik tüketiminin alkolle indüklenen karaciğer hastalığını iyileştirebildiği

görülmüştür (Segawa vd., 2008). Yapılan bir çalışmada, paraprobiyotik takviyesinin, yüksek yoğunluklu egzersiz sırasında, üst solunum yolu enfeksiyon hastalıklarının görülme sıklığını azalttığı, semptomları hafiflettiği, yorgunluk hissini azalttığı gösterilmiştir (Komano vd., 2018).

Atopik dermatit tedavisine yönelik yapılan çalışmalarda, bazı probiyotik ve paraprobiyotik oral yolla uygulanmasının cilt iltihabı ve lezyonları inhibe ettiği bildirilmiştir. Moroi vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, 12 hafta boyunca paraprobiyotik içeren toz formda diyet takviyesi uygulanan hastalarda, diğerlerine göre apotik dermatit semptomlarının ve cilt lezyonlarının ciddiyetinin azaldığı görülmüştür. Cilt üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada da paraprobiyotik insan keratinositindeki cilt nemlendirme aktivitesi değerlendirilmiş ve nemlendirici ürünlerde fonksiyonel bir bileşen olarak paraprobiyotik kullanımına ilişkin ön veriler sunulmuştur (Kim vd., 2020).

Nakamura vd. (2016) tarafından yapılan obez fare modelinde, 12 hafta boyunca parçalanmış *Lactobacillus amylovorus* CP1563 ile muamelenin, plazmadaki LDL-kolesterol ve trigliserit seviyelerini düşürdüğü, ateroskleroz indeksini önemli ölçüde azalttığı ve plazma HDL-kolesterol seviyesini yükselttiğini gözlenmiştir. Araştırmacılar, parçalanmış CP1563'ün dislipideminin önlenmesi ve tedavisi için bir aday olabileceği sonucuna varmışlardır. Muramil dipeptid bazlı postbiyotiklerin obez fareler üzerinde denendiği bir çalışmada ise adipoz inflamasyonu ve glikoz intoleransının azaldığı gözlenmiştir (Cavallari vd., 2017).

SONUÇ

Paraprobiyotikler ve postbiyotikler ile yapılan çalışmalarda, genel anlamda sağlık yönünden olumlu ve probiyotiklerle benzer etkiler görülmüştür. Bu etkileri; hücre içi bileşenler, hücre duvarı bileşikler, elde edilen hücre özütleri ve metabolitlerinin, bağışıklık sistemini hızlandırma yolu ile sağladığı, bağırsak hücrelerine yapışmayı arttırdığı yapılan çalışmalarda görülmektedir. Bütün bu çalışmaların ışığında paraprobiyotik ve postbiyotik tüketiminin,

probiyotikler gibi sağlık faydaları olduğu anlaşılmaktadır. Probiyotiklerin etkinliğini sınırlandıran ısı işlemlerden etkilenmemesi ve kısa raf ömrü gibi sorunları olmaması nedeniyle paraprobiyotik ve postbiyotiklerin kullanım alanı giderek genişlemektedir. Ancak paraprobiyotik/postbiyotik takviyesinin sağlıkla ilgili iddialarını desteklemek ve gerekli olan spesifik bir dozu ortaya koymak için iyi tasarlanmış randomize, plasebo kontrollü insan ve klinik müdahale denemeleri ile metabolomik çalışmalara daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, makalenin herhangi bir kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKILARI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

Aguilar-Toalá, J.E., Estrada-Montoya, M.C., Liceaga, A.M., Garcia, H.S., González-Aguilar, G.A., Vallejo-Cordoba, B., vd. (2019). An insight on antioxidant properties of the intracellular content of *Lactobacillus casei* CRL-431. *LWT-Food Sci Technol*, 102: 58-63, doi: 10.1016/j.lwt.2018.12.015.

Aguilar-Toalá, J.E., Garcia-Varela, R., Garcia, H.S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A.F., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol*, 75:105-114, doi: 10.1016/j.tifs.2018.03.009.

Anonymous (2006). Türk Gıda Kodeksi. Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ (2006/34). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 7 Temmuz 2006 tarih ve 26221 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Arai, S., Iwabuchi, N., Takahashi, S., Xiao, J.-Z., Abe, F., Hachimura, S. (2018). Orally administered heat-killed *Lactobacillus paracasei* MCC1849 enhances antigen-specific IgA secretion and induces follicular helper T cells in

mice. *PloS one*, 13(6): 0199018, doi: 10.1371/journal.pone.0199018.

Asama, T., Kimura, Y., Kono, T., Tatefuji, T., Hashimoto, K., Benno, Y. (2016). Effects of heat-killed *Lactobacillus kunkeei* YB38 on human intestinal environment and bowel movement: a pilot study. *Benef Microbes*, 7(3): 337-44, doi: 10.3920/BM2015.0132.

Ashwini, A., Ramya, H.N., Ramkumar, C., Reddy, K.R., Kulkarni, R.V., Abinaya, V., Raghu, 362 A.V. (2019). Reactive mechanism and the applications of bioactive prebiotics for human 363 health. *J Microbiol Methods*, 159, 128-137. doi: 10.1016/j.mimet.2019.02.019

Balzaretti, S., Taverniti, V., Guglielmetti, S., Fiore, W., vd. (2017). A novel rhamnose-rich heteropolysaccharide isolated from *Lactobacillus paracasei* DG activates THP-1 human monocytic cells. *J Appl Environ Microbiol* 83(3): e02702-02716, doi: 10.1128/AEM.02702-16.

Baothman, O. A., Zamzami, M. A., Taher, I., Abubaker, J., Abu-Farha, M. (2016). The role of gut microbiota in the development of obesity and diabetes. *Lipids Health Dis*, 15(1): 1-8, doi: 10.1186/s12944-016-0278-4.

Bektas, A., Ulusoy, M., Bektaş, V. (2020a). Gıda etiketlerinde yer alan bilgilerin sağlıklı algılanma (health halo) etkisi. *GIDA*, 45(3): 590-599, doi: 10.15237/gida.GD20045.

Bektaş, A., Ulusoy, M., Bektaş V. (2020b). Gıda Takviyesi Olarak Probiyotik, Paraprobiyotik, Postbiyotik ve Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri. Türkiye 13.Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020, Çanakkale, Türkiye, 20 s.

Buran, İ. (2020). Probiyotik ve Prebiyotiklerin Sinbiyotik Kullanımının İnek ve Keçi Sütünden Üretilen Kefirlerin Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 175 s.

Cavallari, J. F., Fullerton, M. D., Duggan, B., vd. (2017). Muramyl dipeptide-based postbiotics mitigate obesity-induced insulin resistance via IRF4. *Cell Metab*, 25: 1-12, doi: 10.1016/j.cmet.2017.03.021.

- Chiu, Y.-H., Lu, Y.-C., Ou, C.-C., Lin, S.-L., Tsai, C.-C., Huang, C.-T. (2013). Lactobacillus plantarum MYL26 induces endotoxin tolerance phenotype in Caco-2 cells. *BMC Microbiol*, 13:1-9, doi: 10.1186/1471-2180-13-190.
- Chuah, L.O., Foo, H.L., Loh, T.C., Mohammed Alitheen, N.B., vd. (2019). Postbiotic metabolites produced by Lactobacillus plantarum strains exert selective cytotoxicity effects on cancer cells. *BMC Complement Altern Med*, 19(1): 114, doi: 10.1186/s12906-019-2528-2.
- Collado, M.C., Vinderola, G., Salminen, S. (2019). Postbiotics: facts and open questions. A position paper on the need for a consensus definition. *Beneficial Microbes*, 10(7): 711-719, doi: 10.3920/BM2019.0015.
- Cicenia, A., Santangelo, F., Gambardella, L., Pallotta, L., Iebba, V., Scirocco, A., vd. (2016). Protective role of postbiotic mediators secreted by Lactobacillus rhamnosus GG versus lipopolysaccharide-induced damage in human colonic smooth muscle cells. *J Clin Gastroenterol*, 50: 140-144, doi: 10.1097/MCG.0000000000000681.
- Cuevas-González, P.F., Aguilar-Toalá, J.E., García, H.S., González-Córdova, A.F., VallejoCordoba, B., Hernández-Mendoza, A. (2020). Protective effect of the intracellular content from potential probiotic bacteria against oxidative damage induced by acrylamide in human erythrocytes. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 12(4):1459-1470, doi: 10.1007/s12602-020-09636-9.
- de Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C. R., Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends Food Sci Technol*, 58: 96-114, doi: 10.1016/j.tifs.2016.09.011.
- de Oliveira Coelho, B., Fiorda-Mello, F., de Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., vd. (2019). *In vitro* probiotic properties and DNA protection activity of yeast and lactic acid bacteria isolated from a honey-based kefir beverage. *Foods*, 8(10): 485, doi: 10.3390/foods8100485.
- de Servi, B., Ranzini, F. (2017). Protective efficacy of antidiarrheal agents in a permeability model of Escherichia coli-infected CacoGoblet® cells. *Future Microbiol*, 12(16): 1449-1455, doi: 10.2217/fmb-2016-0195.
- Dunand, E., Burns, P., Binetti, A., Bergamini, C., Peralta, vd. (2019). Postbiotics produced at laboratory and industrial level as potential functional food ingredients with the capacity to protect mice against Salmonella infection. *J Appl Microbiol*, 127(1): 219-229, doi: 10.1111/jam.14276.
- Fujiki, T., Hirose, Y., Yamamoto, Y., Murosaki, S. (2012). Enhanced Immunomodulatory Activity and Stability in Simulated Digestive Juices of Lactobacillus plantarum L-137 by Heat Treatment. *Biosci Biotechnol Biochem*, 76(5): 918-922, doi: 10.1271/bbb.110919.
- Fujiwara, H., Docampo, M.D., Riwes, M., vd. (2018). Microbial metabolite sensor GPR43 controls severity of experimental GVHD. *Nat Comm*, 9(1):3674., doi: 10.1038/s41467-018-06048-w.
- Generoso, S.V., Viana, M.L., Santos, R.G., Arantes, R.M.E., Martins, F.S., Nicoli, J.R. (2011). Protection against increased intestinal permeability and bacterial translocation induced by intestinal obstruction in mice treated with viable and heat-killed Saccharomyces boulardii. *Eur J Nutr*, 50: 261-269, doi: 10.1007/s00394-010-0134-7.
- Harima-Mizusawa, N., Kano, M., Nozaki, D., Nonaka, C., Miyazaki, K., Enomoto, T. (2016). Citrus juice fermented with Lactobacillus plantarum YIT 0132 alleviates symptoms of perennial allergic rhinitis in a double-blind, placebo-controlled trial. *Benef Microbes*. 30; 7(5): 649-658, doi: 10.3920/BM2016.0003.
- Imaoka, A., Shima, T., Kato, K., Mizuno, S., Uehara, T., Matsumoto, S. (2008). Anti-inflammatory activity of probiotic Bifidobacterium: Enhancement of IL-10 production in peripheral blood mononuclear cells from ulcerative colitis patients and inhibition of IL-8 secretion in HT-29 cells. *World J Gastroenterol*, 14: 2511-2516, doi: 10.3748/wjg.14.2511.

- Iraporda, C., Errea, A., Romanin, D.E., Cayet, D., Pereyra, E., Pignataro, O., Sirard, J.C., Garrote, G.L., Abraham, A.G., Rumbo, M. (2015). Lactate and short chain fatty acids produced by microbial fermentation downregulate proinflammatory responses in intestinal epithelial cells and myeloid cells. *Immunobiology*, 220: 1161-1169, doi: 10.1016/j.imbio.2015.06.004.
- Iwasaki, K., Maeda, K., Hidaka, K., Nemoto, K., Hirose, Y., Deguchi, S. (2016). Daily Intake of Heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 Decreases the Probing Depth in Patients Undergoing Supportive Periodontal Therapy. *Oral Health Prev Dent*, 14(3):207-14, doi: 10.3290/j.ohpd.a36099.
- Jin, J, Wu, S., Xie, Y., Liu, H., Gao, X., Zhang, H. (2020). Live and heat-killed cells of *Lactobacillus plantarum* Zhang-LL ease symptoms of chronic ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in rats. *J Funct Foods*, 71: 103994, doi: 10.1016/j.jff.2020.103994.
- Kamilya, D., Baruah, A., Sangma, T., Chowdhury, S., Pal, P. (2015). Inactivated Probiotic Bacteria Stimulate Cellular Immune Responses of *Catla*, *Catla catla* (Hamilton) *In Vitro*. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 7(2):101-106, doi: 10.1007/s12602-015-9191-9.
- Kamiya, T., Wang, L., Forsythe, P., Goettsche, G., Mao, Y., Wang, Y. (2006). Inhibitory effects of *Lactobacillus reuteri* on visceral pain induced by colorectal distension in Sprague-Dawley rats. *Gut*, 55: 191-196, doi: 10.1136/gut.2005.070987.
- Karimi Ardestani, S., Tafvizi, F., Tajabadi Ebrahimi, M. (2019). Heat-killed probiotic bacteria induce apoptosis of HT-29 human colon adenocarcinoma cell line via the regulation of Bax/Bcl2 and caspases pathway. *Hum Exp Toxicol*, 38(9): 1069-1081, doi: 10.1177/0960327119851255.
- Kawase, M., He, F., Miyazawa, K., Kubota, A., Yoda, K., Hiramatsu, M. (2012). Orally administered heat-killed *Lactobacillus gasserii* TMC0356 can upregulate cell-mediated immunity in senescence-accelerated mice. *FEMS Microbiol Lett*, 326: 125-130, doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02440.x.
- Kim, H., Jeon, B., Kim, W.J., Chung, D-K. (2020). Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte. *J Funct Foods*, 75: 104244, doi: 10.1016/j.jff.2020.104244.
- Kimoto-Nira, H., Mizumachi, K., Okamoto, T., Sasaki, K., Kurisaki, J. (2009). Influence of long-term consumption of a *Lactococcus lactis* strain on the intestinal immunity and intestinal flora of the senescence-accelerated mouse. *Br J Nutr*, 102: 181-185, doi: 10.1017/S0007114508143574.
- Kimoto-Nira, H., Suzuki, C., Kobayashi, M., Sasaki, K., Kurisaki, J., Mizumachi, K. (2007). Anti-ageing effect of a lactococcal strain: Analysis using senescence-accelerated mice. *Br J Nutr*, 98: 1178-1186, doi: 10.1017/S0007114507787469.
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Bäckhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*, 165(6): 1332-1345, doi: 10.1016/j.cell.2016.05.041.
- Komano, Y., Shimada, K., Naito, H., Fukao, K., Ishihara, Y., Fujii, T., Kokubo, T., Daida, H. (2018). Efficacy of heat-killed *Lactococcus lactis* JCM 5805 on immunity and fatigue during consecutive high intensity exercise in male athletes: a randomized, placebo-controlled, double-blinded trial. *J Int Soc Sports Nutr*, 2;15(1): 39, doi: 10.1186/s12970-018-0244-9.
- Lee, M., J., Zang, Z.L., Choi, E.Y., Shin, H.K., Ji, G.E. (2002). Cytoskeleton Reorganization and Cytokine Production of Macrophages by Bifidobacterial Cells and Cell- Free Extracts. *J Microbiol Biotechnol*, 12(3): 398-405.
- Maehata, H., Kobayashi, Y., Mitsuyama, E., Kawase, T., Kuhara, vd. (2019). Heat-killed *Lactobacillus helveticus* strain MCC1848 confers resilience to anxiety or depression-like symptoms caused by subchronic social defeat stress in mice. *Biosci Biotechnol Biochem*, 83(7): 1239-1247, doi: 10.1080/09168451.2019.1591263.
- Maghsood, F., Johari, B., Rohani, M., Madanchi, H., Saltanatpour, Z., Kadivar, M. (2020). Antiproliferative and anti-metastatic potential of high molecular weight secretory molecules from

- probiotic *Lactobacillus reuteri* cell-free supernatant against human colon cancer stem-like cells (HT29-ShE). *Int J Peptide Res Therapeut*, 26: 2619–2631, doi: 10.1007/s10989-020-10049-z.
- Malashree, L., Vishwanath, A., Shivalkar, Y., Prabha, R. (2019). “Postbiotics” - One Step Ahead of Probiotics. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 8(01): 2319-7706, doi: 10.20546/ijcmas.2019.801.214.
- Marcial, G., Villena, J., Faller, G., Hensel, A., de Valdéz, G.F. (2017). Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* CRL1190 reduces the inflammatory response caused by *Helicobacter pylori*. *Benef Microbes*, 30;8(3): 451-461, doi: 10.3920/BM2016.0186.
- Martín, R., Langella, P. (2019). Emerging health concepts in the probiotics field: Streamlining the definitions. *Front Microbiol*, 10: 1047, doi: 10.3389/fmicb.2019.01047.
- Mathewson, N., Jenq, R., Mathew, A., vd. (2016). Gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease. *Nat Immunol*, 17: 505–513, doi: 10.1038/ni.3400.
- Moradi, M., Mardani, K., Tajik, H. (2019). Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* *in vitro* and in food models. *LWT- Food Sci Technol*, 111: 457-464, doi: 10.1016/j.lwt.2019.05.072.
- Moroi, M., Uchi, S., Nakamura, K., Sato, S., vd. (2011). Beneficial effect of a diet containing heat-killed *Lactobacillus paracasei* K71 on adult type atopic dermatitis. *J Dermatol*, 38(2):131-9, doi: 10.1111/j.1346-8138.2010.00939.x.
- Nakamura F, Ishida Y, Sawada D, vd. (2016). Fragmented Lactic Acid Bacterial Cells Activate Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Ameliorate Dyslipidemia in Obese Mice. *J Agric Food Chem*, 64(12): 2549-2559, doi: 10.1021/acs.jafc.5b05827.
- Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., Yadav, H. (2020). Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact*, 19(1): 1-22, doi: 10.1186/s12934-020-01426-w.
- Nishida, K., Sawada, D., Kawai, T., Kuwano, Y., Sugawara, T., Rokutan, K. (2017a). Parapsychobiotic *Lactobacillus gasserii* CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality. *J Appl Microbiol*, 123(6): 1561-1570, doi: 10.1111/jam.13594.
- Nishida, K., Sawada, D., Kuwano, Y., Tanaka, H., Sugawara, T., Aoki, Y., Fujiwara, S., Rokutan, K. (2017b). Daily administration of paraprobiotic *Lactobacillus gasserii* CP2305 ameliorates chronic stress-associated symptoms in Japanese medical students. *J Funct Foods*, 36: 112–121, doi: 10.1016/j.jff.2017.06.031.
- Nozari, S., Faridvand, Y., Etesami, A., Ahmad Khan Beiki, M., Miresmaeili Mazrakhondi, S. A., Abdolalizadeh, J. (2019). Potential anticancer effects of cell wall protein fractions from 29 *Lactobacillus paracasei* on human intestinal Caco-2 cell line. *Lett Appl Microbiol*, 69(3): 148-154, doi: 10.1111/lam.13198.
- Obata, Y., Pachnis, V. (2016). The effect of microbiota and immune system on the development and organization of the enteric nervous system. *Gastroenterology*, 151: 836–844, doi: 10.1053/j.gastro.2016.07.044.
- Omarov, T. R., Omarova, L. A., Omarova, V. A., Sarsenova, S. V. (2014). The chronic gastritis, the dysbacteriosis and the use of Hylak forte at the treatment. *Wiad Lek*, 67(2 Pt 2): 365-7.
- Ou, C-C., Lin, S-L., Tsai, J-J., Lin, M-Y. (2011). Heat-Killed Lactic Acid Bacteria Enhance Immunomodulatory Potential by Skewing the Immune Response toward Th1 Polarization. *J Food Sci*, 76(5): 260-267, doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02161.x.
- Palmer, C., Bik, E.M., DiGiulio, D.B., Relman, D.A., Brown, P.O. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*, 5(7): e177, doi: 10.1371/journal.pbio.0050177.
- Posadas, G. A., Broadway, P. R., Thornton, J. A., Carroll, J. A., Lawrence, A., vd. (2017). Yeast Pro- and Paraprobiotics have the capability to bind pathogenic bacteria associated with animal disease1. *Translational Anim Sci*, 1(1): 60-68, doi: 10.2527/tas2016.0007.

- Postler, T.S., Ghosh, S. (2017). Understanding the Holobiont: How Microbial Metabolites Affect Human Health and Shape the Immune System. *Cell Metab*, 26(1): 110-130, doi: 10.1016/j.cmet.2017.05.008.
- Qi, S. R., Cui, Y. J., Liu, J. X., Luo, X., Wang, H. F. (2020). Lactobacillus rhamnosus GG components, SLP, gDNA and CpG, exert protective effects on mouse macrophages upon lipopolysaccharide challenge. *Lett Appl Microbiol*, 70(2): 118-127, doi: 10.1111/lam.13255.
- Rampengan, N.H., Manoppo, J., Warouw, S.M. (2010). Comparison of efficacies between live and killed probiotics in children with lactose malabsorption. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 41: 474-481.
- Riaz Rajoka, M.S., Zhao, H., Mehwish, H.M., Li, N., vd. (2019). Anti-tumor potential of cell free culture supernatant of Lactobacillus rhamnosus strains isolated from human breast milk. *Food Res Int*, 123:286-297, doi: 10.1016/j.foodres.2019.05.002.
- Riwes, M., Reddy, P. (2020). Short chain fatty acids: Postbiotics/metabolites and graft versus host disease colitis. *Semin Hematol*, 57: 1-6., doi: 10.1053/j.seminhematol.2020.06.001.
- Sampson, T.R., Mazmanian, S.K. (2015). Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host Microbe*, 17(5): 565–576, doi: 10.1016/j.chom.2015.04.011.
- Sawada, D., Kuwano, Y., Tanaka, H., Hara, H., Uchiyama, Y., vd. (2019). Daily intake of Lactobacillus gasseri CP2305 relieves fatigue and stress-related symptoms in male university Ekiden runners: A double-blind, randomized, and placebo-controlled clinical trial. *J Funct Foods*, 57: 465–476, doi: 10.1016/j.jff.2019.04.022.
- Sawada, D., Sugawara, T., Ishida, Y., Aihara, K., Aoki, Y., Takehara, I., Takano, K. and Fujiwara, S. (2016). Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with Lactobacillus gasseri CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function. *Food Res Int*, 79: 33–39, doi: 10.1016/j.foodres.2015.11.032.
- Sañudo, A.I., Luque, R., Díaz-Ropero, M.P., Fonollá, J., Bañuelos, Ó. (2017). *In vitro* and *in vivo* anti-microbial activity evaluation of inactivated cells of Lactobacillus salivarius CECT 5713 against Streptococcus mutans. *Arch Oral Biol*, 84: 58-63, doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.09.014.
- Segawa, S., Wakita, Y., Hirata, H., Watari, J. (2008). Oral administration of heat killed Lactobacillus brevis SBC8803 ameliorates alcoholic liver disease in ethanol-containing diet-fed C57BL/6N mice. *Int J Food Microbiol*, 128: 371-377, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.09.023.
- Sharma, M. Shukla, G. (2016). Metabiotics: one step ahead of probiotics; an insight into mechanism involved in anticarcinogenic effect in colorectal cancer. *Front Microbiol*, 7: 1940, doi: 10.3389/fmicb.2016.01940.
- Shenderov, B.A., Sinitsa, A.V., Zakharchenko, M.M., Lang, C. (2020). Methods and techniques used for obtaining and identifying of microbial low molecular weight cellular compounds, metabolites and signaling molecules. In: *Metabiotics*, Springer, Cham, Switzerland, pp. 55-56, Online ISBN: 978-3-030-34167-1, doi: 10.1007/978-3-030-34167-1_11.
- Singhi, S. C., Kumar, S. (2016). Probiotics in critically ill children. *F1000 Faculty Rev*, 5: 407, doi: 10.12688/f1000research.7630.1.
- Song, M.W., Chung, Y., Kim, K-T., Hong, W.S., Chang, H.J., Paik, H.D. (2020). Probiotic characteristics of Lactobacillus brevis B13-2 isolated from kimchi and investigation of antioxidant and immune-modulating abilities of its heat-killed cells. *LWT*, 128: 109452, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109452.
- Tanzer, J.M., Thompson, A., Lang, C., Cooper, B., Hareng, L., Gamert, A., Reindl, A., Pompejus, M. (2010). Caries Inhibition by and Safety of Lactobacillus paracasei DSMZ16671. *J Dent Res*, 89(9): 921-6, doi: 10.1177/0022034510369460.
- Tiptiri-Kourpeti, A., Spyridopoulou, K., Santarmaki, V., Aindelis, G., Tompoulidou, E., Lamprianidou, E.E. (2016). Lactobacillus casei exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL

- in colon carcinoma cells. *PLoS One*, 11(2):, e0147960, doi: 10.1371/journal.pone.0147960.
- Ueno, N., Fujiya, M., Segawa, S., Nata, T., Moriichi, K., Tanabe, H. (2011). Heat killed body of lactobacillus brevis SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. *Inflamm Bowel Dis*, 17: 2235-2250, doi: 10.1002/ibd.21597.
- Varian, B. J., Poutahidis, T., DiBenedictis, B.T., Levkovich, T., vd. (2017). Microbial lysate upregulates host oxytocin. *Brain Behav Immun*, 61: 36-49, doi: 10.1016/j.bbi.2016.11.002.
- Warda, A.K., Rea, K., Fitzgerald, P., Hueston, C., Gonzalez-Tontuero, E., Dinan, T.G., Hill, C. (2019). Heat-killed lactobacilli alter both microbiota composition and behaviour. *Behav Brain Res*, 362, 213-223, doi: 10.1016/j.bbr.2018.12.047.
- Wegh, C., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., Belzer, C. (2019). Postbiotics and Their Potential Applications in Early Life Nutrition and Beyond. *Int J Mol Sci*, 20(19): 4673, doi: 10.3390/ijms20194673.
- Wei, C.L., Wang, S., Yen, J.T., Cheng, Y.F., vd. (2019). Antidepressant-like activities of live and heat-killed *Lactobacillus paracasei* PS23 in chronic corticosterone-treated mice and possible mechanisms. *Brain Res*, 15;1711:202-213, doi: 10.1016/j.brainres.2019.01.025.
- West, R., Roberts, E., Sichel, L.S., Sichel, J. (2013). Improvements in gastrointestinal symptoms among children with autism spectrum disorder receiving the Delpro® Probiotic and immunomodulator formulation. *J Probiotics Health*, 1: 102, doi: 10.4172/2329-8901.1000102.
- Wu, X., Wu, Y., He, L., Wu, L., Wang, X. and Liu, Z. (2018). Effects of the intestinal microbial metabolite butyrate on the development of colorectal cancer. *J Cancer*, 9: 2510-2517, doi: 10.7150/jca.25324.
- Yangılar, F. (2015). Probiyotik mikroorganizmaların biyokoruyucu özelliği. *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*, 20(1):119-130, doi: 10.17482/uujfe.16850.
- Young, V.B. (2017). The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ*, 356: j831, doi: 10.1136/bmj.j831.
- Zeng, J., Jiang, J., Zhu, W., Chu, Y. (2015). Heat-killed yogurt-containing lactic acid bacteria prevent cytokine-induced barrier disruption in human intestinal Caco-2 cells. *Ann Microbiol*, 66:171-178, doi: 10.1007/s13213-015-1093-2.



FERMENTE ET ÜRÜNLERİNDE OKSİDATİF DEĞİŞİKLİKLER VE ÜRÜN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Hülya Serpil Kavuşan, Meltem Serdaroğlu*

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

Geliş / *Received*: 15.10.2020; Kabul / *Accepted*: 16.02.2021; Online baskı / *Published online*: 22.03.2021

Kavuşan, H.S., Serdaroğlu, M. (2021). Fermente et ürünlerinde oksidatif değişiklikler ve ürün kalitesi üzerine etkileri. *GIDA* (2021) 46(2) 443-462 doi: 10.15237/gida. GD20122.

Kavuşan, H.S., Serdaroğlu, M. (2021). Oxidative changes in fermented meat products and their effects on product quality. GIDA (2021) 46(2) 443-462 doi: 10.15237/gida. GD20122.

ÖZ

Et ve et ürünlerine uygulanan boyut küçültme, kürlleme, ısıl işlem, fermantasyon ve depolama gibi işleme yöntemleri, yağ ve proteinlerin oksidasyonuna yol açmaktadır. Fermente et ürünlerinde gelişen oksidasyonun derecesi ürünün kalitesi, güvenilirliği ve besleyici değeri açısından önem taşımaktadır. Proses koşulları dışında formülasyonda yer alan yağ tipi, yağın eklenme şekli ve miktarı da oksidasyon reaksiyonlarını etkilemektedir. Lipid ve protein oksidasyonu birbirlerini etkileyen reaksiyonlar olup artan lipid oksidasyonu protein oksidasyonu reaksiyonlarını tetiklemektedir. Bu çalışmada fermente et ürünlerinde gelişen oksidasyon reaksiyonlarının mekanizmalarının ve reaksiyonların birbirleriyle olan ilişkilerinin derlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Fermente et ürünü, lipid oksidasyonu, protein oksidasyonu, sucuk

OXIDATIVE CHANGES IN FERMENTED MEAT PRODUCTS AND THEIR EFFECTS ON PRODUCT QUALITY

ABSTRACT

Applications such as size reduction, curing, heat treatment, fermentation and storage applied to meat and meat products cause lipids and proteins to be oxidized. Oxidation of fermented meat products is important in terms of quality, safety, and nutritional value point of view. Besides the process conditions, type of added fat/oil in the formulation, the amount and application forms of added fat/oil effects the oxidation reactions. Lipid and protein oxidation are reactions that associated with each other and increased lipid oxidation also triggers protein oxidation reactions. In this study, it was aimed to compile the mechanisms of oxidation reactions and their interactions in fermented meat products.

Keywords: Fermented meat product, lipid oxidation, protein oxidation, sucuk

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: meltem.serdaroglu@ege.edu.tr,

☎: (+90) 232 311 1314

☎: (+90) 232 311 4831

Hülya Serpil Kavuşan; ORCID no: 0000-0003-2928-8020

Meltem Serdaroğlu; ORCID no: 0000-0003-1589-971X

GİRİŞ

Taze etler raf ömrünü uzatmak ve tüketimi çeşitlendirmek amacıyla çeşitli formülasyonlar ve teknolojiler kullanılarak et ürünlerine işlenmektedir. Fermente et ürünleri, büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak baharatlar ve kürleme maddeleri ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermantasyon ve olgunlaştırma-kurutma işlemi uygulanan et ürünleridir (Gallego vd., 2018). Kurutma işlemi sonrasında ürün kompozisyonundaki yağ miktarı %30-40 düzeylerine ulaşabilmektedir. Fermente et ürünlerinin önemli bir girdisi olan yağ; lezzet, tekstür, ağız hissi, sululuk ve granüler yapı oluşumu gibi kalite kriterlerini etkilemektedir (Olivares vd., 2011). Bununla birlikte yüksek oranlarda doymuş yağ asitleri ve kolesterol içeren yağların tüketimi yüksek kan kolesterolü, obezite, kalp-damar rahatsızlıkları ve bazı kanser türleri ile ilişkilendirilmektedir (Fonseca vd., 2015; Jimenez Colmenero vd., 2015).

Fermente et ürünlerinin işlenmesi sırasında lipidler ve proteinlerde lipolitik, proteolitik ve oksidatif değişiklikler oluşmaktadır. Fermente sosislerin olgunlaştırma basamağında gelişen proteoliz, ürünlerin nihai doku ve lezzetinin gelişimi açısından önemlidir (Jokanovic vd., 2017).

Kesim sonrasında endojen antioksidanların aktivitesinin azalması ve nihayet kaybolması nedeniyle proteinler ve lipidler oksidasyona duyarlı hale gelmektedir. Oksidasyon reaksiyonları et ürünlerinin kalitesini ve raf ömrünü etkileyen en önemli değişikliklerdir (dos Santos vd., 2017). Hayvanın türü, besi çeşidi, kas tipi ve besi ortamı, metal iyonlarının varlığı, enzimlerde bulunan ağır metaller ve metalloproteinler, ette oksidasyon hızının artmasında etkili olmaktadır. Bu faktörlerin yanı sıra ortamdaki oksijen varlığı, ışık, sıcaklık, katkı maddeleri, işleme teknikleri ve ambalajlama işlemi de oksidasyon gelişimi üzerine etkilidir (Jacobsen vd., 2008).

Lipid oksidasyonu ransit tat ve istenmeyen lezzet oluşumu, sızıntı kaybı, renk kaybı, toksik bileşenlerin oluşumu ve besleyici değerde azalma

gibi olumsuz değişikliklere neden olmaktadır (Domínguez vd., 2019; Huang ve Ahn., 2019). Protein oksidasyonu sonucunda, elzem amino asitlerin miktarı ve protein sindirilebilirliği azalmakta, renk ve tekstür gibi kalite kriterlerinde de istenmeyen değişiklikler görülmektedir (Lund vd., 2011).

Fermente et ürünlerinde lipid oksidasyonu araştırmacılar tarafından detaylı olarak incelenerek tüm mekanizmaları ve etkileri ortaya konmuştur (Olivares vd., 2011, Berardo vd., 2016; Wójciak vd., 2019; Zhao vd., 2020). Fermente et ürünlerinde protein oksidasyonunun mekanizmasının anlaşılmasına yönelik çalışmalar da sürdürülmektedir (Fuentes vd., 2014; Munekata vd., 2017; Ge vd., 2019; Öztürk-Kerimoğlu vd., 2019a; Zhao vd., 2020). Bu makalede fermente et ürünlerinde protein ve lipid oksidasyonu mekanizmaları ve bu mekanizmalar üzerine etkili faktörler literatür bilgisine dayanılarak derlenmiştir.

FERMENTE ET ÜRÜNLERİNDE MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

Fermente et ürünlerinde fermantasyon ve olgunlaştırma süresince lezzet, renk ve tekstürü etkileyen lipoliz ve proteoliz reaksiyonları gerçekleşmektedir (Xiao vd., 2020). Lipoliz ve proteoliz sonucu açığa çıkan serbest yağ asitleri ve amino asitler, yüksek iyonik şiddet ve düşük pH değerleri lipid oksidasyonu ve protein oksidasyonunu teşvik etmektedir (Wójciak vd., 2012). Lipoliz sonucu oluşan doymamış serbest yağ asitleri okside olarak alkan, alken, aldehit ve ketonları oluşturmada ve ürün lezzeti olumsuz etkilenmektedir (Lorenzo vd., 2016; Chen vd., 2017). Ürünlerde kabul edilemeyen kalite değişiklikleri gözlenmesinin yanı sıra gelişen reaksiyonlar sonucu oluşan toksik bileşiklerin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Šojić vd., 2015).

Fermente et ürünlerinde proteoliz, proteinlerin endojen ve eksojen proteolitik enzimler aracılığıyla polipeptitlere parçalanması ile başlamakta, polipeptitler, peptidazlarca peptitlere dönüşmekte, peptitlerden uçucu olmayan tat

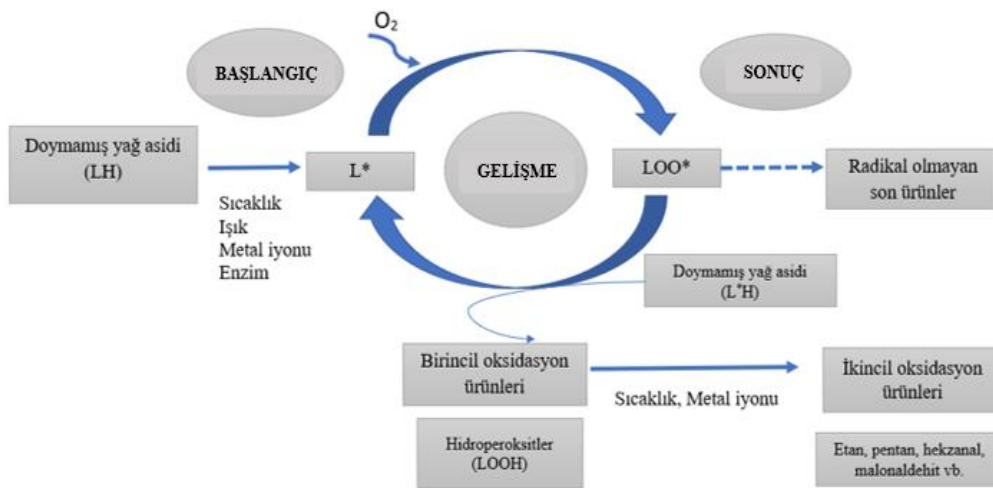
bileşikleri ve uçucu aroma bileşikleri oluşmaktadır (Ikonić vd., 2014; Wang vd., 2017). Lipoliz ve lipid oksidasyonu sonucu oluşan bileşikler üründe aroma üzerine etkili iken, proteinlerin parçalanması sonucu oluşan peptitler ve serbest amino asitler ise lezzet gelişiminde rol oynamaktadır (Pérez-Santaescolástica vd., 2018; Zhou vd., 2019). Proteoliz sonucu oluşan peptit ve amino asitlerin tekstürde meydana gelen değişikliklerden de sorumlu olduğu bilinmektedir (dos Santos Cruzen vd., 2019; de Lima Alves vd., 2020). Proteinlerde gelişen oksidasyon, μ -kalpain inaktivasyonuna dolayısıyla proteolizin azalmasına neden olarak tekstür üzerinde olumsuz değişikliklere yol açmaktadır (Bao ve Ertbjerg, 2019). Bunlar dışında proteoliz et ürünlerinde renk ve su tutma kapasitesini de etkilemektedir (Kazemi vd., 2011). Proteoliz sonucunda açığa çıkan serbest amino asitler, parçalanma reaksiyonları, dekarboksilasyon, deaminasyon ve transaminasyon gibi çeşitli reaksiyonlarda yer alarak aminler, keto asitler, organik asitler ve amonyak gibi farklı bileşiklere dönüşmekte ve ürünün duyuşsal olarak kabul edilebilirliğini azaltmaktadır (Zhang vd., 2017).

FERMENTE ET ÜRÜNLERİNDE LİPİD OKSİDASYONU

Fermentasyonda endojen veya eksojen enzimlerin etkisiyle açığa çıkan serbest yağ asitleri;

oksidasyona yatkın olmaları nedeniyle serbest radikallerin varlığı, sıcaklık, metal iyonları ve oksidatif enzimlerin aktivitesine bağlı olarak peroksitlere dönüşmektedir (Amaral vd., 2018). Oksidasyonun ilk aşamasında meydana gelen hidroperoksitler ürünün lezzetini etkilemezken, peroksitlerin ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşmesi veya peptitler ve amino asitlerle reaksiyona girmeleri sonucunda lezzet üzerine etkili olan uçucu ve uçucu olmayan (aldehitler, alkoller, ketonlar, furanlar, karboksilik asitler vb.) bileşikler oluşmaktadır (Chen vd., 2017).

Lipid oksidasyonu başlangıç, gelişme ve sonuç aşamalarından oluşmakta ve otooksidatif olarak gelişmektedir (Şekil 1). İlk aşamada reaktif oksijen türleri lipid moleküllerinden (LH) hidrojen atomunu ayırarak bu molekülün lipid radikallerine (L^*) dönüşümüne yol açmaktadır. Yayılma aşamasında lipid radikallerinin oksijenle reaksiyona girmesiyle, ortaya çıkan birincil oksidasyon ürünü lipid hidroperoksitleri (LOOH)'dir. Lipid hidroperoksitleri sıcaklık, metal iyonları ve enzimler gibi katalizörlerin etkisiyle bir dizi zincir reaksiyonlar sonucunda etan, pentan gibi ürünlere, aldehitler ise heksanal ve malonaldehit gibi oksidasyon ürünlerine dönüşürler (Guyon vd., 2016).



Şekil 1. Et ve et ürünlerinde gelişen lipid oksidasyonu reaksiyonları

Fermente et ürünlerinde lipidlerin oksidasyonu ile oluşan uçucu bileşiklerin özellikleri yağ asidi kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle fermente et ürünlerinde lipid oksidasyonu ürünleri arasındaki ana farklılıklar; kaslar arası, kas içi ve kabuk yağı lipid içeriği gibi hammadde niteliklerine, olgunlaştırma, kurutma ve depolama sıcaklığı, süresi gibi bazı işlem parametrelerine, tuz miktarına, starter kültürün karakterine, amino asitlerin ve karbonhidratların parçalanma düzeyine bağlıdır (Gök, 2015; Özkal ve Erçoşkun, 2016; Van Ba vd., 2016; Öven vd., 2017; Toptancı ve Erçoşkun, 2017; Yim vd., 2017; Öz vd., 2018; Wen vd., 2019; Armutcu vd., 2020; El Adab vd., 2020).

Tuz hücre yapısının bütünlüğünü bozarak doymamış yağ asitleri ile radikallerin reaksiyonunu kolaylaştırarak ya da Na⁺ iyonunun hem-proteinlerinden demiri serbest bırakması gibi nedenlerle prooksidan etki göstermektedir (Corral vd., 2013). Kuru fermente sosislerde tuzun azaltılması ve tuz ikamesi katkıların (KCl, CaCl₂) kullanımının araştırıldığı bir çalışmada, tuzun %50 oranında azaltılması lipid oksidasyonunun yoğunluğunu azaltan etki göstermiştir. Buna ek olarak ilave edilen CaCl₂ gıda matriksin iyonik gücünü artırarak, üretim ve depolama süresince lipid oksidasyonunu teşvik etmiştir (dos Santos vd., 2017). Kuru fermente sosisler ile yapılan bir başka çalışmada ise tuz seviyesinin (%2.5, 2, 1.5 ve 1) örneklerin oksidasyonu üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir (Hu vd., 2020). Bu çalışmada oksidasyon üzerinde tuzun etkisinin görülmemesinin nedeni antioksidan özelliklere sahip starter kültürün kullanımı olarak belirtilmiştir.

Fermente balık ezmesine geleneksel olarak fermente edilmiş olan balıktan izole edilen fermentatif mikroorganizma suşlarının ilavesinin yağ asidi oksidasyonu üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; *Staphylococcus xylosus* 135 ve *Saccharomyces cerevisiae* 31, serbest yağ asitleri miktarında artışa neden olmuştur. Buna ek olarak, *Staphylococcus xylosus* 135 ilave edilen örneklerde serbest yağ asitlerinde en yüksek PUFA oksidasyonu gözlenmiş olup ardından en yüksek oksidasyon *Lactobacillus plantarum* 120 ve

Saccharomyces cerevisiae 31 suşlarında gözlenmiştir (Xu vd., 2019). Çin'e özgü kuru sosislerde, katalaz gibi antioksidan enzimlere sahip olan *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus curvatus* ve *Staphylococcus xylosus* karışımından oluşan starter kültür kullanımı ile lipid oksidasyonunun yavaşlatılabileceği bildirilmiştir (Chen vd., 2017). Bu çalışmaların aksine, starter kültür ilave edilmeden gerçekleştirilen 45 günlük fermentasyon sonucunda fermente sosislerde daha yüksek miktarda saptanan mayaların lipid peroksidleri oluşumunu engelleyerek lipid oksidasyonunu starter kültür ile üretilen örneklere kıyasla yavaşlatmıştır (Du vd., 2019).

Ozaki vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen araştırmada fermente pişmiş sosislerde sodyum nitrit ikamesi olarak iki farklı kitosan oranı (%0.25 ve %0.5) ve turp tozu (%0.5) kullanımı değerlendirilmiştir. Formülasyondan nitritin çıkartılması ve kitosan oranının artırılması oksidasyonu teşvik edici etki göstermiştir. Oksidasyonun ilerlemesinde kitosanın deasetilasyon derecesi veya molekül ağırlığının etkili olduğunun düşünüldüğü belirtilmiştir. Bir başka çalışmada ise nitrit miktarı azaltılan kuru fermente sosislerde *Debaryomyces hansenii* kullanımı ile daha düşük TBARS değerleri tespit edilmiş olup, aroma profili olumlu etkilenmiştir (Perea-Sanz vd., 2020).

Yağı azaltılmış fermente sosislerde yağın yer elması tozu ile %25, 50 ve 100 oranlarında ikame edildiği bir çalışmada, depolama başlangıcında yağın %100 oranında ikame edildiği gruplarda oksidasyon en yüksek düzeyde bulunurken, depolama sonunda yağın azaltılması ve artan oranlarda yer elması tozu kullanımının daha düşük TBARS değerlerinin gözlenmesine neden olduğu görülmüştür (Özer, 2019).

Fermente et ürünlerinin fonksiyonel ürün olarak tasarlanmasının bir diğer yolu da yağ miktarı azaltılırken, sağlık üzerine olumlu etkileri bulunan katkıların formülasyona eklenmesidir. Bis-Souza vd. (2020) Salchichón formülasyonlarındaki yağı fruktooligosakkarit ve probiyotik kullanımı ile azaltma stratejisini uygulamış ve depolama

süresince en yüksek TBARS değerlerini kontrol gruplarında kaydetmişlerdir.

Farklı et çeşitleri ile üretilen fermente sosislerde etin yağ asidi kompozisyonunun farklılığı nedeniyle lipid oksidasyonu yoğunluğu farklılık göstermektedir (Settanni vd., 2020). Yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitleri içeriği nedeniyle tavşan etiyle üretilen fermente sosislerde TBARS değerleri domuz fermente sosislerinden daha yüksek bulunmuştur (Ignacio vd., 2019).

Fermente ürünlerde toksik bileşiklerin oluşumuna ve olumsuz duyuşal özelliklere yol açan lipid oksidasyonunu yavaşlatmak için meyve-sebze ekstraktları (Martinez vd., 2020), gül yaprağı polifenollerini (Zhang vd., 2017) ve antep fıstığı kabuk ekstraktı (Lashgari vd., 2020) kullanımları etkili bulunmuştur.

Kullanılan katkıları ve starter kültürlerin yanı sıra hammadde olarak kullanılan etin sağlandığı hayvanın yetiştirildiği iklim koşulları da oksidasyon üzerinde etkili olabilmektedir. Han vd. (2020) yaptıkları çalışmada farklı yüksekliklerde yetişen Tibet öküzlerinin etlerinden üretilen kurutulmuş et ürünlerinin lipoliz, lipid oksidasyonu ve lezzet profilinin incelendiği bir çalışmada yüksek rakımda yetiştirilen hayvanların etlerinin kullanıldığı örneklerde doymamış yağ asitleri ve TBARS miktarlarının düşük rakımda yetiştirilen hayvanların etlerinden üretilenlere oranla daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Heksanal, nonanal, 2-nonenal, 1-heksanol, 2-heptanon, 2-metil-3-oktanon ve 6-metil-5-heptan-2-on gibi uçucu bileşikler yüksek rakımda yetişen hayvanların etlerinden üretilen örneklerde duyuşal kabul edilebilirliği olumlu etkileyen bileşikler olarak kaydedilmiştir.

Lipidlerde meydana gelen değişiklikler et ürünlerinde ürüne özgü karaktere katkıda bulunmakla birlikte ransit tat, toksik bileşiklerin oluşumu, besin ve damlama kayıplarında artma gibi istenmeyen değişikliklere de neden olmaktadır (Amaral vd., 2018; Pereira ve Abreu, 2018).

Yağ Kaynaklarının Oksidasyon Üzerine Etkileri

Fermente et ürünlerinin yüksek miktarda doymuş yağları içermesi ve bu yağların sağlık üzerine olumsuz etkilerinin bilinmesi nedeniyle tüketicilerin sağlıklı et ürünleri taleplerindeki artış et endüstrisinin az yağlı, yağ asidi profili değiştirilmiş fonksiyonel katkıları içeren et ürünleri formülasyonlarının geliştirilmesi konusundaki motivasyonunu artırmaktadır (Karabıyıkoglu ve Serdaroglu, 2017).

Yağ asidi kompozisyonunun daha sağlıklı olacak şekilde modifiye edilmesi, formülasyondaki hayvansal yağ yerine doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içeren bitkisel ve/veya hayvansal kaynaklı yağların kullanılmasıyla mümkün olabilmektedir. Çizelge 1’de fermente et ürünleri formülasyonlarında doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içeren yağların kullanıldığı çalışmalar özetlenmiştir.

Çizelge 1’de görüldüğü gibi fermente et ürünleri formülasyonunda yer alan hayvansal yağın sıvı yağ ile doğrudan yer değiştirilmesi tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri açısından daha sağlıklı bir ürün elde edilmesini sağlamıştır ancak doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içeren sıvı yağların oksidasyona yatkınlıkları (Carneiro vd., 2013) nedeniyle ürünlerde bu yağların kullanımı istenmeyen lezzet gelişimi ve toksik bileşiklerin oluşmasına neden olabilmektedir. Bu olumsuzlukların üstesinden gelmek amacıyla fermente et ürünlerine ilave edilen sıvı yağların basit emülsiyonlar (O/W) halinde kullanımı bir önlem olarak görülmektedir. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalarda ürünlerde doymamış yağ asitleri oranında artış ve kolesterol miktarında azalma sağlanmakla birlikte yağ oksidasyonunun arttığı gözlenmiş ayrıca eklenen sıvı yağın bir miktarının kılıf dışına sızarak görünüm kusurlarına neden olduğu saptanmıştır (Valencia vd., 2006).

Mevcut sorunların basit emülsiyonlar ile tam olarak çözülememesi, emülsiyon ve jel yapılarını bir arada bulunduran sistemler kullanılarak sıvı yağların formülasyonlara dahil edilmesi konusunda çalışmalar yürütülmesine yol açmıştır.

Bu amaçla son yıllarda sıvı yağların bir matris içerisine enkapsüle edildiği makro veya nano boyutlarda hazırlanan oleojel, jel emülsiyon veya çoklu emülsiyonlar, sağlıklı, yağı azaltılmış ve yüksek kalitede et ürünleri üretimi açısından büyük potansiyel taşımaktadır. Bu sistemlerden bir tanesi, jel ve katı benzeri özelliği bir arada gösteren, iki aşamada üretilen jel emülsiyon sistemleridir. İlk aşamada proteinler ve yağ ile emülsiyon üretimi gerçekleştirilmektedir (Serdaroğlu

vd., 2017a; Kavuşan vd., 2020). Bu basamağın ardından oluşturulacak jel emülsiyon tipine göre jelleştirici katkılar ve asitlendirme, ısı işlem gibi uygulamalar kullanılmaktadır. Sıcak jelleşme yöntemiyle emülsiyon hazırlamak amacıyla ısı işlem ile çeşitli polisakkaritler ve proteinler kullanılmakta, soğuk jelleşme yöntemiyle hazırlanan emülsiyonlarda ise jelleşme polisakkaritler, proteinler ve enzimler ile sağlanmaktadır (de Souza Paglarini vd., 2018).

Çizelge 1. Fermente et ürün formülasyonlarında hayvansal yağ yerine doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içeren yağların kullanıldığı çalışmalar

Ürün	Yağ formülasyonu	Etki	Kaynakça
Fermente sosis	Hayvansal yağın %10, %15, %20 oranında soya protein izolatu ile ön emülsifiye edilmiş keten tohumu yağı veya kanola yağı ile yer değiştirilmesi	Kanola yağının eklenmesi içerdiği yüksek tokoferol oranı nedeniyle oksidasyon değerlerinin düşmesine neden olmuştur. n-6/n-3 oranı 11.30 değerinden keten tohumu ve kanola yağı için sırasıyla 1.95 ve 5.12 değerine düşmüştür.	(Pelser vd., 2007)
Sucuk	Hayvansal yağın %15-30-50 'sinin mısır yağı ile yer değiştirilmesi	Kolesterol ve doymuş yağ asidi oranlarında azalma görülmüştür.	(Yıldız-Turp vd., 2008)
Sucuk	Hayvansal yağa ilave olarak %2.5 ve %5 oranında fındık yağının eklenmesi	Fındık yağı miktarı arttıkça TBARS ve serbest yağ asitliği değerlerinde artış gözlenmiştir. Fındık yağı ilavesi ile tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri içeriğinde artış gözlenmiştir.	(Ilıkkan vd., 2009)
Fermente sosis (Hollanda)	Soya protein izolatu ile ön emülsifiye edilmiş veya doğrudan eklenmiş (%15-30) ticari enkapsüle ve saf balık yağı ilavesi	Enkapsüle balık yağının ön emülsifiye edilerek %30 oranında eklendiği gruplarda n-6/n-3 oranının 0.92'ye düştüğü görülmüştür. En yüksek lipid oksidasyonu saf balık yağının eklendiği gruplarda görülmüştür.	(Josquin vd., 2012)
Sucuk	%10, 20 ve 30 oranlarında ceviz, fındık, aspir ve zeytin yağı ilavesi	Artan oranlarda sıvı yağ kullanımı ve depolama ile serbest yağ asitliği ve peroksit değerinde artış gözlenmiştir. Artan oranlarda sıvı yağ kullanımı ile doymamışlık oranı artmıştır. En yüksek çoklu doymamış yağ asitlerinin %30 ceviz yağı eklenen sucuklarda olduğu bildirilmiştir.	(Geçgel, 2016)

Sucuk	İnteresterifiye hurma çekirdeği yağının sığır et yağı ile %25, 50, 75 ve 100'ü oranında yer değiştirilmesi	İnteresterifiye hurma çekirdeği yağının eklenmesi stearik, oleik ve linoleik asit konsantrasyonlarında azalmaya, kaprilik, kaprik, laurik ve miristik asit konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur. Sucuk hamurlarında TBARS değerleri eklenen yağdan etkilenmemiştir ancak depolama sonunda hurma çekirdeği yağı eklenmesi TBARS değerlerinin kontrol grubundan yüksek çıkmasına neden olmuştur	(Kılıç ve Özer, 2017)
Fermente sosis	Fındık yağının hayvansal yağ ile % 15, 30 ve 45 oranında yer değiştirilmesi	Yeniden formüle edilen sucukların yağ asidi kompozisyonu ve kolesterol değerleri iyileştirilebilmiştir ancak fındık yağı ilavesi ile örneklerde lipid oksidasyonu daha hızlı ilerlemiştir.	Saygi vd., 2018

Köfte ve sosis formülasyonlarında bitkisel yağlar ile hazırlanan jel emülsiyonların kullanıldığı çalışmaların sonuçları incelendiğinde oksidatif stabilitesi ve teknolojik kalitesi yüksek olan ürünlerin elde edilmesi mümkün olmaktadır (Poyato vd., 2015; Pintado vd., 2016; Serdaroglu vd., 2016; Serdaroglu vd., 2017a). Fermente et ürünlerinde bitkisel yağlarla hazırlanan jel emülsiyonlarının kullanımı konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Alejandre vd., 2016; Glisic vd., 2019a; Glisic vd., 2019b; Öztürk-Kerimoğlu vd., 2019a; Pintado ve Cofrades, 2020). Fermente sosis formülasyonundaki hayvansal yağın sırasıyla %26.3, %32.8 ve %39.5'i karragenan ve keten tohumu yağıyla hazırlanan jel emülsiyon ile yer değiştirildiği bir çalışmada, ürünün toplam enerji değeri azalırken, çoklu doymamış yağ asidi kompozisyonunun gelişmesi sağlanmış, n-6/n-3 oranı ise 10.20'den 1.62'ye düşürülmüş ve oksidasyon reaksiyonlarının kontrol ile benzer sonuçlar gösterdiği saptanmıştır (Alejandre vd., 2016).

Öztürk-Kerimoğlu vd. (2019a) tarafından yapılan çalışmada fermente sosislerde hayvansal yağın sağlıklı bir yağ olan incir çekirdeği jel emülsiyonu ile %100 ikame edilmesi ile oksidasyona oldukça hassas olan incir çekirdeği yağı hayvansal yağa eşdeğer oranda korunmuştur ve böylelikle fermente sosislerin kimyasal ve duyuşsal kalitesinin jel emülsiyon kullanımı ile iyileştirebileceği sonucuna varılmıştır.

Probiyotikler ve çoklu doymamış yağ asitleri ile zenginleştirilmiş kuru fermente sosislerde inülin jeli ve inülin-keten tohumu yağı jel emülsiyonunun yağın azaltılması amacıyla kullanılmasıyla, fermente sosislerin duyuşsal özellikleri olumsuz etkilenmeden yağ asidi içeriği modifikasyonu sağlanmış, olgunlaştırmadan hemen sonra grupların TBARS değerleri arasında fark tespit edilmemiştir. Ancak 1 ay depolama sonunda keten tohumu yağı eklenen örneklerde lipid oksidasyonu diğer gruplara kıyasla daha hızlı ilerlemiştir (Glisic vd., 2019b).

İspanyol tipi kuru fermente et ürünü (fuet) formülasyonundaki hayvansal yağın azaltılması amacıyla, oleojel veya jel emülsiyon kullanımının kalite üzerine etkisi incelenmiştir. Her iki yağ azaltıcı stratejinin uygulandığı örneklerde ürün matriksinin mikrobiyolojik kalitesinde ve malonaldehit miktarları arasında önemli farklılıklar kaydedilmemiştir ancak mikrobiyolojik ve oksidatif özellikler açısından örneklerin %20 hayvansal yağ ile formüle edilen kontrol grubuna kıyasla daha iyi korunduğu bulunmuştur (Pintado ve Cofrades, 2020).

FERMENTE ET ÜRÜNLERİNDE PROTEİN OKSİDASYONU

Fermente et ürünlerinde çeşitli teknolojik özelliklere katkıda bulunan proteinler işlem koşulları, katalizör veya inhibitör gibi bileşenlerin varlığına bağlı olarak oksidasyona maruz kalmaktadır (Bhattacharya vd., 2016). Günümüze kadar fermente ürünlerde gelişen lipid

oksidasyonu detaylı bir şekilde araştırılmış olsa da fermente et ürünlerinde lipid oksidasyonu ürünlerinin tetiklediği protein oksidasyonu gelişimi özellikle son yıllarda incelenmeye başlamıştır. Reaktif oksijen (OH, H₂O₂ gibi) ile doğrudan veya oksidasyon sonucu oluşan sekonder ürünlerin reaksiyonu sonucu dolaylı olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu protein oksidasyonu olarak bilinmektedir (Bastıoğlu vd., 2016; Hellwig, 2019). Protein oksidasyonu oluşum mekanizması lipid oksidasyonu reaksiyonuna benzemektedir. Başlangıç aşamasında hidroperoksitler, aldehitler gibi oksidasyon ürünleri, OH, O₂, ROO gibi reaktif oksijen ve azot türleri, demir ve bakır gibi metaller, amino asitlerden hidrojen atomunun ayrılmasına neden olmaktadır. Bu reaksiyonlar sonucunda protein radikali ve ayrılan hidrojen atomuna OH iyonu bağlanması sonucu su (H₂O) meydana gelmektedir. Oluşan protein radikali oksijen ile reaksiyona girerek protein peroksit radikallerinin (POO•) oluşumuna yol açmaktadır, protein peroksit radikalleri yapılarına hidrojen atomu alarak protein hidroperoksitlerini (POOH) ve yeni protein radikallerini (P•) meydana getirmektedirler. Hidroperoksitler kararsız bileşikler olmaları nedeniyle hızla alkoksi (PO•) ve hidroksi radikaline (HO•) parçalanmaktadır. Bu durum bazı amino asit kalıntılarının karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (Ergezer vd., 2016).

Oksidasyon sonucu özellikle prolin, arjinin, lisin ve treonin amino asit kalıntılarında oluşan değişimler sonucunda karbonil içeriği artmaktadır (Hellwig, 2020). Oksidasyon ile disülfid bağlarının ve ditrozin köprülerinin oluşmasından kaynaklı sülfidril ve tirozin içeriğinde azalmalarda görülmektedir (Sun vd., 2011a; Zhang vd., 2017). Miyofibriler proteinlerin oksidasyona maruz kalması sonucu meydana gelen disülfid çapraz bağlanmaları, aktin ve myosin yapının güçlenmesine ve dolayısıyla önemli kalite karakteristikleri olan gevrekliğin ve su tutma kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır (Zakrys-Waliwander vd., 2012; Bao ve Ertbjerg, 2019). Yapılan çalışmalarda proteinlerde oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan değişiklikler; denatürasyon, proteinlerin doğal

dördüncül yapılarındaki kayıp, endojen ve eksojen enzimlerle gerçekleşen hidrolitik parçalanma reaksiyonlarının (proteoliz) sınırlanması olarak sıralanabilir (Bastıoğlu vd., 2016). Fermente et ürünlerinde fermantasyon süresini kısaltmak ve mikrobiyal güvenilirliği sağlamak amacıyla uygulanan ısı işlem porfrin halkasındaki hem formunda demiri hem olmayan forma dönüştürmekte ve böylelikle protein ve lipid oksidasyonu reaksiyonları için teşvik edici bir ortam oluşmaktadır (Traore vd., 2012). Proteinlerin ısı işlem ile uyarılması sonucu çapraz bağlı protein kümeleri oluşmaktadır (Visschers ve de Jongh, 2005). Fermente kurutulmuş bir ürün olan Çin sosislerinde (Cantonese) protein oksidasyonu ve proteinlerdeki değişiklikler incelendiğinde, fermantasyon, kurutma ve ısı işlemler sonucu proteinlerde oluşan oksidasyonun proteinlerin kümelenmesine ve ikincil yapılarının bozulmasına yol açmaktadır (Sun vd., 2011b). Proteolitik enzimlerin okside olması aktivitelerinde değişiklikler gözlenmesine ve proteoliz sonucunda oluşacak lezzetin etkilenmesine neden olmaktadır (Berardo vd., 2015). Oksidasyon gelişimi ile ürün kalitesinin olumsuz etkilenmesinin yanı sıra ürünün besleyici değerinde de kayıplar ortaya çıkmaktadır (Lund vd., 2011). Günümüze kadar et ürünlerinde protein oksidasyonu reaksiyonlarının tespitinde, DNPH metodu ile lipid oksidasyonu ürünleri ve amino grupları arasında gelişen reaksiyon sonucunda açığa çıkan protein karbonilleri belirlenmiştir (Fuentes vd., 2014; Soglia vd., 2016). Bu tespit metoduna ek olarak oksidasyon sırasında oluşan disülfid bağlarının etkisiyle azalan sülfidril içeriğinin de belirlenmesi protein oksidasyonunun ilerlemesinin izlenmesi açısından önem teşkil etmektedir (Zhao vd., 2019) ancak protein oksidasyonun detaylı olarak incelenmesi, spesifik protein oksidasyonu ürünleri olan α-aminoadipik semialdehitler (AAS) ve γ-glutamik semialdehidlerin (GGS) miktarının saptanması ile izlenebilmektedir (Öztürk-Kerimoğlu vd., 2019b). Bu doğrultuda Çizelge 2 incelendiğinde fermente et ürünlerinde sıcaklık, depolama, yağ miktarı, TBARS değerleri ve yüksek basınç uygulamasının protein oksidasyonu reaksiyonlarını tetikleyici etki gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 2. Fermente et ürünlerinde protein oksidasyonu konusunda yapılmış çalışmalar

Ürün	Parametre	Etki	Kaynakça
Kuru kürlenmiş et ürünü	Yüksek hidrostatik basınç uygulaması (600 MPa)	Yüksek basınç kullanımının protein oksidasyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir.	(Fuentes vd., 2010)
Fermente sosis	%4, %10 ve %15 oranlarında hayvansal yağ veya bitkisel yağ kullanımı	En yüksek karbonil miktarı %4 hayvansal yağ içeren grupta, en yüksek AAS ve GGS miktarları %10 yağ içeren örneklerde gözlenmiştir. Bitkisel yağ içeren örneklerde AAS-GGS miktarı daha düşük olarak bulgulanmıştır.	(Fuentes vd., 2014)
Sucuk	Hayvansal yağ yerine zeytinyağı kullanımı (%15-30)	%30 oranında zeytinyağı kullanımı doymamış yağ asitlerinin fermantasyon sırasında parçalanması nedeniyle asitlik değerlerini yükseltmiştir. Isıl işlem ile karbonil içeriği artmıştır. En yüksek karbonil içeriği %30 zeytinyağı içeren gruplarda görülmüştür.	(Zungur vd., 2015)
Sucuk	Hayvansal yağ yerine zeytinyağı kullanımı (%15-30) 4 ay, 4°C depolama	Örneklere başlangıçta AAS tespit edilmiş olup GGS oluşumu görülmemiştir. 4 aylık depolama süresince GGS oluşumunun AAS oluşumundan daha hızlı olduğu görülmüştür. Zeytinyağının kullanımı 4 aylık depolama sonunda AAS ve GGS içeriklerinde azalmaya neden olmuştur.	(Serdaroğlu vd., 2017b)
Sucuk	Hayvansal yağ yerine zeytinyağı kullanımı (%15-30)	Zeytinyağının yüksek konsantrasyonlarda kullanılması, fermantasyon ve olgunlaştırma aşamalarında, TBARS değerinde ve toplam karbonil içeriğinde artışa neden olmuştur.	(Öztürk vd., 2017)
Salchichón	Bira kalıntı ekstraktı (2000 mg/kg), kestane yaprağı ekstraktı (2000 mg/kg) ve fıstık kabuğu (2000 mg/kg) ekstraktlarının protein oksidasyonuna etkisi	Antioksidanların eklenmesiyle serbest yağ asidi artmakla birlikte hekzanal içeriği azalmıştır. Antioksidanların sisteme dahil edilmesiyle karbonil içeriğinde azalmalar görülmüştür.	(Munekata vd., 2017)
Bacon	Pişirme yöntemi (mikrodalga, kızartma) ve depolama süresi (2 ve 28 gün)	Kızartma işlemi daha yüksek TBARS değerine, mikrodalga pişirme yöntemi ise daha yüksek protein oksidasyonuna neden olmuştur. Protein karbonillerinin başka bileşikler ile reaksiyona girmesi nedeniyle, 28. günde protein oksidasyonu daha düşük bulunmuştur.	Soladoye vd., 2017
Fermente sosis	Hayvansal yağın incir çekirdeği yağı jel emülsiyonu ile ikame edilmesi	Fermentasyon ve olgunlaştırma sonrasında belirlenen protein oksidasyonu jel emülsiyon içeren örneklerde daha düşük bulunmuştur. Depolama süresince dalgalanmalar gözlenmekle birlikte 28 gün depolama	Öztürk-Kerimoğlu vd., 2019a

Isıl işlem görmüş sucuk	Formülasyonda zeytinyağı kullanımı (%15 ve 30)	sonunda örnekler arası farklılık gözlenmemiştir. Zeytinyağı kullanımı toplam karbonil içeriğini artırırken, a-aminoadipik semialdehit konsantrasyonunu düşürmüştür. Genel olarak, örneklerin pepsin, tripsin ve a-kimotripsin aktiviteleri birbirine benzer bulunmuştur.	Öztürk-Kerimoğlu vd., 2019b
Geleneksel kuru kürlenmiş sosis- Chorizo	Yüksek hidrostatik basınç (600 MPa, 8 dk., 16 °C) 4°C ve 18°C 120 gün depolama	120. günde 18°C'de depolanan örneklerin karbonil miktarları, 4°C'de depolanan örneklerden daha yüksek bulunmuştur. Yüksek basınçla muamele edilen 'chorizo' örnekleri kontrol gruplarından daha yüksek miktarda karbonil içermektedir.	Cava vd., 2020

Fermente ürünlerde sağlık üzerine olumsuz etkileri bulunan tuzun miktarının azaltılması ürün kalitesini olumsuz etkilemesi nedeni ile önemli bir problemidir. Sucuklarda tuzun azaltılması, proteinlerin oksidasyonunun incelenmesinde ilk belirteç olan triptofan oksidasyonu inhibe etmekle birlikte, proteoliz (tuzun katepsinler üzerindeki inhibe edici etkisinin azalması), protein karbonilasyonunu (artan proteoliz) ve AAS konsantrasyonunu (Cl⁻ iyonunun arjinin, histidin ve lizin kalıntıları ile iyon çifti oluşturması) artırmıştır (Lobo vd., 2016). Tuzun belirli oranlarda ikame edilmesi (KCl) sonucu potasyum iyonu, hücre geçirgenliği ve peptit geçişi artırmakta sonuç olarak proteoliz de artmaktadır. Ayrıca KCl hidrojen peroksit üretme yeteneğine sahip laktik asit bakterilerinin gelişimini destekleyerek protein oksidasyonu reaksiyonlarını güçlendirmektedir (Gan vd., 2019).

Fermente et ürünlerinde protein oksidasyonunun ilerlemesinin engellenmesinde önemli bir strateji de antioksidan özellikle mikroorganizmaların starter kültürler olarak kullanımıdır (Ge vd., 2018). *L. plantarum* NJAU-01'in fermente ürünlerde 10⁷ KOB/g ve 10⁹ KOB/g oranlarında kullanımı ile protein karbonil içeriği ve protein hidrofobikliği kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalmıştır. *L. plantarum* NJAU-01 fermentasyon süresince sülfidrilleri oksidasyona karşı koruma etkisi göstermiştir (Ge vd., 2019). Tek bir mikroorganizma yerine radikal temizleme aktivitesi ve antioksidan enzimlere sahip birden fazla mikroorganizmanın starter kültür olarak

kullanımı sonucunda protein oksidasyonu geciktirilmiş ve aynı zamanda lezzeti geliştirilmiş fermente et ürünleri tasarlamak mümkündür (Chen vd., 2017).

Formülasyona eklenen bazı katkı maddelerinin de protein oksidasyonunu tetikleyici etkileri bulunmaktadır. İndirgen bir katkı maddesi olarak kullanılan askorbik asit veya tuzları oksijen radikalleri oluşturulmasını destekleyen önemli bir pro-oksidan olarak görev alabilmektedir (Villaverde vd., 2014a; Smirnov, 2018), ancak Berardo vd. (2016) kuru fermente et ürünlerinde sodyum askorbatın protein oksidasyonu üzerine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada askorbik asidin tek başına herhangi bir pro-oksidan etki yapmadığını bildirmiştir ancak sodyum nitrit ile birlikte kombine kullanımı sonucunda askorbik asit nitrit tarafından proteinlere kovalent olarak bağlanabilme özelliğine sahip dehidroaskorbik aside çevrilmekte ve dolayısıyla protein karbonili oluşumu artmaktadır. Bununla birlikte askorbatların protein radikallerini onararak antioksidan etki gösterdiği de bildirilmiştir (Hellwig, 2019).

Feng vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada depolama sırasında ısıl işlem uygulanmış sosislerde, sodyum nitritin lizin kalıntılarının karbonilasyonunu önleyerek karbonil oluşumunun azaltılabileceğini ortaya konmuştur. Fermente sosislerde ise nitritin, reaktif oksijen ve azot türleri oluşturarak

oksidasyonu artırma etkisi nedeniyle, protein karbonili ve Schiff bazı oluşumunu teşvik ettiği görülmüştür (Villaverde vd., 2014b).

Et ürünlerinde polifenollerin antioksidan etki göstererek ürünlerde oksidasyonu yavaşlatabileceği bilinmektedir (Papuc vd., 2017; Li vd., 2020). Bununla birlikte in vitro çalışmalar polifenollerin Fe⁺³ varlığında süperoksit radikalini oluşturarak prooksidan etki de gösterebileceğini ortaya koymuştur (Eghbaliferiz ve Iranshani, 2016) ancak Xiang vd. (2019) fermente Çin soslerinde (Cantonese) 1 g/kg dut polifenollerinin serbest radikalleri yakalama ya da rekabet etmeleri ile örneklerde daha düşük TBARS değeri, protein karbonili ve daha yüksek sülfidril içeriği bulmuştur. Fesleğen esansiyel yağı (0.75 mg/g) kullanımı İtalyan salami örneklerinde karbonil oluşumu üzerinde inhibe edici etki göstermiştir (Cichoski vd., 2011).

İspanyol chorizo örneklerinde sentetik nitratın biberiye ve turunç ekstraktları ve doğal nitrat kaynakları (ıspanak+kereviz, pazu+pancar ve marul+roka+tere) ile ikamesinin araştırıldığı bir çalışmada tiyol gruplarının biberiye de bulunan fenolik bileşiklerin oksidasyonu açığa çıkan kinonlar ile reaksiyona girmesi nedeniyle turunç ekstraktının, biberiye ekstraktından daha etkili olduğu bildirilmiştir. Ekstraktların ıspanak+kereviz ile kombine olarak kullanıldığında tiyol gruplarında kayıpların daha yüksek olduğu bildirilmiş, ancak diğer nitrat kaynakları ile ekstraktların kullanımında kontrol grubuna kıyasla daha düşük kayıplar kaydedilmiştir (Martínez-Zamora vd., 2020).

FERMENTE ET ÜRÜNLERİNDE PROTEİN OKSİDASYONU VE LİPİD OKSİDASYONU ARASINDAKİ İLİŞKİ

Lipidler ve proteinlerde meydana gelen oksidatif reaksiyonlar et ürünlerinin kalitesini ve raf ömrünü etkileyen en önemli değişikliklerdir (Domínguez vd., 2019). Lipid oksidasyonu ve protein oksidasyonu benzer mekanizmaya sahip reaksiyonlar olmakla birlikte lipid oksidasyonu, protein oksidasyonuna oranla daha hızlı ilerlemektedir (Smaoui vd., 2017).

Her ne kadar myofibriller proteinlerde bulunan kükürtlü bileşikler lipidlerin oksidasyonuna karşı antioksidan etki gösterse de oksidasyon ürünlerinin antioksidan kapasiteyi aşması durumunda okside lipidler veya oksidasyon sonucu oluşan ürünler protein oksidasyonu reaksiyonlarını teşvik edebilmektedirler (Ergezer vd., 2016). Okside lipidlerle proteinler arasındaki etkileşim üç şekilde olabilmektedir; proteinlerle kovalent olmayan bileşik oluşumu, radikal reaksiyona neden olan kovalent bağ oluşumu (Heş vd., 2017; Li vd., 2019) ve lipid oksidasyonu sonucu oluşan malonaldehitlerin karbonil gruplarının iki farklı lizin kalıntıları ile reaksiyonu protein çapraz bağlanmasına neden olmaktadır (Bao ve Ertbjerg, 2019).

Protein oksidasyonunun tespitinde kullanılan temel bileşiklerden karboniller, lipid oksidasyonu sonucu oluşan aldehit ve ketonların sistein, histidin ve lizin amino asitleri ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (Stadtman vd., 2003). Lipid oksidasyonu sonucu oluşan bileşikler ile protein aminleri arasında gerçekleşen reaksiyonlar Schiff bazı oluşumuna neden olarak ürünün renk ve lezzeti üzerine de olumsuz etki göstermektedirler (Chelh vd., 2007).

Fermente et ürünlerinde TBARS değerleri ve protein oksidasyonu ürünleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda TBARS değerlerindeki artışa paralel olarak protein oksidasyonun da arttığı görülmüştür (Fuentes vd., 2014; Öztürk vd., 2017).

Isıl işlem görmüş sucuklarda zeytinyağı kullanımı ile birincil oksidasyon ürünleri artarken, ikincil oksidasyon ürünleri azalmıştır. Bu doğrultuda artan birincil oksidasyon reaksiyonu ile ilişkili olarak protein karbonilleri de artış göstermiştir. İkincil oksidasyon ürünleri ile doğru orantılı olarak protein oksidasyonunun spesifik ürünlerinde de azalma gözlenmiştir (Öztürk-Kerimoğlu vd., 2019b). Benzer şekilde geleneksel kuru kürlenmiş soslerde yüksek hidrostatik basınç (600 MPa, 8 min, 16 °C) ve depolama sıcaklığı (4 °C ve 18 °C)'nın lipid ve protein oksidasyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışmada 120 gün depolama sonunda hem lipid

hem protein oksidasyonu reaksiyonları yüksek basınç uygulanan ve 18 °C’ de depolanan örneklerde daha hızlı ilerlemiştir (Cava vd., 2020).

Farklı oksidasyon derecesine sahip yağlar kullanılarak Sichuan sosisi üretiminin olgunlaştırma aşamasında girdi olarak kullanılan yağların oksidasyon seviyesi arttıkça proteinlerin daha güçlü bir oksidasyona maruz kaldığı görülmüştür (Li vd., 2019). Formülasyonda aynı miktarda ve oksidasyon derecesinde yağ kullanılan Çin kuru sosisinde tuz oranının artırılması ile hem lipid hem de protein oksidasyonu hızlanmıştır, örneklerde lipoliz, lipid oksidasyonu ve protein oksidasyonu arasında ilişki tespit edilmiştir (Zhao vd., 2020).

İtalyan salami örneklerinde ultrases (de Lima Alves vd., 2018) ve vurgulu UV ışık (Rajkovic vd., 2017) uygulamalarının hem lipidlerde gerçekleşen hem de proteinlerde gerçekleşen oksidasyonu artırabilecekleri gözlenmiştir.

SONUÇ

Fermente et ürünlerinde işlem koşulları, kullanılan yağ tipi ve miktarı, kütleme katkılarına bağlı olarak lipidler ve proteinlerde oksidatif değişiklikler meydana gelmektedir. Lipid ve protein oksidasyonu ürünleri, kalite ve besleyici değerde olumsuz değişikliklere neden olmaktadır. Fermente et ürünlerinde lipid oksidasyonu çalışmaları günümüze dek sıklıkla gerçekleştirilmesine rağmen protein oksidasyonu ve lipid oksidasyonu ile protein oksidasyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sınırlı sayıdadır. Buna ek olarak formülasyonundaki hayvansal yağın yerine doymamışlığı yüksek sıvı yağların kompleks emülsiyon sistemleri yoluyla ürüne işlenmesi sonucunda ürünün oksidatif kalitesinde meydana gelebilecek değişikliklerde yeterli düzeyde ortaya konmamıştır. Bu nedenle gelecekte yürütülecek olan çalışmalarla, et ürünlerinde protein oksidasyonu mekanizması ve protein oksidasyonu ile lipid oksidasyonu arasındaki ilişkinin tam olarak anlaşılabilmesi mümkün olabilecektir. Farklı ülkelerin fermente ürünlerinde de protein oksidasyonunun gelişiminin incelenmesi üzerine yapılmış kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda

İtalyan salami ve chorizo örneklerinde; fesleğen esansiyel yağı, nitrat-nitrite alternatifi olarak ekstraktlar ve doğal nitrat kaynağı katkılının kullanımları, ultrases ve vurgulu UV ışık uygulamalarının protein oksidasyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Bu konudaki çalışmaların artırılması ürünlerde gelişen oksidasyonun aydınlatılması ve önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 116-O-506 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Hülya Serpil Kavuşan, literatür çalışmalarının taraması, yazım ve düzenleme kısımlarında katkı sağlamıştır. Meltem Serdaroğlu, konu analizi, planlama, kaynak tarama, yazım, derleme ve düzenleme kısımlarında katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Alejandre, M., Poyato, C., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2016). Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Sci*, 121: 107-113, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.05.010.
- Amaral, A.B., Silva, M.V.D., Lannes, S.C.D.S. (2018). Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. *Food Sci Technol*, 38: 1-15, doi: 10.1590/fst.32518.
- Armutcu, Ü., Hazar, F.Y., Yılmaz Oral, Z. F., Kaban, G., Kaya, M. (2020). Effects of different internal temperature applications on quality properties of heat-treated sucuk during production. *J Food Process and Pres*, 44(6): e14455. doi: <https://doi.org/10.1111/jfpp.14455>.
- Bao, Y., Ertbjerg, P. (2019). Effects of protein oxidation on the texture and water-holding of meat: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59(22): 3564-3578, doi: 10.1080/10408398.2018.1498444.

- Bastioğlu, A.Z., Serdaroğlu, M., Nacak, B. (2016). Et ve et ürünlerinde protein oksidasyonu. *Food Health*, 2(4): 171-183, doi: 10.3153/JFHS16018.
- Berardo, A., Claeys, E., Vossen, E., Leroy, F., De Smet, S. (2015). Protein oxidation affects proteolysis in a meat model system. *Meat Sci*, 106: 78-84, doi: 10.1016/j.meatsci.2015.04.002.
- Berardo, A., De Maere, H., Stavropoulou, D.A., Rysman, T., Leroy, F., De Smet, S. (2016). Effect of sodium ascorbate and sodium nitrite on protein and lipid oxidation in dry fermented sausages. *Meat Sci*, 121: 359-364, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.07.003.
- Bhattacharya, D., Kandeepan, G., Vishnuraj, M.R. (2016). Protein Oxidation in Meat and Meat Products-A Review. *JMST*, 4(2): 44-52.
- Bis-Souza, C.V., Pateiro, M., Domínguez, R., Penna, A.L., Lorenzo, J.M., Barretto, A.C.S. (2020). Impact of fructooligosaccharides and probiotic strains on the quality parameters of low-fat Spanish Salchichón. *Meat Sci*, 159: 107936, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.107936.
- Carneiro, H.C., Tonon, R.V., Grosso, C.R., Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J Food Eng*, 115(4): 443-451, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033.
- Cava, R., García-Parra, J., Ladero, L. (2020). Effect of high hydrostatic pressure processing and storage temperature on food safety, microbial counts, colour and oxidative changes of a traditional dry-cured sausage. *LWT-Food Sci Technol*, 128: 109462, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109462.
- Chelh, I., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V. (2007). Characterisation of fluorescent Schiff bases formed during oxidation of pig myofibrils. *Meat Sci*, 76(2): 210-215, doi: 10.1016/j.meatsci.2006.10.028.
- Chen, Q., Kong, B., Han, Q., Xia, X., Xu, L. (2017). The role of bacterial fermentation in lipolysis and lipid oxidation in Harbin dry sausages and its flavour development. *LWT-Food Sci Technol*, 77: 389-396, doi: 10.1016/j.lwt.2016.11.075.
- Cichoski, A.J., Cansian, R.L., Oliveira, D.D., Gaio, I., Saggirato, A.G. (2011). Lipid and protein oxidation in the internal part of Italian type salami containing basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). *Food Sci Technol*, 31(2): 436-442, doi: 10.1590/S0101-20612011000200024.
- Corral, S., Salvador, A., Flores, M. (2013). Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat Sci*, 93(3): 776-785, doi: 10.1016/j.meatsci.2012.11.040.
- de Lima Alves, L., da Silva, M.S., Flores, D.R.M., Athayde, D.R., Ruviaro, A.R., da Silva Brum, D., Batista, V.S.F., de Oliveira Mello, R., de Menezes, C.R., Campagnol, P.C.B., Wagner, R., Barin, J.S., Cichoski, A.J. (2018). Effect of ultrasound on the physicochemical and microbiological characteristics of Italian salami. *Food Res Int*, 106: 363-373, doi: 10.1016/j.foodres.2017.12.074.
- de Lima Alves, L., Donadel, J.Z., Athayde, D. R., da Silva, M.S., Klein, B., Fagundes, M.B., de Menezes, C.R., Barin, J.S., Campagnol, P.C.B., Wagner, R., Cichoski, A.J. (2020). Effect of ultrasound on proteolysis and the formation of volatile compounds in dry fermented sausages. *Ultrasonics Sonochem*, 67:105161, doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105161.
- de Souza Paglarini, C., de Figueiredo Furtado, G., Biachi, J.P., Vidal, V.A.S., Martini, S., Forte, M.B.S., Cunha, R.L., Pollonio, M.A.R. (2018). Functional emulsion gels with potential application in meat products. *J Food Eng*, 222: 29-37, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.10.026.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F.J., Zhang, W., Lorenzo, J.M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10): 429, doi: 10.3390/antiox8100429.
- dos Santos Cruxen, C.E., Funck, G.D., Haubert, L., da Silva Dannenberg, G., de Lima Marques, J., Chaves, F.C., da Silva, W.P., Fiorentini, Â.M. (2019). Selection of native bacterial starter culture in the production of fermented meat sausages: Application potential, safety aspects, and

- emerging technologies. *Food Res Int*, 122: 371-382, doi: 10.1016/j.foodres.2019.04.018.
- dos Santos, B.A., Campagnol, P.C.B., Fagundes, M. B., Wagner, R., Pollonio, M.A.R. (2017). Adding blends of NaCl, KCl, and CaCl₂ to low-sodium dry fermented sausages: Effects on lipid oxidation on curing process and shelf life. *J Food Qual*, 2017: Article ID: 7085798, doi: /10.1155/2017/7085798.
- Du, S., Cheng, H., Ma, J.K., Li, Z. J., Wang, C. H., Wang, Y.L. (2019). Effect of starter culture on microbiological, physiochemical and nutrition quality of Xiangxi sausage. *J Food Sci Technol*, 56(2): 811-823, doi: 10.1007/s13197-018-3541-z.
- Eghbaliferiz, S., Iranshahi, M. (2016). Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. *Phytotherapy Res*, 30(9): 1379-1391, doi: 10.1002/ptr.5643.
- El Adab, S., Wadda, W.B., Tekiki, A., Moussa, O. B., Boulares, M., Sadok, S., Hassouna, M. (2020). Effect of mixed starter cultures on biogenic amine formation during the ripening of tunisian dry fermented camel meat sausage. *Italian J Food Sci*, 32(2): 321-336, doi: 10.14674/IJFS-1733.
- Ergezer, H., Gökçe, R., Hozer, Ş., Akcan, T. (2016). Et ve ürünlerinde protein oksidasyonu: etki mekanizması, tespit yöntemleri ve etkileri. *Akademik Gıda*, 14(1): 54-60.
- Feng, X., Li, C., Jia, X., Guo, Y., Lei, N., Hackman, R.M., Chen, L., Zhou, G. (2016). Influence of sodium nitrite on protein oxidation and nitrosation of sausages subjected to processing and storage. *Meat Sci*, 116: 260-267, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.01.017.
- Fonseca, S., Gómez, M., Domínguez, R., Lorenzo, J.M. (2015). Physicochemical and sensory properties of Celta dry-ripened “salchichón” as affected by fat content. *Grasas Aceites*, 66(1): 059, doi:10.3989/gya.0709142.
- Fuentes V., Ventanas J., Morcuende D., Estévez M., Ventanas S., (2010). Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. *Meat Sci*, 85: 506-514, doi: 10.1016/j.meatsci.2010.02.024.
- Fuentes, V., Estévez, M., Ventanas, J., Ventanas, S. (2014). Impact of lipid content and composition on lipid oxidation and protein carbonylation in experimental fermented sausages. *Food Chem*, 147: 70-77, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.100.
- Gallego, M., Mora, L., Escudero, E., Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides and free amino acids profiles in different types of European dry-fermented sausages. *Int J Food Microbiol*, 276:71-78, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.009.
- Gan, X., Li, H., Wang, Z., Emara, A. M., Zhang, D., He, Z. (2019). Does protein oxidation affect proteolysis in low sodium Chinese traditional bacon processing?. *Meat Sci*, 150: 14-22, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.10.007.
- Ge, Q., Chen, S., Liu, R., Chen, L., Yang, B., Yu, H., Wu, M., Zhang, W., Zhou, G. (2019). Effects of *Lactobacillus plantarum* NJAU-01 on the protein oxidation of fermented sausage. *Food Chem*, 295: 361-367, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.154.
- Ge, Q., Ge, P., Jiang, D., Du, N., Chen, J., Yuan, L., Yu, Hu., Xu, X., Zhang W., Zhou, G. (2018). A novel and simple cell-based electrochemical biosensor for evaluating the antioxidant capacity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese dry-cured ham. *Biosens Bioelectron*, 99: 555-563, doi: 10.1016/j.bios.2017.08.037.
- Geçgel, Ü. (2016). Soğuk pres yağlar ilave edilerek üretilen fermente sucukların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(4): 1-11.
- Guyon, C., Meynier, A., de Lamballerie, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends Food Sci Technol*, 50: 131-143, doi: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.026.
- Glisic, M., Baltic, M., Glisic, M., Trbovic, D., Jokanovic, M., Parunovic, N., Dimitrijevic, M., Suvajdzic, B., Boskovic, M., Vasilev, D. (2019b). Inulin-based emulsion-filled gel as a fat replacer in prebiotic-and PUFA-enriched dry fermented

- sausages. *Int J Food Sci Technol*, 54(3): 787-797, doi: 10.1111/ijfs.13996.
- Glisic, M., Boskovic, M., Baltic, M. Z., Trbovic, D., Suvajdzic, B., Vasilev, D. (2019a). Fat replacement and PUFA enrichment challenges in fermented sausage production. In *IOP Conference Series: Earth Environ Sci*, 333(1): 012061.
- Gök, V. (2015). Effect of replacing beef fat with poppy seed oil on quality of Turkish sucuk. *Korean J Food Sci Anim Res*, 35(2): 240-247, doi: 10.5851/kosfa.2015.35.2.240.
- Han, G., Zhang, L., Li, Q., Wang, Y., Chen, Q., Kong, B. (2020). Impacts of different altitudes and natural drying times on lipolysis, lipid oxidation and flavour profile of traditional Tibetan yak jerky. *Meat Sci*, 162, 108030, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.108030.
- Hellwig, M. (2019). The chemistry of protein oxidation in food. *Angew Chem Int Ed*, 58(47), 16742-16763, doi: 10.1002/anie.201814144.
- Hellwig, M. (2020). Analysis of Protein Oxidation in Food and Feed Products. *J Agric Food Chem*, doi: 10.1021/acs.jafc.0c00711.
- Heś, M. (2017). Protein-lipid interactions in different meat systems in the presence of natural antioxidants—a review. *Polish J Food Nutr Sci*, 67(1), 5-18.
- Hu, Y., Zhang, L., Zhang, H., Wang, Y., Chen, Q., Kong, B. (2020). Physicochemical properties and flavour profile of fermented dry sausages with a reduction of sodium chloride. *LWT- Food Sci Technol*, 124: 109061, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109061.
- Huang, X., Ahn, D.U. (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food Sci Biotechnol*, 28(5), 1275-1285 doi: 10.1007/s10068-019-00631-7.
- Ignacio, E.O., Santos, J.M.D., Santos, S.E.D.J., Souza, C.V.B., Barretto, A.C.D.S. (2019). Effect of the addition of rabbit meat on the technological and sensory properties of fermented sausage. *Food Sci Technol*, 40: 197-204, doi: 10.1590/fst.02019.
- Ikonić, P.M., Tasić, T.A., Petrović, L.S., Škaljac, S.B., Jokanović, M.R., Tomović, V.M., Šojić, V., Džinić, N.R., Torbica, A.M., Ikonić, B.B. (2014). Proteolysis in Serbian Traditional Dry Fermented Sausage Petrovská klobása as Influenced by Different Ripening Processes. *Int Scholarly Scientific Res Innov*, 8, 993-996.
- Ilikkan, H., Ercoşkun, H., Vural, H., Şahin, E. (2009). The Effect of Addition of Hazelnut Oil on Some Quality Characteristics of Turkish Fermented Sausage (Sucuk). *J Muscle Foods*, 20: 117-127, doi: 10.1111/j.1745-4573.2008.00137.x.
- Jacobsen, C., Let, M.B., Nielsen, N.S., Meyer, A.S. (2008). Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with n-3 polyunsaturated lipids: a comparative evaluation. *Trends Food Sci Technol*, 19(2): 76-93, doi: 10.1016/j.tifs.2007.08.001.
- Jimenez-Colmenero, F., Salcedo-Sandoval, L., Bou, R., Cofrades, S., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C. (2015). Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends Food Sci Technol*, 44(2): 177-188, doi: 10.1016/j.tifs.2015.04.011.
- Jokanovic, M., Ikonc, P., Skaljic, S., Tasic, T., Tomovic, V., Sojic, B., Ivic, M., Petrovic, L., Dzinic, N. (2017). Proteolysis and texture profile of traditional dry-fermented sausage as affected by primary processing method. *Sci J Meat Technol*, 58(2017): 103-109.
- Josquin, N.M., Linssen, J.P., Houben, J.H. (2012). Quality characteristics of Dutch-style fermented sausages manufactured with partial replacement of pork back-fat with pure, pre-emulsified or encapsulated fish oil. *Meat Sci*, 90(1): 81-86, doi: 10.1016/j.meatsci.2011.06.001.
- Karabıyıkoglu, M., Serdaroglu, M. (2017). Et Ürünleri Formülasyonlarında Emülsifiye Edilmiş Yağların Kullanımı. *Akademik Gıda*, 15: 95-102, doi:10.24323/akademik-gida.306079.
- Kavuşan, H.S., Serdaroglu, M., Nacak, B., İpek, G. (2020). An Approach to Manufacture of Fresh Chicken Sausages Incorporated with Black Cumin and Flaxseed Oil in Water Gelled Emulsion. *Food*

- Sci Anim Resour*, 40(3): 426-443, doi: 10.5851/kosfa.2020.e23.
- Kazemi, S., Ngadi, M.O., Gariépy, C. (2011). Protein denaturation in pork longissimus muscle of different quality groups. *Food Bioproc Technol*, 4(1): 102-106, doi: 10.1007/s11947-009-0201-3.
- Kılıç, B., Özer, C.O. (2017). Effects of replacement of beef fat with interesterified palm kernel oil on the quality characteristics of Turkish dry-fermented sausage. *Meat Sci*, 131: 18-24, doi: 10.1016/j.meatsci.2017.04.020.
- Lashgari, S.S., Noorolahi, Z., Sahari, M.A., Ahmadi Gavlighi, H. (2020). Improvement of oxidative stability and textural properties of fermented sausage via addition of pistachio hull extract. *Food Sci Nutr*, 8: 2920-2928, doi: 10.1002/fsn3.1594.
- Li, B., Xu, Y., Li, J., Niu, S., Wang, C., Zhang, N., Yang, M., Zhou, K., Chen, S., He, L., Liu, S., Yin, S., Yang, Y. (2019). Effect of oxidized lipids stored under different temperatures on muscle protein oxidation in Sichuan-style sausages during ripening. *Meat Sci*, 147: 144-154, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.09.008.
- Li, W., Zhang, X., He, Z., Chen, Y., Li, Z., Meng, T., Li, Y., Cao, Y. (2020). In vitro and in vivo antioxidant activity of eucalyptus leaf polyphenols extract and its effect on chicken meat quality and cecum microbiota. *Food Res Int*, 109302, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109302.
- Lobo, F., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M. (2016). Underlying chemical mechanisms of the contradictory effects of NaCl reduction on the redox-state of meat proteins in fermented sausages. *LWT-Food Sci Technol*, 69: 110-116, doi: 10.1016/j.lwt.2016.01.047.
- Lorenzo, J.M., Gómez, M., Purriños, L., Fonseca, S. (2016). Effect of commercial starter cultures on volatile compound profile and sensory characteristics of dry-cured foal sausage. *J Sci Food Agric*, 96(4): 1194-1201, doi: 10.1002/jsfa.7203.
- Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C.P., Estevez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Mol Nutr Food Res*, 55(1): 83-95, doi: 10.1002/mnfr.201000453.
- Martínez, L., Jongberg, S., Ros, G., Skibsted, L. H., Nieto, G. (2020). Plant derived ingredients rich in nitrates or phenolics for protection of pork against protein oxidation. *Food Res Int*, 129: 108789, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108789.
- Martínez-Zamora, L., Peñalver, R., Ros, G., Nieto, G. (2020). Substitution of synthetic nitrates and antioxidants by spices, fruits and vegetables in Clean label Spanish chorizo. *Food Res Int*, 109835, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109835.
- Munekata P.E.S., Domínguez, R., Franco, D., Bermúdez, R., Trindade, M.A., Lorenzo, J.M., (2017) Effect of natural antioxidants in Spanish salchichón elaborated with encapsulated n-3 long chain fatty acids in konjacglucomannan matrix. *Meat Sci*, 124: 54-60, doi: /10.1016/j.meatsci.2016.11.002.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2011). Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Sci*, 87(3): 264-273, doi: 10.1016/j.meatsci.2010.10.021.
- Öven, D.C., Karakaya, M., Ünal, K., Babaoğlu, A.S. (2017). Determination of some physicochemical and textural properties of the sucuk with fat content in various rates. *Selcuk J Agri Food Sci*, 31(3): 94-100. doi: 10.15316/SJAFS.2017.40.
- Öz, E., Kabil, E., Kaban, G., Kaya, M. (2018). Effect of autochthonous *Pediococcus acidilactici* on volatile profile and some properties of heat-treated sucuk. *J Food Process and Preserve*, 42(9): e13752. doi: https://doi.org/10.1111/jfpp.13752.
- Ozaki, M.M., Munekata, P.E., de Souza Lopes, A., do Nascimento, M.D.S., Pateiro, M., Lorenzo, J.M., Pollonio, M.A.R. (2020). Using chitosan and radish powder to improve stability of fermented cooked sausages. *Meat Sci*, 108165, doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108165.
- Özer, C.O. (2019). Utilization of jerusalem artichoke powder in production of low-fat and

- fat-free fermented sausage. *Italian J Food Sci*, 31(2): 301-310, doi: 10.14674/IJFS-1354.
- Özkal, S.G., Ercoşkun, H. (2016). Kinetic modeling of quality aspects of fermented sausage (Sucuk) during storage. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23: 195-200.
- Öztürk, B., Serdaroğlu, M., Nacak, B., Karabıyıkoglu, M. (2017). Oxidative properties of sucuk produced with olive oil during fermentation and ripening. 63rd International Congress of Meat Science and Technology, 13 - 18 Ağustos, Cork, Ireland, 144- 145p.
- Öztürk-Kerimoğlu, B., Kavusan, H. S., Mulazimoglu, Y., Aksehirli, B., Aygun, A., Serdaroglu, M. (2019a). A novel fat modification strategy in fermented sausages by incorporation of gelled emulsions with fig seed oil. In IOP Conference Series: *Earth and Environ Sci*, 333(1): 012090, doi: 10.1088/1755-1315/333/1/012090.
- Öztürk-Kerimoğlu, B., Nacak, B., Özyurt, V.H., Serdaroğlu, M. (2019b). 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(11): e13007, doi:10.1111/jfbc.13007.
- Papuc, C., Goran, G.V., Predescu, C.N., Nicorescu, V., Stefan, G. (2017). Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Compr Rev Food Sci Food Safety*, 16(6): 1243-1268, doi: 10.1111/1541-4337.12298.
- Pelser, W.M., Linssen, J.P., Legger, A., Houben, J.H. (2007). Lipid oxidation in n- 3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Sci*, 75(1): 1-11, doi: 10.1016/j.meatsci.2006.06.007.
- Perea-Sanz, L., López-Díez, J. J., Belloch, C., Flores, M. (2020). Counteracting the effect of reducing nitrate/nitrite levels on dry fermented sausage aroma by *Debaryomyces hansenii* inoculation. *Meat Sci*, 108103, doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108103.
- Pereira, A.L.F., Abreu, V.K.G. (2018). Lipid peroxidation in meat and meat products. In *lipid peroxidation. IntechOpen*, 1-14, doi: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.81533.
- Pérez-Santaescolástica, C., Carballo, J., Fulladosa, E., Garcia-Perez, J. V., Benedito, J., Lorenzo, J. M. (2018). Effect of proteolysis index level on instrumental adhesiveness, free amino acids content and volatile compounds profile of dry-cured ham. *Food Res Int*, 107: 559-566, doi: 10.1016/j.foodres.2018.03.001.
- Pintado, T., Cofrades, S. (2020). Quality Characteristics of Healthy Dry Fermented Sausages Formulated with a Mixture of Olive and Chia Oil Structured in Oleogel or Emulsion Gel as Animal Fat Replacer. *Foods*, 9(6): 830-845, doi: 10.3390/foods9060830.
- Pintado, T., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona, P., Jiménez-Colmenero, F. (2016). Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters. *Food Sci Technol Int*, 22(2): 132-145, doi: 10.1177/1082013215577033.
- Poyato, C., Astiasarán, I., Barriuso, B., Ansorena, D. (2015). A new polyunsaturated gelled emulsion as replacer of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and sensory acceptability. *LWT-Food Sci Technol*, 62(2): 1069-1075, doi: 10.1016/j.lwt.2015.02.004.
- Rajkovic, A., Tomasevic, I., De Meulenaer, B., Devlieghere, F. (2017). The effect of pulsed UV light on *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin A on sliced fermented salami and its chemical quality. *Food Control*, 73: 829-837, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.09.029.
- Saygi, D., Ercoşkun, H., Şahin, E. (2018). Hazelnut as functional food component and fat replacer in fermented sausage. *J Food Sci Technol*, 55(9): 3385-3390, doi: 10.1007/s13197-018-3129-7.
- Serdaroğlu, M., Nacak, B., Karabıyıkoglu, M. (2017a). Effects of beef fat replacement with

- gelled emulsion prepared with olive oil on quality parameters of chicken patties. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 37: 376-384, doi: 10.5851/kosfa.2017.37.3.376.
- Serdaroglu, M., Nacak, B., Karabiyikoglu, M., Keser, G. (2016). Effects of partial beef fat replacement with gelled emulsion on functional and quality properties of model system meat emulsions. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 36(6): 744-751, doi: 10.5851/kosfa.2016.36.6.744.
- Serdaroglu, M., Özyurt, H., Bastoglu, A. Z., Öztürk, B., Ötleş, S. (2017b). The effects of replacing beef fat with olive oil on protein oxidation products (α -amino adipic semialdehydes-AAS and γ -glutamic semialdehydes-GGS) in Turkish dried fermented sausage. 63rd International Congress of Meat Science and Technology, 13 -18 Ağustos, Cork, Ireland, 735 p.
- Settanni, L., Barbaccia, P., Bonanno, A., Ponte, M., Di Gerlando, R., Franciosi, E., Di Grigoli, A., Gaglio, R. (2020). Evolution of indigenous starter microorganisms and physicochemical parameters in spontaneously fermented beef, horse, wild boar and pork salamis produced under controlled conditions. *Food Microbiol*, 87: 103385, doi: 10.1016/j.fm.2019.103385.
- Smaoui, S., Ennouri, K., Chakchouk-Mtibaa, A., Karray-Rebai, I., Hmidi, M., Bouchaala, K., Mellouli, L. (2017). Relationships between textural modifications, lipid and protein oxidation and sensory attributes of refrigerated turkey meat sausage treated with bacteriocin BacTN635. *Food Bioproc Technol*, 10(9): 1655-1667, doi: 10.1007/s11947-017-1933-0.
- Smirnoff, N. (2018). Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med*, 122: 116-129, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.033.
- Soglia, F., Petracci, M., Ertbjerg, P. (2016). Novel DNPH-based method for determination of protein carbonylation in muscle and meat. *Food Chem*, 197: 670-675, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.11.038.
- Šojić, B., Tomović, V., Kocić-Tanackov, S., Škaljac, S., Ikonić, P., Džinić, N., Živković, N., Jokanović, M., Tasić, T., Kravić, S. (2015). Effect of nutmeg (*Myristica fragrans*) essential oil on the oxidative and microbial stability of cooked sausage during refrigerated storage. *Food Control*, 54, 282-286, doi: 10.1016/j.foodcont.2015.02.007.
- Soladoye, O.P., Shand, P., Dugan, M.E.R., Gariépy, C., Aalhus, J. L., Estévez, M., Juárez, M. (2017). Influence of cooking methods and storage time on lipid and protein oxidation and heterocyclic aromatic amines production in bacon. *Food Res Int*, 99: 660-669, doi: 10.1016/j.foodres.2017.06.029.
- Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids*, 25(3-4): 207-218, doi: 10.1007/s00726-003-0011-2.
- Sun, W., Zhou, F., Zhao, M., Yang, B., Cui, C. (2011a). Physicochemical changes of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage in relation to their aggregation behaviour and in vitro digestibility. *Food Chem*, 129(2): 472-478, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.101.
- Sun, W., Cui, C., Zhao, M., Zhao, Q., Yang, B. (2011b). Effects of composition and oxidation of proteins on their solubility, aggregation and proteolytic susceptibility during processing of Cantonese sausage. *Food Chem*, 124(1): 336-341, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.06.042.
- Toptanci, İ., Ercoşkun, H. (2017). Physicochemical and Microbiological Properties of Sucuk produced with Different Heat Treatment Temperatures. *Akademik Gıda*, 15(4): 344-34, doi: 10.24323/akademik-gida.370094.
- Traore, S., Aubry, L., Gatellier, P., Przybylski, W., Jaworska, D., Kajak-Siemaszko, K., Santé-Lhoutellier, V. (2012). Effect of heat treatment on protein oxidation in pig meat. *Meat Sci*, 91(1): 14-21, doi: 10.1016/j.meatsci.2011.11.037.
- Valencia, I., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2006). Stability of linseed oil and antioxidants containing dry fermented sausages: A study of the lipid fraction during different storage conditions. *Meat*

- Sci*, 73(2): 269-277, doi: 10.1016/j.meatsci.2005.12.002.
- Van Ba, H., Seo, H.W., Kim, J.H., Cho, S. H., Kim, Y.S., Ham, J.S., Park, B.Y., Kim, H.W., Kim, T.B., Seong, P.N. (2016). The effects of starter culture types on the technological quality, lipid oxidation and biogenic amines in fermented sausages. *LWT-Food Sci Technol*, 74: 191-198, doi: 10.1016/j.lwt.2016.07.019.
- Villaverde, A., Parra, V., Estévez, M. (2014a). Oxidative and nitrosative stress induced in myofibrillar proteins by a hydroxyl-radical-generating system: Impact of nitrite and ascorbate. *J Agri Food Chem*, 62(10): 2158-2164, doi: 10.1021/jf405705t.
- Villaverde, A., Ventanas, J., Estévez, M. (2014b). Nitrite promotes protein carbonylation and Strecker aldehyde formation in experimental fermented sausages: Are both events connected?. *Meat Sci*, 98(4): 665-672, doi: 10.1016/j.meatsci.2014.06.017.
- Visschers, R.W., de Jongh, H.H. (2005). Disulphide bond formation in food protein aggregation and gelation. *Biotechnol Adv*, 23(1): 75-80, doi: 10.1016/j.biotechadv.2004.09.005.
- Wang, W., Xia, W., Gao, P., Xu, Y., Jiang, Q. (2017). Proteolysis during fermentation of Suanyu as a traditional fermented fish product of China. *Int J Food Prop*, 20(1): S166-S176, doi: 10.1080/10942912.2017.1293089.
- Wen, R., Hu, Y., Zhang, L., Wang, Y., Chen, Q., Kong, B. (2019). Effect of NaCl substitutes on lipid and protein oxidation and flavor development of Harbin dry sausage. *Meat Sci*, 156: 33-43, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.05.011.
- Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J. (2012). Oxidative stability of fermented meat products. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 11(2): 99-109.
- Wójciak, K.M., Stasiak, D.M., Ferysiuk, K., Solska, E. (2019). The influence of sonication on the oxidative stability and nutritional value of organic dry-fermented beef. *Meat Sci*, 148: 113-119, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.10.010.
- Xiang, R., Cheng, J., Zhu, M., Liu, X. (2019). Effect of mulberry (*Morus alba*) polyphenols as antioxidant on physicochemical properties, oxidation and bio-safety in Cantonese sausages. *LWT- Food Sci Technol*, 116: 108504, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108504.
- Xiao, Y., Liu, Y., Chen, C., Xie, T., Li, P. (2020). Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on flavour development and bacterial communities in Chinese dry fermented sausages. *Food Res Int*, 135: 109247. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109247.
- Xu, Y., Li, L., Xia, W., Zang, J., Gao, P. (2019). The role of microbes in free fatty acids release and oxidation in fermented fish paste. *LWT- Food Sci Technol*, 101: 323-330, doi: 10.1016/j.lwt.2018.11.027.
- Yıldız-Turp, G., Serdaroğlu, M. (2008). Effect of replacing beef fat with hazelnut oil on quality characteristics of sucuk—A Turkish fermented sausage. *Meat Sci*, 78(4): 447-454, doi: 10.1016/j.meatsci.2007.07.013.
- Yim, D.G., Chung, Y.H., Nam, K.C. (2017). Effects of Starter Cultures on Physicochemical Properties of Fermented Sausages. *Korean J Food Nutr*, 30(5): 1105-1112, doi: 10.9799/ksfan.2017.30.5.1105.
- Zakrys-Waliwander, P.I., O'sullivan, M.G., O'neill, E.E., Kerry, J.P. (2012). The effects of high oxygen modified atmosphere packaging on protein oxidation of bovine *M. longissimus dorsi* muscle during chilled storage. *Food Chem*, 131(2): 527-532, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.09.017.
- Zhang, S., Zhang, C., Qiao, Y., Xing, L., Kang, D., Khan, I.A., Huang, M., Zhou, G. (2017). Effect of Flavourzyme on proteolysis, antioxidant activity and sensory qualities of Cantonese bacon. *Food Chem*, 237: 779-785, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.026.
- Zhao, B., Li, S., Zhou, H.M., Zhang, S.L., Wang, H., Wang, S.W. (2019). Effect of Protein Oxidation on Microbial, Free Amino Acids and Biogenic Amine Content in Chinese Dry Sausage. *Curr Top Nutraceutical Res*, 17(2): 188-195.

Zhao, B., Zhou, H.M., Zhang, S.L., Pan, X.Q., Li, S., Zhu, N., Wu, Q.R., Wang, S.W., Qiao, X.L. and Chen, W.H., (2020). Changes of protein oxidation, lipid oxidation and lipolysis in Chinese dry sausage with different sodium chloride curing salt content. *Food Sci Human Wellness*, In Press, doi: 10.1016/j.fshw.2020.04.013.

Zhou, C.Y., Wu, J.Q., Tang, C.B., Li, G., Dai, C., Bai, Y., Xu, X.L., Zhou, G.H., Cao, J.X. (2019). Comparing the proteomic profile of proteins and the sensory characteristics in Jinhua ham with

different processing procedures. *Food Control*, 106: 106694, doi: 10.1016/j.foodcont.2019.06.020.

Zungur, A., Serdaroğlu, M., Nacak, B., Öztürk, B. (2015). Effects of olive oil as partial replacer of animal fat in sucuk on oxidation and some quality properties during production. 61st International Congress of Meat Science and Technology, 23-28th August 2015, Clermont-Ferrand, France.



TAHİL VE PSEUDO-TAHILLARIN ISLAK ÖĞÜTME TEKNOLOJİSİ

Erkan Yalçın*, Ayşenur Arslan

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

Geliş / Received: 22.12.2020; Kabul / Accepted: 16.02.2021; Online baskı / Published online: 22.03.2021

Yalçın, E., Arslan, A. (2021). Tahıl ve pseudo-tahılların ıslak öğütme teknolojisi. GIDA (2021) 46(2) 463-473 doi: 10.15237/gida.GD20147

Yalçın, E., Arslan, A. (2021). Wet milling technology of cereal and pseudocereals. GIDA (2021) 46(2) 463-473 doi: 10.15237/gida.GD20147

ÖZ

Öğütmenin amacı; tohumu meydana getiren başlıca kısımları, öğütme yöntemine göre ayırarak, gıda endüstrisi veya diğer endüstrilerde kullanmaktır. Öğütme, genel olarak kuru ve ıslak öğütme olarak sınıflandırılabilir. Islak öğütmede amaç; nişasta, protein, besinsel lif ve ham yağ gibi tohumun başlıca kimyasal bileşenlerini ayırmak iken; kuru öğütmede amaç tanenin anatomik kısımları olan endosperm, ruşeym ve kepeği ayırmaktır. Islak öğütmede her bileşen mümkün olan en saf haliyle ayrılırken; kuru öğütmede, yüksek kalitede rafine veya tam tane unu elde edilir. Islak öğütme, tahıl veya pseudo-tahılların temel bileşenlerini fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve mekanik işlemler ile ayıran endüstriyel bir işlemdir. Islak öğütme, ıslatma işlemi ile başlar, ardından mekanik ayırma işlemi gelir. Islak öğütme işlemi sanayide, çoğunlukla buğday ve mısıra uygulanırken, sorgum, arpa, yulaf ve pirinç gibi tahıllara da uygulanmaktadır. Karabuğday, kinoa ve amarant pseudo-tahıllarının ıslak öğütmesi ile ilgili çalışmalar henüz laboratuvar ölçeğindedir. Tahıl veya pseudo-tahılların ıslak öğütme koşulları tamamen nişasta verimini ve fizikokimyasal özelliklerini etkilemektedir.

Anahtar kelimeler: Islak öğütme, tahıl, pseudo-tahıl, nişasta, protein, besinsel lif

WET MILLING TECHNOLOGY OF CEREAL AND PSEUDOCEREALS

ABSTRACT

The purpose of the milling is to separate the main fractions of the grain due to milling method and is to use them for food or other industries. The milling can be classified as dry and wet milling. The purpose of the wet milling is to separate the main chemical constituents of the grain, such as starch, protein, dietary fibre and crude oil; the purpose of the dry milling is to separate the endosperm, germ and bran parts of the grain. All constituents can be separated with the highest purity in the wet milling; on the contrary the principle of the dry milling is to obtain the refine or wholegrain flour with the highest quality. The wet milling, which is an industrial process, separates the essential fractions of cereal or pseudo-cereals using physical, chemical, biochemical and mechanical processes. The wet milling starts with steeping process, and then the grain constituents are separated with mechanic splitting. The wet milling process is mostly applied to wheat and corn, besides it is also employed for some cereals like sorghum, barley, oat and rice. The wet milling of pseudo-cereals such as buckwheat, quinoa and amaranth is still carried out in a laboratory scale. The wet milling conditions of cereal/pseudo-cereals completely affect the starch yield and its physicochemical properties.

Keywords: Wet milling, cereal, pseudocereal, starch, protein, dietary fibre

* Yazışmalardan sorumlu Yazar / Corresponding author

✉ : yalcin_e@ibu.edu.tr

☎ : (+90) 374 253 4640 / 4832

☎ : (+90) 374 253 4558

Erkan Yalçın; ORCID No: 0000-0002-7417-9088

Ayşenur Arslan; ORCID No: 0000-0003-1658-746X

GİRİŞ

Tahıllar, *Gramineae (Poaceae)* familyasının üyeleri olup 8 cinsi içermektedir, bunlar: buğday (*Triticum*), çavdar (*Secale*), arpa (*Hordeum*), yulaf (*Avena*), pirinç (*Oryza*), millet (*Pennisetum*), mısır (*Zea*) ve sorgumdur (*Sorghum*). Pseudo-tahıllar ise 3 cinsi içine almaktadır, bunlar: *Polygonaceae* familyasından karabuğday (*Fagopyrum*), *Amaranthaceae* familyasından amarant (*Amaranthus*) ve kinoa'dır (*Chenopodium*) (Reguera ve Haros, 2017). Tahıllar ve pseudo-tahıllar nişastalı bitkilerdir, fakat önemli miktarda protein ve ham yağ da içerdikleri belirtilmiştir. Tohumlar genellikle üç kısımdan meydana gelmektedir: endosperm (pseudo-tahıllarda perisperm), embriyo (ruşeym) ve kepek (perikarp+tohum kabuğu). Endosperm esas olarak nişasta içermekle birlikte önemli miktarda protein de içermektedir. Embriyo önemli miktarda ham yağ içerir, ayrıca protein ve mineral maddelerce de zengindir. Kepek ise selüloz ve hemiselülozdan meydana gelmiştir ve ayrıca protein ve lignin de içerdiği bildirilmiştir. Tohum kısımlarının tanedeki oranı tahıllar ve pseudo-tahıllarda farklılık göstermektedir. Tahıl öğütmenin karakteristik özelliği endospermi, embriyo ve kepekten ayırarak mümkün olduğunca saf un haline getirmektir. Pseudo-tahıllar ise halâ geleneksel metotlar kullanılarak, örneğin taş değirmende tam tane olarak öğütülmektedir. Genellikle öğütme kuru ve ıslak öğütme olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Kuru öğütmede amaç, tanenin anatomik kısımları olan endosperm, embriyo ve kepeği ayırmaktır. Islak öğütmede amaç ise tanenin başlıca kimyasal bileşenleri olan nişasta, protein, besinsel lif ve ham yağı ayırmaktır. Kuru öğütmede, endospermden gelecek maksimum unu üretmek başlıca hedef iken, ıslak öğütmede tüm kimyasal bileşenleri en saf haliyle ayırmak başlıca amaçtır. Kuru öğütme direk olarak fraksiyonlamayla başlar, ıslak öğütme ise kimyasal bileşenlerde fiziksel ve kimyasal değişmelerin olduğu ıslatma (maserasyon) işlemi ile başlamaktadır. Islatmanın amacı endosperm hücre içeriğinin dağılmasını sağlayarak nişastanın protein ağından serbest kalmasını teşvik etmek olarak açıklanmıştır (Haros ve Wronkowska, 2017). Islak öğütme, tohumun temel bileşenlerinin, fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve mekanik yöntemler ile ayrılmasında kullanılan

endüstriyel bir işleme yöntemidir. İşlem temel olarak iki aşamadan meydana gelir: birinci olarak; tahıl tanesinin belirli bir sıcaklıkta alkali veya asitli çözeltilerde ıslatılması; ikinci olarak fraksiyonların (nişasta, protein, ruşeym, besinsel lif/kepek) fiziksel özellik (yoğunluk ve parçacık boyutu) farklılıklarından yararlanarak mekanik olarak ayrılmasıdır. Islatma sırasında su tohum içerisine sızar ve hücreler arası yapıyı yumuşatıp parçalar ve böylece verimde artış sağlanmaktadır. Islatmanın hızı, sıcaklığa ve asit/alkali koşullara bağlı olarak değişmektedir. Nişasta ıslak öğütmenin ana ürünü olmakla birlikte, besinsel lif ve protein gibi teknolojik ve gıda amaçlı kullanılan başka fraksiyonlar da ayrılmaktadır (Wronkowska ve Haros, 2014; Mufari vd. 2018; Skendi vd. 2020). Günümüzde sanayide, ıslak öğütme işlemi en çok mısır ve buğdaya uygulanmakta ve nişasta üretiminin önemli bir miktarı sağlanmaktadır. Daha az sıklıkla pirinç ve sorguma uygulanmaktadır (Rosentrater ve Evers, 2018). Islatma suyu olarak genellikle sülfür dioksit (SO₂) ve laktik asidin farklı derişimlerdeki çözeltileri kullanılmaktadır. Islatma suyunda kullanılan SO₂ indirgeyici ve antimikrobiyal olarak kullanılırken, laktik asidin hücre duvarlarının parçalanmasını kolaylaştırdığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, ıslak öğütmede kullanılacak yöntemin dikkatli seçilmesi ve saf bileşenlerin gıda formülasyonunu etkilememesi gerektiği ifade edilmiştir (Wronkowska ve Haros, 2014).

TAHILLARIN ISLAK ÖĞÜTME TEKNOLOJİSİ

Buğday

Buğdaylar endosperm yapısına göre yumuşak (%8-10 protein), sert ve çok sert (durum, %12-16 protein) olarak sınıflandırılmıştır (Sayaslan vd. 2006). Nişasta ise buğday tanesinin %65-75'ini oluşturmaktadır (El Halal vd. 2019). Buğdayın ıslak öğütülmesinde nişasta ve vital gluten başlıca ürün olarak alınmaktadır. Bu amaçla yüksek protein içeriğine (>%11) sahip sert ve yumuşak buğdaylar kuru öğütme ile una öğütüldükten sonra ıslak öğütülmektedir. Gluten proteini ve nişastanın buğday unundan ıslak ayrımı temel olarak sudaki düşük çözünürlüklerine (agregasyon), parçacık boyutlarına ve yoğunluklarına (sedimentasyon) dayanmaktadır.

Islatma işlemini takiben gluten proteinleri nişasta granüllerinden daha büyük fakat daha az yoğunlukta agregatlar meydana getirmektedir. Buğday ununun endüstriyel olarak ıslak öğütülmesinde geleneksel yöntemlerden Martin (hamur yıkama) ve Batter (bulamaç yöntemi), modern yöntemlerden Alfa-Laval/Raisio, hidrosiklon ve yüksek basınçta disintegrasyon olmak üzere 5 farklı yöntem uygulanmaktadır. Bu ıslak öğütme yöntemlerinde başlangıç materyali buğday unudur. Buğdayın ıslak öğütülmesinde kullanılan modern yöntemler ile su kullanımının azaltıldığı ve işleme süresinin kısaltıldığı belirtilmiştir (Sayaslan, 2004; Sayaslan vd. 2006; Sayaslan vd. 2012; Wronkowska, 2016). Sayaslan vd. (2012), tasarlanmış oldukları laboratuvar ölçekli yüksek hızlı karıştırma ıslak öğütme sisteminde, gluten, A tipi nişasta, B tipi nişasta, besinsel lif ve suda çözünür bileşikler olmak üzere 5 farklı ürün elde etmişlerdir. Steeneken ve Helmens (2009), buğdayı pürüzsüz valslerde hafifçe ezdikten sonra ıslak öğütme işlemine geçilmesini önermişlerdir, böylece gluten kümelenmesi meydana gelmeden besinsel liflerin eleme ile ayrılabilmesini belirtmişlerdir. Sayaslan vd. (2005) glutenin renginin ticari açıdan kritik bir kalite faktörü olduğunu ve genelde açık renkli glutenlerin tercih edildiğini belirtmişlerdir. Kepek parçacıklarının ıslak öğütme sırasında glutene yapışmasından dolayı koyu renkli, lekeli gluten üretilebilmektedir. Glutenin renginin, ıslak öğütme sırasındaki enzimatik esmerleşme (polifenol oksidaz-PPO) ve kurutma sırasındaki enzimatik olmayan esmerleşme (Maillard Reaksiyonu-MR) ile meydana geldiği belirtilmiştir. Sayaslan vd. (2005), kırmızı, beyaz ve düşük PPO içerikli beyaz buğdaylardan izole edilen nişasta ve gluten fraksiyonlarının verimleri ve saflıklarını benzer bulmuşlardır. Düşük PPO içerikli beyaz buğdaydan izole edilen ve liyofilizasyon ve etüvde kurutma uygulanan glutenler en parlak bulunmuş, bunu beyaz ve kırmızı buğdaylarından izole edilen glutenler izlemiştir. Magallanes López vd. (2018), nişasta ve glutenin buğday endosperminden ıslak öğütme yöntemiyle ayrılmasının, partikül boyutuna, yoğunluğuna ve suda çözünürlüğüne bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Son yıllarda buğday ve ürünlerinde küf kaynaklı mikotoksinlerin meydana gelmesi

gıda güvenliği açısından önem kazanmıştır. Buna göre, Magallanes López vd. (2019), deoksinivalenol (DON) ile kontamine olmuş buğdaylardan nişasta ekstraksiyonu ve fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi ile ilgili çalışmada, laboratuvar ölçekli üç ıslak öğütme yönteminin (Martin, orta hızda karıştırma/kesme, yüksek hızda karıştırma/kesme yöntemleri) ve etkinliğini karşılaştırmış ve her üç ıslak öğütme işleminden sonra elde edilen nişasta fraksiyonlarının hiçbirinde DON tespit edilmemiştir. Magallanes López vd. (2021) başka bir çalışmada, ıslak öğütme işlemi ile DON'un suda çözünürlüğünden yararlanılarak buğdaydan uzaklaştırılabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, ıslak öğütme işlemlerinden ayrılan gluten fraksiyonlarında DON seviyeleri 0.2 mg/kg'den düşük bulunmuştur. Alexandre vd. (2017) tam buğday ununda ve ıslak öğütme atığındaki DON mikotoksininin azaltılması için araştırmalarında ozon kullanmışlar, ozonlamanın etkili bir alternatif yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Sayaslan vd. (2006), mumlu (waxy) buğday unlarının ıslak öğütme özelliklerinin incelenmesini Martin ve sulu dispersiyon yöntemleri ile yapmış ve verimler daha düşük bulunmuş olup, daha fazla ham yağ ve pentozan, daha az nişasta fraksiyonu elde etmişlerdir. Guan vd. (2009) hamur yıkama yöntemi (Martin yöntemi) ile farklı tipteki buğday unlarını fraksiyonlarına ayırmışlar, hamur karıştırma özelliklerinin ıslak öğütme kalitesiyle ilişkili olduğunu ve ıslak öğütme işlemiyle sert mumlu buğdayların kolaylıkla nişasta ve glutene ayırlamadığını belirtmişlerdir.

Mısır

Mısırın başlıca kimyasal bileşeni nişastadır (%70-73) ve 7-25 µm boyutunda, polihedral ve küresel granüllere sahip olduğu belirtilmiştir. Mısırdaki bulunan proteinler (%8-10) nişasta ile çok yakın bir etkileşimde olduklarından nişastanın ayrılmasını zorlaştırdığı ifade edilmiştir. Yüksek nişasta verimi için nişasta-protein arasındaki bağ kuvvetlerinin kırılması veya zayıflatılması gerektiği belirtilmiştir (El Halal vd. 2019). Mısır nişastası endüstride ıslak öğütme teknolojisi ile ayrılmaktadır. Mısırın ıslak öğütülmesinde başlıca kalite faktörleri nişasta verimi, ıslatma çözeltisi kalitesi ve ıslatma süresi olarak belirtilmiştir.

Mısırın ıslak öğütülmesinde ıslatma aşaması, mısır tanesini yumuşatmak ve mısır hücre duvarlarını parçalamak için önemli bir işlemdir. Mısırın ıslatma işlemi, SO₂ (%0.2-0.4) ve laktik asit içeren çözeltiler 50°C'de ve 24 saat süreyle uygulanmaktadır. ıslatma çözeltilerinin, endosperm içerisine nüfuz ederek nişasta granüllerini saran proteinlerin disülfid bağlarını kırdığı ve nişasta veriminin artırılmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir. Sülfürlü çözeltilerin çevre kirliliği yaratması sebebiyle, geleneksel asitli çözeltilerin L-sistein indirgeyici ajanı ile birlikte uygulandığı çevre dostu yöntemler önerilmiştir. L-sistein, proteinlerin disülfid bağlarını kırarak nişastanın endospermden serbest kalmasını sağladığı bildirilmiştir (Wronkowska ve Haros, 2014; El Halal vd. 2019). Uriarte-Aceves vd. (2015), yaptıkları bir çalışmada, 15 adet Meksika mavi mısır genotiplerinin fiziksel, kimyasal ve ıslak öğütme özellikleri arasında büyük farklılıklar olduğunu, bunlardan iki genotipin endüstri için uygun nişasta özellikleri verdiğini bildirmişlerdir. Araştırmalarında, ortalama nişasta verimini %61.03, nişasta fraksiyonlarındaki kalıntı protein miktarını %0.39-0.68 ve toplam katı madde geri kazanımını %98.8 olarak belirtmişlerdir. Uriarte-Aceves vd. (2018), aynı mavi mısır genotiplerinin ıslatma pH'sının nişasta özelliklerinde muhtemel etkisini azaltmak ve yüksek nişasta verimliliği sağlamak için ıslatma suyunun pH'sını 0.2 M NaHCO₃ ile 3.75'e ayarlamışlardır. Çalışmalarında ortalama nişasta miktarını %99.41 ve kalıntı proteini %0.54 olarak bulmuşlardır. Uriarte-Aceves vd. (2019), 25 farklı ticari beyaz hibrit mısırın (100 g) ıslak öğütmesini (52°C, %0.5 laktik asit, %0.2 SO₂, 24 saat) çalışmışlar; buna göre, nişasta verimleri, nişasta geri kazanımları ve nişastadaki kalıntı protein miktarlarının sırasıyla %54.63-65.95, %76.08-93.22 ve %0.33-0.62 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir.

Pirinç

Pirinç, dünyada en çok üretimi yapılan tahıllardan bir tanesidir. Tane şekline göre kısa, orta ve uzun olarak sınıflandırılabilir. Pirinçte nişasta %76-90 oranında bulunur ve tahıllar içinde en küçük granül boyutuna (3-8 µm) sahip olduğu bildirilmiştir. Pirinç, alerjik olmaması ve toksik prolamın proteini içermemesinden dolayı; unu ve

nişastasının, glutensiz gıdalar ve bebek mamalarında kullanılabileceği belirtilmiştir (El Halal vd. 2019). Pirinçin öğütülmesinde kuru, ıslak ve yarı-kuru (pirinç tanelerinin nemi %25-30'a ıslatma ile ayarlanır, öğütmeden sonra pirinç unu 40°C'de 3-4 saat kurutulur) öğütme yöntemlerinin kullanıldığı, bunlar içerisinde ıslak öğütmenin en iyi kalitede unu verdiği bildirilmiştir. ıslatma işleminin pirinç ununun tanecik boyutunu etkilediği ve ıslak öğütme yöntemi ile daha az zedelenmiş nişasta meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca, kuru öğütmede elde edilen pirinç ununun ıslak öğütmeye kıyasla daha yüksek zedelenmiş nişasta verdiği ve daha fazla hidrasyon kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur (Tong vd. 2015; Wu vd. 2019). Pirinç nişastasının üretimi diğer tahıl nişastaları ile karşılaştırıldığında daha maliyetlidir, çünkü nişasta proteine çok sıkı bağlıdır ve ayrılması için ön işlemlere gereksinim duyulur. Bu sebeple pirinç nişastasının ıslak öğütme ile ekstraksiyonunda ıslatma suyu olarak alkali çözelti (%0.10-0.30 NaOH), yüzey aktif maddeli çözelti (dodesilbenzen sülfonat, sodyum lauril sülfat), alkali çözelti+proteaz enzimi ve dondurma-çözündürme infüzyon+proteaz enzimi yöntemlerinin kullanıldığı belirtilmiştir. Alkali, proteaz ve infüzyon yöntemlerinde nişasta verimlerinin sırasıyla %66.8, %61.7 ve %69.3 olarak bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca, enzim uygulamasında nişastanın geri kazanımının alkali yönteminden %10 daha fazla olduğu bildirilmiştir (El Halal vd. 2019). Ancak, uzun ıslatma süreleri pirinçte bakteri üremesine sebep olmakta ve ürün kalitesinde ciddi bozulmalara yol açmaktadır. Bu sebeple, daha fazla enerji gerektiren ve zedelenmiş nişasta oranının fazla olduğu kuru öğütmenin tercih edildiği belirtilmiştir (Tong vd. 2015; Wu vd. 2019). Tong vd. (2015), pirinçin ıslak (25°C'de deiyonize suda 24 saat), yarı-kuru (%30 nemli) ve kuru öğütme yöntemlerinin erişte kalitesine etkileri ile ilgili çalışmada, yarı-kuru öğütmede pirinç ununun karakteristik özelliklerinin daha iyi korunduğunu (zedelenmiş nişasta miktarının daha az) ve unun daha iyi hidrasyon özellikleri sergilediğini belirtmişlerdir. Wu vd. (2019), glutensiz pirinç unu ekmeği üretmek için pirinç ıslak öğütme yöntemi, laboratuvar tipi rotorlu öğütücü (siklon öğütücü) ve diskli öğütücü (çok ince öğütme teknolojisi) ile öğütmüşlerdir. ıslak

öğütme yöntemi ile üretilen unun, ultra-ince öğütme ve siklon öğütmeye kıyasla daha düşük zedelenmiş nişasta içerdiği (2.80 g/100 g), yüksek jelatinizasyon sıcaklığı, absorpsiyon entalpisi ve jel direncine sahip olduğu ve ıslak öğütme yöntemiyle üretilen undan daha iyi glutensiz pirinç ekmeği üretilbildiği gösterilmiştir. Leewatchararongjaroen ve Anuntagool (2016), kuru (dikey disk öğütücü) ve ıslak öğütme (%1.25 NaHSO₃ içinde ıslatma) ile elde edilen dokuz çeşit pirinç ununun fiziksel ve kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Islak öğütme işlemi ile elde edilen unların önemli düzeyde düşük protein ve kül içeriğine, fakat yüksek nişasta içeriğine sahip oldukları bulunmuştur. Ayrıca, ıslak öğütme ile üretilen unların nişasta granüllerinin daha küçük ve jelatinizasyon entalpilerinin daha düşük olduğu görülmüştür.

Arpa

Arpanın başlıca kimyasal bileşenleri nişasta (%60-77) ve proteindir (%8-15). Arpa nişastası kuru ve ıslak öğütme yöntemleri ile izole edilmektedir. Arpa nişastasının, ayrıca, arpa β -glukanının (%6) ekstraksiyonunda açığa çıkan bir yan ürün olduğu da belirtilmiştir (Zhu, 2017a; Sharma ve Kotari, 2017; El Halal vd. 2019). Arpada bulunan β -glukanın viskoziteyi artırarak ıslak öğütmede nişasta ekstraksiyonunu zorlaştırdığı belirtilmiş, bunun için %50'lik etil alkolde arpa ununun disperse edilerek β -glukan kaynaklı viskozitenin azaltılabileceği bildirilmiştir. Çünkü %50'lik etil alkolde β -glukanın hidrasyonunun meydana gelmediği belirtilmiştir. Daha sonra besinsel lif konsantrasyonunun (β -glukan dahil) elekler ile nişastadan ayrılabilmesi ve nişastanın ise su/alkali çözeltilerde saflaştırılabileceği bildirilmiştir (Zhu, 2017a). Yüzde 50'lik etil alkol kullanılarak 3 farklı arpa genotipinden (normal, mumlu, yüksek amilozlu) elde edilen nişasta ekstraksiyon verimleri %22-39 arasında bulunurken, nişastaların saflığı %98'den fazla bulunmuştur (Gao vd. 2009). Yu vd. (2018) yaptığı bir çalışmada, arpa ununu oda sıcaklığında %0.45'lik SO₂ çözeltilisinde bir gece ıslatmış ve daha sonra 2000xg'de 10 dakika santrifüj etmişlerdir. Çökelti, 20 mL proteaz çözeltilisi ile 37°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra 4000xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Çökelti

mutlak etil alkol ile tekrar yıkanmış ve 40°C'de 48 saat vakumda kurutulduktan sonra nişastasını izole etmişlerdir. Nişasta verimini ve nişasta içeriğini sırasıyla %48.1-54.8 ve %73.1-75.8 arasında bulmuşlardır. Kullanılan proteaz, nişasta-protein etkileşimini kırarak nişasta verimini artırmış, mutlak etil alkol ile yıkama ise β -glukanın çökmesine sebep olarak nişastadaki kalıntı miktarını (<%1) düşürmüştür. Sharma ve Tejinder (2014) ise kavuzlu ve kavuzsuz arpalarından nişasta izolasyonunu çalışmışlardır. Bunun için, arpalar önce 50°C'deki %0.2 SO₂ ve %0.55 laktik asit içeren çözeltide 4-5 saat ıslatılmış, sonra papain enzimi (0.4-2.0 g/kg) eklenerek 50°C'de 1-5 saat bekletilmiştir. Daha sonra sodyum hidroksit çözeltisi (0.01-0.05 M) eklenerek 25°C'de 15-60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Eleme ve nişasta saflaştırma işlemleri sonucunda, alkali ekstraksiyon yöntemlerine (%70.9-83.7) göre enzim yardımıyla yapılan ekstraksiyon ile daha fazla nişasta verimliliği (%80.7-84.6) sağlandığı bildirilmiştir. Park ve Baik (2010) yapmış olduğu bir çalışmada 6 farklı arpa çeşidini ıslak öğütme işlemine tabi tutmuş ve ıslatma suyu sıcaklığının 23°C'den 60°C'ye yükseltilmesi ile yaklaşık %65 nişasta geri kazanımı sağlanmış, fakat protein geri kazanımı ve saflığının azaldığı belirtilmiştir.

Yulaf

Yulafın başlıca kimyasal bileşenleri nişasta (%60), protein (kavuzsuz yulafta %15-20) ve ham yağdır (%1-7). Proteinlerinin %70-80'i globulinler, %4-15'i ise prolaminler (avenin) olduğu bildirilmiştir. Yulaf nişastasının izolasyonu oldukça güçtür, çünkü nişasta proteine çok kuvvetli bir şekilde bağlıdır, ayrıca tanede β -glukanın bulunmasının nişastanın ayrımını zorlaştırdığı ifade edilmiştir. Yulaf nişastası küçük poligonal (3-10 μ m) granüllerden meydana gelmektedir (Zhu, 2017b; El Halal vd. 2019; Punia vd. 2020). Yulaf nişastasının veriminin, protein miktarına ve seçilen ekstraksiyon yöntemine göre değiştiği bildirilmiştir. Nişasta izolasyonu; önce proteinin sonra besinsel lifin bir takım seri mekanik ayırmalar ile uzaklaştırılması, su ile yıkama/nötralizasyon ve santrifügasyon ile geri kazanım işlemlerini içerdiği belirtilmiştir. Nişastadan proteini etkili şekilde ayırmak için

başlıca 3 yöntem önerilmiştir: alkali ile ekstraksiyon, yüksek hızda homojenizasyon ile suda ekstraksiyon ve proteazlar kullanarak ekstraksiyondur (El Halal vd. 2019). Shah vd. (2017) üç farklı yulaf çeşitinin nişastalarını izole ettiği çalışmada; yulaf unu:su oranı 1:10 olacak şekilde hazırlanan karışımın pH değeri 9'a ayarlanarak 1 saat karıştırılmıştır. Karışım daha sonra kumaş süzgeçten filtre edildikten sonra santrifüj (3000xg'de 15 dakika) edilmiş, çökelti (nişasta) 3 kez distile su ile yıkanmış ve 40°C'de kurutulmuştur. Nişastaların %0.32-0.34 protein ve %0.25-0.44 ham yağ içerdiği bildirilmiştir. Al-Hakkak ve Al-Hakkak (2007) patentli bir çalışmada yulaf nişastasını herhangi bir kimyasal kullanmadan sadece buğday gluteni kullanarak izole etmiştir. Bunun için, 100 g yulaf kırması 18 g gluten ile karıştırıldıktan sonra %3'lük tuz çözeltisi ilave edilmiştir. Bu yöntemde hidrasyon sağlandıktan sonra yoğurma ile gluten ağı meydana getirilmiş ve gluten proteinleri ile yulaf proteinleri arasında agglomerasyon sağlanmıştır. Bir saat yoğurmadan sonra hamur yıkama işlemi yapılmış, nişasta kumaş süzgeçten filtre edilerek ayrılmış ve santrifüj ile toplandıktan sonra kurutulmuştur. Bu yöntemde nişasta verimi, un ağırlığına göre %55.7, undaki nişasta miktarına göre %78.0 olarak belirlenmiş, kalıntı protein ve ham yağ miktarı %0.35'ten az bulunmuştur.

Sorgum

Sorgumun başlıca kimyasal bileşenleri nişasta (%57-77), protein (%11-13) ve ham yağdır (%3.5). Proteinlerinin %77-82'si prolamin tip protein olan kafirindir ve toksik prolamin içermediği bildirilmiştir. Beyaz, kırmızı, sarı ve kahverengi perikarp renklerine sahip sorgum çeşitleri bulunmaktadır. Sorgum önemli bir nişasta kaynağıdır, enzime dirençli nişasta miktarının fazla olması sebebiyle mısırdan daha çok popülerite kazanmıştır. Sorgum nişastasının granül boyutunun 4-35 µm arasında değiştiği bildirilmiştir. Nişastanın, sorgumdan alkalide ıslatma ve bunu takiben çeşitli saflaştırma aşamaları ile protein ve diğer bileşenlerin uzaklaştırıldığı yani ıslak öğütme yöntemi ile minimal düzeyde zedelenmiş ve fiziko-kimyasal özellikleri değişmemiş nişasta olarak ayrılabilceği bildirilmiştir (El Halal vd. 2019; Chhikara vd.

2019). Sorgum nişastasının izolasyonu oldukça güçtür, çünkü çapraz bağlı kafirin proteinleri ile sıkı bir bağ içerisinde olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, sorgum çeşitleri farklı tohum kabuğu renklerine sahiptirler ve nişasta ekstraksiyonunda nişastaya kontamine olarak nişastanın gıda amaçlı kullanım değerini azalttığı bildirilmiştir. Bu sebeple, ıslak öğütmeden önce tohum kabuğunun soyulması (dekortikasyon işlemi) alternatif bir yöntem olarak önerilmiştir. Sorgumun ıslak öğütmesi, ıslatma, ıslak öğütme, santrifügasyon, izolasyon ve kurutma aşamalarından meydana gelmektedir (Qi vd. 2018). Sorgumun geleneksel ıslak öğütme işleminde, farklı sulu çözeltilerin (SO₂, laktik asit, alkali çözeltiler) ıslatma aşamasında kullanılabileceği belirtilmiştir. Özellikle alkali çözeltilerin nişastanın parlaklığını artırdığı ifade edilmiştir (El Halal vd. 2019). Qi vd. (2018), kırmızı sorgumdan ıslak öğütme yöntemi ile nişasta izolasyonunun optimizasyonunu yüzey tepki yöntemini kullanarak laboratuvar koşullarında çalışmışlardır. Renk özellikleri bakımından en iyi ve en yüksek nişasta verimi (%54.58) koşullarını; ıslatma sıcaklığı 50°C, ıslatma süresi 36 dakika, öğütme süresi 8 dakika 10 saniye olarak belirlemişlerdir. Araştırmada, ayrıca, nişastadaki pigment kontaminasyonunun önemli düzeyde azaltıldığı belirtilmiştir. Chew-Guevara vd. (2016) kırmızı sorgum ile yaptıkları bir çalışmada, kabuk soymadan (dekortikasyon) sonra öğütülen sorgumunun ıslatma aşamasında SO₂ ile birlikte ticari proteaz (Neutrase) kullanmışlardır. Nişasta ekstraksiyonunda (%43.59'dan %58.89'a) ve saflığında (%95.95'den %98.75'e) önemli bir artış gözlemlemişlerdir. Dekortikasyon ile polifenolik maddelerce zengin perikarp tabakasının uzaklaştırılması sonucunda daha beyaz nişasta üretilebildiği belirtilmiştir.

PSEUDO-TAHILLARIN ISLAK ÖĞÜTME TEKNOLOJİSİ

Amarant

Amarant tanesinde nişasta, protein ve ham yağ sırasıyla %48-69, %12-21 ve %5-8.5 arasında bulunmaktadır. Amarant nişastasının granül şekli poligonaldir ve granül çapı 0.5-3 µm arasında olup granül boyutunun oldukça küçük olduğu

bildirilmiştir. Amaranat nişastasının izolasyonu için etkili bir ıslak öğütme yöntemi geliştirilememiştir. Amaranat çok küçük bir pseudo-tahıl (1 mm çap) olduğundan ve yüksek protein içermesinden dolayı nişastasının geri kazanımının oldukça kompleks olduğu belirtilmiştir. Amaranat nişastasının, genellikle, farklı sıcaklıkta ve farklı derişimlerdeki asit veya alkalide ıslatma yöntemleri ile izole edilebileceği belirtilmiştir. Farklı çalışmalarda, protein ve nişastayı ayırmak için ıslatma suyunda sodyummetabisülfid, sodyum hidrosit veya diğer alkali çözeltilerin kullanıldığı, alkali derişimini azaltarak enzim ilavesinin nişasta verimini ve saflığını artırdığı ifade edilmiştir (Resio vd. 2006; Resio vd. 2009; Loubes vd. 2012; Espinosa-Solis vd. 2020, Kringel vd. 2020). Resio vd. (2006), amaranat tohumlarının ıslak öğütmesini 53.9°C'de, 1.6 saat süreyle ve %0.041 SO₂ katkılı ortamda gerçekleştirmiş ve nişasta ve protein verimlerini sırasıyla %45 ve %17.5 olarak bulmuşlardır ve nişastadaki kalıntı protein miktarını %0.6 olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, ortamda bulunan SO₂'nin su absorpsiyonunu ve tanenin su ile doyunluğunu artırdığını ifade etmişlerdir. Resio vd. (2009) amaranat tohumlarının ıslak öğütmesini asit koşullarda farklı sıcaklık (40, 50, 60°C), SO₂ konsantrasyonu (%0.01, 0.055 ve %0.1) ve zamanlarda (sıcaklığa göre sırasıyla 140, 120 ve 45 dakika) faktöriyel (3²) deney dizaynında çalışmışlardır. Buna göre, besinsel lif verimi azaldıkça nişasta geri kazanımı artmış, besinsel lif fraksiyonundan proteinin geri kazanımı artırılmış, ıslatma suyuna daha fazla protein geçişi sağlanmış ve nişastadaki kalıntı protein azaltılmıştır. Loubes vd. (2012) asidik ıslatma koşullarının (0.1-1.0 g/L SO₂, 40-60°C sıcaklık) amaranat nişastasının mekanik ve termal özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, nişastanın jelatinizasyon sıcaklığının ıslatma sıcaklığından etkilendiği ve jelatinizasyon entalpisi ile arasındaki ilişkinin önemli olduğu ve 47.4°C ve 0.72 g/L SO₂ ıslatma koşullarında kuvvetli çiriş jelinin meydana geldiği bildirilmiştir. Leal-Castaneda vd. (2018), amaranat tohumlarını 24 saat 4°C'de ıslattıktan sonra nişasta süspansiyonunu santrifügasyon ile ayırmış ve kalıntı proteinleri nişastadan ayırmak için iki kez %0.3'lük NaOH ile yıkamışlardır. Daha sonra nişastayı 40°C'de 24 saat kuruttuktan sonra nişasta

içeriğini %86, kalıntı protein miktarını ise %4.9 olarak bulmuşlardır. Bet vd. (2018) amaranat nişastasını sadece suda ıslattıktan sonra karıştırma, filtrasyon, süzme, santrifügasyon ve kurutma işlemleri ile elde etmiş, nişastanın nemini %12.78, nişasta içeriğini %83.18, kalıntı proteini %2.01, ham yağ içeriğini %0.98, kül miktarını %1.05 olarak belirlemişlerdir. Joaqui vd. (2020) ise amaranat tohumlarının alkali koşullardaki ıslak öğütülmesi ile proteinin sekonder yapısı ve jel oluşturma kabiliyeti üzerine etkilerini araştırmış, kullanılan sodyum dodesil sülfat konsantrasyonu ve sıcaklığın sekonder yapıları bozduğu ve amaranat proteini viskozitesinin orta veya daha az seviyede olduğunu belirlemişlerdir.

Karabuğday

Karabuğday; nişasta (%59-70), protein (%11-16), fonksiyonel ve nötrasötik bileşik içeriği yüksek bir pseudo-tahıldır, ayrıca toksik prolamın proteini içermemesi sebebiyle glutensiz ürünlerde kullanılabilirliği bildirilmiştir. Karabuğday nişasta granül boyutunun 1-11.4 µm arasında değiştiği belirtilmiştir (Wronkowska ve Haros, 2014; Malik ve Saxena, 2016; Hung vd. 2020). Wronkowska ve Haros (2014), laboratuvar koşullarında kavuzlu ve kavuzsuz karabuğdayın ıslak öğütmesini farklı sıcaklık, zaman ve pH koşullarında araştırmışlardır. Buna göre, kavuzlu karabuğdaydan daha yüksek nişasta ekstraksiyon verimliliği (%90.95) sağlanmış olup kalıntı protein miktarı %2.2 olarak bulunmuştur. Araştırmada genellikle nişastaların özellikleri doğal formuna göre önemli düzeyde değişmemiştir. Malik ve Saxena, (2016) yağı alınmış karabuğday ununu, oda sıcaklığında 0.2 N NaOH çözeltisinde ıslattıktan sonra nişastasını izole etmişler, daha sonra nişastayı asit hidrolizi ve sıcaklık kombinasyonlu modifikasyona tabi tutmuşlardır. Buna göre, modifikasyondan sonra nişastanın şişme gücü ve yağ absorplama kapasitesinin azaldığı; çözünürlük, amiloz içeriği ve su bağlama kapasitesinin ise arttığını belirlemişlerdir. Yu vd. (2018), kavuzsuz karabuğdayı 3 farklı öğütme işlemi (ıslak öğütme, yüksek hızlı universal öğütücüde öğütme, taş değirmende öğütme) uygulayarak karabuğday ununa işlenmesini çalışmışlardır. Buna göre, ıslak öğütme işleminde (20°C'de 24 saat distile suda) karabuğday ununun

ekstraksiyon oranı %70 olarak belirlenmiştir. Islak öğütme ile elde edilen karabuğday ununun daha beyaz renkte, partikül boyutunun daha küçük ve taramalı elektron mikroskopundaki morfolojik analiz sonuçlarına göre daha az zedelenmiş nişasta granülüne sahip olduğu belirlenmiştir.

Kinoa

Beyaz, sarı, kırmızı ve siyah renkli genotipleri bulunan kinoanın tam tane veya tam kinoa unu olarak tüketilebileceği rapor edilmiştir. Kinoada %50-69.2 oranında nişasta bulunmaktadır. Kinoanın nişasta granülleri çok küçüktür (1-3 µm) ve %3.5-22.5 arasında amiloz içerdiği belirtilmiştir. Kinoanın, tahıllara göre daha yüksek protein içeriği (%16) ve kalitesine sahip olduğu, ayrıca toksik prolamin proteinlerini içermediği bildirilmiştir (Li vd. 2016; Schoenlechner, 2017; Li ve Zhu, 2018; Jan vd. 2019; Ballester-Sánchez vd. 2020; Kringel vd. 2020). Kinoanın ıslak öğütme ile ayrılan ve kimyasal bileşenleri olan nişasta, protein ve besinsel lif fraksiyonlarının endüstride ve gıda formülasyonlarında kullanılabileceği belirtilmiştir (Fernández-López vd. 2020). Kinoa, soğuk suda veya alkali çözeltide yıkandıktan sonra, fırçalama veya aşındırma yöntemleri ile kavuz ve dolayısıyla anti-nutrisyonel saponin maddeleri uzaklaştırıldıktan sonra ıslak öğütme işlemine geçilebileceği belirtilmiştir (Kringel vd. 2020). Kinoanın ıslak öğütülmesinde, ıslatma sonrası kinoa çöker ve bulamaç bir takım paslanmaz elekler ile süzülmemektedir. Nişasta bulamacı ayrılırken; kepek, protein, ruşeym ve besinsel lif bileşenleri farklı eleklerde tutulur, son elek altı santrifüjleme ile tamamen ayrılmaktadır. İzole edilen kurutulmuş tüm tohum bileşenlerinin, ilk baştaki kurutulmuş kinoa miktarına oranı ile verimler hesaplanmaktadır. Uzun süre ve yüksek sıcaklıkta ıslatma işleminin nişasta ayrılmasında daha etkili olduğu görülmüştür (Arslan vd. 2016). Jan vd. (2017), suda ve NaOH (%0.20-0.30) çözeltisinde ıslatma yöntemlerinin her ikisinde de kinoa unundan ve kinoa tohumundan nişasta verimlerini sırasıyla %32.97-48.45 ve %28.15-43.77 aralıklarında bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar %0.25 alkalide 24 saat ıslatma ile kinoa unundan nişasta verimini kinoa tanesine göre %10.76 daha fazla belirlemişlerdir. Yapılan araştırmaya göre alkali koşullardaki nişasta verimi

daha yüksek bulunmuş fakat %0.25 NaOH derişiminin üstündeki koşullarda nişasta verimi azalmıştır. Ballester-Sánchez vd. (2019), laktik asitli SO₂ çözeltisinde farklı ıslatma süresi (1, 5 ve 9 saat) ve sıcaklığın (30, 40 ve 50°C) kinoa nişastasının geri kazanımı ve kalitesi üzerine etkisini optimize etmek için 3² faktöriyel dizayn yöntemi ile incelemişlerdir. Buna göre, 30°C'de 6,5 saat ıslatma koşullarının en yüksek nişasta geri kazanımı ve en iyi nişasta kalitesini verdiği belirtilmiştir. Ballester-Sánchez vd. (2020), kırmızı kinoalardan, ekmek formülasyonunda kullanmak üzere, kuru ve ıslak öğütme yöntemlerini kullanarak besinsel lif bakımından zengin fraksiyonu ayırmayı çalışmışlardır. Buna göre, ıslak öğütme yöntemi ile besinsel lif fraksiyonunda daha yüksek verim (%10.1), geri kazanım (%58.2) ve daha yüksek saflık (%72) elde etmişlerdir.

SONUÇ

Bu derlemede tahılların ve pseudo-tahılların ıslak öğütme teknolojileri ile ilgili son gelişmeler incelenmiştir. Islak öğütmede amaç başta nişasta olmak üzere protein, ruşeym, besinsel lif ve ham yağ bileşenlerinin en yüksek verimde ve en saf haliyle elde etmektir. Endüstride, zarar görmemiş, kalıntı protein ve renk maddesi miktarı düşük nişasta üretimi hedeflenmektedir. Nişasta verimini artırmak amacıyla, ıslatma suyunda laktik asit, SO₂ ve enzim katkılarının kullanıldığı çeşitli araştırmalarda vurgulanmıştır. Islak öğütme teknolojisinde, yüksek kalite ve verimin sağlandığı, doğaya zarar vermeyen, daha az su tüketimine dayalı etkin ayırma yöntemlerine ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Tahıl ve pseudo-tahıl bileşenlerinin gıda endüstrisi ve diğer endüstrilerde kullanım alanı bulabileceği belirtilmiştir. Farklı fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikler sergileyen protein ve besinsel lif gibi bileşenlerin unlu ürünlerde besinsel özellikleri geliştirmek üzere kullanılabileceği ifade edilmiştir. Islak öğütmeden açığa çıkan endüstriyel önemi zayıf bazı yan ürünlerin ise hayvan beslemede kullanılabileceği vurgulanmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

EY ve AA derlemeyi birlikte planlamış, yazmış ve son halini onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

- Alexandre, A.P.S., Castanha, N., Calori-Domingues, M.A., Augusto, P.E.D. (2017). Ozonation of whole wheat flour and wet milling effluent: Degradation of deoxynivalenol (DON) and rheological properties. *J Environ Sci Health Part B Pestic Food Contam Agric Wastes*, 52, 516-524.
- Al-Hakkak, J., Al-Hakkak, F. (2007). New non-destructive method using gluten to isolate starch from plant materials other than wheat. *Starch*, 59:117-124.
- Arslan, A., Gil, J.V., Fernández-Espinar, M.T., Haros, C.M. (2016). Quinoa wet-milling: Effect of steeping on isolation, pasting and thermal properties of starch. ICC-Cereal and Bread Congress, İstanbul, Turkey.
- Ballester-Sánchez, J., Fernández-Espinar, M.T., Haros, C.M. (2020). Isolation of red quinoa fibre by wet and dry milling and application as a potential functional bakery ingredient. *Food Hydrocoll*, 101:105513.
- Ballester-Sánchez, J., Gil, J.V., Fernández-Espinar, M.T., Haros, C.M. (2019). Quinoa wet-milling: Effect of steeping conditions on starch recovery and quality. *Food Hydrocoll*, 89:837-843.
- Bet, C.D., Soltovski de Oliveira, C., Colman, T.A.D., Marinho, M.T., Lacerda, L.G., Ramos, A.P., Schnitzler, E. (2018). Organic amaranth starch: A study of its technological properties after heat-moisture treatment. *Food Chem*, 264:435-442.
- Chew-Guevara, A.A., Pérez-Carrillo, E., Serna-Saldívar, S.R.O., Rosa-Millán, J. (2016). Effect of decortication and protease treatment on physicochemical and functional characteristics of red sorghum (*Sorghum bicolor*) and yellow maize (*Zea mays*) starches. *Starch*, 68:1-8.
- Chhikara, N., Abdulahi, B., Munezero, C., Kaur, R., Singh, G., Panghal, A. (2019). Exploring the nutritional and phytochemical potential of sorghum in food processing for food security. *Nutr & Food Sci*, 49(2):318-332.
- El Halal, S.L.M., Kringel, D.H., Zavareze, E.R., Dias, A.R.G. (2019). Methods for extracting cereal starches from different sources: A review. *Starch*, 71(11-12):1900128.
- Espinosa-Solis, V., García-Tejeda, Y.V., Leal-Castañeda, E.J., Barrera-Figueroa, V. (2020). Effect of the degree of substitution on the hydrophobicity, crystallinity, and thermal properties of lauroylated amaranth starch. *Polymers*, 12:2548.
- Fernández-López, J., Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Sayas-Barberá, E., Ballester-Sánchez, J., Haros, C.M., Martínez-Mayoral, A., Pérez-Álvarez, A. (2020). Chemical and technological properties of bologna-type sausages with added black quinoa wet-milling coproducts as binder replacer. *Food Chem*, 310:125936.
- Gao, J., Vasanthan, T., Hoover, R. (2009). Isolation and characterization of high-purity starch isolates from regular, waxy, and high-amylose hullless barley grains. *Cereal Chem*, 86:157-163.
- Guan, L., Seib, P.A., Graybosch, R.A., Bean, S., Shi, Y.C. (2009). Dough rheology and wet milling of hard waxy wheat flours. *J Agric Food Chem*, 57:7030-7038.
- Haros, C.M., Wronkowska, M. (2017). Pseudocereal Dry and Wet Milling: Processes, Products and Applications. In: *Pseudocereals: Chemistry and Technology*, Edts: C.M. Haros, R. Schoenlechner, Wiley-Blackwell, pp.140-162.
- Hung, P.V., Trinh, L.N.D., Thuy, N.T.X., Morita, N. (2020). Changes in nutritional composition, enzyme activities and bioactive compounds of germinated buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) under unchanged air and humidity conditions. *Int J Food Sci Technol*.
- Jan, K.N., Panesar, P.S., Singh, S. (2017). Process standardization for isolation of quinoa starch and its characterization in comparison with other starches. *Food Measure*, 11:1919-1927.
- Jan, K.N., Panesar, P.S., Singh, S. (2019). Effect of moisture content on the physical and mechanical properties of quinoa seeds. *Int Agrophys*, 33(1):41-48.

- Joaqui, B.A., Bolaños-Monilla, A., Bravo-Gomez, J.E., Solanilla-Duque, J.F., Roa-Acosta, D.F. (2020). Wet milling of the amaranth grain: Relationship between the secondary structure of the protein and its ability to form gel. *Sylvan*, 164(5):31-48.
- Kringel, D.H., El Halal, S.L.M., Zavareze, E.R., Dias, A.R.G. (2020). Methods for the extraction of roots, tubers, pulses, pseudocereals, and other unconventional starches sources: A review. *Starch*, 72(11-12): 1900234.
- Leal-Castañeda, E.J., García-Tejeda, Y., Hernández-Sánchez, H., Alamilla-Beltrán, L., Téllez-Medina, D.I., Calderón-Domínguez, G., García, H.S., Gutiérrez-López, G.F. (2018). Pickering emulsions stabilized with native and lauroylated amaranth starch. *Food Hydrocoll*, 80:177-185.
- Leewatcharongjaroen, J., Anuntagool, J. (2016). Effects of dry-milling and wet-milling on chemical, physical and gelatinization properties of rice flour. *Rice Sci*, 23(5):274-281.
- Li, G., Wang, S., Zhu, F. (2016). Physicochemical properties of quinoa starch. *Carbohydr Polym*, 137:328-338.
- Li, G., Zhu, F. (2018). Effect of high pressure on rheological and thermal properties of quinoa and maize starches. *Food Chem*, 241:380-386.
- Loubes, M.A., Resio, A.N.C., Tolaba, M.P., Suarez, C. (2012). Mechanical and thermal characteristics of amaranth starch isolated by acid wet-milling procedure. *Food Sci Technol-LEB*, 46 (2):519-524.
- Magallanes López, A.M., Manthey, F.A., Simsek, S. (2018). Wet-milling impact on starch and gluten fractions. LACC/IGW. 13th Int. Gluten Workshop Proceedings, 97-100 p.
- Magallanes López, A.M., Manthey, F.A., Simsek, S. (2019). Wet milling of deoxynivalenol-contaminated wheat: Effect on physicochemical properties of starch. *Cereal Chem*, 97(2):293-303.
- Magallanes López, A.M., Ohm, J.B., Manthey, F.A., Rao, J., Simsek, S. (2021). Gluten extraction from deoxynivalenol contaminated wheat by wet milling. *Food Control*, 120:107513.
- Malik, M.A., Saxena, D.C. (2016). Effect on physicochemical and thermal properties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) starch by acid hydrolysis combined with heat moisture treatment. *J Food Process Pres*, 40:1352-1363.
- Mufari, J.R., Miranda-Villa, P.P., Calandri, E.L. (2018). Quinoa germ and starch separation by wet milling, performance and characterization of the fractions. *Food Sci Technol-LEB*, 96:527-534.
- Park, C.S., Baik, B.K. (2010). Recovery and purity of isolated barley starch and protein as affected by fractionation water temperature. *Cereal Chem*, 87: 561-565.
- Punia, S., Sandhu, K.S., Dhull, S.B., Siroha, A.K., Purewal, S.S., Kaur, M., Kidwai, M.K. (2020). Oat starch: Physico-chemical, morphological, rheological characteristics and its applications-A Review. *Int J Biol Macromol*, 154:493-498.
- Reguera, M., Haros, C.M. (2017). Structure and composition of kernels. In: *Pseudocereals: Chemistry and Technology*, Edts: C.M. Haros, R. Schoenlechner, Wiley-Blackwell, pp.28-43.
- Resio, A.N.C., Tolaba, M.P., Suarez, C. (2006). Effects of steeping conditions on wet-milling attributes of amaranth. *Int J Food Sci Technol*, 41:70-76.
- Resio, A.N.C., Tolaba, M.P., Suarez, C. (2009). Correlations between wet-milling characteristics of amaranth grain. *J Food Eng*, 92:275-279.
- Rosentrater, K.A., Evers, A.D. (2018). *Wet milling*. In: *Kent's Technology of Cereals*, Fifth Edition, Elsevier, pp. 839-860.
- Qi, Y., Du, F., Jiang, Z., Qiu, B., Guan, Q., Liu, J., Xu, T. (2018). Optimization of starch isolation from red sorghum using response surface methodology. *Food Sci Technol-LEB*, 91:242-248.
- Sayaslan, A. (2004). Wet-milling of wheat flour: Industrial processes and small-scale test methods. *Food Sci Technol-LEB*, 37: 499-515.
- Sayaslan, A., Seib, P.A., Chung, O.K. (2005). Wet-milling of flours from red, white and low-polyphenol oxidase white wheats. *Food Sci Technol Int*, 11:243-249.

- Sayaslan, A., Seib, P.A., Chung, O.K. (2006). Wet-milling properties of waxy wheat flours by two laboratory methods. *J Food Eng*, 72:167-178.
- Sayaslan, A., Seib, P.A., Chung, O.K. (2012). A bench-scale high-shear wet-milling test for wheat flour. *J Food Eng*, 111:305-317.
- Schoenlechner, R. (2017). Quinoa: Its unique nutritional and health-promoting attributes. In: *Gluten-Free Ancient Grains*, Edts: John R.N. Taylor, Joseph M. Awika, Elsevier, First Edition, pp. 105-129.
- Shah, A., Masoodi, F.A., Gani, A., Ashwar, B.A. (2017). Physicochemical, rheological and structural characterization of acetylated oat starches. *Food Sci Technol-LEB*, 80:19-26.
- Sharma, P., Tejinder, S. (2014). Extraction of starch from hulled and hull-less barley with papain and aqueous sodium hydroxide. *J Food Sci Technol*, 51:3870-3877.
- Sharma, P., Kotari, S.L. (2017). Barley: Impact of processing on physicochemical and thermal properties – A Review. *Food Rev Int*, 33(4):359-381.
- Skendi, A., Zinoviadou, K.G., Papageorgiou, M., Rocha, J.M. (2020). Advances on the valorisation and functionalization of by-products and wastes from cereal-based processing industry. *Foods*, 9(9):1243.
- Steeneken, P.A.M., Helmens, H.J. (2009). Laboratory-scale dry/wet-milling process for the extraction of starch and gluten from wheat. *Starch*, 61:389-397.
- Tong, L.T., Gao, X., Lin, L., Liu, Y., Zhong, K., Liu, L., Zhou, X., Wang, L., Zhou, S. (2015). Effects of semi-dry flour milling on the quality attributes of rice flour and rice noodles in China. *J Cereal Sci*, 62:45-49.
- Uriarte-Aceves, P.M., Cuevas-Rodríguez, E.O., Gutiérrez-Dorado, R., Mora-Rochín, S., Reyes-Moreno, C., Puangpraphant, S., Milán-Carrillo, J. (2015). Physical, compositional, and wet-milling characteristics of Mexican Blue Maize (*Zea mays* L.) Landrace. *Cereal Chem*, 92(5):491-496.
- Uriarte-Aceves, P.M., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E.O., Gutiérrez-Dorado, R., Reyes-Moreno, C., Milán-Noris, E.M. (2018). *In vitro* digestion properties of native isolated starches from Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landrace. *Food Sci Technol-LEB*, 93:384-389.
- Uriarte-Aceves, P.M., Sopade, P.A., Rangel-Pereza, J.G. (2019). Physical, chemical and wet-milling properties of commercial white maize hybrids cultivated in México. *J Food Process Pres*, 43(7):e13998.
- Wronkowska, M. (2016). Wet-milling of cereals. *J Food Process Pres*, 40:572-580.
- Wronkowska, M., Haros, M. (2014). Wet-milling of buckwheat with hull and dehulled-The properties of the obtained starch fraction. *J Cereal Sci*, 60:477-483.
- Wu, T., Wang, L., Li, Y., Qian, H., Liu, L., Tong, L., Zhou, X., Wang, L., Zhou, S. (2019). Effect of milling methods on the properties of rice flour and gluten-free rice bread. *Food Sci Technol-LEB*, 108:137-144.
- Yu, D., Chen, J., Ma, J., Sun, H., Yuan, Y., Ju, Q., Teng, Y., Yang, M., Li, W., Fujita, K., Tatsumi, E., Luan, G. (2018). Effects of different milling methods on physicochemical properties of common buckwheat flour. *Food Sci Technol-LEB*, 92:220-226.
- Yu, W., Zou, W., Dhital, S., Wu, P., Gidley, M.J., Fox, G.P., Gilbert, R.G. (2018). The adsorption of α -amylase on barley proteins affects the *in vitro* digestion of starch in barley flour. *Food Chem*, 241: 493-501.
- Zhu, F. (2017a). Barley starch: Composition, structure, properties, and modifications. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 16:558-579.
- Zhu, F. (2017b). Structures, properties, modifications, and uses of oat starch. *Food Chem*, 229:329-340.



***ENTEROCOCCUS DURANS* İLE EKSTRASELÜLER LİPAZ ÜRETİMİ VE KAREKTERİZASYONU**

Esra Acu, Volkan Kılıç, Merih Kıvanç*

Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye.

Geliş / Received: 14.01.2021; Kabul / Accepted: 08.03.2021; Online baskı / Published online: 22.03.2021

Acu, E., Kılıç, V., Kıvanç, M. (2021). *Enterococcus durans* ile ekstraselüler lipaz üretimi ve karakterizasyonu. GIDA (2021) 46(2) 474-487 doi: 10.15237/gida. GD21020

Acu, E., Kılıç, V., Kıvanç, M. (2021). Production and characterization of extracellular lipase from *Enterococcus durans*. GIDA (2021) 46(2) 474-487 doi: 10.15237/gida. GD21020

ÖZ

Süt ve ürünlerinden izole edilen 50 laktik asit bakterisinin lipaz aktivitesi taranmıştır. E114 ve E114.11 numaralı izolatlarda yüksek aktivite görülmesi nedeniyle enzim üretimi için seçilmiştir. 16S rRNA gen bölgesine göre test bakterilerinin dizi analizi sonuçları *Enterococcus durans* olarak belirlenmiştir. Lipaz üretimi için optimum üretim koşulları belirlenmiştir. Bu koşullar: Azot ve karbon kaynağı olarak %5 pepton ve %5 glikoz ile hazırlanan besi ortamının sağlanması, pH 6.5'te 48 saat 120 rpm'de çalkalama ve 40-60°C de inkübasyondur. *E. durans* izolatlarına ait enzimler en yüksek aktiviteyi pH'ı 9 olan ve %20 tuz içeren ortamda göstermiştir. Çeşitli katyonların ve yüzey aktif maddelerin etkisinin farklı olduğu saptanmıştır. Enzimler düşük ve yüksek sıcaklıklarda aktivite göstermektedir. Ayrıca 5°C de 48 saat boyunca enzim aktivitesinin stabil kalması da gıda endüstrisi için önem taşımaktadır. Özellikle et ve süt ürünleri gibi fermente ürünlerde lezzet kazandırılması amacıyla kullanılabilirliği umut vericidir.

Anahtar kelimeler: *Enterococcus durans*, lipaz, enzim aktivitesi

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF EXTRACELLULAR LIPASE FROM *ENTEROCOCCUS DURANS*

ABSTRACT

Lipase activity of 50 lactic acid bacteria isolated from milk and milk products were screened. E114 and E114.11 isolates were chosen for enzyme production due to their high activity. Sequence analysis results of test bacteria according to 16S rRNA gene region were determined as *Enterococcus durans*. Optimum production conditions for lipase production have been determined. These conditions are: Providing a medium prepared with 5% peptone and 5% glucose as nitrogen and carbon source, shaking at 120 rpm for 48 hours at pH 6.5 and incubating at 40-60°C. Enzymes belonging to *E. durans* isolates showed the highest activity in the environment with pH 9 and containing 20% salt. It has been found that the effects of various cations and surfactants are different. Enzymes show activity at low and high temperatures. Stability of enzyme activity for 48 hours at 5°C is also important for the food industry. Its usability in fermented products such as meat and dairy products is promising.

Keywords: *Enterococcus durans*, lipase, enzyme activity

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mkivanc@eskisehir.edu.tr

☎ (+90) 505 923 50 03

Esra Acu; ORCID no: 0000-0002-6704-3430

Volkan Kılıç; ORCID no: 0000-0003-3535-8013

Merih Kıvanç; ORCID no: 0000-0002-8647-3428

GİRİŞ

Enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonu kolaylaştırır ve denge reaksiyonlarının hızlı şekilde gerçekleşmesini sağlarlar. Katalizör olarak bazı kimyasallar da görev yapmaktadır. Ancak asitler ve bazlar gibi kimyasallar, yüksek sermaye yatırımlarına, özel ekipman ve kontrol sistemlerine yol açan yüksek sıcaklık, basınç, asidik veya alkali pH gerektirmektedirler (Aravindan vd., 2007). Ayrıca istenmeyen yan ürünler oluşturabilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar kimyasal katalizörlerin yerine kullanılabilir, spesifik, biyolojik olarak parçalanabilen, geri kazanılması kolay ve yeniden kullanılabilir biyomoleküllere yönelmişlerdir. Bu biyolojik katalizörler hem hücre dışı hem de hücre içi enzimleri içermektedir (Karigar ve Rao, 2011). Biyolojik lipaz enzimi kimyasallara göre reaksiyonda daha az yan ürün oluşturmaktadır (Treichel vd., 2010). Bu da enzimin biyoteknolojik amaçla özellikle de gıda, ilaç, deterjan, kozmetik, tekstil, kâğıt, enerji ve biyoremediasyon gibi birçok endüstri alanında daha çok tercih edilmesine neden olmaktadır (Treichel vd., 2010; Adrio ve Demain, 2014). Lipaz enzimi, doğada yaygın olarak bulunan bir enzim çeşidi olup trigliseritleri serbest yağ asitlerine ve gliserole hidrolize eden hidrolaz enzim sınıfına aittir (Sharma vd., 2011). Ayrıca esterleştirme, trans-esterifikasyon, hidroliz, asidoliz ve aminoliz gibi farklı reaksiyonları yönetme yeteneğine de sahiptirler (Rajendran vd., 2009).

En çok mikrobiyal lipazların tercih edilme nedeni ise, geniş bir pH ve sıcaklık aralığında aktif olmaları, geniş substrat spesifikliğinin olması, kolay özütleme ve çok fazla üretim yapabilme kabiliyetleri, kullanım alanlarının fazla olması gibi özelliklerinin bulunmasıdır (Treichel vd., 2010).

Enterococcus spp. lipolitik ve esterolitik aktiviteye sahip olup, uçucu aromatik bileşikler sentezleme özelliğine sahip olduğu için gıdalarda probiyotik ve starter kültür olarak kullanılmaktadır (Giraffa, 2003). *Enterococcus* spp. peynirlerin olgunlaştırılmasında (Franz vd., 2003), lipolitik ve proteolitik aktivitesi nedeniyle sucuk aromasının oluşmasına (Hugas vd., 2003) katkıda bulunduğu için geniş çapta kullanılmaktadır. Peynir ve sucuk gibi

ürünlerin organoleptik özelliklerini geliştirirler (Franz vd., 2003). Bu özellikleri nedeniyle biyoteknoloji endüstrisinde büyük öneme sahip bakterilerdir.

Bu çalışmada daha önce süt ve ürünlerinden izole edilen *Enterococcus* sp. izolatlarının lipaz üretim yeteneklerinin taranması, lipaz üretimi için optimum koşulların araştırılması ve enzim aktivitesine etki eden faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada, daha önceki çalışmalarda çeşitli süt ve ürünlerinden izole edilmiş toplam 50 *Enterococcus* sp. izolatı ile çalışılmıştır. Test bakterileri M17 broth'a ekilerek 37°C'de 24 saat %10 CO₂ koşulları altında inkübe edilmiştir. Gelişen kültürler M17 agara ekilerek aynı koşullarda inkübe edilmiş ve oluşan kolonilerin özellikleri incelenerek morfolojik, Gram boyama yapılarak mikroskopik olarak saflıkları kontrol edilmiştir.

Lipaz aktivitesi gösteren izolatlarının seçimi

Test bakterileri arasından lipaz aktivitesi gösteren izolatları seçmek için tributrin, zeytinyağı ve Tween 80 içeren lipaz besiyerine her bir izolatın 24 saatlik taze kültüründen 50 µL ekim yapılmış ve 48 saat 37°C'de %10 CO₂ koşullarında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde oluşan şeffaf bölge değerlendirilmiştir (Ko vd., 2005).

Seçilen izolatların tanımlanması

İzolatların tanımlanması 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' ve 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3' evrensel primerleri kullanılarak 16S rRNA gen bölgesine göre dizi analizi yaptırılmıştır. Elde edilen dizi bilgileri BioEdit 7.0.5.3 dizi hizalama ve editleme programında düzenlenmiş ve birleştirilmiştir. Daha sonra elde edilen dizi bilgileri National Center for Biotechnology (NCBI) web sitesinde bulunan GenBank veritabanındaki diğer 16S rRNA dizileriyle Blast programı kullanılarak karşılaştırılmış ve izolatlar tür düzeyinde yüzde benzerlik oranıyla tanımlanmıştır.

Seçilen izolatların patojenitesinin belirlenmesi

Jelatinaz, hemolitik aktivite ve antibiyotik hassasiyet testleri yapılmıştır. Jelatinaz aktivitesinin belirlenmesi Eaton ve Gasson'a (2001), antibiyotik hassasiyet testi Wayne (2010)'e göre yapılmıştır. Hemolitik aktivite kanlı agar da belirlenmiştir.

Lipaz üretimi

Seçilen bakteriler M17 agar da 37°C'de 48 saat boyunca inkübe edildikten sonra tek koloni olarak M17 broth'a ekilmişlerdir. M17 broth'da gelişen kültürler 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Kültürler, spektrofotometrede 600 nm de OD 1 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra 10 mL olarak tüplere dağıtılan lipaz tayin ortamına (%3 yeast ekstrakt, %3 sukroz, 0.1g/l CaSO₄, 0.5g/l KH₂PO₄, 0.1g/l MgSO₄ x 7H₂O, %1 tributrin) %1 oranında kültürlerden ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat %10 CO₂ koşullarında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kültürler 4°C 9000 rpm de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatant pelletten ayrılarak steril falkona aktarılmış ve lipaz aktivitesi belirlenmiştir. Aynı şekilde pellet steril falkonda -20°C'de dondurucuda saklanmış ve daha sonra lipaz aktivitesi belirlenmiştir. Bütün çalışmalar çift paralel olarak yapılmıştır.

Lipaz aktivitesinin belirlenmesi

Ekstraselüler enzim aktivitesinin belirlenmesi: Lipaz aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. p-nitrofenilpalmitat (p-NPP) substrat olarak kullanılmıştır. Lipaz aktivitesini belirlemek için 96 kuyucuklu Eliza petrisine 50 mM Tris-HCl içinde hazırlanan %0.4 tritonX ve %0.1 gum arabik içeren (pH 7) çözeltiden 135 µL, 10 ml izopropil ile hazırlanan 30 mg p-NPP ile hazırlanan çözeltiden 15 µL konulmuştur. Plaklar oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra her kuyucuğa hazırlanan süpernatantlardan 50 µL ilave edilmiştir. Hazırlanan eliza petrileri 37°C'de %10 CO₂ koşullarında 1 saat bekletildikten sonra renkteki değişim spektrofotometrede 405 nm'de okunmuştur (Arora, 2013).

İntraselüler (peletteki) Enzim Aktivitesi: Süpernatanttan ayrılan pelet 4 ml 50 mM Tris HCl

tamponda (pH 7) süspansiyon edildikten sonra buz içine yerleştirilmiş ve 30 W'da 1dakika sonikasyon uygulanmıştır. Daha sonra 4°C 9000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Pelet ayrılarak süpernatanttaki intraselüler enzim aktivitesi belirlenmiştir (Meyers vd., 1996).

Lipaz ünitesi (U) birim zamanda (dakika) 1 µmol p-Nitrofenol açığa çıkaran enzim miktarı olarak belirlenmiştir. Hesaplamalar standard p-Nitrofenol eğrisi kullanılarak yapılmıştır

Çevresel Faktörlerin Enzim Üretimine Etkisinin Belirlenmesi

Sıcaklığın etkisi

Katı besiyerinde; Lipaz katı besiyerine 5 µL kültürlerden ekim yapılmıştır. Plaklar 4°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C sıcaklıklarda 48 saat inkübe edilerek bakterilerin gelişme durumu incelenmiştir.

Sıvı besiyerinde; Test bakterileri 37°C'de 24 saat %10 CO₂ koşullarında inkübe edildikten sonra 600 nm'de OD.1'e ayarlanıp deney tüplerinde bulunan 10 mL'lik lipaz tayin ortamına 2 paralel ekim yapılmıştır. Deney tüpleri 4°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C sıcaklıklarda 48 saat inkübe edilerek lipaz aktivitesine sıcaklığın etkisi araştırılmıştır (Bharathi vd., 2018).

Substrat sıcaklığının etkisini belirlemek için, 96 kuyucuklu Eliza petrisine 50 mM Tris-HCl içinde hazırlanan %0.4 tritonX-100 ve %0.1 gum arabik içeren (pH 7) çözeltiden 135 µL, 10 mL izopropil ile 30 mg p-NPP ile hazırlanan çözeltiden 15 µL konulmuştur. Hazırlanan Eliza petrileri 4°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C sıcaklıklarda 10 dk bekletildikten sonra her kuyucuğa hazırlanan süpernatantlardan 50 µL ilave edilmiş ve belirlenen sıcaklıklarda 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra spektrofotometrede 405 nm'de değerlendirilmiştir. Bütün okumalar 4 paralel olacak şekilde yapılmıştır.

Karbon ve azot kaynaklarının etkisi

Lipaz aktivite tayin ortamına karbon kaynağı olarak, sukroz yerine %3 glikoz ve %3 laktöz kullanılmıştır. Üretilen lipaz enziminin aktivitesi belirlenerek en etkili karbon kaynağı belirlenmiştir.

Lipaz aktivite tayin ortamına azot kaynağı olarak %2 ve %5 oranlarında pepton, amonyum sülfat ve yeast ekstrakt kullanılarak üretilen enzimin aktivitesine etkisi belirlenmiştir.

pH'nin etkisi

Lipaz aktivitesine pH'nin etkisini belirlemek için lipaz tayin ortamının pH'ı 5.5, 6.5, 7.5'e ayarlanmıştır. Test bakterileri farklı pH'lardaki lipaz tayin ortamında geliştirilerek elde edilen enzimin aktivitesi belirlenmiştir.

Çalkalamanın ve inkübasyon süresinin etkisi

Lipaz aktivitesine çalkalamanın etkisini belirlemek için test bakterileri statik ve 120 rpm çalkalamalı etüvde geliştirilerek elde edilen enzimin aktivitesi belirlenmiştir.

Lipaz aktivitesine inkübasyon süresinin etkisini belirlemek için test bakterileri 24, 48 ve 72 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi sonunda elde edilen enzimin aktivitesi belirlenmiştir.

Enzim üretimi

En yüksek enzim aktivitesinin elde edildiği koşullarda enzim üretimi gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar dikkate alınarak enzim üretimi için 500 mL'lik lipaz tayin ortamı hazırlanmıştır. Lipaz tayin ortamında azot kaynağı olarak %5 pepton, karbon kaynağı olarak %3 glikoz konulmuş ve diğer bileşenler sabit kalmıştır. Lipaz ortamının pH'ı ise 6.5-7 olarak ayarlanmıştır. %10 CO₂ koşullarında 37°C'lik çalkalamalı etüvde 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında 9000 rpm 4°C'de 30 dk santrifüj yapılmıştır. Elde edilen filtrata soğutulmuş aseton 1:5 oranında olacak şekilde karıştırılarak 24 saat 4°C de bekletilmiş ve 9000 rpm, 4°C'de 15 dk santrifüj yapılmıştır.

Daha sonra diyaliz tüpüne (Sigma PURX12015) enzimden 3 mL konulmuştur. Tris HCl tamponu içine diyaliz tüpü yerleştirilmiştir. 24 saatte bir Tris HCl tamponu değiştirilmiştir. 48 saat sonunda ise kısmi olarak saflaşan enzim deneylerde kullanılmıştır.

Lipazın molekül ağırlığının belirlenmesi

Lipaz enziminin protein miktarı Bradford yöntemi ile belirlenmiştir (Bradford, 1976).

Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası kullanılarak 590 nm'de spektrofotometrede okuma yapılarak değerlendirilmiştir.

Enzimin molekül ağırlığı Laemmli (1970) yöntemine göre SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi) ile belirlenmiştir.

Kısmi saflaştırılmış ekstraselüler enzim aktivitesine etki eden faktörlerin belirlenmesi

Kısmi olarak saflaştırılan lipaz enzimlerinin aktivitesi üzerine sıcaklığın, pH'nın, çeşitli katyon, yüzey aktif madde ve çözeltilerin etkisi belirlenmiştir.

Sıcaklığın enzim aktivitesine etkisi

Sıcaklığın lipaz enzim aktivitesi üzerine etkisini belirlemek için enzim 50 mM sodyum fosfat tampon (pH 7) içinde 5 °C, 20 °C, 30 °C, 37 °C, 40 °C, 45 °C, 55 °C ve 65°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra enzim aktivitesi belirlenmiştir.

Sıcaklık stabilitesi belirlemek için lipaz 50 mM sodyum fosfat tampon (pH 7) içinde konularak 5°C, 20°C, 30°C, 45°C ve 55°C'de 5 dk, 1 s, 4 s, 24 s ve 48 s süre ile inkübe edildikten sonra aktivite belirlenmiştir (Esteban-Torres vd., 2015).

pH'nin enzim aktivitesi üzerine etkisi

pH 3-11 arasında hazırlanan tamponlarda enzim bekletilerek pH'nın lipaz aktivitesi üzerine etkisi belirlenmiştir. pH 3-5 için asetik asit-sodyum asetat tampon, pH 6 için sodyum fosfat tampon, pH 7-8 için Tris-HCl tampon, pH 9 için glisin-NaOH tampon kullanılmıştır.

Enzimin pH direncini belirlemek için ependorflara farklı pH'lardaki tamponlardan 200 µL konulmuştur. Üzerine ise 200 µL enzim ilave edilerek 45°C'de 2 ve 3.5 saat inkübe edilmiştir. Kalan enzim aktivitesi belirlenmiştir.

Bazı çözeltilerin ve katyonların enzim aktivitesine etkisi

Bazı katyon, sürfektan ve çözeltilerin enzim aktivitesi üzerine etkisini belirlemek için MnCl₂, CuCl₂, MgCl₂, KCl, NiCl₂, CaCl₂, HgCl₂, ZnCl₂'ün son konsantrasyonu 1 mM olacak şekilde ilave

edilmiş ve enzim aktivitesi 405 nm'de spektrofotometrede belirlenmiştir. Üre, EDTA, SDS, tween 20, tween 80, tritonX-100'ün enzim aktivitesine etkisi ortama 1 µL ilave edilerek belirlenmiştir.

Tuzun enzim aktivitesine etkisi

Sodyum klorürün (NaCl) etkisini belirlemek için %0, %1, %5, %10, %15, %20, %25 (w/v) konsantrasyonlarında NaCl tampona ilave edilmiştir. Enzim aktivitesi 405 nm'de

spektrofotometrede belirlenmiştir (Esteban-Torres vd., 2015).

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Seçilen İzolatların Tanımlanması

Lipaz üretimi, açısından taranan 50 izolattan E114 ve E114.11 numaralı izolatlarda elde edilen şeffaf bölge çapları daha yüksek olduğu için lipaz üretiminde bu izolatlar kullanılmak üzere seçilmiştir. 16S rRNA gen bölgesine göre dizi analizi sonuçları ile test bakterileri *E. durans* olarak belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Test bakterilerinin 16S rRNA gen bölgesine göre tanımlanması

Table 1. Identification of test bacteria according to 16S rRNA gene region

Kod no <i>Code no</i>	Tanımlama <i>Identification</i>	Benzerlik (%) <i>Similarity (%)</i>	Erişim no <i>Accession no</i>
E114	<i>Enterococcus durans</i>	99.58	MF582823.1
E114.11	<i>Enterococcus durans</i>	99.29	MF582969.1

Ampisiline, gentamisine ciprofloksasin ve vankomisine her iki *E. durans* izolatı da dirençli olarak bulunmuştur. Jelatinaz aktivitesi ve hemoliz aktivitesi her iki *E. durans* izolatı için de negatif olarak saptanmıştır. Laktik asit bakterileri vankomisine doğal olarak dirençli olduğu, vankomisin direncinin hücre duvarının sentezi sırasında D-alanin ve D laktada vankomisin bağlanamadığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Handwerker vd., 1994). Süt ve süt ürünlerinde izole edilen enterokokların gentamisine dirençli oldukları rapor edilmiştir (Çitak vd., 2004).

Lipaz Enzimi Üretimi

Test bakterilerinin lipaz üretimleri Tween 20, Tween 80, tributrin, zeytinyağı ortamında test edilmiştir. İzolatların 11 tanesinin tributrin içeren ortamda lipaz ürettikleri saptanmıştır. Tween 80 ve zeytinyağında lipaz üretimi saptanamamıştır. Tanasupawat vd., (2015) *Lactobacillus pentosus* ve *Pediococcus lolii*in Tween 80 içeren ortamda yüksek miktarda lipaz ürettiğini bildirmişlerdir. Ramyasree ve Dutta, (2013) *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus plantarum*'un substrat olarak limon yağı, zeytinyağını ve gül yağını kullanabildiğini bildirmiştir. Tributrin gerçek yağ olup doğal yağlarda meydana gelen en basit trigliserittir. Tributrin suda kolay dispers

olduğu için bu tip çalışmalarda daha çok tercih edilmektedir (Samad vd., 1989). Bu çalışmada da test ettiğimiz izolatların hiçbiri zeytinyağını hidrolize edememiştir. Sadece tributrinde aktivite göstermişlerdir. Ancak, Lopes vd., (2002) tributrinin spesifik olmadığını lipazlar ve esterazların ikisini de ayırdığını bildirmişlerdir. Bu nedenle tributrinin ilk aşamada kullanılmasının daha uygun olacağını rapor etmişlerdir.

Javed vd., (2018) bakteri lipazlarının genellikle hücre dışı olarak üretilmelerine karşın hücre içi veya membrana bağlı da olabildiklerini bildirmişlerdir. Önceki çalışmalarda da (Piatkiewicz, 1987; Meyer vd., 1996) laktik asit bakterilerinin intrasellüler lipazları da gösterilmiştir. Çalışmamızda ekstraselüler lipaz aktivitesi daha yüksek olarak saptandığı için çalışmalara ekstraselüler lipaz ile devam edilmiştir.

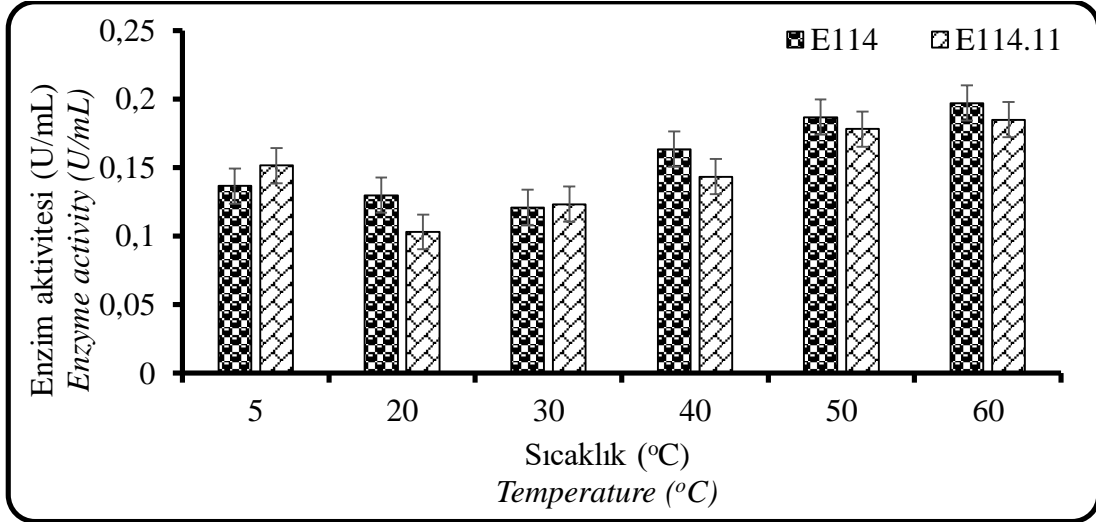
Lipaz Enzimi Üretimine Etki Eden Çevresel Faktörler

Sıcaklığın etkisi

E. durans 114 ve *E. durans* 114.11, 20- 50°C de benzer şekilde gelişmiştir. 40-60°C de gelişen kültürlerden elde edilen enzimlerin aktivitesi daha yüksek olmuştur (Şekil 1). Bakterilerin metabolik aktiviteleri düşük sıcaklıkta yavaşlamaktadır

(Amato ve Christner, 2009; Uppada ve Dutta, 2012).

Substrat sıcaklığı lipaz aktivitesini etkilemiştir. Substrat sıcaklığı 45°C olduğunda en yüksek enzim aktivitesi gerçekleşmiştir.



Şekil 1. Farklı sıcaklıklarda geliştirilen *E. durans* E114 ve E114.11'e ait ekstraselüler lipaz enziminin aktivitesi

Figure 1. Activity of extracellular lipase enzyme of *E. durans* E114 and E114.11 that were developed at different temperatures

Çalkalama ve fermantasyon süresinin etkisi

E. durans E114 ve E114.11 için optimum fermantasyon süresi 48 saat olarak saptanmıştır. En yüksek enzim aktivitesi 48 saat inkübe edilen örneklerde elde edilmiştir. Ramyasree ve Dutta, (2013) *L. lactis*, *L. brevis* ve *L. plantarum* için optimum inkübasyon süresini bulgularımızdaki gibi 48 saat olarak bildirmiştir. Lipaz aktivitesi fermantasyon süresine bağlı olarak artmıştır. Ancak aktivite belirli bir fermantasyon süresinden sonra düşmüştür. Aktivitedeki azalmanın nedeni ortamdaki besin maddelerinin azalması olabileceği gibi ortamda bakteriyel toksinlerin birikmesi de olabilir.

Çalkalamalı (120 rpm) olarak üretilen bakterilerden elde edilen enzimin aktivitesi statik olarak üretilenlerdeki enzimin aktivitesinden yüksek olmuştur.

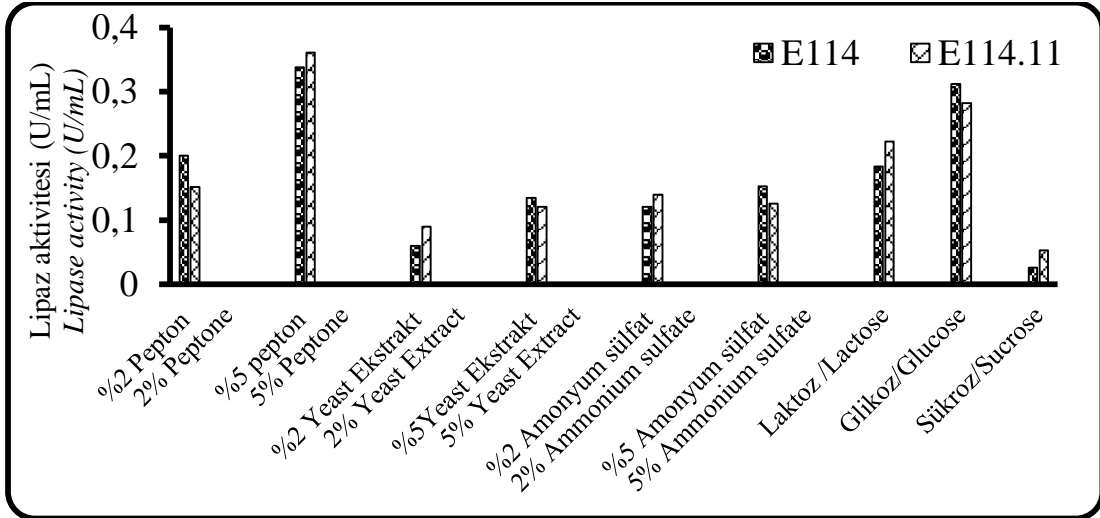
Azot ve karbon kaynaklarının etkisi

Farklı azot kaynaklarında geliştirilen test bakterilerinden elde edilen lipaz enziminin

aktivitesi değişmiştir. En etkili azot kaynağı %5 pepton olarak saptanmıştır (Şekil 2). Yeast ekstraktın ve amonyum sülfatın fazla bir etkisi olmamıştır.

Karbon kaynağı olarak besiyerine %3 oranında laktoz, glikoz ve sukroz ilave edilmiştir. Bu karbon kaynaklarında üretilen bakterilere ait enzimlerin aktivitelerine bakıldığında en yüksek aktivite glikoz kullanıldığına elde edilmiştir (Şekil 2).

Laktik asit bakterileri ile lipaz enzimi üretiminde karbon kaynağı olarak glikoz azot kaynağı olarak pepton kullanıldığında en yüksek aktivite elde edildiği birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır (Bhargavi vd., 2010). Araştırmacıların bu durumun tek karbon kaynağı ve lipid indüserin bulunması durumunda elde edildiğini bildirmişlerdir. Petrovic vd., (1990) de ekstraselüler lipaz üretimi için en uygun karbon kaynağını bizim bulgularımıza benzer olarak glikoz, Sangeetha vd., (2008) azot kaynağını pepton olarak saptamışlardır.



Şekil 2. Farklı azot ve karbon kaynaklarında geliştirilen *E. durans* 114 ve 114.11'e ait ekstraselüler lipaz enzimlerinin aktivitesi.

Figure 2. Activity of extracellular lipase enzymes belonging to *E. durans* 114 and 114.11 that were developed in different nitrogen and carbon sources.

pH'nin etkisi

Farklı pH (5.5, 6.5 ve 7.5) larda geliştirilen *E. durans* izolatlarına ait lipaz enziminin aktivitesi en yüksek pH 6.5 da gelişen *E. durans* izolatlarında olmuştur. Optimum pH dan çok yüksek ve çok düşük pH üretimi önemli ölçüde etkilemektedir (Kumar ve Kanwar, 2012).

Lipaz Enziminin Moleküler Ağırlığı

E. durans izolatları için 120 rpm çalkalama hızında 48 saat inkübasyon süresi optimum olarak

belirlenmiştir. Optimum sıcaklık 45°C, pH 6.5, azot kaynağı olarak %5 pepton, karbon kaynağı glikoz olarak saptanmıştır. Yapılan benzer çalışmalarda bakterilere göre değişen koşullar saptanmıştır. Bu koşullarda üretilen *E. durans* izolatlarından elde edilen kısmi saflaştırılmış ekstraselüler lipaz enzimlerinin kuru ağırlık ve protein miktarları Çizelge 2' de verilmiştir.

Çizelge 2. *E. durans* ait ekstraselüler lipaz enzimlerinin kuru ağırlık ve protein miktarları

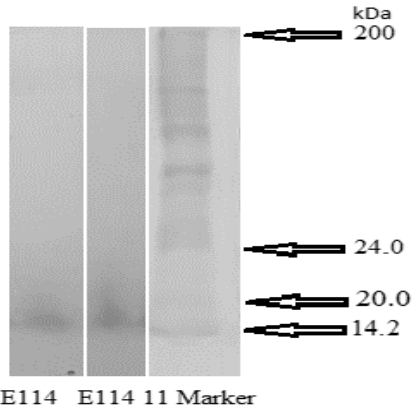
Table 2. Dry weight and protein amounts of extracellular lipase enzymes of *E. durans*

Bakterilerin kodları <i>Bacterial codes</i>	Protein miktarı (BSA mg/mL) <i>Protein content</i> (BSA mg/mL)	Kuru ağırlık (mg/mL) <i>Dry weight (mg/mL)</i>	Yaş ağırlık (mg/mL) <i>Wet weight (mg/mL)</i>
E114	0.247	0.300	0.477
E114.1 1	0.275	0.444	1.040

Kısmi saflaştırılan enzimin moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 23 kDa olarak bulunmuştur (Şekil 3). Ramakrishnan vd., (2012) Enterokok lipaz enziminin moleküler ağırlığını 22.86 kDa olarak bildirmişlerdir. Ramakrishnan vd., (2016) *E. faecium*'a ait saflaştırılmış enzimin moleküler ağırlığını 19.2 kDa olarak bulmuşlardır.

Kısmi saflaştırılmış ekstraselüler enzim aktivitesine etki eden faktörlerin belirlenmesi

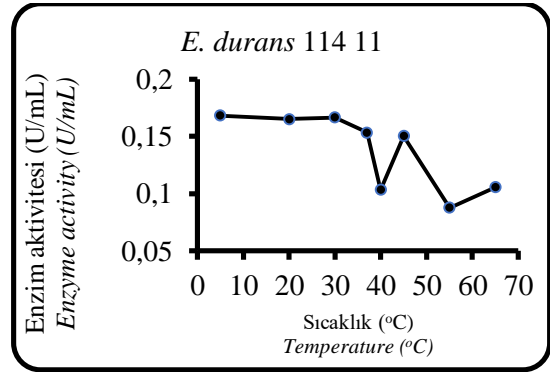
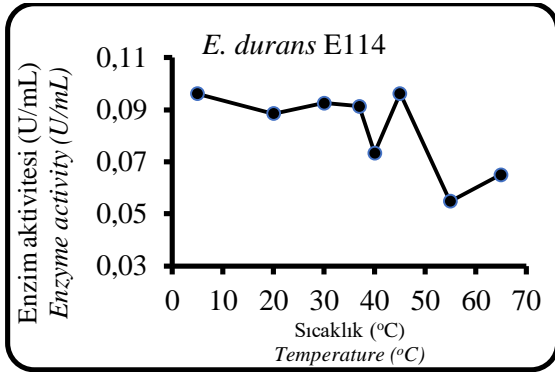
Kısmi saflaştırılmış ekstraselüler enzim aktivitesine etki eden sıcaklık, pH, çeşitli katyon ve sülfektanların etkisi belirlenmiştir.



Şekil 3. SDS-PAGE ile kısmen saflaştırılmış *E. durans*'a ait lipazın moleküler ağırlığı
Figure 3. Molecular weight of partially purified lipase of *E. durans* by SDS-PAGE

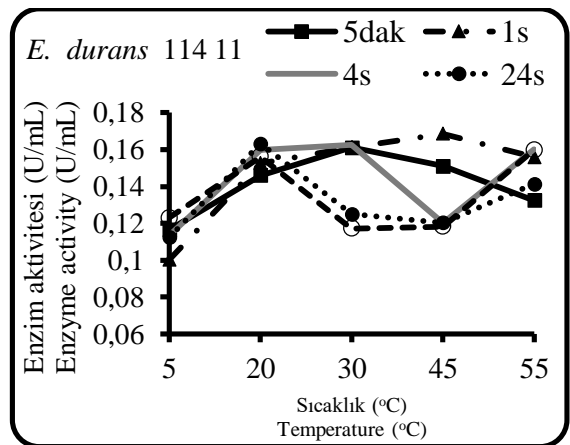
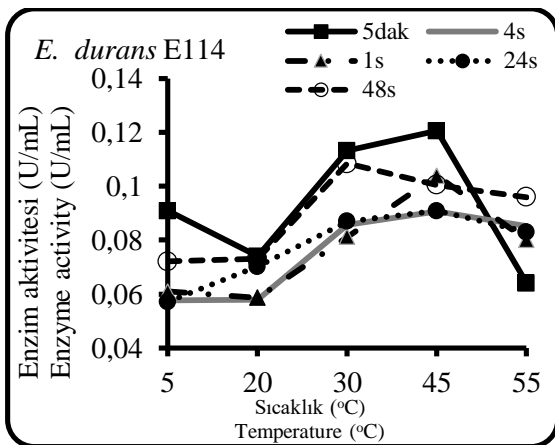
Enzim aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi

Kısmi saflaştırılmış ekstraselüler enzim aktivitesine sıcaklığın etkisi bakterilere göre değişmiştir. *E. durans* E114 dan elde edilen kısmi saflaştırılmış ekstraselüler enzim 30-45°C de maksimum aktivite gösterirken *E. durans* E114.11'e ait ekstraselüler enzimlerin aktivitesi 30°C den daha yüksek sıcaklıklarda azalmıştır (Şekil 4). *Enterococcus faecium*'da maksimum aktivitenin 40°C'de gerçekleştiği bildirilmiştir (Ramakrishnan vd., 2016).



Şekil 4. *E. durans* izolatlarına ait kısmi saflaştırılmış ekstraselüler lipaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi.

Figure 4. Effect of temperature on the activity of the partially purified extracellular lipase enzyme of *E. durans* isolates.



Şekil 5. *E. durans* izolatlarına ait kısmi saflaştırılmış ekstraselüler lipaz enziminin farklı sıcaklıklarda farklı bekleme sürelerine göre sıcaklık direnci.

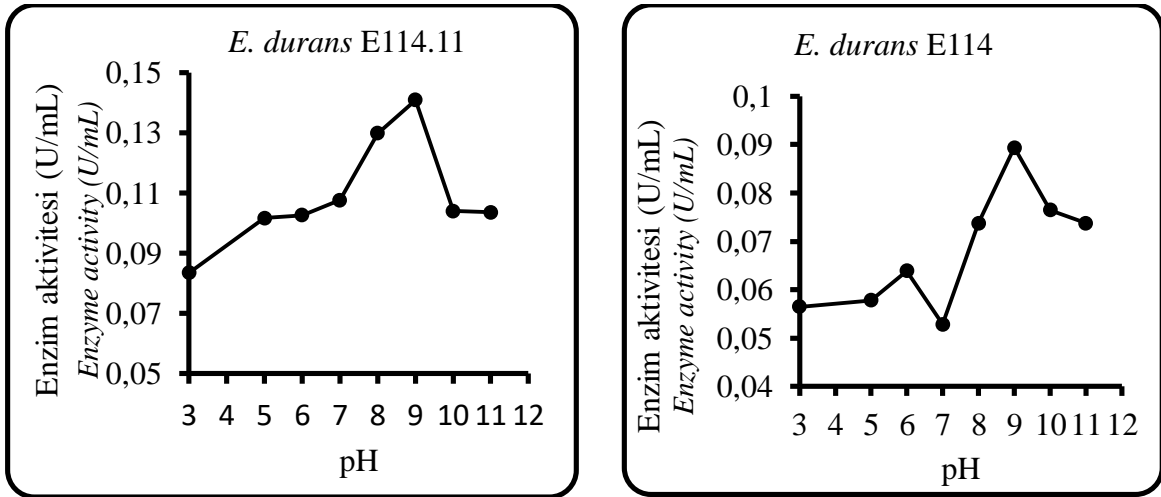
Figure 5. Temperature resistance of the partially purified extracellular lipase enzyme of *E. durans* isolates at different temperatures according to different time periods

Farklı sıcaklıklarda 5 dak, 1s, 4s, 24 ve 48s bekletilen ekstraselüler lipaz enzimlerinin sıcaklık direnci farklı olmuştur (Şekil 5). *E. durans* 114.11'a ait kısmi saflaştırılmış lipaz enziminin aktivitesi 55°C de stabil kalırken *E. durans* 114'e ait ekstraselüler enzim aktivitesi düşmüştür. *E. durans* 114'e ait ekstraselüler enzim aktivitesi sıcaklıklara bağlı olarak bekleme süresince değişen oranlarda aktivite kaybı olurken *E. durans* 114.11'a ait kısmi saflaştırılmış lipaz enziminin aktivitesi 20°C de stabil kalmıştır (Şekil 5). Ramakrishnan vd., (2016) *E. faecium*'a ait lipaz enzimi aktivitesinin en yüksek 40°C de olduğunu aktivitenin 30-70°C de stabil olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar enzim aktivitesinin 80-100°C de stabil olduğunu 100°C den sonra enzim aktivitesinin kalmadığını bildirmişlerdir. Esteban-Torres vd., (2015) *L. plantarum*'a ait esteraz enziminin maksimum aktivitesinin 40°C de olduğunu, 5°C de enzim aktivitesinin ancak %40'ını gösterdiğini, 55°C ve 65°C de 10 saat inkübasyondan sonra ise aktivitenin %40'ının kaldığını bildirmişlerdir. Sıcaklık, enzimin şeklini değiştirerek ve moleküler hareket hızını değiştirerek enzim aktivitesini etkileyebilmektedir (Enger, 2012). Çalışmada, *E. durans* 114.11'e ait enzimin 5°C de 48 saat süresince aktivitesi stabil

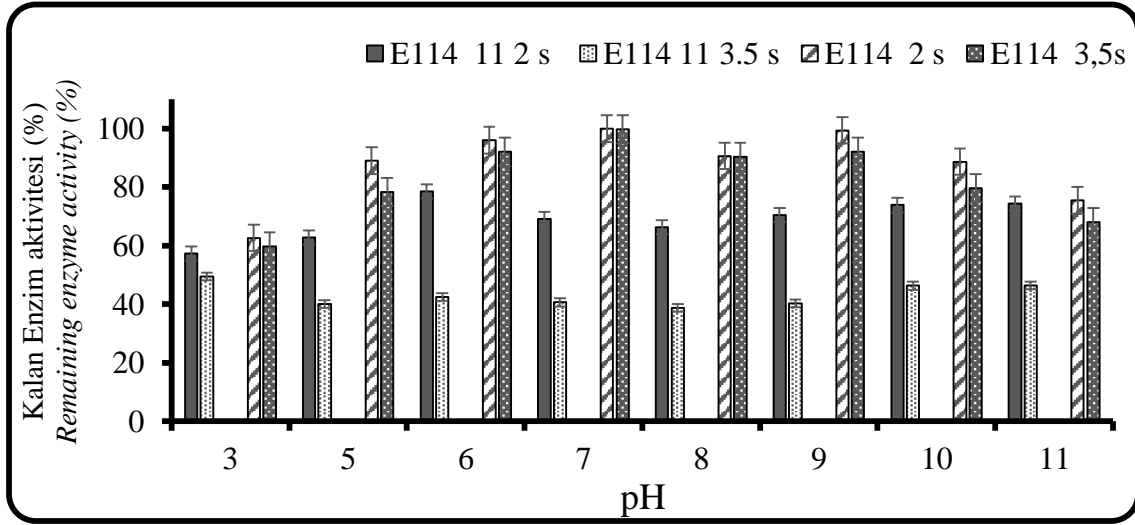
kalmıştır. Bu durum gıda endüstrisinde önem taşımaktadır. Gıdaların et ve süt ürünlerinin olgunlaşma sırasında uzun süre düşük sıcaklıkta tutulduğu göz önüne alındığında arzu edilen aromanın oluşmasında bu enzim rol oynayabilir. Peynir gibi gıdaların depolama sıcaklıklarında lipaz aktivitesi önem taşımaktadır. Çalışmamızda depolama süremiz 48 saat ile sınırlı kalmıştır. Lipaz enziminin sıcaklık stabilitesi gıda endüstrisinde önem taşımaktadır (Choo vd., 1998). Enzimler 55°C de 24 ve 48 saat inkübasyonda stabilitesini korumuştur. Yüksek sıcaklıkta (70°C) aktif bölgeler, substrata uyumayacak şekilde değişir ve bu sıcaklıkta enzim denatüre olur ve sonuçta enzim aktivitesi büyük ölçüde azalmaktadır (Toole ve Toole, 2004).

Enzim aktivitesi üzerine pH'nın etkisi

Farklı tamponlar kullanılarak hazırlanan *E. durans* ait ekstraselüler lipaz enzim aktiviteyi asidik ve nötr pH da düşükken pH alkaliye doğru çıktıkça enzimlerin aktiviteyi artışı saptanmıştır. *E. durans*, izolatlarına ait enzim pH 9 da en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Şekil 6). Dellali vd., (2020) *E. durans* ve *E. faecium* ait lipaz için optimum pH'yı 6-9 arasında saptadıklarını bildirmişlerdir.



Şekil 6. Kısmi saflaştırılmış ekstraselüler lipaz enziminin aktivitesi üzerine pH'nın etkisi
Figure 6. Effect of pH on the activity of the partially purified extracellular lipase enzyme



Şekil 7. Kısmi saflaştırılmış ekstraselüler lipaz enzimi aktivitesinin pH direnci

Figure 7. pH resistance of partially purified extracellular lipase enzyme activity

Farklı pH'larda 2 ve 3.5 saat bekleme süresinde E114'e ait enzimde önemli aktivite kaybı gözlenirken *E. durans* E114.11 ait enzimin aktivite kaybı daha düşük olmuştur. Aktivite kaybı genellikle 3.5 saat bekleme süresinde daha fazla olmuştur (Şekil 7). Ramakrishnan vd., (2016) *E. faecium* lipazı için optimum pH'ı 10.8 olarak bildirmişlerdir. pH 7-12 arasında iken enzim aktivitesinin stabil kaldığını asidik pH da ise aktivite kaybı olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmada optimum pH değerlerinden sonra aktivitede azalma görülmüştür. Araştırmacılar asidik koşullarda lipaz aktivitesindeki düşüklüğün Ca^{+2} iyonlarının kaybı ile enzimin aktif bölgesindeki koordinasyon ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Esteban-Torres vd., (2015) de *L. plantarum*'dan elde edilen esteraz enzimi için optimum pH 7 olarak bildirmişlerdir. Genel olarak, bakteriler tarafından üretilen lipazlar nötr veya alkalın pH optimumuna sahiptir. pH'daki herhangi bir değişiklik, enzimler üzerindeki elektrik yüklerinin değişmesine neden olabileceğinden enzimin üçüncül ve kuaterner yapılarını stabilize eden iyonik bağları etkileyebilmektedir. Bu durum ise enzimin üç boyutlu yapısında ve aktivitesinde değişmeye neden olarak enzim aktivitesinin düşmesine neden olmaktadır (Sukohidayat vd., 2018).

Enzim aktivitesi üzerine katyon, deterjan ve yüzey aktif maddelerin etkisi

Yüzde 1 olarak ilave edilen $HgCl_2$, $CaCl_2$, $MnCl_2$, $NiCl_2$, KCl , $ZnCl_2$, $MgCl_2$ gibi katyonların E114 ve E114.11 'den elde edilen enzimlerin aktivitesi üzerine etkisi farklı olmuştur (Çizelge 3). EDTA ve üre gibi maddeler de *E. durans* 114.11'e ait enzimde aktiviteyi artırırken *E. durans* 114'ten elde edilen enzimin aktivitesi üzerine etkili olmamıştır. Ramakrishnan vd., (2016) *E. faecium* MTCC5695'in optimum koşullarda üretilen enzimin aktivitesini EDTA'nın inhibe ettiğini bildirmişlerdir. $HgCl_2$ ve SDS her iki ekstraselüler enziminde aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. SDS enzimin aktif bölgesinde konformasyonel değişikliğe sebep olarak enzim yüzeyinin hidrofobikliği üzerinde değişikliklere yol açabilir. Sonuçta enzimin üçüncül yapısı bozularak enzimin inaktive olmasına neden olabilir (de Almeida vd., 2013).

Ca^{+2} , Mg^{+2} ve Mn^{+2} iyonları, *E. durans* E114.11'den elde edilen ekstraselüler lipaz enziminin aktivitesini artırırken *E. durans* E114 den elde edilen ekstraselüler enzim aktivitesi üzerine etkili olmamıştır. Lopes vd., (2002) laktik asit bakterilerine ait lipaz enziminin aktivitesi üzerine Ca^{+2} 'in etkili olmadığını rapor etmişlerdir. Ca^{+2} ve NaCl yağ asidi akseptörü olarak ya da ara yüzey yükünü baskılama etkisi nedeniyle ortama

ilave edilmektedir. Ayrıca Ca^{+2} iyonlarının varlığında lipaz enziminin aktivite artışına neden olan Ca^{+2} iyonları proteinin ısı ile denatürasyonunu önleyen yapıyı stabilize ederek proteaz etkisini önleyebilir (Brockerhoff ve Jensen,1974). Lopes vd., (2002) Mg^{+2} ve Mn^{+2} iyonlarının laktik asit bakterilerine ait lipaz enzimlerinin aktivitesini iki üç kat artırdığını

saptamışlardır. Araştırmacılar Hg^{+2} , Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonlarının enzim aktivitesini önemli oranda inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonlarının önemli bir etkisi saptanamamıştır. Ramakrishnan vd., (2016) *E. faecium*'a ait lipaz enzimi aktivitesinin Na^+ , Ca^{+2} , Li^+ ve Mg^{+2} ile arttığı buna karşılık Ba^{+2} 'in varlığında ise aktivitenin düştüğü bildirilmiştir.

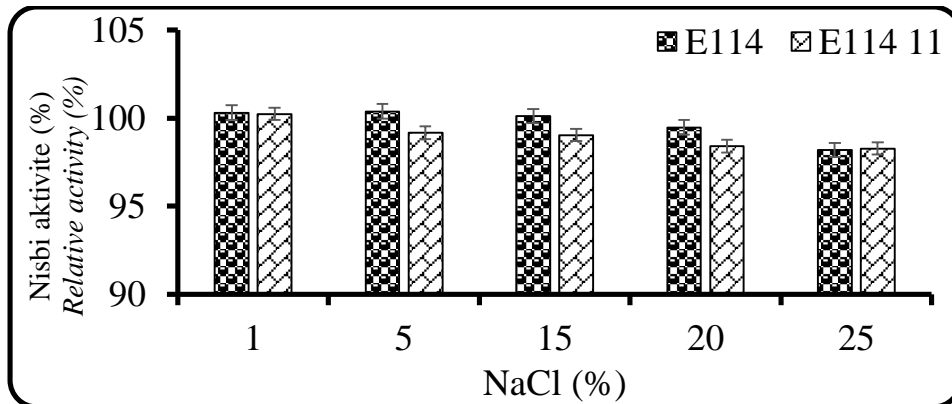
Çizelge 3. Çeşitli katyon ve yüzey aktif maddelerin lipaz aktivitesi üzerine etkisi.

Table 3. The effect of various cations and surfactants on lipase activity.

Uygulama <i>Application</i>	Kalan aktivite (%) <i>Remaining activity (%)</i>		Uygulama <i>Application</i>	Kalan aktivite (%) <i>Remaining activity (%)</i>	
	E114 11	E114		E114 11	E114
Kontrol/Control	100.0	100	EDTA	105.4	99.9
HgCl ₂	45.7	42.6	Üre /Urea	107.1	101.1
CaCl ₂	109.9	98.1	SDS	90.9	81.7
MnCl ₂	120.5	97.6	TritonX-100	102.4	98.8
CuCl ₂	119.0	97.9	Tween 20	94.0	100.5
NiCl ₂	103.1	99.5	Tween 80	104.6	99.6
KCl	106.2	98.5			
ZnCl ₂	108.0	97.4			
MgCl ₂	119.7	97.7			

Yüzey aktif maddelerden TritonX-100, Tween 20 ve Tween 80 enzimlerin aktivitesinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Araştırmacılar Triton X-100 gibi iyonik olmayan surfektanların lipaz aktivitesini indüklediğini ve enzim denatürasyonunu önlediğini bildirmişlerdir (Amid vd., 2015). Tween 80 esasen mikrobiyal lipaz üretimi için önemli bir substrattır. Çalışmada Tween 80 *E. durans* izolatlarına ait ekstrasellüler

enzimlerin aktivitesi üzerine önemli bir etkisi olmamıştır. Bulguların aksine Lopes vd., (2002) laktik asit bakterilerine ait enzimlerin aktivitesini Tween 80'in inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Sukohidayat vd., (2018) Tween 20 ve Tween 80'in enzim aktivitesini artırdığını anyonik sürfaktan SDS'in ise enzim aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.



Şekil 8. Kısmi saflaştırılmış ekstrasellüler lipaz enziminin aktivitesi üzerine tuzun etkisi

Figure 8. Effect of salt on the activity of the partially purified extracellular lipase enzyme

Enzim aktivitesine tuzun etkisi

Tuzun etkisi lipaz enzimleri üzerine farklı olmuştur. Enterokoklar ile üretilen lipaz enziminin tuza dirençli olduğu görülmüştür. Her iki *E. durans*'a ait ekstraselüler enzim halofilik özelliktedir. %20 tuz içeren ortamda en yüksek aktiviteyi göstermiştir

E. durans'a ait lipaz enzimleri %25 gibi yüksek tuz konsantrasyonunda bile aktivitesini kaybetmemiştir (Şekil 8). Bu özellikleri gıda üretiminde önemli bir özelliktir. Esteban-Torres vd., (2015) *L. plantarum*'a ait lipaz enzimini halotolerant olduğunu bildirmiştir. Süt ve et ürünlerinin fermantasyonunda tuz toleransı önem taşımaktadır. Bu fermantasyonlarda yüksek tuz konsantrasyonu vardır (Bautista-Gallego vd., 2013; Johnson vd., 2009). Peynir yapımında ve olgunlaşmasında tuz ilavesi bulunmaktadır. Ayrıca peynir salamurasına yaklaşık %20 civarında tuz ilave edilmektedir (Johnson vd., 2009).

SONUÇ

Laktik asit bakterilerinin lipaz enzimi üretimi diğer lipaz üretici bakterileri ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Bununla birlikte, yüksek laktik asit bakteri sayısı ve aktivitesi fermente et ve süt ürünlerinde önem taşımaktadır. Et ürünlerinde olgunlaşmanın yavaş bir işlem olduğu, düşük aktivitelerin bile hayvan yağı üzerine etki etmesine izin vermesi nedeniyle önem taşımaktadır. Bu şekilde laktik asit bakterilerine ait lipazların lezzet oluşumu üzerindeki rolü nedeniyle önem taşıyabilir. Süt ürünlerinin oluşumunda tereyağı ve peynirde arzu edilen aromanın oluşmasında laktik asit bakterilerinin lipazı önemli bir rol oynayabilir. Bu özellikleri nedeniyle, bu mikroorganizmalardan izole edilen lipazların araştırılması her yıl artmaktadır (Lopes vd., 2002). *E. durans* ile üretilen lipaz enzimi 45°C de, pH 9-10 da aktivitelerinin yüksek olmasının yanında gıdaların pH 5.0-5.5 gibi asidik koşullarda da aktiviteye sahip olması, 55°C ye 48 saat gibi bir süre direnç göstermesi ayrıca düşük sıcaklıkta da aktivitesini kaybetmemesi ve halofil özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde ümit vaat etmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

EA, araştırmanın yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yazımında, VK lipaz enziminin belirlenmesi ve enzim aktivite çalışmalarında, MK araştırmanın planlanması, değerlendirilmesi ve yazımında görev almıştır.

KAYNAKLAR

- Adrio, J.L., Demain, A.L. (2014). Microbial enzymes: tools for biotechnological processes. *Biomolecules*, 4(1): 117-139.
- Amato, P., Christner, B.C. (2009). Energy metabolism response to low-temperature and frozen conditions in *Psychrobacter cryohalolentis*. *Appl Environ Microbiol*, 75, 711-718.
- Amid, M., Manap, M., Hussin, M., Mustafa, S. (2015). A novel aqueous two phase system composed of surfactant and xylitol for the purification of lipase from pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds and recycling of phase components. *Molecules*, 20(6): 11184-11201.
- Aravindan, R., Anbumathi, P., Viruthagiri, T. (2007). Lipase applications in food industry. *Int J Biotechnol*, 6, 141-158.
- Arora, P.K. (2013). *Staphylococcus lipolyticus* sp. nov., a new cold-adapted lipase producing marine species. *Ann Microbiol*, 63(3): 913-922.
- Bautista-Gallego, J., Rantsiou, K., Garrido-Fernandez, A., Cocolin, L., Arroyo-Lopez, F.N. (2013). Salt reduction in vegetable fermentation: reality or desire?. *Food Sci*, 78(8): R1095-R1100.
- Bharathi, D., Rajalakshmi, G., Komathi, S. (2018). Optimization and production of lipase enzyme from bacterial strains isolated from petrol spilled soil. *King Saud Univ-Sc*. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.12.018>.
- Bhargavi, P.L., Manjushri, R., Reddy, P.N. (2010). Lipase production by lactic acid bacteria in submerged and solid state fermentation. *BT AIIJ*, 4(3): 126-129.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72(1-2): 248-254.

- Brockerhoff, H. and Jensen, R.G. (1974). *Lipolytic Enzymes*. Academic Press, New York, 340 p.
- Choo, D.W., Kurihara, T., Suzuki, T., Soda, K., Esaki, N. (1998). A cold-adapted lipase of an alaskan psychrotroph, *Pseudomonas* sp. strain B11-1: Gene cloning and enzyme purification and characterisation. *Appl Environ Microb*, 64 (2): 486–491.
- Çitak, S., Yucel, N., Orhan, S. (2004). Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. *Int Dairy Technol*, 57(1): 27-31.
- de Almeida, A.F., Tauk-Tornisielo, S.M. and Carmona, E.C. (2013). Acid lipase from *Candida viswanathii*: production, biochemical properties, and potential application. *BioMed Res Int*, ID 435818, 10.
- Dellali, A. Karam H.Z., and Karam, N-E. (2020). Lipase and esterase activities of lactic acid bacteria isolated from different biotopes *African Biotech*, 19(4): 156-164.
- Eaton, T.J. and Gasson, M.J. (2001). Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol*, 67(4): 1628-1635.
- Enger, E.D., Ross, F.C. and Bailey, D.B. (2012). *Concepts in Biology*, 14th ed.; McGraw- Hill: New York, NY, USA. 707p.
- Esteban-Torres, M., Mancheno, J. M., de las Rivas, B., Munoz, R. (2015). Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. *LWT-Food Sci and Technol*, 60(1): 246-252.
- Franz, C.M., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzappel, W.H. (2003). Enterococci in foods- a conundrum for food safety. *Int Food Microbiol*, 88(2-3): 105-122.
- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *Int Food Microbiol*, 88 (2-3): 215-222.
- Handwerger, S., Pucci, M.J., Volk, K.J., Liu, J., Lee, M.S. (1994). Vancomycin-resistant *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus casei* synthesize cytoplasmic peptidoglycan precursors that terminate in lactate. *J Bacteriol*, 176(1): 260-264.
- Hugas, M., Garriga, M. and Aymerich, M.T. (2003). Functionality of enterococci in meat products. *Int Food Microbiol*, 88(2-3): 223-233.
- Javed, S., Azeem, F., Hussain, S., Rasul, I., Siddique, M.H., Riaz, M., Afzal, M., Kouser, A., Nadeem, H. (2018). Bacterial lipases: A review on purification and characterization. *Prog Biophys Mol Biol*, 132, 23-34.
- Johnson, M.E., Kapoor, R., McMahon, D.J., McCoy, D.R., Narasimmon, R.G. (2009). Reduction of sodium and fat levels in natural and processed cheeses: Scientific and technological aspects. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 8(3): 252-268.
- Karigar, C.S. ve Rao, S.S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. *Enzyme Res*, ID 805187, 1-11 p.
- Ko, W.H., Wang, I.T., Ann, P.J. (2005). A simple method for detection of lipolytic microorganisms in soils. *Soil Biol & Biochem*, 37, 597-599.
- Kumar, A., Kanwar, S.S. (2012). Lipase production in solid-state fermentation (SSF): recent developments and biotechnological applications. *Dyn. Biochem. Process Biotech Mol Biol*, 6(1): 13-27.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-885.
- Lopes, M.D.F.S., Leitao, A.L., Regalla, M., Marques, J.F., Carrondo, M.J.T., Crespo, M.T.B. (2002). Characterization of a highly thermostable extracellular lipase from *Lactobacillus plantarum*. *Int Food Microbiol*, 76 (1-2): 107- 115.
- Meyers, S.A., Cuppett, S.L. ve Hutkins, R.W. (1996). Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food Microbiol*, 13, 383–389.
- Petrovic, S.E., Skrinjar, M., Becarevic, A., Vujicic, I.F., Banka, L. (1990). Effect of various carbon

- sources on microbial lipases biosynthesis. *Biotech Lett*, 12(4): 299-304.
- Piatkiewicz, A. (1987). Lipase and esterase formation by mutants of lactic acid streptococci and lactobacilli. *Milchwissenschaft*, 42(9): 561–564.
- Rajendran, A., Palanisamy, A. and Thangavelu, V. (2009). Lipase catalyzed ester synthesis for food processing industries. *Brazilian Arc of Biol and Tech*, 52(1): 207-219.
- Ramyasree, S. and Dutta, J.R. (2013). The effect of process parameters in enhancement of lipase production by co-culture of lactic acid bacteria and their mutagenesis study. *Biocatal Agric Biotech*, 2, 393–398.
- Ramakrishnan, V., Balakrishnan, B., Rai, A. K., Narayan, B., Halami, P. M. (2012). Concomitant production of lipase, protease and enterocin by *Enterococcus faecium* NCIM5363 and *Enterococcus durans* NCIM5427 isolated from fish processing waste. *Int Aquat Res*, 4, 1- 14.
- Ramakrishnan, V., Goveas, L.C., Suralikerimath, N., Jampani, C., Halami, P.M., Narayan, B. (2016). Extraction and purification of lipase from *Enterococcus faecium* MTCC5695 by PEG/phosphate aqueous-two phase system (ATPS) and its biochemical characterization. *Biocatal Agric Biotech*, 6, 19-27.
- Samad, M.Y.A., Razak, C.N.A., Salleh, A.B., Yunus, W.M.Z., Ampton, K and Basri, M (1989). A plate assay for primary screening of lipase activity. *J Microbiol Methods*, 9, 51-56.
- Sangeetha, R., Geetha, A. and Arulpandi, I. (2008). Optimization of protease and lipase production by *Bacillus pumilus* SG 2 isolated from an industrial effluent. *Internet J Microbiol*, 5(2):1-8.
- Sharma, D., Sharma, B., Shukla, A.K. (2011). Biotechnological approach of microbial lipase: a review. *Biotechnol*, 10 (1): 23-40.
- Sukohidayat N.H.E., Zarei M., Baharin, B.S., and Manap, M.Y. (2018). Purification and Characterization of Lipase Produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ATCC 8293 using an aqueous two-phase system (atps) composed of triton X-100 and maltitol. *Molecules*, 23, 1800.
- Tanasupawat, S., Phoottosavako, M., Keeratipibul, S. (2015). Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat. *Appl Pharm Sci*, 5 (03): 006-012.
- Toole, G. and Toole, S. (2004). *Essential AS Biology for OCR*. Nelson Thornes Ltd. United Kingdom. 280p.
- Treichel, H., de Oliveira, D., Mazutti, M. A., Di Luccio, M. D., Oliveira, J. V. (2010). A review on microbial lipases production. *Food Bioprocess Tech*, 3(2): 182- 196.
- Uppada, S.R., Gupta, A.K. ve Dutta, J.R. (2012). Statistical optimization of culture parameters for lipase production from *Lactococcus lactis* and its application in detergent industry. *Int Chem Tech Res*, 4(4): 1509-1517.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Anlı, E.A., Gürsel, A., Sert D. *Physicochemical and textural properties of ready-to-eat yogurt fortified with dried purslane (Portulaca oleracea L.) / Kurutulmuş semizotu (Portulaca oleracea L.) ile zenginleştirilmiş tüketime hazır yoğurdun fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri*.....229-242
- Pocan, P., Kaya, D., Mert, B., Oztop M. H. *Determination of the best drying conditions for gelatin based candies / Jelatin bazlı yumuşak şekerlerin kurutma koşullarının optimizasyonu*.....279-295
- Cesur, A., Soyer, Y. *Determination of antimicrobial effect of the aqueous extract of stinging nettle (Urtica dioica) on biofilm formation of Salmonella enterica serovars / Isırgan otu (Urtica dioica) sulu ekstraktının Salmonella enterica serovarlarının biyofilm oluşumu üzerine antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi*324-338
- Ozcan-Sinir, G., Barringer, S. A. *Deodorization of garlic odor by fresh and dried herbs using SIFT-MS / Sarımsak kokusunun taze ve kuru bitkiler ile SIFT-MS kullanılarak deodorizasyonu*358-366

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Yaver, E., Bilgiçli, N. *Farklı yöntemlerle acılığı giderilmiş lüpen unu ve dirençli nişasta içeren ekmeklerin kalite özellikleri üzerine vital gluten ve emülgatörün etkisi / Effect of vital gluten and emulgator on quality properties of bread containing lupin flour debittered by different methods and resistant starch*.....243-255
- Yazılıkaya Parasız, M., Özdikicierler, O., Yemişçioglu, F. *Zeytinyağında minimal rafinasyon uygulamasının işlem performansı ve kalite kriterleri açısından değerlendirilmesi / Evaluation of minimal refining in olive oil in terms of processing performance and quality criteria*311-323
- Balcı Torun, F., Özdemir, K. S., Mavuş, R., Torun, M. *Siyah çay üretim atıklarından konsantre çay ekstraktı üretiminde krema oluşum koşullarının ve bileşiminin belirlenmesi / Determination of cream formation conditions and its composition during production of concentrated tea extract from black tea manufacturing wastes*339-350
- Kaya, Ş., Durmaz Bekmezci H. *İron Sazlığı'nda (Bitlis, Türkiye) yetişen karaburun balığının [Chondrostoma regium (Heckel, 1843)] besin öğelerinin incelenmesi / Investigation of proximate composition of brood-snout [Chondrostoma regium (Heckel, 1843)] growing in Iron reeds (Bitlis, Turkey)*351-357
- Çetin Babaoğlu, H., Arslan Tontul, S., Akin, N. *Yer elması tozu ilavesinin ekşi hamur fermantasyonu üzerine etkisi / The effect of Jerusalem artichoke powder incorporation on sourdough fermentation*367-375
- Kaya, M., Berktaş, S., Adanacioğlu, N., Çam, M. *Kayseri bölgesinde doğal olarak yetişen ve kültüre edilen tıbbi mantarların toplam fenolik madde içeriklerinin, antioksidan aktivitelerinin ve eritadenin bileşiğinin belirlenmesi / Determination of total phenolic content, antioxidant activity and eritadenine compound of wild mushrooms in Kayseri region and cultivated medicinal mushrooms*376-395
- Örü, F., Hendek Ertop, M. *Siyez ve ekmeklik buğday kepeğinin ekşi hamur üretiminde kullanım olanağının değerlendirilmesi / Evaluation of usage possibilities of einkorn and fine wheat bran in the sourdough production*396-407
- Acu, E., Kılıç, V., Kivanç, M. *Enterococcus durans ile ekstraselüler lipaz üretimi ve karakterizasyonu / Production and characterization of extracellular lipase from enterococcus durans*474-487

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Tiryaki Gündüz, G., Korkmaz Vurmaz, A. *Çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonunda bitkisel materyallerin kullanımı / Use of plant-derived materials for the inhibition of quorum sensing mechanisms*256-268
- Vardar, U. S., Özcan, Y., Özmen, D., Toker, Ö. S. *Bitki tohum mucilajları ve gıdalarda kullanımı / Plant seed mucilages and its use in foods*269-278
- Öztürk, M., Erbaş, M. *Sitrik asit üretimi ve saflaştırılması / Citric acid production and purification*296-310
- Kezban Candogan, K., Gizem Özdemir, G. *Sürdürülebilir et üretimi için yenilikçi yaklaşımlar / Novel approaches for a sustainable meat production* ...408-427
- Uğur, E., Bektaş, A., Ulusoy, M., Öner, Z. *Paraprobiyotikler, postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri / Paraprobiotics, postbiotics and their effects on health*428-442
- Kavuşan, H. S., Serdaroglu, M. *Fermente et ürünlerinde oksidatif değişiklikler ve ürün kalitesi üzerine etkileri / Oxidative changes in fermented meat products and their effects on product quality*.....443-462
- Yalçın, E., Arslan, A. *Tahıl ve pseudo-tahılların ıslak öğütme teknolojisi / Wet milling technology of cereal and pseudocereals*.....463-473