

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK

**GIDA**



Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida> Cilt/Volume:19 Sayı/Number:4 Ekim - Aralık 2021

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

**SİDAS MEDYA**

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

---

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

---

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

[Oğuz Gürsoy](#)

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur, Türkiye)  
(*Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Food Engineering Department, Burdur, Turkey*)



ogursoy@yahoo.com

---

**Yardımcı Editörler / Associate Editors**

[Özer Kınık](#)

(Ege Üniversitesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye)  
(*Ege University, Department of Dairy Technology, Izmir, Turkey*)



ozer.kinik@ege.edu.tr

[Ramazan Gökçe](#)

(Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli, Türkiye)  
(*Pamukkale University, Food Engineering Department, Denizli, Turkey*)



rgokce@pau.edu.tr

[Yusuf Yılmaz](#)

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur, Türkiye)  
(*Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Food Engineering Department, Burdur, Turkey*)



yusuf.yilmaz@mehmetakif.edu.tr

---

**Teknik Editör / Technical Editor**

[Hande Özge Güler](#)

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur, Türkiye)  
(*Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Food Engineering Department, Burdur, Turkey*)



handeguler@mehmetakif.edu.tr

---

**Uluslararası Yayın Kurulu / International Editorial Board**

**Gıda Mühendisliği / Food Engineering**

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Cynthia Ditchfield</a>	University of Sao Paolo, Faculty of Animal Science and Food Engineering, Department of Food Engineering	Sao Paolo	Brazil
<a href="#">Arif Hepbaşlı</a>	Yaşar University, Department of Energy Systems Engineering	İzmir	Turkey
<a href="#">Filiz İçier</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Erkan Karacabey</a>	Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Isparta	Turkey
<a href="#">Sami Gökhan Özkal</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Konstantinos Petrotos</a>	Technological Educational Institute of Larissa, Department of Agricultural Engineering Technologists	Larissa	Greece
<a href="#">Jenny Ruales</a>	Escuela Politécnica Nacional, Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología	Quit	Ecuador
<a href="#">Yahya Tülek</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey

**Gıda Kimyası / Food Chemistry**

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Fahrettin Göğüş</a>	Gaziantep University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Gaziantep	Turkey
<a href="#">Piotr Koczon</a>	Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Food Sciences, Department of Chemistry	Warsaw	Poland
<a href="#">Erdoğan Küçüköner</a>	Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Isparta	Turkey
<a href="#">Semih Ötles</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Beraat Özçelik</a>	Istanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Osman Sağdıç</a>	Yıldız Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Romeo Toledo</a>	Emeritus Professor, University of Georgia, Department of Food Science and Technology	Georgia	USA

**Gıda Mikrobiyolojisi & Biyoteknoloji / Food Microbiology & Biotechnology**

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Iuliana Aprodu</a>	Dunarea de Jos University of Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology,	Galati	Romania
<a href="#">Muhammet Arıcı</a>	Yıldız Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Jurislav Babic</a>	University of Osijek, Faculty of Food Technology	Osijek	Croatia
<a href="#">Oana Emilia Constantin</a>	Dunarea de Jos University of Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology,	Galati	Romania
<a href="#">İbrahim Çakır</a>	Abant İzzet Baysal University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Bolu	Turkey
<a href="#">Ahmet Hilmi Çon</a>	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Samsun	Turkey
<a href="#">Mehmet Yekta Göksungur</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Sebnem Harsa</a>	İzmir Institute of Technology, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Patricia Munsch-Alatossava</a>	Independent Researcher	Helsinki	Finland
<a href="#">Ömer Şimşek</a>	Yıldız Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Özgül Tarhan</a>	Uşak University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Uşak	Turkey

## Gıda Analizleri / Food Analysis

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Abdullah Akdoğan</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Chemical Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">İsmail Hakkı Boyacı</a>	Hacettepe University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Ankara	Turkey
<a href="#">Hale Seçilmiş Canbay</a>	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Science and Arts, Chemistry Department	Burdur	Turkey
<a href="#">Mustafa Zafer Özel</a>	Sensient Flavors Ltd.	Milton Keynes	UK

## Gıda Ambalajlama / Food Packaging

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Zehra Ayhan</a>	Sakarya University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Sakarya	Turkey
<a href="#">Gengiz Caner</a>	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çanakkale	Turkey

## Süt Teknolojisi / Dairy Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Mohamed H. Abd El-Salam</a>	Emeritus Professor, National Research Centre, Department of Dairy Sciences	Cairo	Egypt
<a href="#">Ayşe Sibel Akalın</a>	Ege University, Faculty of Agriculture, Dairy Technology Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Meral Kılıç Akyılmaz</a>	Istanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Tapani Alatossava</a>	University of Helsinki, Department of Food and Nutrition	Helsinki	Finland
<a href="#">Rajka Bozanic</a>	University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Department of Food Engineering	Zagreb	Croatia
<a href="#">Abdullah Çağlar</a>	Kocaeli University, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Department Of Agricultural Economics	Kocaeli	Turkey
<a href="#">Songül Çakmakçı</a>	Atatürk University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Erzurum	Turkey
<a href="#">Ali Adnan Havalıoğlu</a>	İnönü University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Malatya	Turkey
<a href="#">Harun Kesenkaş</a>	Ege University, Faculty of Agriculture, Dairy Technology Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Ahmet Küçükçetin</a>	Akdeniz University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Antalya	Turkey
<a href="#">Barbaros Özer</a>	Ankara University, Faculty of Agriculture/Department of Dairy Technology, Department of Dairy Technology	Ankara	Turkey
<a href="#">Harun Raşit Uysal</a>	Ege University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology	İzmir	Turkey
<a href="#">Yonca Yüceer</a>	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çanakkale	Turkey

## Yağ Teknolojisi / Oil and Fat Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Aydın Yapar</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Emin Yılmaz</a>	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çanakkale	Turkey

## Hububat Teknolojisi / Cereal Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Hülya Gül</a>	Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Isparta	Turkey
<a href="#">Fatma Işık</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Ergun Köse</a>	Manisa Celal Bayar University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Manisa	Turkey
<a href="#">Pichan Prabasankar</a>	CSIR-Central Food Technological Research Institute, Flour Milling Baking and Confectionery Technology Department	Mysuru	India

## Et Teknolojisi / Meat Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Nesimi Aktaş</a>	Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Faculty of Engineering and Architecture, Food Engineering Department	Nevşehir	Turkey
<a href="#">Haluk Ergezer</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Hüdayi Ercoşkun</a>	Çankırı Karatekin University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çankırı	Turkey
<a href="#">Mükerrem Kaya</a>	Atatürk University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Erzurum	Turkey
<a href="#">Semra Kayaardı</a>	Manisa Celal Bayar University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Manisa	Turkey
<a href="#">Jung Hoon Lee</a>	Fort Valley State University, College of Agriculture, Family Sciences and Technology	Georgia	USA
<a href="#">Edward Pospiech</a>	Department of Animal Raw Materials, Institute of Meat Technology, Faculty of Food Sciences and Nutrition, Poznan University of Life Sciences,	Poznan	Poland
<a href="#">Fatma Meltem Serdaroğlu</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">İsmail Yılmaz</a>	Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Food Engineering Dept.	Tekirdağ	Turkey

## Meyve-Sebze Teknolojisi / Fruit and Vegetable Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Chockry Barbana</a>	Canadian Food Inspection Agency	Montréal	Canada
<a href="#">Utku Çopur</a>	Uludağ University, Faculty of Agriculture, Food Engineering Department	Bursa	Turkey
<a href="#">Seda Ersus</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Hakan Karaca</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Sebahattin Nas</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Ayhan Topuz</a>	Akdeniz University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Antalya	Turkey
<a href="#">Yakup Sedat Velioğlu</a>	Ankara University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Ankara	Turkey
<a href="#">Ünal Rıza Yaman</a>	Tire Kutsan Vocational School, Department of Food Technology	İzmir	Turkey
<a href="#">Oktay Yemiş</a>	Sakarya University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Sakarya	Turkey
<a href="#">Ufuk Yücel</a>	Ege University, Ege Vocational Training School, Department of Food Technology	İzmir	Turkey

## Sağlık, Beslenme, Toksikoloji ve Gıda / Health, Nutrition, Toxicology and Food

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Adriana Pavesi Ariseto Braçotto</a>	State University of Campinas, Faculty of Food Engineering	Campinas	Brazil
<a href="#">Gözde Ede</a>	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Dietetic Department	Burdur	Turkey

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

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

Akademik Gıda 19 (4) (2021)  
**İÇİNDEKİLER / CONTENTS**

■ Editörden / Editorial

VII-VIII

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

**An Optimization Study for Laboratory Scale Production of Glucose Syrup from Potato, Wheat and Maize Starch / Patates, Buğday ve Mısır Nişastasından Laboratuvar Ölçekli Glikoz Şrubu Üretimi İçin Optimizasyon Çalışması /**  
Emine Yılmaz Kapar, Ali Akbayrak, Ceren Bayraç

364-372

**Morphometric and Physico-chemical Properties of Cornelian Cherry (Cornus mas L.) Grown in Çorum, Turkey / Çorum'da Yetişen Kızılcıkların (Cornus mas L.) Morfolojik ve Fiziko-kimyasal Özelliklerinin Değerlendirilmesi /**  
Nihal Güzel

373-380

**Food Safety Knowledge, Attitudes and Practices of Consumers Regarding Meat Consumption at Home / Tüketicilerin Ev Ortamında Et Tüketimi Konusundaki Gıda Güvenliği Bilgi, Tutum ve Uygulamaları /**  
Çiğdem Muştu, Veli Ceylan, Mehmet Sarıışık

381-392

**Detection of Norovirus, Rotavirus and Astrovirus Antigens in Hand Swabs and Stool Specimens of Employees in Dairy Processing Plants / Süt İşletmeleri Çalışanlarının El ve Gaita Örneklerinde Astrovirüs, Norovirüs ve Rotavirüs Antijenlerinin Belirlenmesi /** Hatice Aydoğan, Oguz Gursoy, Mehmet Kale

393-397

**Effect of Storage and Some Hydrocolloid Blends on Physicochemical, Textural and Sensory Characteristics of Keşkül, a Dairy Dessert / Sütü Bir Tatlı Keşkülün Fizikokimyasal, Tekstürel ve Duyusal Özellikleri Üzerine Depolamanın ve Bazı Hidrokolloid Karışımlarının Etkisi /** Selen Kadağan, Seher Arslan

398-403

**Soğuk Baskı Yöntemiyle Üretilmiş Greyfurt Çekirdek Yağındaki Acılığın Yıkama/Ekstraksiyon Teknikleriyle Giderilmesi / Debitting of Cold Pressed Grapefruit Seed Oil by Washing/Extraction Techniques /** Ayten Deviren, Selçuk Ok, Emin Yılmaz

404-413

**Probiyotik Bakteri İçeren Ayranın Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri / Physicochemical and Microbiological Properties of Ayrân Drinks Containing Probiotic Bacteria /** Şule Azime Yeniçeri, Emine Mine Çomak Göçer, Ahmet Küçükçetin

414-423

**Turunçgil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarının Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Aktivitesi / Antimicrobial Activity of Citrus Peel and Leaf Extracts against Foodborne Pathogenic Bacteria /** Gökhan Akarca, Fatma Baytal

424-432

■ Derleme Makaleler / Review Papers

**Mikroplastikler ve Gıda Güvenliği / Microplastics and Food Safety /** Orhan Atakan, Muhammed Yüceer, Cengiz Caner

433-441

**Baklagiller: Fonksiyonel Özellikleri, Sağlık Etkileri ve Potansiyel Kullanımı / Legumes: Functional Properties, Health Effects and Potential Uses /** Elif Atalay, İncilay Gökbulut

442-449

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

IX-XII

■ Etik Beyanı / Ethics and Publication Malpractice Statement

XIII-XVIII



**Sahibi**

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

**Genel Yayın Yönetmeni**

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

**Baş Editör**

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
ogursoy@yahoo.com

**Editörler**

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

**Reklam Müdürü**

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

**Hukuk Danışmanı**

Av. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

**Abone Sorumlusu**

Halil SOLAK

**Grafik Tasarım**

Sidas Medya Tasarım Grubu

**Yönetim Yeri**

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz  
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 19

Sayı: 94

Ekim - Kasım - Aralık 2021

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİMEĞYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli  
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 19. yayın yılının dördüncü sayısında yine sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 8 araştırma ve 2 derleme çalışması olmak üzere toplam 10 makale yer almaktadır.

Makale yazarlarından zaman zaman gelen sorular nedeniyle makale kabulü ile ilgili daha önce yaptığımız bilgilendirmeyi tekrar etmek istiyoruz. Dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem henüz kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne bu yıl ya da önümüzdeki yıl içerisinde geçilmesi planlanmaktadır.

Yazarlarımıza hatırlatmak istediğimiz diğer önemli bir husus 2020 yılından itibaren dergimize gönderilecek makalelerde Etik Kurul izni gerektiren çalışmaların ilgili izni aldıkları ile ilgili bilgi ve belgelerini dergimize (makalelerini dergimize gönderme aşamasında) sunmaları gerekliliğidir.

Dergimizin etik hususlarla ilgili detaylı etik beyanına web sayfamızdan (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/page/6477>) ulaşılabilir. Ayrıca dergimizde araştırma makalelerinin ve İngilizce olarak yazılan makalelerin değerlendirme ve yayınlanma sürelerinin diğer makalelere kıyasla oldukça kısa olduğunu yazarlarımıza tekrar hatırlatmak istiyoruz.

Dergimizin hakemlik süreçleri diğer birçok uluslararası derginin de belirttiği gibi COVID-19 pandemisinden olumsuz yönde etkilenmiştir. Hakemlik davetlerinin kabul edilmeme oranının artması ve hakem dönütlerinin süresinin uzaması yazarlarımızın da bildiği gibi makalelerin değerlendirme süreçlerinde önemli gecikmelere neden olmaktadır.

Geçtiğimiz yıl olduğu gibi bu içerisinde de dergimize makale gönderen yazarlarımızın ve bazı yayın kurulu üyelerimizin koronavirüs nedeniyle rahatsızlandıklarını üzülenek öğrendik/öğreniyoruz. Hastalığa yakalanan tüm meslektaşlarımıza acil şifalar, kaybettiğimiz meslektaşlarımıza Allah'tan rahmet, ailelerine, sevenlerine ve meslektaşlarımıza başsağlığı diliyoruz.

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

Saygılarımızla.

**Prof. Dr. Oğuz Gürsoy**  
Baş Editör

**Prof. Dr. Özer Kınık**  
**Prof. Dr. Ramazan Gökçe**  
**Prof. Dr. Yusuf Yılmaz**  
Editörler



**BİLİMSEL ETKİNLİKLER****V. International Joint Science Congress of Materials and Polymers**

Malzeme Bilimleri alanında son gelişmelerin tartışılacağı V. International Joint Science Congress of Materials and Polymers kongresi 29 Eylül-1 Ekim 2021 tarihleri arasında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi ev sahipliğinde Lavanta Tepesi Hotel'de (Burdur) düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://iscmp.org/> adresinden ulaşılabilir.

**Türkiye'de Gıda Güvenilirliği Çalıştayı**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Gıda Kontrol Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından Tarım ve Orman Bakanlığı, Afyonkarahisar Valiliği, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Ankara Üniversitesi ve Afyonkarahisar Sanayi ve Ticaret Odası işbirliği ile 22-24 Ekim 2021 tarihlerinde Afyonkarahisar'da "Türkiye'de Gıda Güvenilirliği Çalıştayı" gerçekleştirilecektir.

**2. Uluslararası / 12.Gıda Mühendisliği Kongresi**

TMMOB Gıda Mühendisleri Odası tarafından düzenlenen 2.Uluslararası / 12.Gıda Mühendisliği Kongresi 25-27 Kasım 2021 tarihleri arasında Ankara'da hibrit bir kongre olarak gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidamo.org.tr/> adresinden ulaşılabilir.

**7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi**

Gıda Güvenliği Derneği tarafından düzenlenen Uluslararası Gıda Güvenliği Kongrelerinin yedincisi 9-10 Haziran 2022 tarihlerinde İstanbul'da (Grand Cevahir Hotel Convention Center) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguenligikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.

**Türkiye 14. Gıda Kongresi**

İlki 25-27 Nisan 1978 tarihlerinde Gıda Teknolojisi Derneği ile Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği tarafından ortaklaşa düzenlenen Türkiye Gıda Kongrelerinin on dördüncüsü Gıda Teknolojisi Derneği tarafından çevrimiçi (online) olarak 19-21 Ekim 2022 tarihlerinde gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://gidakongresi2022.org/> adresinden ulaşılabilir.

## An Optimization Study for Laboratory Scale Production of Glucose Syrup from Potato, Wheat and Maize Starch

Emine Kapar Yılmaz<sup>1,2</sup> , Ali Akbayrak<sup>2</sup> , Ceren Bayraç<sup>1</sup>  ✉

<sup>1</sup>Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Karamanoglu Mehmetbey University, 70100 Karaman, Turkey

<sup>2</sup>Konya Seker Industry and Co., Konya Seker Factory, Meram, Konya, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 19.03.2021, Accepted (Kabul Tarihi): 20.10.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [cbayrac@kmu.edu.tr](mailto:cbayrac@kmu.edu.tr) (C. Bayraç)

☎ +90 338 226 2000-5027 📠 +90 338 226 2214

### ABSTRACT

Glucose syrup is a valuable food ingredient produced by the hydrolysis of starch preferably from maize. In this study, small-scale production process of glucose syrup from wheat, maize and potato starches was investigated. Two-step enzymatic hydrolysis using  $\alpha$ -amylase and amyloglucosidase for liquefaction and saccharification, respectively, was analyzed based on the glucose content of a final product. The optimization of conditions was conducted with different initial amount of starch, different amount of enzymes and reaction time. Starch slurries at 30% were hydrolyzed into smaller dextrins by 0.0002% (mL/g,  $V_{enzyme}/W_{starch}$ )  $\alpha$ -amylase for 2 hours and further hydrolyzed into glucose by 0.0002% (mL/g,  $V_{enzyme}/W_{starch}$ ) amyloglucosidase for 48 hours optimally. These process conditions yielded glucose syrups with dextrose equivalent (DE) values of 97.04, 97.27 and 95.34% and dry matter content of 84.30, 78.30 and 82.37% from wheat, maize and potato starches, respectively. It was concluded that starch from different biological origins offered promising raw materials for the enzymatic production of glucose syrup with high DE value at optimum conditions.

**Keywords:** Botanical source, Enzymatic hydrolysis, Glucose syrup, Starch

### Patates, Buğday ve Mısır Nişastasından Laboratuvar Ölçekli Glikoz Şurubu Üretimi İçin Optimizasyon Çalışması

#### ÖZ

Glikoz Şurubu tercihen mısır nişastasının hidrolizi ile üretilen değerli bir gıda bileşenidir. Bu çalışmada buğday, mısır ve patates nişastalarından küçük ölçekli glikoz şurubu üretim süreci incelenmiştir. Sırasıyla sıvılaştırma ve şekerleştirme için  $\alpha$ -amilaz ve amiloglukozidaz kullanılarak iki aşamalı enzimatik hidroliz, nihai ürünün glikoz içeriğine bağlı olarak analiz edildi. Koşulların optimizasyonu, nişasta için farklı başlangıç miktarları, farklı enzim miktarları ve reaksiyon süreleri ile gerçekleştirildi. Başlangıç miktarı %30 olan nişasta bulamaçları, 2 saat boyunca %0.0002 (mL/g, h enzim/a nişasta)  $\alpha$ -amilaz ile küçük dekstrinlere hidrolize edildi ve daha sonra 48 saat boyunca %0.0002 (mL/g, h enzim/a nişasta) amiloglukozidaz ile glikoza hidrolize edildi. Bu işlem koşulları ile buğday, mısır ve patates nişastalarından sırasıyla %97.04, 97.27 ve 95.34 dekstroz eşdeğerlerine (DE) ve %84.30, 78.30 ve 82.37 kuru madde değerlerine sahip glikoz şurupları elde edildi. Farklı biyolojik menşeli nişastaların, optimum koşullarda yüksek DE değerine sahip glikoz şurubunun enzimatik üretimi için umut verici hammaddeler olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Botanik kaynak, Enzimatik hidroliz, Glikoz şurubu, Nişasta

## INTRODUCTION

Starch is a glucose polymer synthesized by plants in leaves or non-photosynthetic tissues, such as seeds, stems, roots or tubers. The two glucose polymers, amylopectin and amylose, found in starch have different structure. While the amylose structure is a linear and long glucose polymer that contains 99%  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glucose, amylopectin is a branched polymer containing 95%  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glucan and 5%  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6)-glucan in its structure [1]. The crystal region of starch obtained from tubers and roots contains only amylopectin and the amyloses are located in the amorphous region. In starches obtained from cereals, amylopectin is mostly found in the crystal region, and amyloses form a weak crystalline complex with fat molecules [2].

Starch is highly preferred carbohydrate source for both animals and humans and also it is an important industrial source for the production of low molecular weight products such as glucose, maltose, maltotriose and dextrin. The starch and starch-based products have been used widely in food (as sweeteners, emulsifying agents, film formers, texture providers, and thickeners) [3, 4] pharmaceutical (as carrier for drug delivery) [5], textile (as paper coaters) [6] and chemical industries (as raw materials of bioethanol) [7]. Although starch and starch-based products have been produced mostly from maize [8], many other tuber and cereal plants such as wheat [9], potatoes [10], rice [11], sweet potatoes [12], cassava [13], sorghum [14], and barley [15] have been searched as raw materials for starch production all over the world. The physicochemical, morphological and functional characteristics show variations among starches obtained from different biological origins of plant and these properties lead to differences in the starch-based products and their production processes [16, 17]. An industrially important starch-product, glucose syrup, is produced by an enzymatic or acid-catalyzed reaction mostly from maize, wheat, rice, cassava and potato starches and based on the raw material and hydrolyzation reaction; they differ in their grades, characteristics and application areas [18]. For example, liquefaction reaction in which starch polymers are partially hydrolyzed into smaller dextrins via bacterial amylase yielded digested products with dextrose equivalent (DE) value ranging from 3.4 to 20.6 for potato starch whereas percentage conversion to reducing groups were reported as 15.5%, 14.8% and 14.3% for cassava, sweet potato and maize starches, respectively. In the saccharification of smaller dextrins to glucose syrup, the percent conversion to reducing sugar ranged from 94.09% for maize starch to 98% for wheat starch [19, 20]. As their application area compared it was observed that low converted glucose syrups having dextrose equivalent (DE) value of 20-35 are preferred for the production of frozen dairy products while high converted syrups with DE 55-70 are used in soft drinks and jam production.

In the present study, wheat, maize and potato starches were used as raw materials for glucose syrup production via enzymatic reaction. The alpha amylase from *Bacillus licheniformis* and glucoamylase from *Aspergillus niger*

were used sequentially, in liquefaction and saccharification process and optimization of the conditions for both processes was conducted with different amount of enzymes and reaction time. The glucose syrup produced from wheat, maize and potato starches were evaluated according to the glucose contents and DE values.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Wheat, Maize, potato starches were obtained from Konya Seker Industry and Co. (Konya, TURKEY), Cargill (İstanbul, TURKEY) and Rotel Company (İstanbul, TURKEY), respectively. Thermostable  $\alpha$ -amylase (endo-1,4- $\alpha$ -D-glucan glucohydrolase, E.C.3.2.1.1) (from *B. licheniformis*) and amyloglucosidase (1,4- $\alpha$ -D-glucan glucohydrolase, EC 3.2.1.3) (from *A. niger*) were purchased from Sigma (St Louis, MO, USA).

### Chemical Characterization of Starches

The moisture, pH, starch, lipid, protein and ash contents of starches from wheat, maize and potato were determined according to standard methods [21].

### Structural and Morphological Characterization of Starches

The functional groups of wheat, maize and potato starches were identified by the Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR, Bruker Vertex 70 FTIR). The absorbance peaks corresponding to the frequencies formed by the vibration of the bonds between atoms of starch samples were measured in the frequency interval of 4000 and 400  $\text{cm}^{-1}$ .

The crystalline structures of these starches were characterized by X-Ray Diffractometer (XRD) (Bruker D8 DAVINCI). The difratograms of the samples were analyzed in the range of 10°<2 $\theta$ <80° under a current of 40 mA using Cu-K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ).

Morphological characterization was carried out by scanning electron microscopy (SEM) using Hitachi SU-5500 SEM instrument. Starch samples were coated with thin films of gold and the micrographs of starches were taken at a magnification of 500, 1500 and 2500 using at 3 kV.

### Production of Glucose Syrups

Wheat, maize and potato starch slurries were prepared at 2, 5, 20, 30 and 40% (w/w). After adjusting pH of slurries to pH 6-6.2,  $\alpha$ -amylase (0.00025% (mL/g) was added to each sample and they were incubated at 95 $\pm$ 5°C for 1 hour [22]. After liquefaction reaction, samples were cooled down to room temperature and their pH was adjusted to pH 4-4.2. For saccharification, 0.00025% (mL/g,  $V_{\text{enzyme}}/W_{\text{starch}}$ ) amyloglucosidase was added to each sample and they were incubated at

60±5°C for 24 hours with constant shaking at 100 rpm. The glucose syrups produced from wheat, maize and potato were clarified by centrifuging at 7000 rpm and their glucose contents were analyzed via high performance liquid chromatography (HPLC).

The effects of α-amylase amount and liquefaction time on the glucose content and DE value of final product was evaluated separately by producing glucose syrup with 0.0001, 0.0002, 0.0003% (mL/g,  $V_{\text{enzyme}}/W_{\text{starch}}$ ) α-amylase at 95±5°C for 1, 1.5 and 2 hours. Also, saccharification reaction was conducted with 0.0001, 0.0002, 0.0003% amyloglucosidase at 60±5°C for 24, 48, 72 and 96 hours to obtain glucose syrup having higher amount of glucose content and thus DE value.

### HPLC Analysis

The glucose syrups produced from wheat, maize and potato were analyzed according to their glucose contents via Thermo HPLC system (Thermo). Carbohydrate column (4.6 x250 mm size column filled with 5 μm particles) (Zorbax, Agilent) was used with refractive index (RI) detector for quantification of carbohydrates. Samples (20 μL) were injected through column at the flow rate of 1.0 mL/min at 40°C with mobile phase of acetonitrile: water (20:80, v:v). All HPLC analyses were replicated three times for each biological replicates and results were given as the mean of analysis±standard deviation.

### Determination of Glucose Content and DE Value

DE values of glucose syrups produced from all three starches were determined with Lane-Eynon Method [23]. The following equation (Eq. 1) was used for the calculation of DE according to DE values of pure glucose (DE=100%) and native starch (DE=0%).

$$DE = \frac{\% \text{ Reducing Sugar}}{\% \text{ Dry substance}} \times 100 \quad (1)$$

### Statistical Analysis

All experiments were performed in triplicate. The results in the graphs were presented as the mean± standard deviation of three replicates. Significant difference was analyzed by one-way one-way analysis of variance (ANOVA) (statistically when  $p \leq 0.05$ ).

## RESULTS and DISCUSSION

### Physicochemical Differences in Starches from Wheat, Maize and Potato Origins

Biological origin and production process cause variations in the phycochemical properties of starch. In the maize starch production process, seeds are steeped in water containing low concentration of sulfur dioxide for 24 to 40 hours to increase the solubility of proteins by breaking the disulfide bonds. Also, sugar molecules are converted to lactic acid by lactic acid bacteria so that decreasing pH leads to the separation of proteins from starch molecules. After wet milling, proteins and starches are seoeerated from other sugars and bacteria. By separating dietary fibers, starches are obtained by centrifugation or sedimentation [24]. Starch production process from wheat begins with grinding. Wheat flour is steeped in water and dough ball is prepared at 30-50°C. Starches and proteins are removed by centrifugation or sieving [25]. Potato starch is produced by mashing potato to make potato juice, centrifugation to separate starch granules and other polysaccharides from that juice, extraction of fibers by sieving and sepatation of starches by multi-stage reverse flow system [4, 26]. Due to the differences in the starch production process and most importantly the botanical origin, the size and content of starch granules are different among different plants.

Physical, chemical and morphological properties of wheat, corn and potato starches were determined in this study. Table 1 shows the moisture, starch, pH, protein, fiber, lipid and ash content of starched from three different botanical origins. Starch with highest lipid and protein content was maize starch whereas starch with highest ash and moisture content was potato starch because of its higher phosphorus content and B type polymorphic structure. Tuber starch was found to have lower protein and higher ash content, while cereal starches had higher protein content and lower ash content, as expected. The starch content was higher in maize as compared with wheat due to the variations in starch production and purification processes [27]. Also, lactic acid fermentation in the production process of maize starch resulted in lower pH than other starches.

Table 1. Chemical properties of starches from wheat, maize and potato sources\*

Source	Moisture (%)	Starch (%)	pH	Protein (%)	Fiber (%)	Lipid (%)	Ash (%)
Wheat	11.92±0.20 <sup>a</sup>	86.53±0.12 <sup>a</sup>	6.51±0.11 <sup>a</sup>	0.86±0.010 <sup>a</sup>	1.95±0.012 <sup>a</sup>	0.23±0.002 <sup>a</sup>	0.18±0.006 <sup>a</sup>
Maize	11.29±0.15 <sup>a</sup>	88.26±0.21 <sup>b</sup>	4.48±0.14 <sup>b</sup>	1.34±0.003 <sup>b</sup>	1.01±0.010 <sup>b</sup>	0.51±0.005 <sup>b</sup>	0.07±0.003 <sup>b</sup>
Potato	13.00±0.16 <sup>b</sup>	86.96±0.14 <sup>a</sup>	7.64±0.23 <sup>c</sup>	0.67±0.009 <sup>c</sup>	0.98±0.005 <sup>b</sup>	0.29±0.003 <sup>a</sup>	0.25±0.002 <sup>c</sup>

\*: Means with different superscript in the same column were significantly different ( $p \leq 0.05$ )

### Structural Differences in Starches from Wheat, Maize and Potato Origins

Diffraction patterns obtained by X-ray crystallography were used to characterize the semi-crystalline structure of starch from wheat, maize and potato. In the diffraction pattern shown in Figure 1A, larger peaks represented crystalline regions which were associated with the amylopectin content, while smaller peaks showed amorphous regions of starch represented by amylose

content. In the pattern of wheat and maize starches strong and weak peaks were observed at 15°, 23° and at 11°, 20°, 26° and 30°, respectively. Potato starch showed strong peaks at 17° and weaker peaks at 15°, 19.7°, 21.8° and 24°. In accordance with previous study [28], wheat and corn starches as cereal starches exhibited crystalline A-type X-ray pattern and potato starches as tuber starches showed crystalline B-type X-ray pattern.

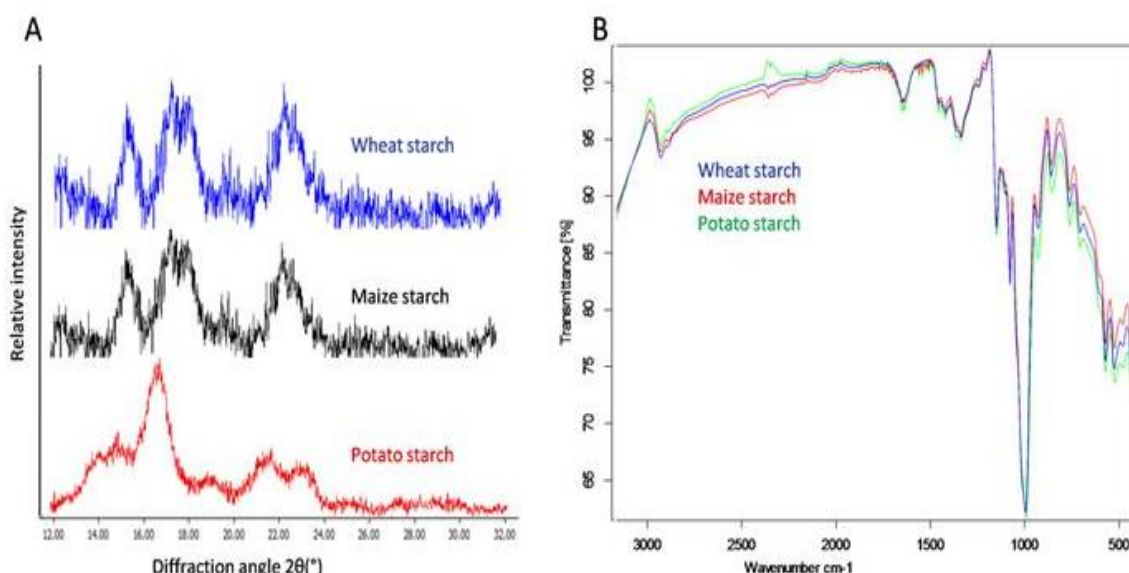


Figure 1. Structural characterization: A) X-Ray Diffraction patterns; B) FTIR spectra of wheat, maize and potato starches

The structure of three different starches were further determined with their FT-IR spectra. As shown in Figure 1B the broad band at 3393  $\text{cm}^{-1}$  represented the stretching mode of OH groups. The bands at 1649  $\text{cm}^{-1}$ , 1148  $\text{cm}^{-1}$  and 2931  $\text{cm}^{-1}$  were assigned to the hydrogen bonds of carboxyl groups, the C-O stretching and C-H stretching, respectively. It was also determined that the bands below 800  $\text{cm}^{-1}$  showed the vibration of glucose pyranose rings and that seen at 932  $\text{cm}^{-1}$  belonged to the skeletal structure of starch showing the  $\alpha$ -1,4 bond between glucose molecules in amylose. The bands occurring at the spectra between 1700 and 1200  $\text{cm}^{-1}$  belonged to the minor components such as protein and fat in starches. In accordance with previous studies, typical FTIR spectra of starches from three different plant sources were shown as bands between 2900-3000  $\text{cm}^{-1}$  for C-H stretching, between 1100-1150  $\text{cm}^{-1}$  for C-O, C-C and C-O-C stretching, and between 1100-900  $\text{cm}^{-1}$  for C-O-H bending [29, 30].

### Morphological Differences in Starches from Wheat, Maize and Potato Origins

Morphological properties of starches from different plant origins vary with size and shape. These variations originate from the biological origin, chloroplast biochemistry and physiology of plant [31]. Even sharing same biological origin, many studies showed that there were differences between granule size and shapes of

starches among species. Potato cultivars, for example, have 1 to 20  $\mu\text{m}$  and 20 to 110  $\mu\text{m}$  of granule sizes for small and large starch granules, respectively. In literature, the size of small and large maize starch granules was shown within the range of 1 to 7  $\mu\text{m}$  and 15 to 20  $\mu\text{m}$ , while A and B type of wheat granules were 10-35  $\mu\text{m}$  with disk shape and 1-10  $\mu\text{m}$  with spherical shape, respectively [32]. In this study, as shown in Figure 2, wheat starches showed lenticular shape with lengths between 12 and 20  $\mu\text{m}$  and while maize starch granules had irregular shapes with sharp edges. Potato starch granules had ellipsoidal shape having lengths between 22 and 30  $\mu\text{m}$  with smooth surface. When the granular size was compared, it was observed that maize starches had the smallest granular size than others. Having average 25.4  $\mu\text{m}$  length, potato starch granules had the largest size. The morphological characteristics of wheat, maize and potato starches shown in this study were similar with those reported in other study [33]. As mentioned, the different morphology of starch granules was attributed to chloroplast biochemistry, physiology and biological origin of plant. Also, it has been observed that environmental factors such as temperature and storage conditions have affected the size and shape of starches [34]. The effect of granule size on the physicochemical properties and starch content of starches from wheat, maize and potato were discussed further in the glucose syrup production process in this study.

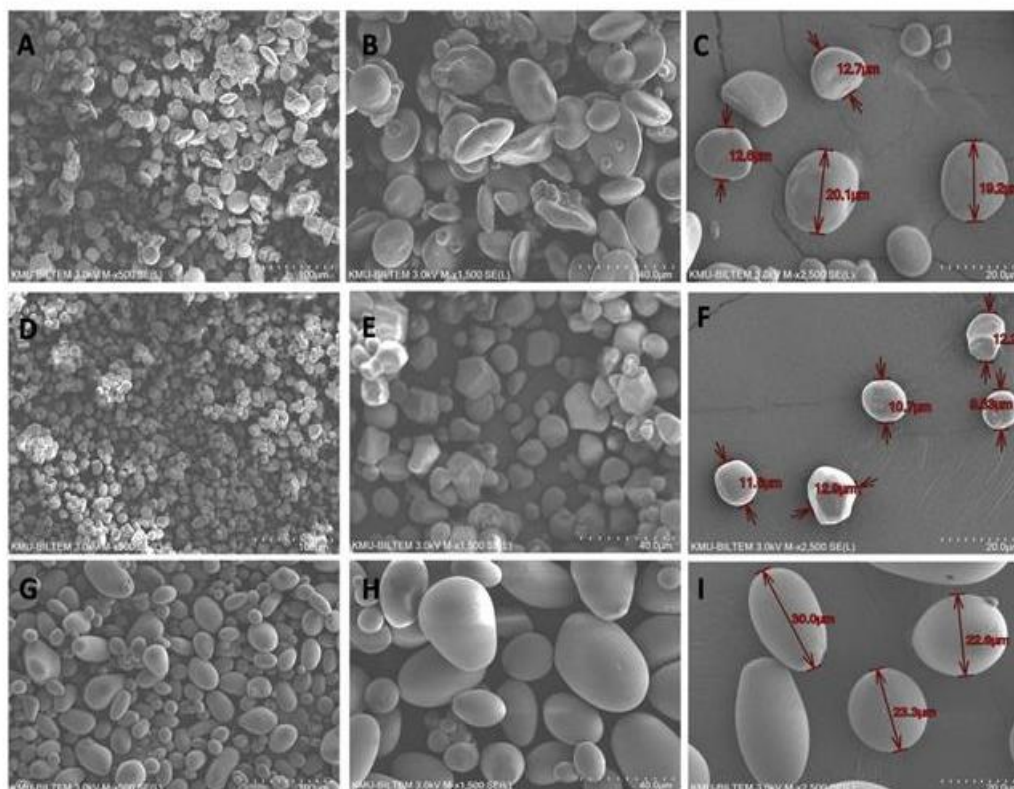


Figure 2. Scanning electron micrographs of starches from; A, B and C) wheat; D, E and F) maize; G, H and I) potato.

### Glucose Syrup Production using Starches from Different Plant Origins

Enzymatic production of glucose syrup from wheat, maize and potato starches in this study was shown in Figure 3A. The first enzyme  $\alpha$ -amylase (endo-1,4- $\alpha$ -D-glucan glucohydrolase, E.C.3.2.1.1) hydrolyses large polysaccharides into glucose and maltose by breaking  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glucan bonds at high temperature and acidic environment (pH 6 optimally). Amyloglucosidase (1,4- $\alpha$ -D-glucan glucohydrolase, EC 3.2.1.3) further hydrolyses  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) and  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) bonds from non reducing ends of shorter dextrin and maltodextrin molecules at lower temperature and more acidic environment (pH 4-4.2). It has been known that the biological origin of plant, the ratio of amylose to amylopectin, the crystallinity and the size of starches have impact on the efficiency of enzymatic hydrolysis of starches and percent glucose content of final product [35]. Within the scope of this study, the effect of biological origin of plant on the glucose syrup production was shown with the use of wheat, maize and potato starches as a source. Also, initial starch amount, incubation time and amount of  $\alpha$ -amylase for liquefaction, incubation time and amount of amyloglucosidase for saccharification were optimized for

laboratory scale production of glucose syrup with high DE.

### Effect of Initial Amount of Starch on Two-Step Enzymatic Production of Glucose Syrup

The effect of initial starch amount on final product was evaluated by measuring the glucose content of glucose syrup produced from maize starch initially at 2, 5, 10, 20, 30 and 40%. As shown in Figure 3B, the increase in the starch amount in initial slurry led to the increase in the percent amount of glucose and maltose in final product, as expected. The starch slurry with 2% starch content yielded approximately 0.22 and 88% glucose and maltose, respectively, while that of 40% starch content yielded 20 times higher sugar content in the syrup. In addition to its effect on the glucose content, initial starch amount also improved the stability of enzyme in the reaction solution. De Cordt et al. [36] reported a study showing that the increase in starch content from 9 to 37% in slurry improved the stability of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* by decreasing its inactivation rate constant ( $k$ ). With the increase in initial starch concentration moisture content in slurry is reduced so that the activity of enzyme is prolonged in the slurry.

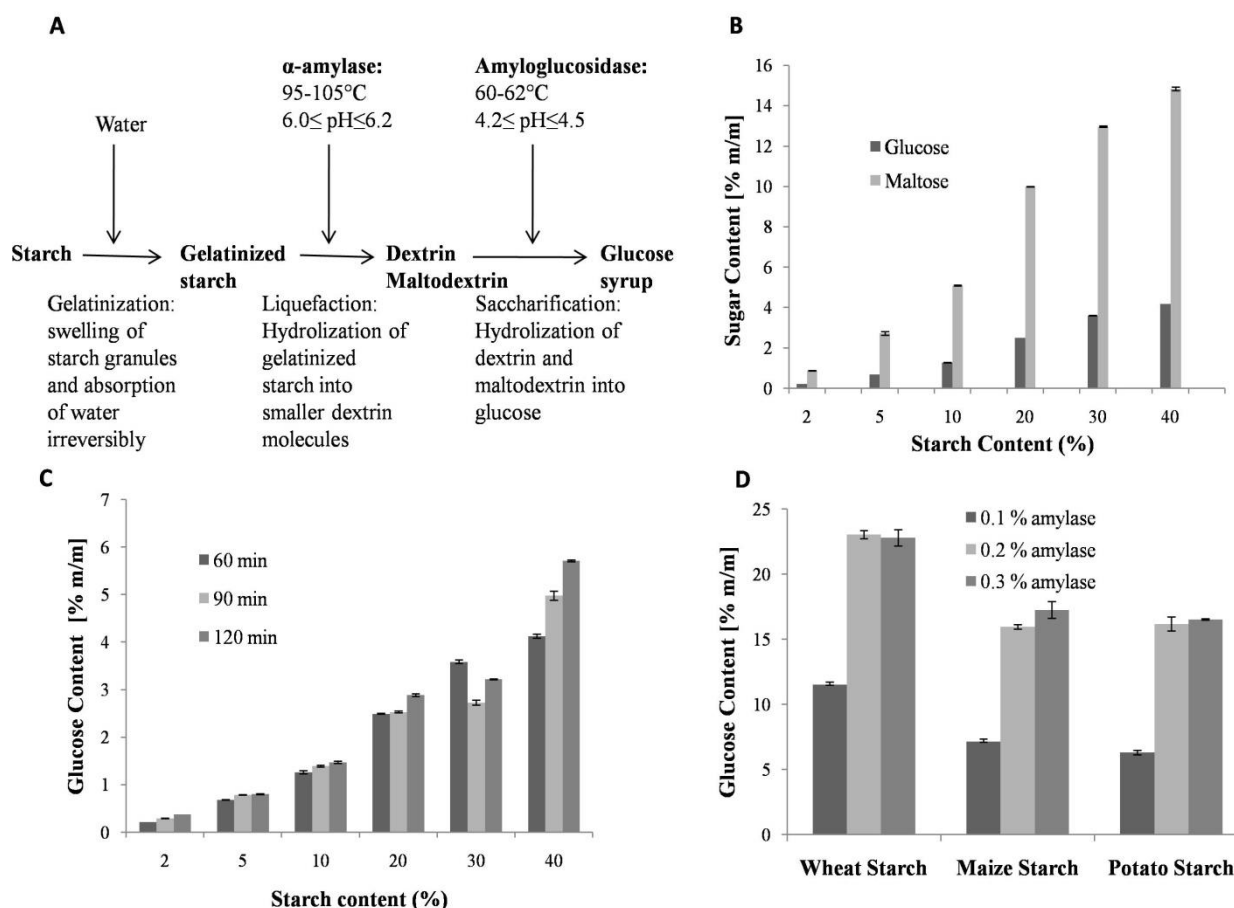


Figure 3. A) The process steps of a two-step enzymatic production of glucose syrup from starch; The effects of B) initial starch content; C) liquefaction time; and D) amylose amount on glucose content of glucose syrups produced from wheat, maize and potato starches (Each experiment was performed three times in triplicate, and standard deviations were indicated as error bars)

### Effect of Incubation Time and Amylase Amount on Two-Step Enzymatic Production of Glucose Syrup

In order to evaluate the effect of incubation time of  $\alpha$ -amylase for the hydrolyzation of gelatinized starch, maize starch slurries of 2, 5, 10, 20, 30 and 40% were incubated with 0.0002% thermostable  $\alpha$ -amylase for 1, 1.5 and 2 hours. As shown in Figure 3C, glucose content of final product increased as the hydrolyzation time increased from 60 to 120 mins up for all starch content. The glucose content of glucose syrup prepared from maize starch slurry with initially 2% starch content was 0.22% after one hour of liquefaction while at the end of second hour it increased to 0.38%. The increase in initial starch amount together with the liquefaction time showed strong tendency to improve the glucose content. By increasing initial starch content 20 times, the glucose content of final product was increased approximately by 20 times after two liquefaction hours. The enzyme used in this liquefaction step was  $\alpha$ -amylase from *B. licheniformis*. In a study [22], it was shown that the activity for  $\alpha$ -amylase from *B. licheniformis* at 20–40°C was only 20–40% whereas it reached its maximum activity at a temperature of about 90°C. Further increase in temperature to 100°C did not show any effect on its catalytic activity although the source bacteria were mesophilic bacteria. Moreover, the

relative enzymatic activity at 90°C remained higher for several hours which made it preferable for industrial starch processing. Other previous studies reported different stability results for  $\alpha$ -amylase from different bacteria. For example, Mitsui et al. [37] showed that two enzymes with different molecular weight isolated from *B. subtilis* gave quite different liquefaction yields. The one with higher molecular weight hydrolyzed <20% and 50% of maize starch at the end of the first and fifth day of incubation respectively, while low molecular weight enzyme was able to hydrolyze only 10% of starch at the end of the fifth day. In another study,  $\alpha$ -amylase from *Heliodiaptomus viduus* had 90% hydrolyzation yield after 180 mins [38]. The results obtained in the present study concluded that increasing the incubation time of  $\alpha$ -amylase and starch increased the amount of glucose obtained in the final product as long as enzyme activity was preserved.

Beside incubation time, the amount of  $\alpha$ -amylase was also evaluated for liquefaction yields. The initial 30% of wheat, maize and potato starches were hydrolyzed separately with 0.0001, 0.0002 and 0.0003% enzyme for two hours. The glucose contents of glucose syrups from all three starch sources were shown in Figure 3D. The highest glucose amount was obtained at 30% wheat starch and 0.0002%  $\alpha$ -amylase. The hydrolyzation step for 30% maize starch slurry yielded 7.2% glucose with

0.1%  $\alpha$ -amylase and 16% glucose with 0.0002% enzyme. Increasing the enzyme amount from 0.0001 to 0.0002% caused increase in glucose contents from approximately 11.6% and 6.3% to 23.1% and 16.2%, for wheat and potato starch slurries, respectively, at the same initial starch content. However, the use of higher amount of  $\alpha$ -amylase did not show a significant effect on glucose content for wheat and potato starches.

### Effect of Amyloglucosidase Amount and Incubation Time on Two-Step Enzymatic Production of Glucose Syrup

The second and final enzymatic step in the glucose syrup production was saccharification by amyloglucosidase (Figure 3A). The amount of enzyme and saccharification time was evaluated based on the glucose content of final product. Wheat maize and potato starch slurry with initial starch content of 30% were hydrolyzed by 0.0002%  $\alpha$ -amylase for 2 hours and upon liquefaction smaller dextrin molecules were further hydrolyzed by 0.0001, 0.0002, 0.0003% amyloglucosidase at lower temperature for 24, 48, 72 and 96 hours. Figure 4 showed the glucose contents of each sample of each plant source as measures of

saccharification degree. In glucose syrup production process from wheat starch, saccharification time did not show a significant effect on the saccharification degree. There was a slight increase in the glucose content with the increase in amyloglucosidase amount from 0.0001% to 0.0002% however; this increase was also not significant to state the obvious effect of time on saccharification reaction. In fact, for maize and potato starches, the glucose contents decreased significantly ( $P < 0.05$ ) for saccharification reaction by 0.0003% and 0.0002% amyloglucosidase amount after 96 hours, respectively. Zainep et al. [39] reported 17.15 mg/mL, 15.79 mg/mL and 11.32 mg/mL of reducing sugar yields from yellow maize, millet and sorghum starches, respectively, after 10 min of reaction by pure amyloglucosidase from *Rhizopus* mold (0.001%). In a study [40], the use of a mixture of granular starch hydrolyzing  $\alpha$ -amylase from *A. kawachi* and glucoamylase from *A.niger* at a single saccharification step at 65°C yielded approximately 40% glucose whereas two-step saccharification at 65°C-70°C had approximately 50% glucose content after 120 min. In the present study, the glucose concentrations of final product higher than 95% were obtained from all three starch sources regardless of time and enzyme amount.

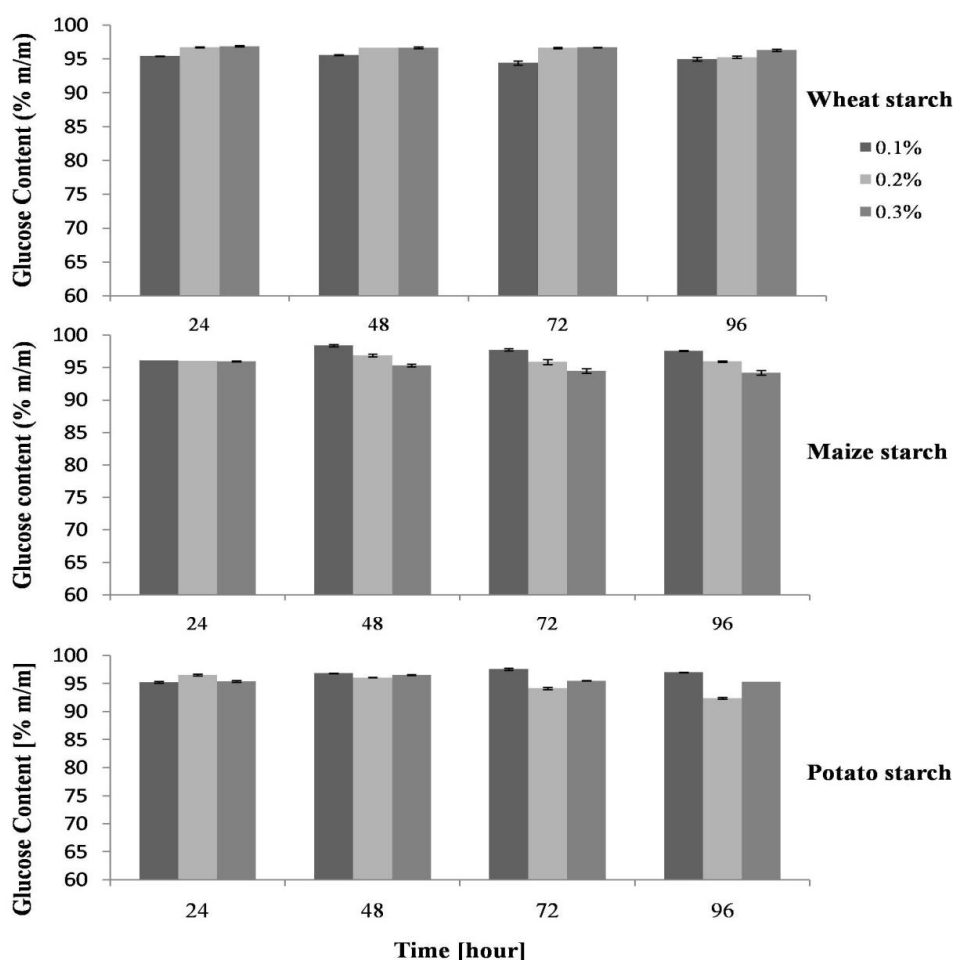


Figure 4. The effect of amyloglucosidase amount and saccharification time on glucose content of glucose syrups produced from wheat, maize and potato starches (Each experiment was performed three times in triplicate, and standard deviations were indicated as error bars)



## Physicochemical Analysis of Final Product

The physicochemical properties of glucose syrups obtained from three starch sources were specified in Table 2. It was observed that glucose syrup with the highest glucose content and thus DE% value was obtained from maize starch. DE% value represents the percentage hydrolyses of the glycosidic linkages present and as compared with DE of 100 for pure glucose it should be >20% to meet the requirements of glucose syrup for its applications [18]. For example, there are glucose syrups with DE values of 35, 42 and 63% regarded as low, regular and high DE, respectively.

While glucose syrups with high DE generally are used for food products having lower viscosity and tender consistency, the ones with lower DE are used in products with tough texture and moisture resistance. During the syrup production process, acidic or enzymatic hydrolyzation and the time for hydrolysis of starch significantly affect the DE value obtained from final product. The syrups produced by acid hydrolysis have DE values between 30 and 50 whereas glucose syrups produced enzymatically show higher DE values. As shown in Table 2, all three glucose syrups were found to have a dry substance higher than 70% and a DE higher than 20%.

Table 2. Physicochemical properties of glucose syrups produced from wheat, maize and potato starches in this study\*

Glucose syrup sources	Total solids (g)	Moisture (%)	pH	Glucose (%)	Maltose (%)	DE (%)	Color (L*a*b)	Dry matter (%)
Wheat starch	91±0.14 <sup>a</sup>	15.80±0.35 <sup>a</sup>	3.98±0.011 <sup>a</sup>	98.08±0.13 <sup>a</sup>	1.92±0.021 <sup>a</sup>	97.04±0.31 <sup>a</sup>	14.11±0.25 <sup>a</sup>	84.30±0.30 <sup>a</sup>
Maize starch	110±0.50 <sup>b</sup>	21.69±0.26 <sup>b</sup>	4.02±0.024 <sup>a</sup>	98.35±0.18 <sup>a</sup>	1.65±0.062 <sup>b</sup>	97.27±0.12 <sup>a</sup>	8.99±0.45 <sup>b</sup>	78.30±0.54 <sup>b</sup>
Potato starch	94±0.21 <sup>c</sup>	17.64±0.18 <sup>c</sup>	4.54±0.022 <sup>b</sup>	97.58±0.21 <sup>b</sup>	2.42±0.032 <sup>c</sup>	95.34±0.09 <sup>b</sup>	14.33±0.31 <sup>a</sup>	82.37±0.28 <sup>a</sup>

\*: Means with different superscript in the same column were significantly different (p≤0.05)

## CONCLUSIONS

In this study, laboratory scale glucose syrup production from wheat, maize and potato was investigated. Optimized process parameters improved the two-enzymatic step process and final products with high DE values were obtained from starches of three plant sources. This study showed that wheat and potato starches were also potential raw materials for glucose syrup production as well as maize starch. Scaling up the parameters from lab-scale process to industrial process would provide useful information to the sugar industries about alternative sources for glucose syrup production.

## Acknowledgements


This study was supported by Konya Seker Industry and Co (Proje No: 18-AP-002). The authors would like to acknowledge the Konya Seker Factory for the support in this study.

## REFERENCES

- [1] Tester, R.F., Karkalas, J., Qi X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39, 151-165.
- [2] Van der Maarel, M.J.E.C., van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H., Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94, 137-155.
- [3] Manek, R.V., Kunle, O.O., Emeje, M.O., Builders, P., Rao, G.V.R., Lopez, G.P., Kolling, W.M. (2005). Physical, thermal and sorption profile of starch obtained from *Tacca leontopetaloides*. *Starch/Stärke*, 57(2), 55-61.
- [4] Waterschoot, J., Gomand, S.V., Fierens, E., Delcour, J.A. (2015). Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. *Starch/Stärke*, 67(1-2), 14-29.
- [5] Reis, A.V., Guilherme, M.R., Moia, T.A., Mattoso, L.H.C., Muniz, E.C., Tambourgi, E.B. (2008). Synthesis and characterization of a starch-modified hydrogel as potential carrier for drug delivery system. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 46(7), 2567-2574.
- [6] Poomipuk, N., Reungsang, A., Plangklang, P. (2014). Poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates production from cassava starch hydrolysate by *Cupriavidus* sp. KKU38. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 51-64.
- [7] Duan, G., Xu, H., Sun, C., Qian, Y., Li, Y., Zhou, H., Jiang, X., Shetty, J., Lantero O. (2006). Progress on ethanol production technology-breakthrough of new enzyme technology for producing ethanol from raw starch. *Food and Fermentation Industries*, 32(7), 65-70.
- [8] Liu, J.H., Wang, B., Lin, L., Zhang, J.Y., Liu, W.L., Xie, J.H. and Ding, Y.T. (2014). Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. *Food Hydrocolloid*, 36, 45-52.
- [9] Xijun, L., Junjie, G., Danli, W., Lin, L., Jiaran, Z. (2014). Effects of protein in wheat flour on retrogradation of wheat starch. *Journal of Food Science*, 79(8), 1505-1511.
- [10] Sujka, M., Cieřla, K., Jamroz, J. (2015). Structure and selected functional properties of gamma-irradiated potato starch. *Starch/Stärke*, 67(11-12), 1002-1010.
- [11] Kumar, A., Dash, G.K., Barik, M., Panda, P.A., Lal, M.K., Baig, M.J., Swain, P. (2020). Effect of drought stress on resistant starch content and glycemic index of rice (*Oryza sativa* L.). *Starch/Stärke*. 1900229
- [12] Vithu, P., Dash, S.K., Rayaguru, K., Panda M.K., Nedunchezhiyan M. (2020). Optimization of starch isolation process for sweet potato and characterization of the prepared starch. *Food Measure*, 14, 1520-1532.

- [13] Gourilekshmi, S.S., Jyothi, A.N., Sreekumar, J. (2020). Physicochemical and Structural Properties of Starch from Cassava Roots Differing in Growing Duration and Ploidy Level. *Starch/Stärke*, 1900237.
- [14] Zhu, F. (2014). Structure, physicochemical properties, modifications, and uses of sorghum starch. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 597-610.
- [15] Zhu, F. (2017). Barley Starch: composition, structure, properties, and modifications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4), 558-579.
- [16] Lindeboom, N., Chang, P.R., Tyler, R.T. (2004). Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: A review. *Starch/Stärke*, 56, 89-99.
- [17] Zhang, X., Feng, J., Wang, H., Zhu, J., Zhong, Y., Liu, L., Xu, S., Zhang, R., Zhang, X., Xue, J., Guo, D. (2018). Bivariate flow cytometric analysis and sorting of different types of maize starch grains. *Cytometry Part A*, 93(2), 213-221.
- [18] Mifst, P.H. (2010). *Glucose Syrups: Technology and Applications*, Wiley-Blackwell.
- [19] Nebesny, E. (1992). Changes in carbohydrate and molecular structure of dextrans during enzyme liquefaction of starch. *Starch/Stärke*, 44, 398.
- [20] Nebesny, E., Rosicka, J., Pierzgalski, T. (1998). Enzymatic hydrolysis of wheat starch into glucose. *Starch/ Stärke*, 50, 337-341.
- [21] AOAC (2006). *Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists 18th edition*, Washington, DC, USA
- [22] Fitter, J., Herrmann, R., Dencher, N.A., Blume, A., Hauss, T. (2001). Activity and stability of a thermostable alpha-amylase compared to its mesophilic homologue: Mechanisms of thermal adaptation. *Biochemistry*, 40, 10723-10731.
- [23] Lane, J.H., Eynon, L. (1923). Determination of reducing sugars by means of Fehling's solution with methylene blue as internal indicator. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 42, 32-36.
- [24] Eckhoff, S.R., Watson, S.A. (2009). in *Starch: Chemistry and Technology*, Edited by J. BeMiller, R. Whistler, Academic Press, New York, 373-439.
- [25] Van Der Borght, A., Goesaert, H., Veraverbeke, W.S., Delcour, J.A. (2005). Fractionation of wheat and wheat flour into starch and gluten: Overview of the main processes and the factors involved. *Journal of Cereal Science*, 41, 221-237.
- [26] Grommers, H.E., van der Krogt, D.A. (2009). in *Starch: Chemistry and Technology*, Edited by J. BeMiller, R. Whistler, Academic Press, New York, 511-539.
- [27] Schirmer, M., Höchstötter, A., Jekle, M., Arendt, E., Becker, T. (2013). Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 52-63.
- [28] Pozo, C., Rodríguez-Llamazares, S., Bouza, R., Barral, L., Castaño, J., Müller, N., Restrepo, I. (2018). Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis. *Journal of Polymer Research*, 25, 266.
- [29] Kızıl, R., Irudayaraj, J., Seetharaman, K. (2002). Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3912-3918.
- [30] Amir, R.M., Anjum, F.M., Khan, M.I., Khan, M.R., Pasha, I., Nadeem, M. (2013). Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for the identification of wheat varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 50(5), 1018-1023.
- [31] Singh, N., Singh, J., Kaur, R., Sodhi, N.S., Gill, B.S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81, 219-231.
- [32] Baum, B.R., Bailey, L.G. (1987). A survey of endosperm starch granules in the genus *Hodeum*: a study using image analytic and numerical taxonomic techniques. *Canadian Journal of Botany*, 65, 1563-1569.
- [33] Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, 45, 253-267.
- [34] Kaur, A., Singh, N., Ezekiel, R., Sodhi, N.S. (2009). Properties of starches separated from potatoes stored under different conditions. *Food Chemistry*, 114, 4, 1396-1404.
- [35] Franco, C.M.L., Ciacco, C.F., Tavares, D.D.Q. (1988). Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack Part II: Study of granular structure of starch. *Starch/Starke*, 40(1), 29-32.
- [36] De Cordt, S., Hendrickx, M., Maesmans, G., Tobback, P. (1994). The influence of polyalcohols and carbohydrates on the thermostability of alpha-amylase. *Biotechnology and Bioengineering*, 43, 107-114.
- [37] Mitsuiki, S., Mukae, K., Sakai, M., Goto, M., Hayashida, S., Furukawa, K. (2005). Comparative characterization of raw starch hydrolyzing  $\alpha$ -amylases from various *Bacillus* strains. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(4), 410-416.
- [38] Dutta, T.K., Jana, M., Pahari, P.R., Bhattacharya, T. (2006). The effect of temperature, pH, and salt on amylase in *Heliodiaptomus viduus* (Gurney) (Crustacea: Copepoda: Calanoida). *Turkish Journal of Zoology*, 30, 187-195.
- [39] Zainab, A., Modu, S., Falmata, A.S., Maisaratu (2011), Laboratory scale production of glucose syrup by the enzymatic hydrolysis of starch made from maize, millet and sorghum. *Biokemistri*, 23(1), 1- 8.
- [40] Li, C., Fang, D., Li, Z., Gu, Z., Yang, Q., Cheng, L., Hong, Y. (2016). An improved two-step saccharification of high-concentration corn starch slurries by granular starch hydrolyzing enzyme. *Industrial Crops and Products*, 94, 259-265.

## Morphometric and Physico-chemical Properties of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Grown in Çorum, Turkey

Nihal Güzel 

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Hitit University, Çorum, 19030, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 16.09.2021, Accepted (Kabul Tarihi): 11.12.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [nihalguzel@hitit.edu.tr](mailto:nihalguzel@hitit.edu.tr) (N. Güzel)

☎ +90 (364) 227 4537 📠 +90 (364) 227 4535

### ABSTRACT

Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) has regained an increasing interest because of its nutraceutical and pharmaceutical potential. This study was designed to investigate the phenolic compounds (total phenolic, flavonoid, hydrolysable tannin, proanthocyanidin and anthocyanidin) and antioxidant capacity of Cornelian cherries. Some morphological (length, width, weight, flesh:seed ratio and colour) and physicochemical properties (dry matter, pH, soluble solid content, total acidity, sugar profile and ascorbic acid) of Cornelian cherries were also examined. Cornelian cherry samples were selected from twelve locations in the Çorum province of Turkey, where they are grown natively. Bioactive compounds were extracted by an ultrasound assisted method (37 kHz frequency and 100% amplitude) for 20 min at 20±2°C. Aqueous methanol (70%) was used as extraction solvent with the solid:solvent ratio of 1:20. Glucose (3.02±0.9%) and fructose (1.57±0.4%) were found as the main sugars in cherry fruits. The CIE\* colour values ranged from 25.18 to 33.00 for L\*, 9.74 to 30.26 for a\*, 2.46 to 14.41 for b\* values. Total phenolic content, flavonoids, total anthocyanin, proanthocyanins, hydrolysable tannins, ascorbic acid and antioxidant activity varied between 230.4–559.8 mg GAE/100 g, 28.3–94.7 mg CE/100 g, 69.2–200.5 mg/100 g, 124.1–316.3 mg CE/100 g, 151.6–568.9 mg TAE/100 g, 29.0–103.3 mg /100 g, 24.4–92.5 µM TE/g, respectively. Antioxidant activity was positively correlated with bioactive content of Cornelian cherry fruits (p<0.001). The native Cornelian cherry population with the high antioxidant potential may be useful for future breeding programs, organic production or as food additive.

**Keywords:** *Cornus mas* L., Fruit quality, Phytochemicals, Antioxidant capacity

### Çorum'da Yetişen Kızılcıkların (*Cornus mas* L.) Morfolojik ve Fiziko-kimyasal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

#### ÖZ

Kızılcığa olan ilgi sahip olduğu nutrasötikler ve farmasötik potansiyeli nedeniyle yeniden artmaktadır. Bu çalışma kızılcıkların fenolik içerikleri (toplam fenolik, flavonoid, hidrolize tanen, proantosiyanidin ve antosiyanidin) ve antioksidan kapasitesinin araştırılması için planlanmıştır. Ayrıca bazı morfolojik (meyve boyu, genişlik, ağırlık, meyve eti:çekirdek oranı ve renk) ve fiziko-kimyasal özellikleri (çözünür kuru madde, pH, toplam asitlik, kuru madde, şeker profili ve askorbik asit) de belirlenmiştir. Kızılcık örnekleri Çorum bölgesinde doğal olarak yetiştiği 12 farklı lokasyondan toplanmıştır. Biyoaktif bileşenler ultrases (37 kHz frekans ve %100 genlik) yardımıyla 20±2°C'de 20 dakika süresince ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon 1:20 katı:solvent oranı ile %70'lik sulu metanol kullanılarak yapılmıştır. Glukoz (%3.02±0.9) ve fruktoz (%1.57±0.4) kızılcık meyvesinde bulunan başlıca şekerler olarak saptanmıştır. CIE\* renk değerlerinin L\* değeri için 25.18 ile 33.00, a\* değeri için 9.74 ile 30.26, b\* değeri için ise 2.46 ile 14.41 arasında değiştiği belirlenmiştir. Toplam fenolik, flavonoid, toplam antosiyanin, proantosiyanin, hidrolize tanen, askorbik asit miktarları ve antioksidan kapasiteleri sırasıyla 230.4–559.8 mg GAE/100 g, 28.3–94.7 mg CE/100 g, 69.2–200.5 mg/100 g, 124.1–316.3 mg CE/100 g, 151.6–568.9 mg TAE/100 g, 29.0–103.3 mg /100 g, 24.4–92.5 µM TE/g arasında değiştiği

tespit edilmiştir. Kızılcık meyvesinin biyoaktif bileşen içerikleri ile antioksidan kapasiteleri arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmaktadır ( $p < 0.001$ ). Doğal olarak yetişmekte olan kızılcıkların sahip oldukları güçlü antioksidan potansiyel nedeniyle ileride yapılacak kültüvasyon çalışmaları, organik üretim ya da gıda katkısı olarak kullanımının faydalı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cornus mas* L., Meyve kalitesi, Fitokimyasallar, Antioksidan kapasite

## INTRODUCTION

Fruits are considered as valuable source of antioxidant such as phenols and ascorbic acids [1]. Increasing the antioxidant rich diets is recommended to prevent oxidative stress which is highly related the most of acute and chronic diseases. Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) has been used in folk medicine for centuries in mainly Europe and west Asia regions for preventing a number of diseases [2]. The Cornelian cherry leaves, flower, seed oil and barks as well as fruits are used to make galenic treatments for inflammations, gastrointestinal disorders, diabetes, cancer and cardiovascular diseases [3]. In addition, Cornelian cherry fruit is used as natural astringent flavor and cosmetic purposes [4]. The astringent flavor is related with water soluble tannins represented as an important secondary plant metabolite [5]. The anticarcinogenic, antibacterial, antiviral and anti-inflammatory activity of tannins also related with antioxidant capacity which act as total radical scavenging activity, chelator with metals, protector cellular oxidative damage [6].

Cornelian cherry fruits are significantly rich in wide diversity antioxidative phenolic compounds (anthocyanin, flavonoids, phenolic acids and tannins) and ascorbic acid [3]. Anthocyanins, which are natural colorant and antioxidant, has a potential on management and preventing diabetes [7]. Cornelian cherry fruit is also rich source of ascorbic acid in comparison with some berry type fruit [1]. Until recent researches, Cornelian cherry has been less preferred due to unusual flavor in daily fresh fruit consumption. Cornelian cherry has become more popular due to nutraceutical and pharmaceutical ingredients with the increasing healthy eating demand of consumer [8]. Today, various recent techniques have been explored to extraction these compounds in fruit matrices in order to increase extraction efficiency, minimize processing time and solvent exposure [9]. Ultrasound assisted extraction utilize the acoustic energy to achieve improved mass transfer [10]. Compared to conventional techniques, the new ecofriendly process are practiced enhanced recover the thermolabile compounds such as anthocyanins, with the minimize bioactive compound degradation [9].

Increasing number of studies in natural population and breeding of Cornelian cherry have been started with the increasing demand of these fruits considered as healthy food. The breeding programs of Cornelian cherry have been carried out mostly in Europe for almost last two decades [11]. In Turkey, the large number of Cornelian cherry cultivation field has native seedling phenotypes with wide range genetic variation whereas very limited studies have been carried out the selection of Cornelian cherry [12, 13, 14, 15]. Previous studies indicated that

preserving the germplasm source is related closely with the genetic diversity [16]. However, native and semi-wild genotypes have been disappearing rapidly day by day during the last two decades [17].

The selection and collection of promising Cornelian cherry cultivar provide a source of further breeding programs [11]. The purpose of this study was to investigate the morphometric measurement (weight, length, width and flesh:seed ratio) physicochemical properties (colour, moisture, pH, soluble solid content, total acidity, sugar profile and ascorbic acid) and phytochemicals (total phenolic content, flavonoid, proanthocyanidins, hydrolysable tannins, anthocyanins and antioxidant capacity) of native Cornelian cherry phenotypes to conserve native source for further breeding programs, organic production or as food additive.

## MATERIALS and METHODS

### Collection and Preparation of Cornelian Cherry Samples

Uncultivated Cornelian cherry samples were used in this study. Cornelian cherries were harvested in 2018 from 12 different locations in Çorum province in Turkey. At each location, 2 kg Cornelian cherry fruits were sampled from two representative outlets. Physicochemical analyses were carried out with fresh fruits at sampling day. Rest of the samples were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until further chemical analyses. All experiments were carried out in duplicates.

### Morphometric and Physicochemical Analyses

One hundred Cornelian cherry fruits were randomly selected for each replica, and weighted with an accuracy of 0.0001g. Flesh:seed ratio was calculated as described by Demir and Kalyoncu [13]. Fruit weight and length were measured at the same randomly selected representative samples by Vernier caliper with an 0.01 mm accuracy. The measurements were recorded in  $L^*$  (Lightness),  $+a^*$  (redness),  $+b^*$  (yellowness) CIE (Commission Internationale del'Eclairage) colour coordinates by using Minolta CM 3600d spectrophotometer (Minolta, Osaka, Japan). Before use, the instrument was calibrated with a white tile and the measurement was carried out with 30 fruit samples [17]. Analysis were done in 2 replications for each sample.

The moisture content analysis of samples was carried out with the AOAC 934.06 official method [18]. Fruit seeds were removed manually and the fruit flesh was homogenized by Ultra-Turrax (Heidolph, Schwabach, Germany). Five g of homogenized sample was dried at

70±0.1°C for 14 h. Moisture analyses were repeated three times. The soluble solid content (SSC) was measured by Abbe refractometer (Atago, Japan). pH was measured with a pH meter (Adwa AD1000 pH/mV & Temperature Meter). Total acidity was determined according to Method 942.15 of the AOAC and expressed as g anhydrous malic acid/100 g sample [18].

Ascorbic acid content was measured by indophenol spectrophotometric method described by Raghu et al. [19] with a minor modification. A 60 g of the fruits homogenized in 60 mL of metaphosphoric acid solution (6%) by Ultra-Turrax to achieve fine homogenate. The homogenate was centrifuged at 5000 g for 10 min then was filtered. The colour intensity was measured at 520 nm compared with standard ascorbic acid solution ( $R=0.9999$ ).

#### Extraction of Phytochemical Compounds

Phytochemical compounds extraction was performed in ultrasonic bath (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Gottlieb-Daimler, Singen, Germany). Extraction was carried out 37 kHz of frequency with 100% amplitude during 20 min. The temperature monitored and controlled at 20±2°C with circulating water. 70% methanol was used as an extraction solvent with 1:20 solid:solvent ratio. The extraction condition was determined with preliminary experiment at different frequency (37 and 80 kHz), methanol concentration (0–100%) and temperature (20, 60°C). The extract was centrifuged (Sigma 3K30, Germany) at 8000 g for 10 min at 4°C.

#### Total Phenolic Content

Total phenolic content (TPC) was measured by using colorimetric Folin-Ciocalteu assay as described by Singleton et al. [20]. 50 µl of Cornelian cherry extract was mixed with 2.2 mL of 0.2 N Folin reagent and 1.6 mL sodium carbonate solution (7.5%). The solution was mixed and kept for 1h at room temperature under dark condition. The absorbance was measured at 760 nm in a spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan). The results were expressed as mg Gallic acid equivalent (GAE) per 100 g fresh fruit ( $R^2=0.9981$ ).

#### Total Flavonoid Content

Total flavonoid content (FC) was measured using colorimetric method as described by Zhishen et al. [21]. One mL diluted extracts were mixed with 100 µL NaNO<sub>3</sub> (5%) and allowed to stand for 5 min. AlCl<sub>3</sub> (10%) was added to the mixture and allowed to stand for another 5 min before 1 mL NaOH (1.0 M) was added. The mixture volume was adjusted at 2.5 mL with distilled water and mixed well. The measurement was recorded at 510 nm. The content of total flavonoid was expressed as mg (+)-catechin equivalent ( $R^2=0.9990$ ) per 100 g Cornelian cherry fruit.

#### Hydrolysable Tannin Content

Hydrolysable tannin content (HTC) was determined according to the spectrophotometric method described

before by Çam and Hisil [22]. Diluted extract and 2.5% KIO<sub>3</sub> were vortexed for 10 s. The absorbance of red coloured mixture was measured at 550 nm versus the water blank. Tannic acid solution (50–2000 mg/L) was standard solution ( $R^2=0.9917$ ). The results were expressed as tannic acid equivalent (TAE) per 100 g fresh fruit.

#### Condensed Tannins

Condensed tannins (CT) (proanthocyanidins) were measured using the vanillin assay described by Tanner and Brunner [23]. This method is based on reaction of the vanillin with C6 and C8 of catechin and leucoanthocyanins, the colour of the mixture turns to bright red and its intensity was measured at 500 nm. The absorptions of the mixtures in all tubes were measured at 500 nm. Quantification of CTs was carried out using calibration curve of catechin (50–200 mg/L) as an external standard. The content of total CT was expressed as mg of (+)-catechin per 100 g fresh fruit.

#### Total Monomeric Anthocyanin Content

Total monomeric anthocyanin (ACN) content was determined using the pH differential method described by Giusti and Worlsted [24]. Two buffer solution, pH 1.0 (potassium chloride, 0.025M) and pH 4.5 (sodium acetate, 0.4M) were mixed with sample extract. The absorbance of equilibrated solutions was measured at 515 nm ( $\lambda_{max}$ ) for anthocyanin content and 700 nm for haze correction. The difference in absorbance values at pH 1.0 and 4.5 was directly proportional to anthocyanin concentration. The results were calculated as cyanidin-3-glucoside (Cy-3-glu) equivalents with a molecular weight of 449.2 and an extinction coefficient of 26 900 L/cm mol.

#### ABTS Radical Scavenging Activity

Antioxidant activity (AOA) was measured according to ABTS method described by Arts et al. [25]. The ABTS method involved dissolving 7 mM ABTS (2,2'-Azino-bis, 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) in potassium phosphate buffer (pH 7.4) and combined with 2.45 mM potassium persulfate. The dark blue solution was diluted with potassium phosphate buffer (pH 7.4) until the absorbance reached 0.7±0.02 at 734 nm. 1 mL of the resulting solution was mixed with 20 µL of properly diluted sample extract or Trolox standard solution, and 6 min later the absorbance was measured at room temperature. The results were expressed as Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC mM). The concentration of standard solution ranged from 0.25 to 2 mM ( $R^2=0.9965$ ).

#### Sugar Content by HPLC

Sugars were determined using HPLC (Shimadzu, Japan) with a quaternary pump, a refractive index detector, an auto-sampler, and a thermostatted column compartment. Samples were diluted and clarified with Carrez solution. 20 µL of filtered samples (0.45 µm) were injected into HPLC system. Sugars were separated on a Intersil NH<sub>2</sub> column (250×4.6 mm) (5 µm). Separation was performed with isocratic elution with 1.0 mL/min flow rate at 40°C

and the mobile phase consisted of acetonitrile and water (75:25) mix. Sugars present in samples were identified and quantified by external standard method.

### Statistical Analysis

Correlation among experimental data was evaluated statistically with Pearson correlation coefficient by using IBM SPSS v. 20 software (IBM corp.).

## RESULTS and DISCUSSION

Physical properties are the first stage for consumer acceptance. Cherry red colored and full fleshed fruits are more acceptable for consumer. The CIE\* colour parameters were expressed in Table 1. The colour of Cornelian cherry fruits differed from cherry red to dark red colour. The fruit weight was ranged from 1.27 to 2.53 g. The average of fruit weight ( $1.81 \pm 0.31$  g) was significantly higher than reported fruit weight ( $0.63 \pm 0.14$  g) in literature [26]. Every region of Turkey has rich and diverse flora due to varied soil and climate conditions. The soil and climate conditions as much as cultivar/genotype are one of the major factors on physicochemical properties on plant.

The average length ( $16.68 \pm 1.09$ ) and width ( $11.74 \pm 0.76$ ) were measured similar with previously evaluated genotype from different regions. Also, flesh:seed ratio of fruits (3.17–6.14) was in agreement with literature (2.0–9.4) reported by Ercisli [16]. Great variability was observed among the samples regarding soluble solids, dry matter and acidity (Table 1). The highest value of SSC, dry matter and acidity were 23.08%, 27.49% and 2.48 g/100 g (malic acid equivalent), respectively. Previously, Yilmaz [15] was reported the highest SSC as 21.17% for cultivated Cornelian cherry genotype 77-09. Demir and Kalyoncu [13] reported that the highest SSC was 19%, Pantelidis et al. [1] was also found the highest SSC as 14.4%. The average value of dry matter, acidity and pH were  $19.89 \pm 3.00$ ,  $1.91 \pm 0.29$  and  $3.54 \pm 0.08$ , respectively (Table 1). Dry matter, acidity and pH were recorded between 15.88 and 28.19% [26], between 1.25 and 3.89% [15] and between 2.5 and 2.8 [13]. Glucose and fructose are the main sugars of Cornelian cherry fruit and ranged from 1.67 to 5.13% and 0.92 to 2.23%, respectively (Figure 1). Dinda et al. [3] reported similar glucose (2.5–7%) and fructose (2.2–3.8%) concentration for Cornelian cherry. Total sugar content of the fruit was between 7.6 and 15.4% [27].

Table 1. Morphometric and physicochemical properties of Cornelian cherry

Parameters	Range	Mean $\pm$ SD
Width (mm)	10.38–13.49	11.74 $\pm$ 0.76
Length (mm)	14.52–19.57	16.68 $\pm$ 1.09
Fruit weight (g)	1.27–2.53	1.81 $\pm$ 0.31
Flesh/seed ratio	3.17–6.14	4.17 $\pm$ 0.78
Soluble Solids (%)	10.49–23.08	18.09 $\pm$ 2.61
pH	3.41–3.69	3.54 $\pm$ 0.08
Total acidity (%)	1.41–2.48	1.91 $\pm$ 0.29
Dry matter (%)	14.43–27.49	19.89 $\pm$ 3.00
<i>Colour values</i>		
L*	25.18–33.00	27.79 $\pm$ 1.45
a*	9.74–30.26	17.80 $\pm$ 3.95
b*	2.46–14.41	5.51 $\pm$ 1.82
<i>Individual Sugar (%)</i>		
Glucose	1.67–5.13	3.02 $\pm$ 0.90
Fructose	0.92–2.23	1.57 $\pm$ 0.42

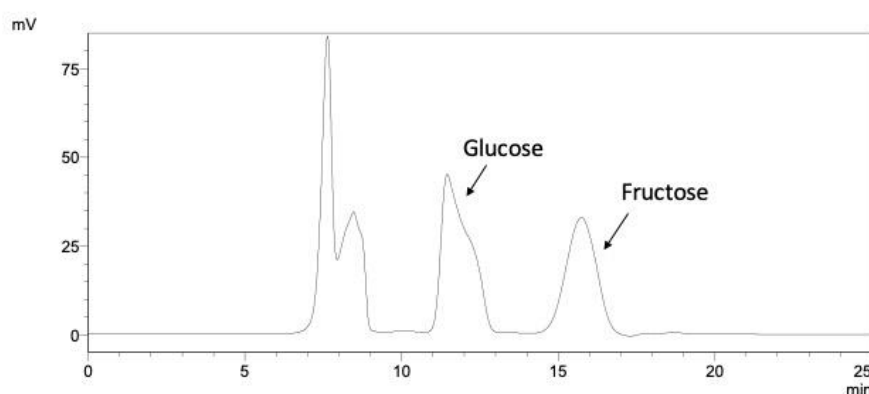


Figure 1. Sugar profile of Cornelian cherry sample

The total phenolic content of samples ranged from 230.36 to 559.82 mg GAE per 100 g fresh weight basis (Table 2). In previous studies, a wide variation was reported in the total phenolic content in Cornelian cherry fruit of

$31.25 \pm 1.79$  mg GAE/g [2], 26.59–74.83 mg GAE/g dry weight (DW) basis [15], and  $1592 \pm 132$  mg GAE/100 g DW [1]. Our results were in agreement with reported TPC of Cornelian cherry of 281–570 mg/100 g fresh weight

(FW) basis [26] and 209.5–305.5 mg/100 g FW [28]. Phenolic compounds are major bioactive components

whereas bioavailability greatly differs between the various phenolic content.

Table 2. Phytochemical content and antioxidant capacity of Cornelian cherry

Parameters	Range	Mean±SD
Total phenolics (mg GAE/100 g)	230.4–559.8	348.7±87.3
Total flavonoids (mg CE/100 g)	28.3–94.7	56.6±16.8
Anthocyanin (mg/100 g)	69.2–200.5	119.7±38.8
ABTS (µmol TE/g)	24.4–92.5	46.3±15.1
Proanthocyanins (mg CE/100 g)	124.1–316.3	197.8±45.5
Hydrolysable tannin (mg TAE/100 g)	151.6–568.9	276.3±110.5
Ascorbic acid (mg AAE/100 g)	29.00–103.3	59.8±20.6

Flavonoids which have efficient bioactivity due to their hydroxyl group at various positions are one of the major phenolic of plant kingdom [2]. The total flavonoid content varied from 28.26 to 94.7 mg CE per 100 g FW basis. The average of total flavonoid content of fruit was 477.3±22.9 mg CE/100 g DW [29]. Pawlowska et al. [30] found that flavonoid content in Cornelian cherry was 221.3 mg/10 g. Methanolic extract of the fruit had a rich flavonoid glycosides composition. Quercetin 3-O-β-d-glucuronide was presented as a major flavonoid (69.9 mg/10 g) and followed by kaempferol 3-O-β-d-galactoside (41.3 mg/10 g). Celep et al. [2] expressed flavonoid content of Cornelian cherry as quercetin equivalent in an average 20.5±1.62 mg/g. The flavonoids with their subclasses, protect the plant against to pathogens and environmental stressors, and provide pigmentation to adapt to environment [31].

Anthocyanin, a subclass of flavonoids, contributed to pigmentation of plants and are exclusively responsible red, blue and purple colour of plant [32]. Cyanidin is the most prevalent anthocyanin, and the 3-glucoside is the most active antioxidant anthocyanin [33]. The highest monomeric anthocyanin content was 200.49 mg cyanidin-3-glucoside equivalents per 100 g FW basis. Similar anthocyanin contents were reported by Pantelidis et al. [1] (223 mg/100 g FW) and by Yilmaz et al. [15] (148–228 mg/100 g). Cornelian cherry had higher anthocyanin content when compared some berry type fruit such as blackberry (104–198 mg/100 g FW), raspberry-gooseberry (35–49 mg/100 g FW) and red current (1.3–7.8 mg/100 g FW) [1]. These results referred that Cornelian cherry seems to be a good anthocyanin source. However, the anthocyanin content and composition can be varied according to post harvesting processes [8].

Many flavonoids in foods are polymerized into large molecule during the usual metabolic process of plants, or as a result of food processing. The antioxidant activity of tannins has been affected polymerization degree that might be varied from two up to several hundred subunits. The large molecules are called as tannins and include condensed tannins (proanthocyanins), hydrolysable tannins and tannin derives [34]. Condensed tannins, proanthocyanidins, are oligomers or polymers of flavan-3-ol units [29]. Proanthocyanidin content of Cornelian cherry was found between 124.08 and 316.26 mg TAE per 100 g fruit of fresh based. Similar result (229±24.1 mg epigallocatechingallate equivalents per g extracts) was reported by Celep et al. [2]. Also, Milenković-Anđelković

et al. [35] demonstrated that among the flavan-3-ols, (+)-catechin (3.91–3.95 mg/g DW) was predominant and followed by (–)-epicatechin (2.02–2.11 mg/g DW) and procyanidin B2 (1.55–1.61 mg/g DW). The hydrolysable tannins content in fruits was in the range of 155.63 and 346.70 TAE per 100 g fruit. Tannins are ellagic acid (ellagitannins) and gallic acid (gallotannins) esters and contribute on particular astringent taste of fruit [36]. Total tannin content of Cornelian cherry fruit was determined between 131.51–601.2 mg/L [13]. Dinda et al. [3] reviewed that tannin content of Cornelian cherry was in wide ranged between 0.6 and 14%. The Cornelian cherry fruits are great source of tannins when compared many fruits [17].

Cornelian cherry also represented as one of the main sources of ascorbic acids [37]. A wide variation was observed among the ascorbic acid content of Cornelian cherry fruits, ranging from 28.99 to 103.3 mg per 100 g FW. Tural and Koca [26] found that the ascorbic acid content of the Cornelian cherry ranged between 16 to 88 mg per 100 g. Similar findings (31–112 mg/100 g) were also reported by Yilmaz et al. [15]. Pantelidis et al. [1] reported that the ascorbic acid content of Cornelian cherry (103.3±12.67 mg/100 g) was higher than raspberry (16.8–37.7 mg/100 g) and blackberry (14.3–17.57 mg/100 g) fruits. The Cornelian cherry fruits (59.8±20.6 mg/100 g) seem to be a good source of ascorbic acid when compared strawberry (50.1±2.8 mg/100 g) and kiwi (28–80 mg/100 g) fruits that are accepted as high ascorbic acid source [38, 39].

The antioxidant activity measured using ABTS methods in Cornelian cherry was expressed as µM trolox equivalents per g. The average antioxidant capacity was 46.31±15.06 (Table 2). Similar results (29.48–36.51 mmol/kg) was expressed by Dragovic-Uzelac et al. [28]. Celep et al. [2] reported relatively higher antioxidant activity (103±8.9 µM TEAC/g extract) in Cornelian cherry fruits. The ABTS method is one of the popular assay determine indirectly antioxidant activity. Yilmaz et al. [15] also measured antioxidant capacity in Cornelian cherry fruits using by electron transfer based assay (ferric reducing antioxidant power, FRAP). FRAP values of the fruits (73–114 µmol ascorbic acid/g DW) was high and varied in wide range between the genotype. Pantelidis et al. [1] reported similar FRAP values (83.9±5.4 µmol ascorbic acid/g DW) in Cornelian cherry. Therefore, the Cornelian cherry might be considered as a good source of antioxidant.

Tannin content of fruit might be a main cause for antioxidant activity among the polyphenol compounds (Table 3). The effectiveness on radical species is related with the increasing polymerization degree. Currently, dimeric and oligomeric catechin supplement extracted from grape seed has been marketed [40]. The degree of polymerization in grape seed about 30, while in the Cornelian cherries about 69 [29]. The antioxidant activities of cherry fruit also are positively related with their degree of polymerization from high to low in order of Cornelian cherry (63), Laurel cherry (45), and sour cherry (4) [29]. Due to relative complexity and diversity of tannins, the structure and activity relationship has not been defined completely yet [40]. The Cornelian cherry tannins might be an alternative antioxidant supplement to grape seed extract.

The Pearson correlation ( $r$ ) between some investigated parameters in Cornelian cherry was expressed in Table 3. High Pearson correlation coefficient was found between antioxidant activity and total phenolic content ( $r=0.965$ ), total flavonoid content ( $r=0.890$ ), hydrolysable tannins ( $r=0.882$ ) and proanthocyanin content ( $r=0.872$ ). Similarly, Celep et al. [2] reported high correlation coefficients ( $r=0.8767-0.8964$ ) between phenolic content of Cornelian cherry fruit and TEAC values. Although, Hassanpour et al. [8] was not found correlation ( $r=0.18$ ) between antioxidant activity and anthocyanin content, the investigated parameter of Cornelian cherry fruit significantly correlated ( $r=0.857$ ) with antioxidant activity. Our results in agreement with Pantelidis et al. [1], there is a close correlation between antioxidant capacity (FRAP) and anthocyanin content of Cornelian cherry and berry fruits.

Table 3. Pearson correlation coefficient of investigated parameters in Cornelian cherry fruit

Variables	AOA	TPC	FC	ACN	HTC	CT	AsA
AOA	1	0.965**	0.890**	0.857**	0.882**	0.872**	0.746**
TPC		1	0.941**	0.900**	0.889**	0.889**	0.761**
FC			1	0.870**	0.821**	0.824**	0.680**
ACN				1	0.855**	0.861**	0.735**
HTC					1	0.904**	0.797**
CT						1	0.764**
AsA							1

\*\* : Significant at  $p < 0.001$

## CONCLUSION

Cornelian cherry fruits naturally grown in Çorum/Turkey are a significant source of natural antioxidants: condensed and hydrolysable tannins, anthocyanin and ascorbic acid. Cornelian cherry might be a strong alternative to use as a potential ingredient of nutraceutical or food formulation. Also, the selected promising phenotype might be used for organic production of Cornelian cherry.

## ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank to Hitit University Scientific Research Project Office to financial support of 19003.17.001 numbered project.

## REFERENCES

- [1] Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A., Diamantidis, G.R. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102(3), 777-783.
- [2] Celep, E., Aydın, A., Yesilada, E. (2012). A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology*, 50(9), 3329-3335.
- [3] Dinda, B., Kyriakopoulos, A.M., Dinda, S., Zoumpourlis, V., Thomaidis, N.S., Velegriaki, A., Markopoulos, C., Dinda, M. (2016). *Cornus mas* L. (Cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: Ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry. *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 670-690.
- [4] Seeram, N.P., Schutzki, R., Chandra, A., Nair, M.G. (2002). Characterization, quantification, and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2519-2523.
- [5] Ozdemir, A.E., Candir, E., Toplu, C., Yildiz, E.R.C.A.N. (2020). Effect of Hot Water Treatment on Astringency Removal in Persimmon Cultivars. *International Journal of Fruit Science*, 1-13.
- [6] Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W., Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), 421-464.
- [7] Dumitraşcu, L., Enachi, E., Stănciuc, N., Aprodu, I. (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cornelian cherry fruits using response surface methodology. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 814-823.
- [8] Hassanpour, H., Yousef, H., Jafar, H., Mohammad, A. (2011). Antioxidant capacity and phytochemical properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*, 129(3), 459-463.
- [9] Celli, G.B., Ghanem, A., Brooks, M.S.L. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 449-455.



- [10] Jadhav, A.J., Holkar, C.R., Goswami, A.D., Pandit, A.B., Pinjari, D.V. (2016). Acoustic cavitation as a novel approach for extraction of oil from waste date seeds. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(8), 4256-4263.
- [11] Bijelić, S., Gološin, B., Todorović, J.N., Cerović, S. (2011b). Morphological characteristics of best Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes selected in Serbia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(5), 689-695.
- [12] Pirlak, L., Guleryuz, M., Bolat, I. (2003). Promising cornelian cherries (*Cornus mas* L.) from the Northeastern Anatolia region of Turkey. *Journal of the American Pomological Society*, 57(1), 14.
- [13] Demir, F., Kalyoncu, I.H. (2003). Some nutritional, pomological and physical properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Food Engineering*, 60(3), 335-341.
- [14] Ercisli, S., Orhan, E., Esitken, A., Yildirim, N., Agar, G. (2008). Relationships among some Cornelian cherry genotypes (*Cornus mas* L.) based on RAPD analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(4), 613.
- [15] Yilmaz, K.U., Ercisli, S., Zengin, Y., Sengul, M., Kafkas, E.Y. (2009). Preliminary characterisation of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Food Chemistry*, 114(2), 408-412.
- [16] S. Ercisli. (2004). Cornelian cherry germplasm resources of Turkey. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12, 87-92.
- [17] Ercisli, S., Yilmaz, S.O., Gadze, J., Dzubur, A., Hadziabulic, S., Aliman, Y. (2011). Some fruit characteristics of Cornelian cherries (*Cornus mas* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 255-259.
- [18] AOAC, C.A. (2005). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International.
- [19] Raghu, V., Platel, K., Srinivasan, K. (2007). Comparison of ascorbic acid content of *Embllica officinalis* fruits determined by different analytical methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(6), 529-533.
- [20] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152-178.
- [21] Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.
- [22] Çam, M., Hışıl, Y. (2010). Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. *Food Chemistry*, 123(3), 878-885.
- [23] Tanner, H., Brunner, H.R. (1979). *Getraenke Analytik*. D-7170. Schwaebisch Hall: Germany: Verlag Heller Chemie-und Verwaltungsgesellschaft mbH.
- [24] Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2001). Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Wrolstad, R.E. and Schwartz, S.J. (eds.), p. 1-13, John Wiley & Sons, New York, U.S.A.
- [25] Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P., Bast, A. (2001). Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology*, 39(8), 787-791.
- [26] Tural, S., Koca, I. (2008). Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 362-366.
- [27] Bijelić, S.M., Gološin, B.R., Todorović, J.I.N., Cerović, S.B., Popović, B.M. (2011a). Physicochemical fruit characteristics of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes from Serbia. *Hortscience*, 46(6), 849-853.
- [28] Dragović-Uzelac, V., Levaj, B., Bursać, D., Pedisić, S., Radojčić, I., Biško, A. (2007). Total phenolics and antioxidant capacity assays of selected fruits. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 72(4), 279-284.
- [29] Capanoglu, E., Boyacioglu, D., de Vos, R. C., Hall, R.D., Beekwilder, J. (2011). Procyanidins in fruit from Sour cherry (*Prunus cerasus*) differ strongly in chainlength from those in Laurel cherry (*Prunus lauracerasus*) and Cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Berry Research*, 1(3), 137-146.
- [30] Pawlowska, A.M., Camangi, F., Braca, A. (2010). Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Cornaceae) fruits. *Food Chemistry*, 119(3), 1257-1261.
- [31] Kent, K., Charlton, K., O'Sullivan, T., Oddy, W.H. (2020). Estimated intake and major food sources of flavonoids among Australian adolescents. *European Journal of Nutrition*, 1-16.
- [32] Einbond, L.S., Reynertson, K.A., Luo, X.D., Basile, M.J., Kennelly, E.J. (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, 84(1), 23-28.
- [33] Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT-Food Science and Technology*, 72, 229-238.
- [34] Beecher, G.R. (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of Nutrition*, 133(10), 3248S-3254S.
- [35] Milenković-Anđelković, A.S., Anđelković, M.Z., Radovanović, A.N., Radovanović, B.C., Nikolić, V. (2015). Phenol composition, DPPH radical scavenging and antimicrobial activity of Cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit and leaf extracts. *Hemijaska Industrija*, 69(4), 331-337.
- [36] Yang, B., Liu, P. (2014). Composition and biological activities of hydrolyzable tannins of fruits of *Phyllanthus emblica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(3), 529-541.

- [37] Dokhanieh, A.Y., Aghdam, M.S., Fard, J.R., Hassanpour, H. (2013). Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. *Scientia Horticulturae*, 154, 31-36.
- [38] Nishiyama, I., Yamashita, Y., Yamanaka, M., Shimohashi, A., Fukuda, T., Oota, T. (2004). Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other Actinidia species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5472-5475.
- [39] Martinsen, B.K., Aaby, K., Skrede, G. (2020). Effect of temperature on stability of anthocyanins, ascorbic acid and color in strawberry and raspberry jams. *Food Chemistry*, 316, 126297.
- [40] Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.
-

## Food Safety Knowledge, Attitudes and Practices of Consumers Regarding Meat Consumption at Home

Çiğdem Muştu<sup>1</sup> , Veli Ceylan<sup>2</sup> , Mehmet Sarıışık<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Bilecik Seyh Edebali University, Vocational School, Program of Food Quality Control and Analysis, Bilecik, Turkey

<sup>2</sup>Sakarya University of Applied Sciences, Faculty of Tourism, Department of Gastronomy and Culinary Arts, Sakarya, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 15.11.2020, Accepted (Kabul Tarihi): 19.12.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [cigdem.mustu@bilecik.edu.tr](mailto:cigdem.mustu@bilecik.edu.tr) (Ç. Muştu)

☎ +90 228 214 2499 📠 +90 228 214 13 32

### ABSTRACT

This study is conducted to determine the meat purchase, storage, handling or preparation, and personal hygiene practices of consumers living in Istanbul and their level of knowledge on food safety practices. A questionnaire was sent to 830 consumers, who were responsible for primary shopping and cooking in their households. Participants achieved a certain score with their responses to the statements in the questionnaire. The difference between the sociodemographic characteristics of the participants and their scores was determined by independent samples t-test and one-way ANOVA. A significant difference was observed in participants' knowledge scores about meat purchasing and carrying, storage and preparation practices and gender ( $p < 0.05$ ). In addition, participants' meat purchase and carrying practices information scores were significantly influenced by monthly income while storage and preparation information scores were significantly affected by the age of participants ( $p < 0.05$ ). An insignificant difference between the personal hygiene and socio-demographic parameters was observed ( $p > 0.05$ ). By considering these results, it is recommended to prepare questionnaires and interviews to reveal the status of applications for measuring food safety information of consumers in other regions of Turkey, and planning preventive measures to eliminate risks in future studies.

**Keywords:** Food safety, Red meat, Poultry meat, Knowledge, Practices, Consumer

### Tüketicilerin Ev Ortamında Et Tüketimi Konusundaki Gıda Güvenliği Bilgi, Tutum ve Uygulamaları

#### ÖZ

Bu çalışma, İstanbul'daki tüketicilerin et satın alma ve taşıma, depolama, hazırlama ve kişisel hijyen uygulamaları ile gıda güvenliği bilgi düzeylerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Anket, hanelerde birincil alışveriş ve yemek yapma sorumluluğunu üstlenen 830 tüketiciye gönderilmiştir. Katılımcılar ankette yer alan ifadelerle verdikleri yanıtlarla belirli bir puan almıştır. Katılımcıların gıda güvenliği bilgisindeki puan farklılıklarının sosyo-demografik parametrelerden etkilenip etkilenmediğini araştırmak için ANOVA ve t testleri kullanılmıştır. Katılımcıların et satın alma ve taşıma, depolama, hazırlama ve kişisel hijyen uygulamaları hakkındaki bilgi puanları ile cinsiyet arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Ayrıca katılımcıların et satın alma ve taşıma uygulamaları bilgi puanları aylık gelir faktöründen; depolama ve hazırlama bilgi puanları yaş faktöründen önemli ölçüde etkilenmiştir ( $p < 0.05$ ). Kişisel hijyen ve sosyo-demografik parametreler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Bu sonuçlar dikkate alınarak, gelecekte yapılacak çalışmalarda Türkiye'nin diğer bölgelerindeki tüketicilerin gıda güvenliği bilgilerinin ölçülmesine yönelik uygulamaların durumunu ortaya çıkarmak ve riskleri ortadan kaldıracak önleyici tedbirlerin planlanması için anket ve görüşmelerin hazırlanması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda güvenliği, Kırmızı et, Kanatlı eti, Bilgi, Uygulamalar, Tüketici

## INTRODUCTION

The food supply chain refers to a chain that reaches from farm to table. In this chain, consumers are the last segment that comes into contact with food. Food safety is of great importance in terms of the health and economy of consumers and professionals in the food-service sector of all countries [1]. It is the responsibility of the regulator authorities to regulate the food-service sector on food safety, but it is the consumer's responsibility to ensure the right conditions at home [2]. From this point of view, food safety knowledge and practices have an important effect on the emergence of foodborne diseases [3, 4].

The basis of ensuring foodstuffs is suitable to the consumers' consumption, and to protect them from foodborne diseases based on good hygiene practices in purchasing, preparation, cooking and storage processes [5]. Bryan [6] determined errors in the food preparation process as; contamination of cooked foods with raw foods, insufficient heat treatment applications, reheating the cooked food, food production with poor quality raw material, and not storing food at the proper temperature. In addition, cleaning practices (handwashing, dishwashing, using dishcloths, cleaning work surfaces) are also important practices that may pose a risk in foods if not appropriately [7, 8].

With the report published by the World Health Organization (WHO), it has been reported as a global problem that, one out of every 10 people become ill because of consuming contaminated foods [9]. In addition, according to the statistics indicated in the report published by the European Food Safety Authority (EFSA) and European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) in 2018, one-third of foodborne diseases occur in homes. According to these studies, it is stated that consumer practices in homes have an important effect on increasing the number of foodborne diseases [10, 11, 12]. According to EFSA [13], consumer applications that cause the emergence of foodborne diseases are identified as especially cross-contamination, storage time, insufficient heat treatment, and storage under unfavorable conditions. Flynn [14] reports that these diseases are mostly caused by improper applications such as insufficient heat treatment and poor hygiene.

In the report published by EFSA and ECDC [10], it is stated that 60% of foodborne diseases that could be registered (643 diseases, 12.7% of total food-borne diseases) and the causes of which can be proved, are composed of foods of animal origin. It has been observed that meat and meat products (poultry, pork, beef, sheep and other unspecified red meat and products) cause the highest rate of disease (approximately 32%) among animal origin foods. Subsequently, there are seafood (approx. 28%), eggs and products (approx. 27%), and milk and products (about 13%). It is stated that *Salmonella* is the most critical pathogen bacterium in disease formation due to the wrong applications of consumers regarding meat and meat products, and *Clostridium Botulinum* and

fungal toxins and *Trichinella* have been reported to cause disease only in foods prepared in the home environment [8, 10, 15]. As noted in this report that since there is no enforceable regulation for notification of foodborne diseases to a specific institution in Turkey, it is thought that data on foodborne diseases is wrong [16].

The emergence of foodborne diseases causes social and economic losses on communities and health systems [17, 18]. It is reported that the economic cost of foodborne diseases in the United States can be as high as 80 billion USD [19]. It is clearly seen that investigating the causes, determining risk factors and higher risk groups has become an important requirement to prevent these adverse effects caused by foodborne diseases [20].

A lot of research has been done to determine their level of knowledge about food processing, consumption, storage, and personal hygiene practices of food processors, consumers and students, and their demographic factors (ethnicity, gender, age, income and various consumer characteristics) affecting them. In their researches, Walker et al. [21] examined those working in food businesses in the UK; Bas et al. [22], those working in the food business in Turkey; Jevšnik et al. [4], those working in food businesses in Slovenia; Tokuc et al. [23], those working in the hospital food-service in the province of Edirne in Turkey; Abdul-Mutalib et al. [24], those working in restaurants in Malaysia; Sani and Siow [25], those working in the food business at Kebangsaan University in Malaysia; Moreb et al. [26], food processors in the Republic of Ireland; and Osaili et al. [27] examined food safety information, attitudes, and practices of food-service staff in hospitals in Jordan. Badrie et al. [5] evaluated consumers in Trinidad, West Indies; Unusan [28], evaluated consumers who have primary responsibility for preparing food in Konya in Turkey; Sanlier [29] evaluated the young and adult consumers in Ankara in Turkey; Kennedy et al. [30] evaluated consumers in Dublin in Ireland; Langiano et al. [31], evaluated consumers in the Cassino region of Italy; Farahat et al. [32] evaluated Saudi female consumers; Cheng et al. [33] evaluated consumers in Beijing urban areas in China; Liu and Niyongira [34] evaluated consumers in Nanjing and Beijing in China; Odeyemi et al. [35], evaluated consumers in developing countries in Asia and Africa; Okour et al. [20] evaluated consumers in Jordan; Bolek [1] evaluated attitudes, food safety knowledge, and practices about the food safety of consumers in the province of Istanbul in Turkey. Ozilgen [36] evaluated Turkish university students; Lazou et al. [37] evaluated Greek university students; Ovca et al. [38] evaluated students in Slovenia; Hassan and Dimassi [39] evaluated Lebanese university students; and Marklinder et al. [40] evaluated the knowledge, attitudes, and practices of university students in Sweden about food safety. These studies show that although food employees, consumers and students are generally aware of their personal hygiene needs, they have lack of knowledge or no knowledge about basic food hygiene (cross-contamination, critical

temperatures of hot or cold ready-to-eat foods, storage conditions, etc.). Some studies in Turkey show that food employees and consumers have a low level of knowledge [1, 22, 23, 29]. On the contrary, although there is a high level of food safety knowledge of the participants, there are also studies where there is a general awareness and lack of knowledge in food safety practices [28]. For this reason, it is stated that there is an urgent need to increase the awareness of food safety and to provide regular training in this field to increase the food safety knowledge levels of employees and consumers and to reduce the risks of foodborne diseases [4, 22, 26, 27]. In addition, government and related organizations are recommended to use mass media such as TV or broadcast and internet to provide more information to consumers on food safety [1, 33]. In some studies, it has been determined that food employees and consumers have excellent knowledge, attitude and good practices, although they have deficiencies in food safety [24, 25]. In addition to these, although meat and meat products are deemed as the riskiest product group that may cause disease among foods prepared in the home environment; studies on this important subject are limited [15, 16, 41-44].

The purpose of this research is to examine consumers' food safety knowledge and practices which claimed responsibility for food preparation in the home environment in Turkey. According to Turkish Statistical Institute [45] data, it is thought that Istanbul represents an important part of Turkish consumers because its population is determined as 15.519.267 and it is the most populous city in the country. Meat and meat products are considered as the most important risk group that causes food diseases worldwide. Based on this, it is aimed to examine the information of consumers living in Istanbul about buying meat, storing, preparing, and personal hygiene for processing food in the home environment.

## **MATERIALS and METHODS**

### **Research Design**

This research was carried out to determine food safety perceptions and food processing practices of those who take responsibility for preparing food in the home environment. In the study conducted between March-April 2020, 830 randomly selected consumers living in Istanbul were interviewed. Participants were randomly selected from those who prepare meals at home at least once a day and take primary shopping responsibility for their homes.

Participants were informed about the purpose of the study and asked if they would like to take part in a questionnaire on the safety of meat products in food preparation at home. Initially, all potential participants asked through their social media accounts, "Are you the person who is responsible for shopping and cooking at home?" and a questionnaire was applied to those who gave a positive answer.

The ethical consent required to collect research data was obtained with the decision of Sakarya University of Applied Sciences ethics committee, dated 9 November 2020 and numbered 26428519/044.

### **Instrument**

In this study, the scale used as a data collection tool is an adapted version of the scale used by Mol et al. [2] in their research on seafood safety. The questionnaire was prepared to determine the demographic characteristics of the participants (gender, age, education, income), food processing practices (red and poultry meat purchasing, carrying, storage and processing practices) and personal hygiene habits. A five-point Likert Scale was used in the questionnaire, and negative expressions were coded reciprocally, and the scoring of these expressions was done reciprocally. The knowledge level score range for food safety practices is ranged between 5 and 25 for "meat purchasing and carrying" and "storage" practices; ranged between 6 and 30 for "meat products processing" applications; ranged between 2 and 10 for "personal hygiene" practices. The internal consistency reliability test was made between the expressions of the research scale, and the Cronbach Alpha ( $\alpha$ ) value was determined as 0.802. According to the studies in the literature, its reliability was determined at an acceptable good level [46]. There were also questions to determine where the participants bought meat products, how they store them, how they are defrosted, how long they keep them in the refrigerator and freezer, and how long they wash their hands.

### **Statistical Analysis**

All data obtained within the scope of the study ( $n = 830$ ) were analyzed using SPSS software (version 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Frequency percentage was used to determine the response percentage of respondents in each category. To determine the analysis management to be used in the difference analysis, the normality test was conducted initially. As a result of the normality analysis, Skewness and Kurtosis values of the scale-related data were determined between -1 and +1 (Skewness-0.408 / Kurtosis 0.508). Values in this range indicate that the data is normally distributed [47]. For this reason, parametric (t-test and one-way analysis of variance) tests were applied to determine food safety information scores and socio-demographic differences. ANOVA and t test were applied. The significance level was accepted as  $p < 0.05$  for all statistical comparisons [48]. Tukey multiple comparison test, which is one of the Post-Hoc analyzes, was used to compare food safety information scores between groups that showed significant differences as a result of ANOVA analysis.

## **RESULTS and DISCUSSION**

### **Characteristics of Respondents**

Demographic characteristics of the participants according to their gender, age, educational background,

and income are given in Table 1. 70% of the interviewed consumers were women, 53.5% were between the ages of 20 and 30, 50.8% have university degrees, and 55.4% were not working. A significant number of the respondents were identified as women, and the number of non-working participants was found quite high. Because most of the respondents were housewives who not working and were responsible for the preparation of meals.

### Purchase and Transportation

Ensuring food safety is an important process that begins with the purchase of raw materials for the product to be prepared [2]. Applications of consumers in purchasing meat products and transporting them to home are given in Figure 1.

Table 1. Socio-economic and demographic characteristics of the participants

Demographic characteristics	Category	Frequency (N)	Percent (%)
Gender	Female	581	70.0
	Male	249	30.0
Age group	<20	81	9.8
	20-30	444	53.5
	31-40	106	12.8
	41-50	122	14.7
	>50	77	9.3
Education	Secondary school or less	125	15
	High school	283	34.1
	University	422	50.8
Monthly income (\$)	Not working	460	55.4
	≤337	76	9.2
	338-439	89	10.7
	440-586	69	8.3
	587-733	58	7.0
	734 and higher	78	9.4

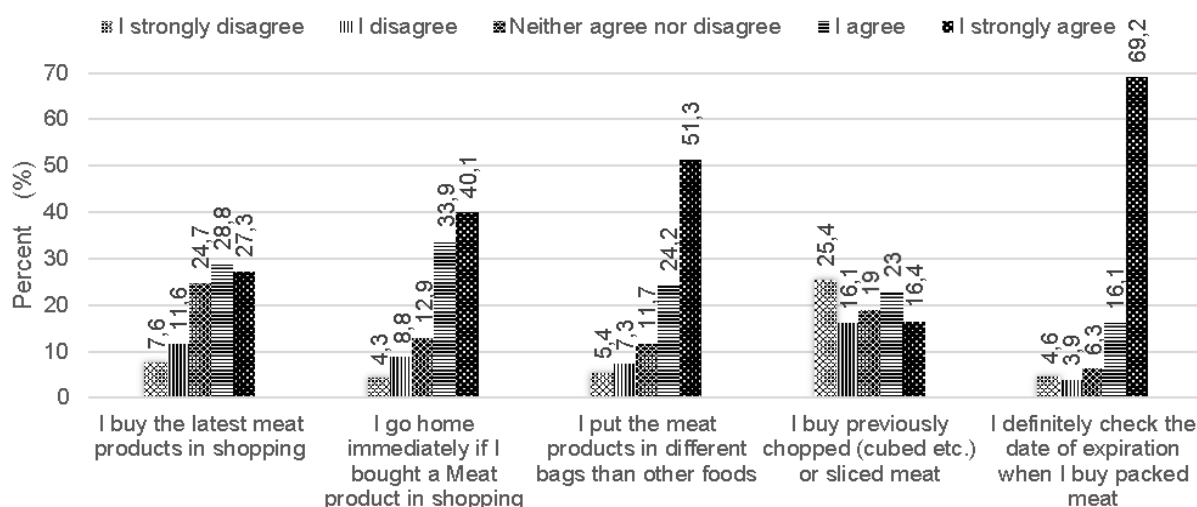


Figure 1. Practices of consumer during purchase and transportation

As a result of the longer breaks in the cold chain, pathogenic microorganisms can multiply rapidly and reach unacceptable levels, and this poses an important health risk for consumers [49]. More than half of the participants (56.1%), who are knowledgeable in this regard, stated that they bought meat products at the end of the shopping process. However, 19.2% of consumers did not find it important to buy meat products at the latest while shopping. The fact that many members of society know that meat is easily perishable, and this is one of the most important reasons for this situation. Similar findings were found in the studies performed in the literature. In their research, Moreb et al. [26] stated

that 78.1% of consumers in Ireland; Gong et al. [50] 36.7% of consumers in China; Hassan and Dimassi [39] 59.7% of consumers in Lebanon; Lazou et al. [37] 55.3% of consumers purchase the products that should be kept cold at the end of the shopping process. In addition, 74% of the participants stated that when they buy meat products in shopping, they immediately go home. Likewise, Hessel et al. [51] stated that 72.3% of the participants brought chicken meat straightly home and cooled them within 30 minutes after purchasing.

The Food Safety and Inspection Service (FSIS) of the United States Department of Agriculture recommends

that raw meat and seafood be transported in separate bags from other foods to prevent the broth from dripping into other foods during carrying [52]. Most of the participants (75.5%) do the right practice by stating that they strictly participate in the transport of meat products in separate bags from other foods. Karabudak et al. [16] stated that 4.8% of the participants use cooler bags while 15.2% use different bags for meat while carrying meat. Also, Mol et al. [2] determined that 66.1% of the participants carried it separately from other foods when they bought fish.

Since the surface area is increased by chopping and slicing the meat, microorganisms penetrate the internal tissues more easily and quickly, and show a faster logarithmic growth. Therefore, the shelf life of unedged and unsliced meat is longer [53, 54]. According to the results of the research, 41.5% of the participants stated that they disagreed with the relevant statement and did not purchase pre-chopped-sliced meat products, while 19% stated that they were uncertain about this issue. However, the percentage of respondents who stated that they purchased chopped and sliced meat is also high. Research findings show that consumers do not have sufficient knowledge on this issue.

Checking the expiration dates of foods at the time of purchase is an important practice in ensuring food safety. Thus, the risk of purchasing a product that may adversely affect the health of the consumer will be reduced. In addition, since it is not possible to taste or smell packaged products, Hall-Phillips and Shah [55] support the food quality control by checking the expiration date. A large part of the participants (85.3%) stated that they always check the expiration date when buying packaged products. This shows that the participants are trying to choose a food product whose nutritional content and freshness are preserved. Similarly, Bolek [1] stated that 62% of the participants; and Mol et al. [2] stated that 58.2% of the participants think expiration dates are important. One of the most important reasons for this finding is that controlling the expiry date is one of the most sensitive issues in Turkey.

The food safety score for meat purchasing and carrying practices was found for all participants as  $19.14 \pm 4.26$ , for women's as  $19.34 \pm 4.15$  and for men's as  $18.69 \pm 4.47$ . There is a statistically significant difference between the gender of the participants and their level of knowledge about buying and carrying meat ( $p < 0.05$ ). It is seen that women follow safer practices than men.

Furthermore, when other demographic characteristics were analyzed, it was observed that the level of knowledge of buying and carrying meat varies according to monthly income, however, it was not at a linear

increase level. There was a significant difference between participants who do not work and whose income is up to \$ 440, and participants with an income of more than \$ 440 ( $p < 0.05$ ).

In addition to the questions in Figure 1, the participants were asked where they bought meat products most frequently. 61.1% of the participants stated that they bought meat products from the butchers in their neighborhood, 31.9% stated that they bought them from the supermarket, and 7% from any butchers. Hessel et al. [51] stated that 98.6% of the participants bought chicken products from supermarkets or butchers. Contrary to these values, Mol et al. [2] determined the 26.1% of participants buying fish from the supermarket and stated that most of the participants neglected this important detail. Consumers want to choose a retailer they can trust to reduce risk and increase safety. For this reason, they usually shop for beef, poultry and seafood from supermarkets or butcher shops [56].

### Storage

Applications made by consumers to store meat products are given in Figure 2. According to the food preparation report of the Republic of South African Department of Agriculture, Forestry and Fisheries (DAFF), the cold chain should not be broken for more than 2 hours in carrying the meat [57]. While 86.6% of the participants put the meat product, they bought in the refrigerator within 2 hours, it is seen that 8.6% neglected this application. In his study, Kennedy et al. [58] indicated that it is seen that 95% of the participants cooled up to 2 hours after purchasing chicken meat. Breaking the cold chain is an important factor affecting food safety, and the fact that the food remains at a high ambient temperature for a long time during carrying causes an increase in the microorganism load [59].

According to the results of the survey, 89.7% of the participants stated that they store meat by packing them in a refrigerator or freezer. Moreb et al. [26] reported that 48% of the participants store the raw meat in a refrigerator by packing. Also, 59.9% of the participants put meat and other foods on separate shelves during storage. Murray et al. [60] stated in their research that, 91% of the participants store raw meat, poultry, and fish separately from other foods in the refrigerator, and for this purpose, 60% of the participants put the raw meat in a plastic bag. Similarly, Mol et al. [2] reported that consumers follow cross-contamination prevention practices during storage, and 69.8% of respondents store fish in a refrigerator or freezer, and 60.4% of them put it on a shelf different from other foods.

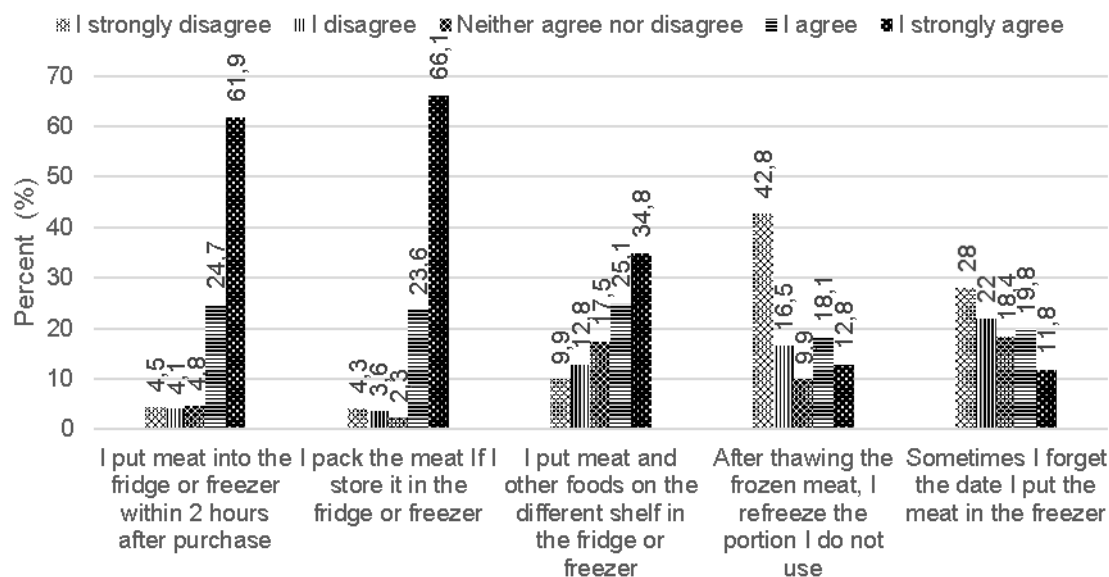


Figure 2. Consumer meat storage practices at home

Re-freezing of the thawed food not only affects its nutritional value and sensory properties, but also increases the number of microorganisms in the foodstuff [25]. While 59.3% of the participants stated that they do not freeze the thawed meat again, but on the contrary, 30.9% of them stated that they freeze the unused portion of the thawed meat. The rate of participants who re-freeze the meat was extremely high. In similar studies in the literature, the proportion of participants re-freezing thawed meat was lower than in this study. Karabudak et al. [16] stated that 89.7% of the participants; Al-Shabib et al. [61] 83% of them, Moreb et al. [26] 67.6% of them, and Tokuc et al. [23] 42% of the participants indicated that thawed meat will not be frozen for later use. However, Abdul-Mutalib et al. [24] reported that the participants had the wrong information about the re-freezing of thawed foods, and that the re-freezing process may cause dangers.

Storage is seen as an important step to ensure that food is consumed without losing its freshness. For foods with limited shelf life, the storage period of the product should be followed in both domestic and industrial applications. However, it is said that this situation is neglected in domestic applications [2]. 50% of the participants stated that they did not forget the date they put meat in the freezer. Similarly, Mol et al. [2] stated that 50.1% of the participants did not forget the date they put the fish in the freezer. In addition, storing foods at what temperature and for how long are other important factors in storage. The ideal maximum cooling time for raw meat cannot be given precisely as it will vary depending on the microbial load of the meat at the time of purchase [62]. The United States Department of Agriculture (USDA) recommends that raw poultry foods should be cooled in the refrigerator (at 4°C or lower) for a maximum of 2 days [63]. In comparison, there is the advantage of inhibiting the proliferation of both pathogenic and degrading microorganisms and longer storage time with the freezer temperature (below -10 or -12°C) [62, 64, 65]. When respondents were asked

about the time to store the meat in the refrigerator, 27.6% of the participants stated that they consume the meat products within the day they purchased, and 27.1% of them consume it within 1 day after the purchase; 25.3% of them stated that they consume within 2-3 days after purchase. In addition, when they asked about the time to store the meat in the freezer, 29% of the participants declared it as 1-3 months, 20.5% as less than 1 month, and 17.6% as less than 15 days. Remarkably, 16.1% of the participants reported that they kept the meat in the refrigerator for 4-6 months. Moreb et al. [26] asked participants what the best temperature is for storing frozen food, and 7.8% of them stated as 4°C, 63.7% as -18°C or below. Katiyo et al. [44] explained that 81% of the participants stated that they store chicken meat in the refrigerator for a maximum of 2 days; 15% of the participants stated that they stored it for 2-7 days. However, since increasing storage time will cause the growth of pathogenic bacteria especially in chicken meat, it may put consumers at risk of food poisoning. Karabudak et al. [16] stated that 70% of the participants store raw meat less than 2 days in the refrigerator (5°C), and 99.1% of the participants store them less than 1 month in the freezer.

The food safety score for meat storage applications was found for all participants as 19.34±3.63, women's as 19.7±3.57, and for men's as 18.5±3.64. As with the purchasing and carrying practices, there was a statistically significant difference between the gender of the participants and their level of knowledge about meat storage (p<0.05). When the relationship between education and meat storage information level was examined, no significant difference was found (p>0.05).

In addition, when the meat storage information levels are evaluated by considering the age factor, it was observed that the age of the participants increases proportionally as the age increases. There was a significant difference between the age factor and



storage practices score ( $p < 0.05$ ). According to the Tukey test result, this difference occurred between the participants under the age of 20 and the participants between the ages of 20-30 and the participants over the age of 50.

### Food Handling and Preparation Practices

Preparing and cooking meat products for consumers at home is given in Figure 3. The temperature range at which the disease-causing bacteria multiply in the fastest way is 5-60°C. For this reason, especially cold chain products should be stored at an appropriate temperature in order to ensure the microbial safety of foods [16, 59]. 30.9% of the participants stated that they leave the meat on the kitchen counter if they will cook them within the day. It is seen that these participants neglect food safety practices for meat by leaving them at room temperature.

It is known that washing hands with soap and water before preparing food as a food safety practice, reduces the risk of cross-contamination [41]. Likewise, 82.8% of the participants wash their hands after touching the raw meat and before touching another food, and this is an application that reduces the risk of cross-contamination. Badrie et al. [5] stated that 79.3% of the participants Karabudak et al. [16] stated that 69.1%, Kennedy et al. [58] stated that 64.6%; Jevšnik et al. [4] stated that 57.1% of the participants wash their hands with soap and warm water after processing raw meat, poultry, or fish during food preparation. Besides, the use of antibacterial cleaning products is important in preventing cross-contamination when cleaning kitchen surfaces. 59.2% of the participants stated that they agree with the relevant statement and added that they use antibacterial cleaning products in the kitchen. Badrie et al. [5] stated that 43.7% of the participants use bleach and 15% of the participants use commercial disinfectants in cleaning kitchen benches and other surfaces that come into contact with food.

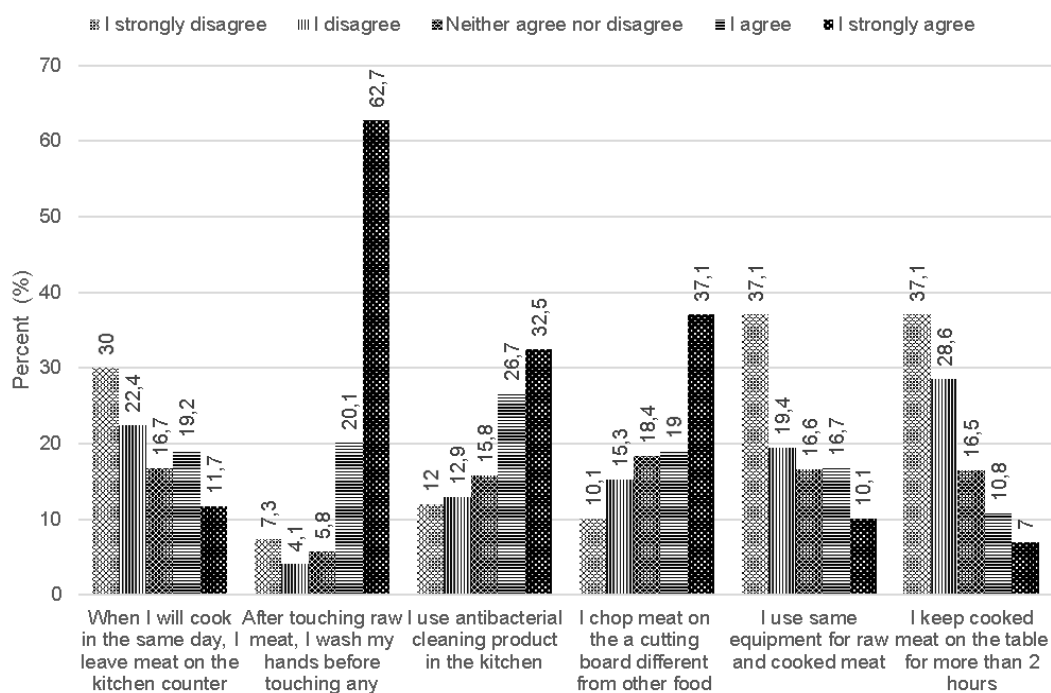


Figure 3. Food-handling and preparation practices of the consumer

Using a cutting-board different from other foods for raw meat is a highly recommended practice in domestic kitchens to prevent cross-contamination [41]. 56.1% of the participants agreed with the relevant statement and stated that they cut meat at a different cutting board from other foods. Chopping raw meats on a cutting board different from other foods is one of the most sensitive issues in food safety applications. Similar results have been obtained in the relevant studies in the literature. Hessel et al. [51] indicated that 76.5% of the participants; Moreb et al. [26] that 51.2%; Hassan and Dimassi [39] that 38.6% of the participants used different cutting boards for meat and other foods. Also, 56.5% of the participants stated that they used different equipment for raw and cooked meat to prevent cross-

contamination. Burke et al. [66] explained that 97.7% of the participants; Murray et al. [60] that 88%; Sani and Siow [25] that 82.8%; Abbot et al. [67] that 63%; and Uggioni and Salay [68] that 54.8% of the participants have applied the raw meat and cooked meat correctly by using different equipment.

According to the survey results, it is seen that 65.7% of the participants did not keep the cooked meat on the table for more than 2 hours. Stein et al. [69] stated that 82% of the participants; Murray et al. [60] stated that 81% of the participants report that they have cooled the remaining meat within 2 hours after cooking. Hessel et al. [51] reported that 42.1% of the participants left

cooked chicken meat at the table less than 30 minutes; 38.8% of them wait 1 hour at the table.

The food safety score for meat handling and preparation practices was found for all participants as  $22.14 \pm 4.35$ , for women's as  $22.53 \pm 4.18$  and for men's as  $21.22 \pm 4.61$ . As in meat purchasing and carrying, and storage practices, the level of knowledge of female participants in meat handling and preparation was higher than men. Also, it is seen that consumers between the ages of 31-40 have the highest score in meat handling and preparation practices, while the consumers under 20 have the lowest score. It has been determined that there is a significant difference between the level of knowledge in meat handling and preparation practices and the age factor and this difference is due to the knowledge level scores of participants under 20 years old and participants between 31-40 years old ( $p < 0.05$ ).

In addition to the questions in Figure 3, the participants were asked how they thaw frozen meat. Thawing frozen meat at room temperature increases the growth rate of pathogen bacteria [70]. Roccatto et al. [71] stated that the thawing of frozen raw chicken meat causes a significant increase in the number of *Salmonella Typhimurium* compared to refrigerator thawing on the kitchen counter. 40.6% of the participants reported that they had frozen meat on the kitchen counter, 37% in the refrigerator, 16.3% in water and 6.1% in the microwave.

The rate of the participants who made the wrong application in defrosting the frozen meat is quite high. In the relevant studies in the literature, both similar and different findings were obtained from this study. In the study of Hassan and Dimassi [39], 38.5% of the participants were thawed frozen meat on the kitchen counter; 28% in the fridge; 20.2% in the microwave; and 11.3% dissolved in water. Nesbitt et al. [72] stated that 51.4% of the participants used a refrigerator, 30.6% microwave, 25.6% kitchen counter, and 7.6% water dissolution method in frozen meat thawing.

### Consumer Hygiene

Hand hygiene is said to be more important in cleaning and disinfection of food contact surfaces in ensuring food safety at home [73]. Mol et al. [2] reported that short nails and not using accessories are important factors to ensure hand hygiene. Also, 50.8% of the participants stated that their nails were less than 1 cm in their study. According to the results of the survey, participants stated that 76.1% had short nails and 73.3% did not wear rings and watches while cooking (Figure 4). Similarly, Hassan and Dimassi [39] 76.3% of the participants; Al-Shabib et al. [61] reported that 75.9% of them removed their jewelry while preparing the meal. In contrast, Abdul-Mutalib et al. [24] reported that 54.7% of the participants wear jewelry while working.

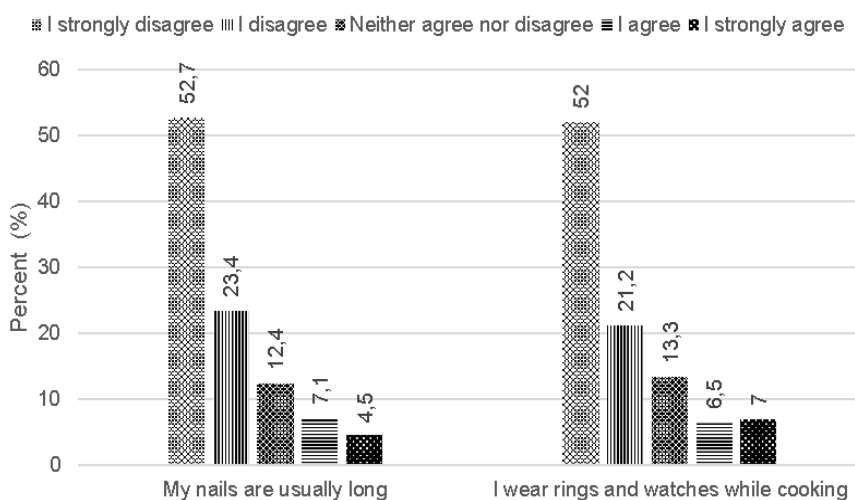


Figure 4. Consumer hygiene practices

Appropriate and sufficient duration of washing hands is an important factor in preventing contamination of food-borne microorganisms from employees [74]. In food handling applications, hygienic hand washing should be done using warm water, soap, or detergent, and by rubbing hands for at least 20 seconds [75] 46.9% of the participants stated that they washed their hands for 11-20 seconds and 39.5% for more than 20 seconds. Findings regarding the handwashing of the participants are at the desired level. In the relevant studies of the literature, it was found that the participants generally paid attention to hand hygiene. Burke et al. [66] stated that 66.4% of the participants, and Hassan and Dimassi

[39] stated that 39% of the participants wash their hands for 20 seconds.

The food safety score of the participants for personal hygiene practices was found to be  $8.17 \pm 1.92$ . For personal hygiene practices, the score of women was  $8.15 \pm 1.88$ , while the score of men was  $8.24 \pm 2.00$ . Although the level of knowledge of the participants about hygiene is similar, it is seen that men are higher than women. However, this was not identified as a significant difference ( $p > 0.05$ ).

In addition, when the knowledge levels of the participants regarding personal hygiene practices and other demographic features (age, education, and monthly income) were examined, no significant difference was observed in the information scores.

When the research was evaluated in general, there was a significant difference between food safety scores and gender for meat purchasing and carrying, storage, and preparation practices, and it was determined that female participants had better knowledge about food safety practices than men. This result was similar to previous studies on food safety practices [76, 77]. This may be related to the fact that 70% of the participants are women and 55.4% do not work. The fact that women in Turkey deal with food preparation at home more often than men, thus it is thought that they have more practical experience.

It is seen that age has a significant effect on food safety scores of participants for meat storage and preparation practices. Furthermore, food safety information on meat storage has been identified as a developing trend according to consumer age. Participants with the lowest level of meat storage and preparation knowledge were identified as young participants (<20 years old). In some previous studies, it has been found that young consumers generally have less information about food safety practices than older consumers [78]. This situation is evaluated because the individuals under 20 years of age have less responsibility to cook and have limited knowledge and skills. In other words, participants who are responsible for cooking, and elderly consumers with more culinary experience have more information about food safety.

When the food safety scores of the participants for meat purchasing and carrying, storage, preparation, and personal hygiene practices are analyzed according to monthly income, food safety information level differences are observed between the participants whose income level up to \$440 and those with income level more than \$440. Nesbitt et al. [72] determined that individuals with high-income are less concerned about food safety and made more dangerous practices in terms of food safety. On the other hand, Kwon et al. [79], reported that individuals have more appropriate food safety practices with an increase in income level. In this study, it was determined that the monthly income of the family affects food safety information scores and increases the average information score with the increase of income.

## CONCLUSION

Although measures related to food safety have been increased in recent years, the increase in food-borne disease rates shows that people still practice unsafe applications in food preparation, storage, and consumption. Consumer practices, especially at home, have an important effect on the increase in the number of foodborne diseases. However, the rate of diseases caused by food preparation practices at home is not fully known due to many factors. Studies report that one-third

of foodborne illnesses occur because of the production of food prepared at home.

This study shows that although the knowledge, attitude, and application levels of food processors in the home environment are satisfactory, storage and hygiene knowledge should be emphasized. Storage and hygiene practices require more theoretical knowledge, which is one of the important reasons for achieving this result. For this reason, it is necessary to provide food safety training to consumers regularly to raise the awareness of consumers. Food safety trainings will also increase the level of food safety knowledge of consumers, especially food hygiene and storage practices, by providing regular trainings to raise awareness of consumers, the information of food processors will be refreshed in areas that are deemed incomplete. For this purpose, public education programs can be planned all over the city in Istanbul due to its strategic location. In addition, retailers can contribute to increasing consumer awareness by providing food safety information on the labels or advertisements of meat products. By considering these results, it is recommended to prepare questionnaires and interviews to reveal the status of applications for measuring food safety information of consumers in other regions of Turkey, and planning preventive measures to eliminate risks, in future studies.

## REFERENCES




- [1] Bolek, S. (2020). Consumer knowledge, attitudes, and judgments about food safety: A consumer analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 242-248.
- [2] Mol, S., Akay, K.U., Guney, G.Ç. (2018). Seafood safety at home: Knowledge and practices. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 13, 95-100.
- [3] Clayton, D.A., Griffith, C.J., Price, P. (2003). An investigation of the factors underlying consumers' implementation of specific food safety practices. *British Food Journal*, 105(7), 434-453.
- [4] Jevšnik, M., Hlebec, V., Raspor, P. (2008). Consumers' awareness of food safety from shopping to eating. *Food Control*, 19(8), 737-745.
- [5] Badrie, N., Gobin, A., Dookeran, S., Duncan, R. (2006). Consumer awareness and perception to food safety hazards in Trinidad, West Indies. *Food Control*, 17(5), 370-377.
- [6] Bryan, F.L. (1988). Risks of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne diseases, *Journal of food protection*, 51(8), 663-673.
- [7] Lange, M., Göransson, H., Marklinder, I. (2014). Teaching young consumers'—food safety in home and consumer studies from a teacher's perspective. *International Journal of Consumer Studies*, 38(4), 357-366.
- [8] Redmond, E., Griffith, C., Redmond, E.C. Griffith, C.J. (2006). Assessment of consumer food safety education provided by local authorities in the UK. *British Food Journal*, 108(9), 732-752.
- [9] World Health Organization (WHO). (2015), Food Safety: What you should know? available at:

- [http://www.searo.who.int/entity/world\\_health\\_day/2015/whd-what-you-should-know/en/#targetText=Food%20safety%20is%20about%20producing,organic%20or%20locally%20produced%20food%3F](http://www.searo.who.int/entity/world_health_day/2015/whd-what-you-should-know/en/#targetText=Food%20safety%20is%20about%20producing,organic%20or%20locally%20produced%20food%3F) (accessed 20 May 2020)
- [10] European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *The EFSA Journal (European Food Safety Authority)*, 16(12), 262.
- [11] Meredith, L., Lewis, R., Haslum, M. (2001). Contributory factors to the spread of contamination in a model kitchen, *British Food Journal*, 103(1), 23-36.
- [12] York, V.K., Brannon, L.A., Shanklin, C.W., Roberts, K.R., Barrett, B.B., Howells, A.D. (2009). Intervention improves restaurant employees' food safety compliance rates. *International Journal of Contemporary Hospitality Management*, 21(4), 459-478.
- [13] European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *The EFSA Journal (European Food Safety Authority)*, 14(12), 1-231.
- [14] Flynn, K., Villarreal, B.P., Barranco, A., Belc, N., Björnsdóttir, B., Fusco, V., Jörundsdóttir, H.Ó. (2019). An introduction to current food safety needs. *Trends in Food Science & Technology*, 84, 1-3.
- [15] Kennedy, J., Nolan, A., Gibney, S., O'Brien, S., McMahon, M.A.S., McKenzie, K., Healy, B., McDowell, D., Fanning, S., Wall, P.G. (2011). Determinants of cross-contamination during home food preparation. *British Food Journal*, 113(2), 280-297.
- [16] Karabudak, E., Bas, M., Kiziltan, G. (2008). Food safety in the home consumption of meat in Turkey. *Food Control*, 19(3), 320-327.
- [17] Akhtar, S., Sarker, M.R. Hossain, A. (2014). Microbiological food safety: a dilemma of developing societies. *Critical Reviews in Microbiology*, 40(4), 348-359.
- [18] Milton, A., Mullan, B. (2010). Consumer food safety education for the domestic environment: A systematic review. *British Food Journal*, 112(9), 1003-1022.
- [19] Lando, A.M., Verrill, L., Liu, S., Smith, E. Branch, C.S. (2016). 2016 FDA Food Safety Survey, available at: <https://www.fda.gov/media/101366/download> (accessed 17 May 2020)
- [20] Okour, A.M., Alzein, E., Saadeh, R., Alfaqih, M. (2020). Food safety knowledge among Jordanians: A national study. *Food Control*, 107216.
- [21] Walker, E., Pritchard, C., Forsythe, S. (2003). Food handlers' hygiene knowledge in small food businesses. *Food Control*, 14(5), 339-343.
- [22] Bas, M., Ersun, A.S., Kivanc, G. (2006). The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. *Food Control*, 17(4), 317-322.
- [23] Tokuc, B., Ekuklu, G., Berberoglu, U., Bilge, E., Dedeler, H. (2009). Knowledge, attitudes and self-reported practices of food service staff regarding food hygiene in Edirne, Turkey. *Food Control*, 20(6), 565-568.
- [24] Abdul-Mutalib, N.A., Abdul-Rashid, M.F., Mustafa, S., Amin-Nordin, S., Hamat, R.A., Osman, M. (2012). Knowledge, attitude and practices regarding food hygiene and sanitation of food handlers in Kuala Pilah, Malaysia. *Food Control*, 27(2), 289-293.
- [25] Sani, N.A., Siow, O.N. (2014). Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the Universiti Kebangsaan Malaysia. *Food Control*, 37, 210-217.
- [26] Moreb, N.A., Priyadarshini, A., Jaiswal, A.K. (2017). Knowledge of food safety and food handling practices amongst food handlers in the Republic of Ireland. *Food Control*, 80, 341-349.
- [27] Osaili, T.M., Obeidat, B.A., Hajeer, W.A., Al-Nabulsi, A.A. (2017). Food safety knowledge among food service staff in hospitals in Jordan, *Food Control*, 78, 279-285.
- [28] Unusan, N. (2007). Consumer food safety knowledge and practices in the home in Turkey. *Food Control*, 18(1), 45-51.
- [29] Sanlier, N. (2009). The knowledge and practice of food safety by young and adult consumers. *Food Control*, 20(6), 538-542.
- [30] Kennedy, J., Gibney, S., Nolan, A., O'Brien, S., McMahon, M.A.S., McDowell, D., Fanning, S., Wall, P.G. (2011). Identification of critical points during domestic food preparation: an observational study. *British Food Journal*, 113(6), 766-783.
- [31] Langiano, E., Ferrara, M., Lanni, L., Viscardi, V., Abbatecola, A.M., De Vito, E. (2012). Food safety at home: knowledge and practices of consumers, *Journal of Public Health*, 20(1), 47-57.
- [32] Farahat, M.F., El-Shafie, M.M., Waly, M.I. (2015). Food safety knowledge and practices among Saudi women. *Food Control*, 47, 427-435.
- [33] Cheng, L., Jiang, S., Zhang, S., You, H., Zhang, J., Zhou, Z., Xiao, Y., Liu, X., Du, Y., Li, J., Wang, X., Xin, Y., Zheng, Y., Shang, K. (2016). Consumers' behaviors and concerns on fresh vegetable purchase and safety in Beijing urban areas, China. *Food Control*, 16, 101-109.
- [34] Liu, A., Niyongira, R. (2017). Chinese consumers food purchasing behaviors and awareness of food safety. *Food Control*, 79, 185-191.
- [35] Odeyemi, O.A., Sani, N.A., Obadina, A.O., Saba, C.K.S., Bamidele, F.A., Abughoush, M., Aberoumand, A. (2019). Food safety knowledge, attitudes and practices among consumers in developing countries: An international survey. *Food Research International*, 16, 1386-1390.
- [36] Ozilgen, S. (2011). Food safety education makes the difference: food safety perceptions, knowledge, attitudes and practices among Turkish university students. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(11), 25-34.

- [37] Lazou, T., Georgiadis, M., Pentieva, K., McKeivitt, A., Iossifidou, E. (2012). Food safety knowledge and food-handling practices of Greek university students: A questionnaire-based survey. *Food Control*, 28(2), 400-411.
- [38] Ovca, A., Jevšnik, M., Raspor, P. (2014). Food safety awareness, knowledge and practices among students in Slovenia. *Food Control*, 42, 144-151.
- [39] Hassan, H.F., Dimassi, H. (2014). Food safety and handling knowledge and practices of Lebanese university students. *Food Control*, 40, 127-133.
- [40] Marklinder, I., Ahlgren, R., Blücher, A., Börjesson, S.M.E., Hellkvist, F., Moazzami, M., Schelin, J., Zetterström, E., Eskhult, G., Tham Danielsson, M.L. (2020). Food safety knowledge, sources thereof and self-reported behaviour among university students in Sweden. *Food Control*, 113, 107130.
- [41] Altekruse, S.F., Street, D.A., Fein, S.B., Levy, A.S. (1996). Consumer knowledge of foodborne microbial hazards and food-handling practices. *Journal of Food Protection*, 59(3), 287-294.
- [42] Donelan, A.K., Chambers, D.H., Chambers, E., Godwin, S.L., Cates, S.C. (2016). Consumer poultry handling behavior in the grocery store and in-home storage. *Journal of Food Protection*, 79(4), 582-588.
- [43] Hallman, W.K., Senger-Mersich, A. Godwin, S.L. (2015). Online purveyors of raw meat, poultry, and seafood products: delivery policies and available consumer food safety information. *Food Protection Trends*, 35, 80-88.
- [44] Katiyo, W., de Kock, H.L., Coorey, R., Buys, E.M. (2019). Assessment of safety risks associated with handling chicken as based on practices and knowledge of a group of South African consumers. *Food Control*, 101, 104-111.
- [45] Turkish Statistical Institute (2019). Address Based Population Registration System (ABPRS), available at: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=95&locale=tr> (accessed 20 May 2020)
- [46] Bhatnagar, R., Kim, J., Many, J.E. (2014). Candidate surveys on program evaluation: Examining instrument reliability, validity and program effectiveness. *American Journal of Educational Research*, 2(8), 683-690.
- [47] Hair, J.F., Black, W.C., Babin, B.J., Anderson, R.E., Tatham, R.L. (2013). *Multivariate Data Analysis*. Pearson Education, London.
- [48] Acikel, C.H., Kilic, K. (2004). Method selection for medical researches. *Turkish Armed Forces Preventive Medicine Bulletin*, 3(7), 162-163.
- [49] Alonso-Herhanndo, A., Alonso Calleja, C., Capita, R. (2013). Effectiveness of several chemical decontamination treatments against Gram-negative bacteria on poultry during storage under different simulated cold chain disruptions. *Food Control*, 34(2), 574-580.
- [50] Gong, S., Wang, X., Yang, Y., Bai, L. (2016). Knowledge of food safety and handling in households: A survey of food handlers in Mainland China. *Food Control*, 64, 45-53.
- [51] Hessel, C.T., de Oliveira Elias, S., Pessoa, J.P., Zanin, L.M., Stedefeldt, E. Tondo, E. C. (2019). Food safety behavior and handling practices during purchase, preparation, storage and consumption of chicken meat and eggs. *Food Research International*, 125, 108631.
- [52] FSIS (US Food Safety and Inspection Service). (2013). Be smart. Keep foods apart. Don't cross-contaminate, available at: [https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/be-smart-keep-foods-apart/ct\\_index](https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/be-smart-keep-foods-apart/ct_index) (accessed 20 May 2020)
- [53] Limbo, S., Torri, L., Sinelli, N., Franzetti, L., Casiraghi, E. (2010). Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Science*, 84(1), 129-136.
- [54] Jaber, R., Kaban, G., Kaya, M. (2019). Effects of vacuum and high-oxygen modified atmosphere packaging on physico-chemical and microbiological properties of minced water buffalo meat. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(3), 421.
- [55] Hall-Phillips, A., Shah, P. (2017). Unclarity confusion and expiration date labels in the United States: A consumer perspective. *Journal of Retailing and Consumer Services*, 35, 118-126.
- [56] Behrens, J.H., Barcellos, M. N., Frewer, L.J., Nunes, T.P., Franco, B.D., Destro, M.T., Landgraf, M. (2010). Consumer purchase habits and views on food safety: A Brazilian study. *Food control*, 21(7), 963-969.
- [57] DAFF (2020). Food preparation and home food safety (2002), available at: <http://www.daff.gov.za/docs/Infopaks/FoodPrep.pdf> (accessed 20 May 2020)
- [58] Kennedy, J., Jackson, V., Blair, I.S., McDowell, D.A., Cowan, C., Bolton, D.J. (2005). Food safety knowledge of consumers and the microbiological and temperature status of their refrigerators. *Journal of Food Protection*, 68(7), 1421-1430.
- [59] Paster, T. (2007). *The HACCP Food Safety Training Manual*. John Wiley & Sons, New Jersey.
- [60] Murray, R., Glass-Kaaster, S., Gardhouse, C., Marshall, B., Ciampa, N., Franklin, K., Nesbitt, A. (2017). Canadian consumer food safety practices and knowledge: Foodbook study. *Journal of Food Protection*, 80(1), 1711-1718.
- [61] Al-Shabib, N.A., Mosilhey, S.H., Husain, F.M. (2016). Cross-sectional study on food safety knowledge, attitude and practices of male food handlers employed in restaurants of King Saud University. Saudi Arabia, *Food Control*, 59, 212-217.
- [62] Coorey, R., Ng, D.S.H., Jayamanne, V.S., Buys, E.M., Munyard, S., Mousley, C.J., Dykes, G.A. (2018). The impact of cooling rate on the safety of food products as affected by food containers. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 827-840.
- [63] USDA-FSIS (2014), Chicken from farm to table, available at: [https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/ad74bb8d-1dab-49c1-b05e-390a74ba7471/Chicken\\_from\\_Farm\\_to\\_Table.pdf?MOD=AJPERES](https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/ad74bb8d-1dab-49c1-b05e-390a74ba7471/Chicken_from_Farm_to_Table.pdf?MOD=AJPERES) (accessed 15 May 2020)

- [64] Koutsoumanis, K., Taoukis, P. S. (2005). Meat safety refrigerated storage and transport: modeling and management. In *Improving the Safety of Fresh Meat*, Edited by J.N. Sofos Woodhead Publishing, Cambridge, 503-561p.
- [65] Tuncer, B., Sireli, U.T. (2008). Microbial growth on broiler carcasses stored at different temperatures after air-or water-chilling. *Poultry Science*, 87(4), 793-799.
- [66] Burke, T., Young, I., Papadopoulos, A. (2016). Assessing food safety knowledge and preferred information sources among 19–29-year-olds. *Food Control*, 69, 83-89.
- [67] Abbot, J.M., Byrd-Bredbenner, C., Schaffner, D., Bruhn, C.M., Blalock, L. (2009) Comparison of food safety cognitions and self-reported food-handling behaviors with observed food safety behaviors of young adults. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(4), 572-579.
- [68] Uggioni, P.L., Salay, E. (2012). Consumer knowledge concerning safe handling practices to prevent microbiological contamination in commercial restaurants and socio-demographic characteristics, Campinas/SP/Brazil. *Food Control*, 26(2), 331-336.
- [69] Stein, S.E., Dirks, B.P., Quinlan, J.J. (2010). Assessing and addressing safe food handling knowledge, attitudes, and behaviors of college undergraduates. *Journal of Food Science Education*, 9(2), 47-52.
- [70] Medeiros, L.C., Hillers, V.N., Kendall, P.A., Mason, A. (2001). Food safety education: what should we be teaching to consumers? *Journal of Nutrition Education*, 33(2), 108-113.
- [71] Roccato, A., Uyttendaele, M., Cibin, V., Barrucci, F., Cappa, V., Zavagnin, P., Ricci, A. (2015). Effects of domestic storage and thawing practices on Salmonella in poultry-based meat preparations. *Journal of Food Protection*, 78(12), 2117-2125.
- [72] Nesbitt, A., Majowicz, S., Finley, R., Marshall, B., Pollari, F., Sargeant, J. Sittler, N. (2009). High-risk food consumption and food safety practices in a Canadian community. *Journal of Food Protection*, 72(12), 2575-2586.
- [73] Todd, E.C., Greig, J.D., Bartleson, C.A. Michaels, B.S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 2. Description of outbreaks by size, severity, and settings. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1975-1993.
- [74] Montville, R., Chen, Y., Schaffner, D.W. (2001). Glove barriers to bacterial cross-contamination between hands to food. *Journal of Food Protection*, 64(6), 845-849.
- [75] Jay, L.S., Comar, D., Govenlock, L.D. (1999). A national Australian food safety telephone survey. *Journal of Food Protection*, 62(8), 921-928.
- [76] Byrd-Bredbenner, C., Berning, J., Martin-Biggers, J., Quick, V. (2013). Food safety in home kitchens: a synthesis of the literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(9), 4060-4085.
- [77] Johannesson, J., Rothenberg, E., Dahlin Ivanoff, S., Slinde, F. (2016). Gender differences in practice: knowledge and attitudes regarding food habits and meal patterns among community dwelling older adults. *Journal of Aging Research & Clinical Practice*, 5(4), 220-228.
- [78] Alqurashi, N.A., Priyadarshini, A., Jaiswal, A.K. (2019). Evaluating Food Safety Knowledge Practices among Foodservice Staff in Al Madinah Hospitals, Saudi Arabia. *Safety*, 5(1), 9.
- [79] Kwon, J., Wilson, A.N., Bednar, C., Kennon, L. (2008). Food safety knowledge and behaviors of women, infant, and children (WIC) program participants in the United States. *Journal of Food Protection*, 71(8), 1651-1658.
- 
-

## Detection of Norovirus, Rotavirus and Astrovirus Antigens in Hand Swabs and Stool Specimens of Employees in Dairy Processing Plants

Hatice Aydoğan<sup>1</sup> , Oguz Gursoy<sup>2</sup>  ✉, Mehmet Kale<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Vocational School of Food, Agriculture and Livestock, Department of Food Processing, Division of Food Quality Control and Food Analysis, TR-15030 Burdur, Turkey

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering, TR-15030 Burdur, Turkey

<sup>3</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, TR-15030 Burdur, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 16.09.2021, Accepted (Kabul Tarihi): 11.12.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com) (O. Gursoy)

☎ +90 248 213 27 23 📠 +90 248 213 27 04

### ABSTRACT

In this study, swab and stool samples were obtained from employees (n=47) working in five dairy processing plants located in Burdur province (Turkey) and the district of Bucak to determine the prevalence of norovirus (NoV), rotavirus (RoV) and astrovirus (AsV) antigens by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Swab samples were obtained from both hands (palm, upper part, sides of fingers and fingernail tips) of employees. In a questionnaire, participants were asked to provide information regarding their gender, age, education level, smoking status, hygiene education status, habits of glove use during working as well as whether they had had digestive problems such as diarrhea, vomiting and abdominal pain in the period of study. Results of the stool analyses indicated that NoV antigen was present in an employee of a dairy processing plant, which was not participated in any hygiene education. AsV and RoV antigens were absent in swab and stool samples of employees. According to results of the questionnaire, 42 of the 47 employees frequently used gloves while 4 employees used gloves rarely. It was determined that 7 of 47 staff was not in participated any hygiene education, and one of those 7 staff did not use gloves during working. It can be concluded that hygiene in the working environment and personnel in these dairy processing plants were sufficient and appropriate from viral perspective. However, detection of NoV antigen in stool sample of a staff of a dairy processing plant shows that there is high viral contamination potential for employees of dairy processing plants. Thus, hygiene education in food processing plants including dairy plants to prevent possible viral infections and outbreaks and prevent to loss of workforce is extremely important.

**Keywords:** Norovirus, Rotavirus, Astrovirus, ELISA, Dairy plant

### Süt İşletmeleri Çalışanlarının El ve Gaita Örneklerinde Astrovirüs, Norovirüs ve Rotavirüs Antijenlerinin Belirlenmesi

#### Öz

Bu çalışmada Burdur il merkezi ve Bucak ilçesindeki 5 farklı süt ve süt ürünleri işletmesinin üretim bölümünde çalışan 47 personelin ellerinden (el ayası, el üstü, el parmak araları ve el tırnak uçları) alınan swap örneklerinde ve gaitalarında norovirüs (NoV), rotavirüs (RoV) ve astrovirüs (AsV), antijenlerinin varlığının enzim bağlı immünosorbent analizi (ELISA) ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca araştırmaya katılan personelin yaş, eğitim düzeyi, sigara içme durumu, hijyen eğitimi alıp almadıkları ve eldiven kullanımı ile ilgili bilgiler ile çalışmanın yapıldığı dönemde ishal, kusma ve karın ağrısı gibi sindirim sistemi semptomları olup olmadığı anket ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda 1 personelin gaitasında NoV antijeni tespit edilirken incelenen diğer el swap örnekleri ile gaita örneklerinde AsV, NoV ve RoV virüs antijenlerine

rastlanmamıştır. Yapılan anket çalışmasında çalışan 47 personelden 42'sinin sıklıkla, 4'ünün de nadiren eldiven kullandığı belirlenmiştir. Çalışmaya katılan 47 personelden 7'sinin hijyen eğitimi almadığı, hijyen eğitimi almayanlardan 1 kişinin de eldiven kullanmadığı tespit edilmiştir. Yine gaitasında NoV antijeni tespit edilen personelin hijyen eğitimi almadığı görülmüştür. Sonuç olarak, çalışma kapsamında olan gıda işletmelerinde çalışan personel ile çalışma ortamlarının virolojik açıdan hijyenik koşullar bakımından uygun ve yeterli olduğu söylenebilir. Ancak bir işletme çalışanın gaitasında NoV antijeninin tespit edilmesi işletme personeline ve personelin üretim zincirinde özellikle ambalajlama sırasında temas ettiği gıda maddelerine viral bulaşma potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu nedenle gıda işletmelerinde hijyen eğitimi muhtemel enfeksiyon ve salgınların önlenmesi ve iş gücü kayıplarının engellenmesi açısından son derece önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Norovirüs, Rotavirüs, Astrovirüs, ELISA, Süt işletmesi

## INTRODUCTION

Viral diseases such as gastroenteritis pose a significant burden to workplaces due to reduced productivity, increased absenteeism and increased healthcare costs [1]. Viral agents are the leading cause of non-bacterial gastroenteritis in almost all age groups worldwide [2, 3]. Viruses, one of the most important factors of gastroenteritis [4], spread as a result of poor hygiene conditions, contaminated food or drinking water, or person-to-person transmission [5]. Noroviruses (NoVs), rotaviruses (RoVs) and astroviruses (AsVs) are shown as the most important agents of viral gastroenteritis [6-8].

NoVs are the most important human foodborne pathogens in Europe and worldwide due to the number of outbreaks and affected people [9]. It is estimated that NoVs are responsible for more than 65% of all gastroenteritis outbreaks in industrialized countries [4]. NoVs can be found in the stool for 28 days ( $10^4$  viral copies / g stool) after illness, and it is important in epidemics [10]. Epidemiological importance of RoV and AsV infections are also growing globally [11]. Food handlers are considered main contributors in the spread of viruses in foodborne outbreaks or person-to-person transmitted outbreaks [9, 12].

There are some main elements that distinguish foodborne viral infections from foodborne bacterial infections and make it difficult to combat with viral infections. Only a few virus particles (as low as 10-100 virus particles) are sufficient to cause disease in humans [11, 13, 14]. Also high number of viral particles spread through the feces of infected people and foodborne viruses are highly resistant to environmental factors in environments outside the host [3, 13]. Enteric viruses are present in the feces of infected persons in high concentrations, and up to  $10^{11}$  particles per g of feces are shed in the stools of patients with acute diarrhea [13, 15], while more than  $10^7$  particles can release by a single vomiting during the viral infection [15].

Foods that are important for foodborne viral infections and epidemics are shellfish (especially oysters), fruit juices [16, 17], fruit and vegetables (lettuce, tomato, raspberry), cold-stored foods [3, 16, 18], desserts, salads, sandwiches [19] and bakery products [13]. Foodborne viral contamination is caused by the consumption of contaminated food, and contamination in food occurs by contamination by infected personnel working in production, or by cross contamination before

the products are transported to markets. Cross-contamination occurs as a result of the virus contaminating food from personnel's hands, tools, equipment, and food contact surfaces [20]. In addition, it should be kept in mind that viral contamination of foods can occur at all stages of the food chain from field to fork [19].

Dairy foods are not in the main foodstuffs considered to be at risk for the transmission of viruses to humans. However, almost any foodstuff handled by infected persons working in the food industry can lead to viral infections or outbreaks. To the best of our knowledge, this is the first study to evaluate potential of viral contamination risk of dairy foods and employees of infected personnel in the dairy plants. For this purpose, swab and stool samples were obtained from forty-seven employees working in five dairy plants to determine the prevalence of NoV, RoV and AsV antigens by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique.

## MATERIALS and METHODS

### Swab and Fecal Samples

Hand swabs and fecal samples were collected from 47 employees (ages among 20 to 59, 4 women and 43 man), which working in five dairy processing plants producing dairy products [set yogurt, stirred yoghurt, ayran (yogurt drink), white cheese, kashar cheese, processed cheese and butter] located in Burdur province and the district of Bucak (Turkey), to determine the prevalence of virus antigens. Hands of staff working on production lines were swabbed with a sterile cotton swap (plastic/cotton dipped, Firat Plastik Kaucuk San. ve Tic. A.S., Sincan, Ankara) moistened by dipping into sample dilution buffer in a horizontal, vertical and diagonal direction five times each [3]. Swab samples were obtained from both hands (palm, upper part, sides of fingers and fingernail tips) of employees. The swab was turned to expose the whole swab during movement on the hands. Swaps removed from tubes after vortexing for 1-2 minutes. The cotton section of the swaps was cut with sterile scissors and the cut section was placed in a sterile Eppendorf tube. Then, the dilution buffer remaining in the swap tube was transferred to the Eppendorf tube. The tube was vortexed for 2 minutes and then centrifuged at 400 rpm for 5 minutes with a microcentrifuge (WiseSpin, CF-10, Daihan, Korea). Then the supernatant liquid (approximately 1000  $\mu$ L) was transferred to the new



sterile Eppendorf tube and stored at -20°C until enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA).

Fecal samples (about 100 mg) were collected using sterile feces containers from all employees and transferred to the laboratory under cold chain. Samples were transferred to Eppendorf tubes containing dilution buffer (1000 µL) and vortexed for 2 minutes to obtain a homogenous mixture. Then samples were centrifuged with a microcentrifuge (WiseSpin, CF-10, Daihan, Korea) for 5 minutes at 400 rpm. The supernatant was transferred to new Eppendorf tubes and stored at -20°C until ELISA analyses.

In the questionnaire conducted during the collection of swap and fecal samples, participants were asked to provide information regarding their gender, age, education level, smoking status, hygiene education status, habits of glove use during working as well as whether they had digestive problems such as diarrhea, vomiting and abdominal pain in the period of study.

### NoV, RoV and AsV Screening by ELISA

The Ridascreen kits for detection of NoV, RoV and AsV in stool specimens and swab samples (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany; Cat. No/Lot No: C1401/154641, C0901/12504E and C1301/15464E, respectively) were used. Test kits utilizes microwell strips coated with specific antibodies against antigens of several different genotypes of respective viruses. Assays were carried out according to manufacturer's instructions. Briefly, samples and controls (positive and negative) were pipetted into

the wells and then monoclonal antibodies was added into the wells. Mixed suspension was incubated at room temperature for 60 min. After washing the wells five times with 300 µL washing buffer, 100 µL of streptavidin-horseradish peroxidase were added. After 30 min incubation, the microwells were washed five times with 300 µL buffer solution. Substrate (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) was added to the microwells and incubated 15 min in the dark at room temperature. After incubation the reaction was stopped by adding stop solution (1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and the optical density (OD) was measured at 450 nm by using the ELISA reader (MR-96A, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., China).

Based on the OD values obtained in the ELISA microplate reader, the cut-off values were calculated to evaluate the positivity of each virus antigen. The equation used to calculate the cut-off value is given below [21].

$$\text{Cut-off value} = \text{OD value of negative control} + 0.15$$

Samples with OD values determined in the microplate reader (at 450 nm) more than 10% of the calculated cut-off value were evaluated as positive in terms of the presence of virus antigen [21].

### RESULTS and DISCUSSION

Number of participants from the five different dairy companies, smoking staff, hygiene trained staff and personnel using gloves in the dairy plants are given in Table 1.

Table 1. Number of participants, smoking staff, hygiene trained staff and personnel using gloves in the dairy processing plants

Dairy Plants	Participants	Smoking Staff	Hygiene Trained Staff	Personnel using gloves
1	14	10	11	13
2	10	4	10	10
3	8	5	8	8
4	8	5	5	8
5	7	4	6	7
Total	47	28	40	46

The educational level was low among the dairy employees. Most of the subjects were graduated (58%, 27 employees) from primary school according to the questionnaire survey. Percentage of subjects graduated from secondary school, high school, vocational school and university were 9% (4 employees), 23% (11 employees), 4% (2 employees) and 6% (3 employees), respectively. Eighty-nine percent of the personnel participating in the study (42 people, between the ages of 23-59) were men and 11% (5 people, between the ages of 20-45) were women.

It was determined that 42 person among the personnel included in the study frequently and 4 people rarely used gloves, 7 people did not receive hygiene training (Table 1), and 1 people among them, who did not receive hygiene training, did not use gloves at all. It has been observed that 2 personnel, who do not use gloves, are employees of production department and machine maintenance department. It was determined that one

person from the dairy products production department personnel, who received hygiene training, did not use gloves at all, and 3 people from the same department rarely used gloves. During the study period, it was understood from the responses of the relevant staff that 3 staff had complaints of diarrhea, 2 staff vomiting and 4 staff suffering from abdominal pain.

In the study, NoV antigen was detected in the stools of 1 personnel from 5 different dairy employees, and no AsV, NoV and RoV antigens were found in the stools of 46 personnel and in the hands of 47 personnel. According to the survey, it was determined that the person with NoV antigen in his stool was a 34-year-old male and a high school graduate, complaints of diarrhea, vomiting and abdominal pain were observed during the study period, the person smoked, did not receive hygiene training, and using gloves while working. The absence of virus antigens covered by the research in the hands of the personnel working in the enterprises indicates that the

personnel generally work within the scope of good hygiene practices. The rate of personnel using gloves in dairy processing plants was ~ 98% and the rate of hygiene training was 85% is in line with the study results. Although the employee with NoV antigen reported that he had complaints of diarrhea, vomiting and abdominal pain during the study period, continuing to work does not comply with personnel hygiene rules. Usually, primary cases of NoV infections originates from exposure to contaminated food or water, and spreads among persons in person-to-person contacts of primary cases [22]. Due to the low infectious dose of NoVs and the presence of large amounts of virus in feces and vomit, food made by a single food processor can cause major epidemics [23]. Because especially people with nausea, vomiting and diarrhea are at risk of contamination and they are carriers, it is not appropriate to work in the production area as a requirement of good hygiene practices. These people are required to inform managers about their diseases and symptoms [24]. One of the reasons why the person continues to work despite possible gastroenteritis symptoms may be the lack of hygiene training. Again, the fact that these personnel did not receive hygiene training indicates that other viruses that cause gastroenteritis after the NoV during the period of the study have a potential of contamination to other personnel working in the enterprise, surfaces contacted and dairy products. Because, even if the symptoms of the infection disappear from the viral agents, it continues to be discharged with stool for a while (for example, at least 3 weeks after the recovery of the NoV disease) [13].

Viruses contaminating milk cannot reproduce in milk, but they can survive for a long period of time. Viruses that can be transmitted to milk from dairy animals and cause infections in very low doses are inactivated by pasteurization of milk [25]. Milk can be a carrier for some enteric viruses [26]. Presence of human noroviruses in raw milks were also reported by Yavermanesh et al. [27]. However, the presence of some antiviral antibodies such as immunoglobulins (IgG) in milk protects the milk from being carrier [25]. Therefore, viral agents originating from milk and dairy products are mostly spread by cross-contamination (especially hand contact of people with products for various reasons during molding and packaging stages of cheeses and packaging of some traditional strained yoghurts) caused by personnel after pasteurization and also from surfaces where equipment-equipment and food come into contact after pasteurization or heat treatment.

In the literature, it is reported that viruses cannot be inactivated more than 3 logarithmic units (except for ultra-high temperature (UHT) process) with the methods used for microbial inactivation during food processing [13]. On the other hand, it has been determined in many studies that the main route of contamination of viruses to foods is infected people who come into contact with food [16, 19]. Prevention of viral infections can only be achieved by increasing hygiene and sanitation standards [13, 23, 28, 29]. For this, it is reported that it is extremely important to pay attention to hand hygiene [30], to use antiviral effective surface and hand disinfectants, and not to operate infected personnel in a certain period during and

after the infection since it is a possible source of contamination [28, 29].

## CONCLUSION

The detection of NoV antigen in the stool of a dairy worker shows that there is a high potential for viral contamination to other workers and to dairy products through this worker. As a result, it is important to provide personnel hygiene and hygienic working conditions in all food plants, including dairy plants, and to provide training for this in terms of preventing viral-induced food infections and related labor losses.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Dr. Hasbi Sait Saltık for his technical contributions during laboratory analyses. This article was produced from the Master's Thesis prepared by Hatice Aydoğan under the supervisions of Dr. O. GURSOY and Dr. M. KALE. This research was supported by Coordinatorship of Scientific Research Projects of Burdur Mehmet Akif Ersoy University (Project Number: 0268-YL-15).

## REFERENCES

- [1] Reynolds, K.A., Beamer, P.I., Plotkin, K.R., Sifuentes, L.Y., Koenig, D.W., Gerba, C.P. (2015). The healthy workplace project: Reduced viral exposure in an office setting. *Archives of Environmental and Occupational Health*, 71(3), 157-162.
- [2] De Bruin, E., Duizer, E., Vennema, H., Koopmans, M.P.G. (2006). Diagnosis of Norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 137, 259-264.
- [3] Scherer, K., Made, D., Ellerbrock, L., Schulenburg, J., Johne, R., Klein, G. (2009). Application of a swab sampling method for the detection of norovirus and rotavirus on artificially contaminated food and environmental surfaces. *Food and Environmental Virology*, 1, 42-49.
- [4] Clark, B., McKendrick, M. (2004). A review of viral gastroenteritis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17, 461-469.
- [5] WHO (2021). Health topics: Diarrhoea. <http://www.who.int/topics/diarrhoea/en/> (Accessed: 02.05.2021).
- [6] Van Maarseveen, N.M., Wessels, E., de Brouwer, C.S., Vossen, A.C.T.M., Claas, E.C.J. (2010). Diagnosis of viral gastroenteritis by simultaneous detection of Adenovirus group F, Astrovirus, Rotavirus group A, Norovirus genogroups I and II, and Sapovirus in two internally controlled multiplex real-time PCR assays. *Journal of Clinical Virology*, 49, 205-210.
- [7] Jain, P., Jain, A. (2013). Waterborne viral gastroenteritis: an introduction to common agents. *Water and Health*, 26, 53-74.
- [8] Amaral, M.S.C., Estevam, G. K., Penatti, M., Lafontaine, R., Lima, I. C. G., Spada, P. K. P., Gabbay, Y.B., Matos, N.B. (2015). The prevalence of

- norovirus, astrovirus and adenovirus infections among hospitalised children with acute gastroenteritis in Porto Velho, state of Rondônia, western Brazilian Amazon. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(2), 215–221.
- [9] Vasickova, P., Dvorska, L., Lorencova, A., Palvic, I. (2005). Viruses as a cause of foodborne diseases: A review of the literature. *Veterinari Medicina*, 50, 89-104.
- [10] Tu, E. T.-V., Bull, R. A., Kim, M.-J., McIver, C. J., Heron, L., Rawlinson, W.D., White, P.A. (2008). Norovirus excretion in an aged-care setting. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 2119–2121.
- [11] Kim, A.-N., Park, S.Y., Bae, S.-C., Oh, M.-H., Ha, S.-D. (2014). Survival of norovirus surrogate on various food-contact surfaces. *Food and Environmental Virology*, 6, 182-188.
- [12] Sabrià, A., Pintó, R. M., Bosch, A., Bartolomé, R., Cornejo, T., Torner, N., Martínez, A., de Simon, M., Dominguez, A., Guix, S. (2016). Norovirus shedding among food and healthcare workers exposed to the virus in outbreak settings. *Journal of Clinical Virology*, 82, 119–125.
- [13] Koopmans, M., Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 23-41.
- [14] Thornton, A.C., Jennings-Conklin, K.S., McCormick, M.I. (2004). Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis. *Disaster Management Response*, 2, 4-9.
- [15] Radin, D. (2014). New trends in food- and waterborne viral outbreaks. *Archives of Biological Sciences*, 66, 1-9.
- [16] Hedberg, C.W., Osterholm, M.T. (1993). Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clinical Microbiology Reviews*, 6, 199-210.
- [17] Fleet, H.G., Heiskanen, P., Reid, I., Buckle, K.A. (2000). Foodborne viral illness-status in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 127-136.
- [18] Loutreul, J., Cazeaux, C., Levert, D., Nicolas, A., Vautier, S., Sauvage, A.L.L., Perelle, S., Morin, T. (2014). Prevalence of human noroviruses in frozen marketed shellfish, red fruits and fresh vegetables. *Food and Environmental Virology*, 6, 157-168.
- [19] Koopmans, M., Bonsdorff, C.-H. V., Vinjé, J., Medici, D., Monroe, S. (2002). Foodborne viruses. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 187-205.
- [20] Todd, E.C., Greig, J.D., Bartleson, C.A. Michaels, B.S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. *Journal of Food Protection*, 70, 2199-2217.
- [21] Anonymous (2021). Ridascreen Astrovirus (C1301) Instructions Document, R-Biofarm AG, Darmstadt, Germany.
- [22] Becker, K.M., Moe, C.L., Southwick, K.L., MacCormack, J.N. (2000). Transmission of Norwalk virus during football game. *The New England Journal of Medicine* 343, 1223-1227.
- [23] Patel, M.M., Hall, A.J., Vinjé, J., Parashar, U.D. (2009). Noroviruses: a comprehensive review. *Journal of Clinical Virology*, 44, 1-8.
- [24] ASUD (2010). Milk and Dairy Products Good Hygiene Practices Guide, Guide No: 7, Packaged Milk and Dairy Products Manufacturers Association (Turkey), www.asuder.org.tr (Accessed: 02.03.2021)
- [25] Hassan, A.N., Frank, J.F. (2011). *Microorganisms associated with milk*. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition. (Editor-in-Chief Fuquay J.W.) Academic Press, USA, pp. 447- 457.
- [26] Mortazavi, A., HabibiNajafi, M. B., Yavarmanesh, M., Barouei, J. (2008). Application of commercial immunoassay (ELISA) technique for determination of hepatitis A antigen (HAV) in raw milk. *Journal of Food Control*, 19, 551–556.
- [27] Yavarmanesh, M., Alum, A., Abbaszadegan, M. (2015). Occurrence of Noroviruses and their correlation with microbial indicators in raw milk. *Food and Environmental Virology*, 7, 232–238.
- [28] Uyar, Y., Çarhan, A., Özkaya, E., Ertek, M. (2008). Evaluation of laboratory diagnosis of the first norovirus outbreak in Turkey in 2008. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 42, 607-615 (in Turkish).
- [29] Dağcı Yaprak, Ş. (2011). Investigation of Norovirus Infections in Immunocompetant Adults and in Patients Receiving Immunosuppressive Therapy. MSc Thesis. Gaziantep University, Institute of Health Sciences, Department of Microbiology, Gaziantep, Turkey, 57p (in Turkish).
- [30] Papafragkou, E., D'Souza, D.H., Jaykus, L.-A. (2006). *Food-borne Viruses: Prevention and Control*. Virus in Foods, First Edition. (Ed. Goyal, S.M.), Springer, USA, pp. 289-330.

## Effect of Storage and Some Hydrocolloid Blends on Physicochemical, Textural and Sensory Characteristics of Keşkül, a Dairy Dessert

Selen Kadağan , Seher Arslan 

Pamukkale University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, TR-20070 Denizli, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 23.09.2021, Accepted (Kabul Tarihi): 27.12.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [sehera@pau.edu.tr](mailto:sehera@pau.edu.tr) (S.Arslan)

☎ +90 258 296 31 27 📠 +90 258 296 32 62

### ABSTRACT

In this study, the effect of different hydrocolloid combination and storage period on physicochemical, textural and sensory characteristics of keşkül, a dairy dessert, was determined. Guar gum-xanthan gum, carrageenan-guar gum and carrageenan-xanthan gum combinations were assessed as hydrocolloid combinations in keşkül production. Some physicochemical, textural, and sensory properties were determined on the days of 1, 5 and 10 of storage. Keşkül samples containing carrageenan had higher hardness and springiness values than the other samples at the end of storage. The highest water holding capacity was detected in keşkül samples with carrageenan and guar gum at the beginning of storage. Syneresis values of keşkül were determined between 18.65 and 28.49% during storage. The variation of storage period and different hydrocolloid combination on Hunter L, a and b values were insignificant ( $p>0.05$ ). Keşkül including a guar and carrageenan combination received the highest general appreciation score at the beginning of storage. The results indicated that hydrocolloid combination utilization in keşkül production has commercial potential in overcoming the problems related to physicochemical, textural and sensory properties.

**Keywords:** Dairy dessert, Hydrocolloid, Guar gum, Keşkül, Carrageenan, Xanthan gum

### Sütlü Bir Tatlı Keşkülün Fizikokimyasal, Tekstürel ve Duyusal Özellikleri Üzerine Depolamanın ve Bazı Hidrokolloid Karışımlarının Etkisi

#### ÖZ

Bu araştırmada farklı hidrokolloid kombinasyonları kullanımının keşkülün fizikokimyasal, tekstürel ve duyusal özellikleri üzerinde etkisi araştırılmıştır. Keşkül üretiminde hidrokolloid kombinasyonları olarak guar-ksantan gamı, karragenan-guar gamı ve karragenan-ksantan gamı kombinasyonları değerlendirilmiştir. Bazı fizikokimyasal, tekstürel ve duyusal özellikler depolamanın 1., 5. ve 10. günlerinde belirlenmiştir. Karragenan içeren keşkül örneklerinin depolamanın sonunda diğer örneklerle göre daha yüksek sertlik ve esneklik değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın başında en yüksek su tutma kapasitesi karragenan ve guar gamı içeren keşkül örneğinde tespit edilmiştir. Keşkülün saklama süresi boyunca sinerez değerleri %18.65 ile 28.49 arasında belirlenmiştir. Hunter L, a ve b değerlerinde depolama süresi ve farklı hidrokolloid kombinasyonlarının değişimi önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Guar ve karragenan kombinasyonunu içeren keşkül, depolama başlangıcında en yüksek genel beğeni puanını aldığı tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları, hidrokolloid kombinasyon kullanımının keşkül üretiminde fizikokimyasal, dokusal ve duyusal özelliklerle ilgili problemlerin önlenmesinde ticari potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sütlü tatlılar, Hidrokolloid; Guar gamı, Keşkül, Karragenan, Ksantan gamı

## INTRODUCTION

Dairy desserts containing milk components have a wide variety. The consumption of dairy desserts has increased significantly especially in recent years with the spread of varieties and types. The reason for this increase can be attributed to the reasons such as nutritional value and sensorial qualities of the products, their prevalence, easy accessibility and consumption in every environment [1].

There are various types of milk desserts with different characteristics. Rice pudding, kazandibi, keşkül, pudding and custard desserts are lovingly consumed in Turkey [2]. Keskül, a dairy dessert, is composed of almond, milk, rice flour, sugar and another ingredient [3].

Hydrocolloids are preferred due to their properties such as thickener in the food industry, gelling in liquid solutions, inhibiting the formation of ice and sugar crystals, and controlled release of flavor materials. They dissolve in water or swells and connects free water and increases viscosity [4]. The action of hydrocolloids varies greatly depending on the concentration and structure [5].

In the food industry, carrageenan is used as a gelling and thickener agent. There are varieties such as kappa, lambda and iota carrageenan according to the degree of sulfation [6]. Guar gum (GG) is non-ionic polysaccharide extracted from the two plants, *Cyamopsis tetragonolobus* and *Cyamopsis psoraloides* [7]. This gum is used as a thickener and stabilizer in the majority of food products. It is highly soluble in the liquid phase and can provide high viscosity [8]. Guar gum is a galactomannan and consists of D-mannose and D-galactose units [9]. Xanthan gum is an extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. It contains linear cellulosic backbone. There is  $\beta$ -D-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4) D-glucuronopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-6-O-acetyl- $\beta$ -D-mannopyranosyl in the side chains [7].

In the production of dairy products, hydrocolloids may be used alone or in mixtures of two or more hydrocolloids. Tárrega et al. [10] used a low and long chain inulin mixture in the production of low-fat prebiotic desserts. The researchers determined the influence of inulin blends on rheological and sensory features depending on the presence or absence of carrageenan in the prebiotic desserts. González-Tomás et al. [11] studied the effect of starch and carrageenan on rheological properties, aroma separation, density and perceived aroma in low-fat strawberry-flavored dairy dessert. Verbeken et al. [12] investigated the textural properties of puddings with  $\kappa$ -carrageenan and corn starch. The effects of stevia (*Stevia rebaudiana*) as a sweetener on keşkül production were determined by Özen et al. [13].

In this research, keşkül was manufactured by using different hydrocolloid combination. The changes in the physicochemical, textural, and sensory properties of dairy dessert were monitored on the 1, 5 and 10 days.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Pasteurized milk was obtained by Sumer Dairy Company. Vanilla, sugar, rice flour, salt, egg, almond, sugar, rice, salt used in keşkül production were purchased from a local market in Denizli, Turkey. Guar gum, carrageenan and xanthan gum were provided from Smart Chemistry and Consulting Limited Company (İzmir, Turkey).

### Keşkül Production

Recipe of keskul samples included milk (1 L), vanilla (5 g), sugar (250 g), rice flour (50 g), salt (1.5 g), egg (110 g), almond (100 g) and hydrocolloid combination. For the manufacture of keşkül, raw almonds were taken into a small pot, enough water was added to cover the almonds. Almonds were left to boil on the stove at medium heat. After waiting for 1-2 minutes at boiling temperature, excess water was removed. Roasted almonds were cooled with cold water and then their shells were peeled. This formulation was beaten egg yolk and milk. Then sugar was added into this mixture. This mixture was heated up to 40°C. Hydrocolloid and rice flour were dissolved in the pre-heated mixture in a separate bowl. Production was separated into 4 groups with respect to hydrocolloid-based types. The first group was a control dairy dessert without hydrocolloid. The second group was made using guar gum (0.5 g/L milk) and (xanthan gum 0.5 g/L milk). The third group was prepared by adding carrageenan (0.5 g/L milk) and guar (0.5 g/L milk). The fourth group was produced by adding carrageenan (0.5 g/L milk) and xanthan gum (0.5 g/L milk). When temperature of milk mixture was reached 80°C on a stove at medium heat, the hydrocolloid-rice flour solution was added into milk mixture. Boiling mixture was manually stirred constantly. After the mixture was boiled for 2-3 min, it was mixed with almond, vanilla, salt. Then keşkül was transferred into cups and cooled at room temperature [3]. Samples were stored in a refrigerator.

### Physicochemical Analysis

For syneresis analysis, about 10 g of samples were weighed in a centrifuge tube. Then samples were centrifugated by at 6300g for 30 min at 4°C [14].

Water holding capacity was measured according to Granato et al. [15]. A portion of sample was weighed in a centrifuge tube. After the tube was placed in centrifuge (Nüve 1200R, Ankara, Turkey), the tube was centrifuged by at 2767g for 40 minutes. A supernatant was removed, a pellet was weighed. Water holding capacity was established according to Equation 1.

Water holding capacity = Pellet weight \* 100 / Initial sample weight (1)

Hunter L (brightness, 100=white, 0=black), a (+, red; -, green) and b (+, yellow, - a, blue) values of sample were evaluated by using to Hunter Lab Mini Scan XE model (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, USA)

colorimeter. Samples were placed in a glass container. After the glass plate was placed to flatten the surface, the reading was taken at room temperature.

### Textural Analysis

Various textural properties were established by using Texture Analyzer (Brookfield CT3, Brookfield Engineering Laboratory, Middleboro, MA, USA) with a cylinder probe (12.7 mm diameter). This analysis was performed with using a 4.5 kg load cell and 12.7 mm diameter cylinder prob. Test speed and trigger force were assessed 2 mm/s and 0.05 N, respectively. Samples were compressed in two consecutive cycles [16].

### Sensory Analysis

Sensory properties of keşkül samples were evaluated by 30 panelists from Food Engineering Department of Pamukkale University (58% female, 42% male, aged from 19 to 45). Keşkül samples were graded for their appearance, color, taste, visual consistency and general acceptability using a 9 point hedonic scale (1=dislike extremely, 9=like extremely). Before each sample was tasted, the unsalted cracker and water were served [3,17].

### Statistical Analysis

Statistical analysis was evaluated using SPSS computer program for Windows, version 16 (SPSS Inc., Chicago,

IL, USA). The statistical data were shown as average  $\pm$  standard deviation (SD). The experimental production was carried out with replications. The effects of storage period and various formulation on the sensory, physical, and textural properties of samples were assessed by the general linear model. Statistically significant differences were established using Duncan Test at  $p < 0.05$  level.

## RESULTS and DISCUSSION

### Physicochemical Properties

Due to the water-binding property of hydrocolloids, they are also very effective in preventing syneresis, providing viscosity and / or providing a thicker, richer mouth feel [12]. Hydrocolloids have the ability to strengthen the gel structure by reacting with milk proteins [18].

Control keşkül sample had a lower water holding capacity value than that of other keşkül samples. The sample K2 (keşkül containing guar gum and carrageenan) had the highest water holding capacity at the beginning of storage period (Table 1). Water holding capacity values is related to serum syneresis. Syneresis, which is the removal of water from the structure of the food, is an undesirable property [19]. Syneresis varies depending on the factors affecting the polymer-polymer and water-polymer interactions, such as the level of heat treatment, type and amount of solids, pH, and salt additions [20].

Table 1. Physicochemical properties of keşkül during storage

Parameters	Storage Period (day)	Sample code			
		K	K1	K2	K3
Water holding capacity	1	74.76 $\pm$ 0.98 <sup>Ca</sup>	84.76 $\pm$ 0.63 <sup>Ab</sup>	87.74 $\pm$ 1.20 <sup>Bc</sup>	84.71 $\pm$ 0.59 <sup>Bb</sup>
	5	73.26 $\pm$ 0.64 <sup>Ba</sup>	84.74 $\pm$ 0.69 <sup>Ac</sup>	84.94 $\pm$ 0.13 <sup>Ac</sup>	80.60 $\pm$ 0.51 <sup>Ab</sup>
	10	71.79 $\pm$ 0.60 <sup>Aa</sup>	85.36 $\pm$ 0.85 <sup>Ac</sup>	84.18 $\pm$ 0.69 <sup>Ac</sup>	80.72 $\pm$ 1.28 <sup>Ab</sup>
Syneresis (%)	1	23.80 $\pm$ 0.38 <sup>Ac</sup>	21.77 $\pm$ 0.69 <sup>Bb</sup>	18.65 $\pm$ 0.75 <sup>Aa</sup>	18.80 $\pm$ 0.32 <sup>Aa</sup>
	5	25.95 $\pm$ 0.54 <sup>Bc</sup>	22.93 $\pm$ 0.72 <sup>Cb</sup>	20.33 $\pm$ 0.21 <sup>Ba</sup>	20.09 $\pm$ 0.56 <sup>Ba</sup>
	10	28.49 $\pm$ 0.49 <sup>Cb</sup>	19.52 $\pm$ 0.45 <sup>Aa</sup>	20.10 $\pm$ 0.83 <sup>Ba</sup>	19.74 $\pm$ 0.28 <sup>Ba</sup>
L	1	73.16 $\pm$ 0.96	68.89 $\pm$ 0.36	66.68 $\pm$ 1.51	71.11 $\pm$ 0.04
	5	72.62 $\pm$ 0.77	69.63 $\pm$ 0.91	68.53 $\pm$ 0.52	68.13 $\pm$ 1.71
	10	71.61 $\pm$ 0.87	69.75 $\pm$ 0.42	67.76 $\pm$ 2.15	68.07 $\pm$ 0.73
a	1	-0.35 $\pm$ 0.30	-0.64 $\pm$ 0.45	-0.78 $\pm$ 0.62	-0.72 $\pm$ 0.16
	5	-1.06 $\pm$ 0.81	-0.83 $\pm$ 0.04	-0.43 $\pm$ 0.01	-0.97 $\pm$ 0.34
	10	1.13 $\pm$ 0.80	-0.60 $\pm$ 0.42	-0.76 $\pm$ 0.55	-1.38 $\pm$ 0.25
b	1	13.99 $\pm$ 0.94	12.16 $\pm$ 0.49	12.08 $\pm$ 0.79	12.33 $\pm$ 0.54
	5	13.38 $\pm$ 1.35	12.65 $\pm$ 0.59	14.19 $\pm$ 0.17	11.61 $\pm$ 0.16
	10	12.63 $\pm$ 0.38	13.05 $\pm$ 0.27	13.11 $\pm$ 1.31	12.02 $\pm$ 0.41

K: Control sample; K1: keşkül including a guar gum and xanthan gum combination; K2, keşkül including a guar gum and carrageenan combination; K3, keşkül containing a carrageenan and xanthan gum combination. Means with different letters (A-C) within each parameter in the same column indicate statistical significance ( $p < 0.05$ ). Means with different letters (a-c) within each parameter in the same row indicate statistical significance ( $p < 0.05$ ).

Keşkül sample produced with guar gum-carrageenan combination had a lower syneresis value than other samples at the beginning of storage. The syneresis value of keşkül was affected by storage and different hydrocolloid combination. Moin et al. [19] reported that syneresis was not detected in puddings prepared with hydroxy propylated starches and native basmati starch. Dogan et al. [21] studied the creep-recovery properties of pudding samples prepared with 4 different gums

(carrageenan, alginate, guar and xanthan gum) and their combinations. They found that 59.5% carrageenan and 40.5% guar gum or 52.7% carrageenan, 33.8% guar gum and 13.5% xanthan gum could be appropriate suitable to prevent deformation of the pudding samples.

Color is another physicochemical property. Hunter L, a and b values weren't influenced significantly by storage period and different formulation ( $p > 0.05$ ). The Hunter L

value of samples ranged from 66.68 to 73.16. It has been determined that the samples had generally negative a value (green color). The b values of this study display positively values. The color values of vanilla dairy dessert prepared from different colorants and different hydrocolloids were measured by Tárrega and Costell [22].  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  ranges of their study were detected between 76.6-88.5, (-4.70)- (+6.8) and 30.4-41.00, respectively. Özen et al. [13] reported that the  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  ranges of keşkül production using stevia were 81.40-85.41, -3.361-4.955 and 17.915-22.631, respectively.

### Textural Properties

Rheological properties ensure the acceptability of dairy desserts.  $\kappa$ -Carrageenan is one of the hydrocolloids often used as a gelling agent in dairy desserts [23]. The effects of different formulation and storage period on textural properties were significant ( $p < 0.05$ ).

Texture is a quality criterion in which the structural, mechanical and surface properties of foods are determined by sight, hearing, touch and kinesthetic means. There is a close relationship between textural parameters and sensory parameters. Hardness is a

property related to the strength of the gel structure and the maximum force required to compress the food between the molar teeth [24]. Hardness is one of the most important textural properties that give information about the quality of dairy products and acceptability of the product [25].

The highest hardness and gumminess were determined sample K3 (carrageenan and xanthan gum) at the beginning of storage. The control sample had the highest springiness and gumminess values. The highest cohesiveness value was obtained for dessert with guar gum and xanthan gum on the 1<sup>st</sup> and 5<sup>th</sup> days of the storage period (Table 2). Samples prepared containing carrageenan had a higher hardness value compared with other samples. Carrageenan creates a thickening effect by interacting with the casein micelles in milk, and this effect in milk has an effect up to 10 times more than in water [26]. Szwajgier and Gustaw [27] found that the hardness and adhesiveness value of milk dessert prepared from different concentration malt were 0.16-0.34 N and 0.11-0.49 mJ. The hardness value of keşkül sample was in agreement with data obtained by and Zarzycki et al. [26] and Szwajgier and Gustaw [27].

Table 2. Textural properties of keşkül during storage period

Analysis	Storage Period (day)	Sample Code			
		K	K1	K2	K3
Hardness (N)	1	0.086±0.01 <sup>Aa</sup>	0.205±0.02 <sup>Bb</sup>	0.345±0.03 <sup>Bc</sup>	0.510±0.01 <sup>Bd</sup>
	5	0.089±0.01 <sup>Aa</sup>	0.218±0.01 <sup>Bc</sup>	0.245±0.04 <sup>Ac</sup>	0.165±0.02 <sup>Ab</sup>
	10	0.090±0.02 <sup>Aa</sup>	0.154±0.01 <sup>Aa</sup>	0.338±0.05 <sup>Bb</sup>	0.381±0.13 <sup>Bb</sup>
Springiness (mm)	1	7.16±0.40 <sup>Ba</sup>	12.26±0.77 <sup>Bb</sup>	12.56±0.40 <sup>Ab</sup>	12.76±0.15 <sup>Bb</sup>
	5	7.84±0.03 <sup>Ca</sup>	11.53±0.35 <sup>Bb</sup>	12.73±0.75 <sup>Ac</sup>	12.83±0.40 <sup>Bc</sup>
	10	5.64±0.26 <sup>Aa</sup>	9.60±0.60 <sup>Ab</sup>	11.86±0.74 <sup>Ad</sup>	10.86±0.06 <sup>Ac</sup>
Gumminess (N)	1	0.045±0.01 <sup>Ba</sup>	0.125±0.02 <sup>Cb</sup>	0.207±0.02 <sup>Bc</sup>	0.269±0.01 <sup>Cd</sup>
	5	0.058±0.01 <sup>Ca</sup>	0.098±0.01 <sup>Bb</sup>	0.106±0.01 <sup>Ab</sup>	0.217±0.01 <sup>Bc</sup>
	10	0.033±0.01 <sup>Aa</sup>	0.073±0.01 <sup>Ab</sup>	0.123±0.04 <sup>Ac</sup>	0.096±0.01 <sup>Abc</sup>
Cohesiveness	1	0.52±0.01 <sup>Ca</sup>	0.63±0.01 <sup>Bb</sup>	0.55±0.04 <sup>Ba</sup>	0.55±0.01 <sup>Ba</sup>
	5	0.49±0.01 <sup>Ba</sup>	0.58±0.04 <sup>Bb</sup>	0.52±0.01 <sup>Aa</sup>	0.51±0.01 <sup>Aa</sup>
	10	0.43±0.01 <sup>Aa</sup>	0.49±0.01 <sup>Ab</sup>	0.49±0.01 <sup>Ab</sup>	0.51±0.01 <sup>Ab</sup>

K: Control sample; K1: keşkül including a guar gum and xanthan gum combination; K2, keşkül including a guar gum and carrageenan combination; K3, keşkül containing a carrageenan and xanthan gum combination. Means with different letters (<sup>A-C</sup>) within each analysis in the same column indicate statistical significance ( $p < 0.05$ ). Means with different letters (<sup>a-d</sup>) within each analysis in the same row indicate statistical significance ( $p < 0.05$ ).

Wang et al. [28] reported that the hardness, chewiness, resilience and adhesiveness of  $\kappa$ -carrageenan gel increased with an increase of  $\kappa$ -carrageenan concentration. They determined that medium hardness, chewing and flexibility can be acquired by using 1.5 g/kg carrageenan-konjac gum mixture for milk pudding. Hardness, springiness, gumminess and cohesiveness values of keşkül varied in the ranges 0.086-0.510N, 5.64-12.83 mm, 0.033-0.269N and 0.43-0.63, respectively. Zarzycki et al. [26] found that the hardness, cohesiveness, gumminess and chewiness value of milk dessert were 0.320-0.557 N, 0.491-0.647, 20.1-30.23 N and 16.7-28.38 J. The textural properties of keşkül samples mostly decreased during storage period. In a study, Özen et al. [13] reported that the hardness, fracturability, adhesiveness, chewiness values in keşkül with stevia decreased on the 10<sup>th</sup> day of storage, while

resilience and cohesiveness increased when compared to the 1st day.

### Sensory Properties

The effects of storage period and different treatment on the sensory properties of samples were found to be significant in the present study ( $p < 0.05$ ). The highest color score was obtained for carrageenan-xanthan gum combination in keşkül production on the 5<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> days of storage. Control keşkül showed the lower taste score among all the keşkül samples at the beginning of storage (Table 3). Visual consistency of sample slightly decreased at the 5th day, it decreased significantly at the 10th day of storage. While the sensory scores of samples were over 7 at the beginning of storage, their sensory

scores were over 6 (except color scores of K2 coded sample) at the end of storage.

At the end of storage, sample using guar and carrageenan gum had the highest appearance score.

Keşkül produced with guar-xanthan gum combination exhibited the highest general acceptability score, followed by that produced with guar-carrageenan combination at the 5<sup>th</sup> day.

Table 3. Sensory properties of keşkül during storage period

Parameters	Storage period (day)	Sample code <sup>b</sup>			
		K	K1	K2	K3
Color	1	7.50±1.10 <sup>Ba</sup>	8.20±0.41 <sup>Cbc</sup>	8.00±0.64 <sup>Cb</sup>	8.50±0.68 <sup>Ac</sup>
	5	7.70±0.80 <sup>Ba</sup>	7.80±0.41 <sup>Ba</sup>	7.40±0.82 <sup>Ba</sup>	8.80±0.41 <sup>Ab</sup>
	10	6.45±0.82 <sup>Ab</sup>	6.60±0.68 <sup>Ab</sup>	5.80±0.76 <sup>Aa</sup>	8.80±0.41 <sup>Ac</sup>
Appearance	1	7.70±0.86 <sup>Ba</sup>	7.75±0.85 <sup>Bab</sup>	8.10±0.64 <sup>Cb</sup>	8.15±0.74 <sup>Bb</sup>
	5	7.35±0.74 <sup>Ba</sup>	7.50±0.68 <sup>Ba</sup>	7.30±0.92 <sup>Ba</sup>	7.70±0.80 <sup>Ba</sup>
	10	6.30±0.86 <sup>Aa</sup>	6.10±0.55 <sup>Aa</sup>	6.20±0.61 <sup>Aa</sup>	7.00±0.85 <sup>Ab</sup>
Taste	1	7.80±0.76 <sup>Ba</sup>	8.40±0.60 <sup>Bb</sup>	8.10±0.71 <sup>Cab</sup>	8.35±0.54 <sup>Bb</sup>
	5	7.40±0.60 <sup>Ba</sup>	8.10±0.71 <sup>Ab</sup>	7.40±0.68 <sup>Ba</sup>	8.00±0.79 <sup>Bb</sup>
	10	6.20±0.83 <sup>Aa</sup>	6.70±0.92 <sup>Aa</sup>	6.35±0.74 <sup>Aa</sup>	6.60±0.59 <sup>Aa</sup>
Visual Consistency	1	8.15±0.67 <sup>Ca</sup>	8.30±0.65 <sup>Bab</sup>	8.00±0.45 <sup>Ba</sup>	8.60±0.50 <sup>Cb</sup>
	5	7.90±0.55 <sup>Bb</sup>	8.10±0.71 <sup>Bb</sup>	7.70±0.65 <sup>Bb</sup>	7.25±0.55 <sup>Ba</sup>
	10	6.30±0.80 <sup>Aa</sup>	6.20±0.76 <sup>Aa</sup>	6.70±0.92 <sup>Aa</sup>	6.15±0.87 <sup>Aa</sup>
General Appreciation	1	7.85±0.67 <sup>Ca</sup>	8.30±0.65 <sup>Cbc</sup>	8.50±0.51 <sup>Cc</sup>	8.05±0.60 <sup>Cab</sup>
	5	6.85±0.93 <sup>Ba</sup>	7.75±0.44 <sup>Bc</sup>	7.40±0.50 <sup>Bbc</sup>	7.15±0.87 <sup>Bab</sup>
	10	6.00±0.79 <sup>Aa</sup>	6.00±0.65 <sup>Aa</sup>	6.00±0.65 <sup>Aa</sup>	6.05±0.99 <sup>Aa</sup>

K: Control sample; K1: keşkül including a guar gum and xanthan gum combination; K2, keşkül including a guar gum and carrageenan combination; K3, keşkül containing a carrageenan and xanthan gum combination. Means with different letters (A-C) within each parameter in the same column indicate statistical significance ( $p < 0.05$ ). Means with different letters (a-c) within each parameter in the same row indicate statistical significance ( $p < 0.05$ ).

General acceptability of samples was similar at the end of storage. General acceptability of sample without hydrocolloid was lower than that of samples with hydrocolloid. Consistent with the present study results, Krasaekoopt and Cabraal [29] reported that sensory features of fermented whey beverage were positively influenced by using hydrocolloid. Rezaei et al. [30] found that guar and arabic gum had a significant impact on sensory parameters (flavor, texture and acceptability) of frozen yoghurt.

## CONCLUSION

The use of hydrocolloid combination caused a significantly rise in water holding capacity of the keşkül samples, but reduced their syneresis value. The keşkül samples containing carrageenan (K2 and K3) had a higher springiness value on the 5<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> days of storage. The highest scores were given to samples with carrageenan and xanthan gum combination for hardness and gumminess value at the beginning of the storage period. The samples had generally negative color a value (green color) and positive color b (yellowness) value. The lowest general acceptability score was evaluated at the control sample through storage period.

## FUNDING and ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Research Unit of Pamukkale University (2010FBE008 and 2017KRM002-383). A small section of the current study was presented at the "International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies" on May 15–17 2017 as an oral presentation.

## CONFLICTS of INTEREST

The authors declare no conflict of interest.


## REFERENCES

- [1] Öksüztepe, G., Şahan-Güran, H., İncili, G.K. (2013). Microbiological quality of some milk-containing desserts sold in Elazığ (Elazığ'da satışı sunulan bazı sütü tatlıların mikrobiyolojik kalitesi). *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 27, 19-24.
- [2] Akpınar-Beyazıt, A., Özcan, T., Yılmaz- Ersan, L. (2009). Milk-based traditional Turkish desserts. *Mljekarstvo*, 59(4), 349-355.
- [3] Kadağan, S. (2015). Sütlaç, keşkül ve kazandibi üretiminde hidrokolloid kullanımı (tr). Utilization of various hydrocolloids in the production of sutlaç, keshkul and kazandibi. Master thesis, Pamukkale University, Denizli.
- [4] Goff, H.D., Guo, Q. (2019). The Role of Hydrocolloids in the Development of Food Structure. In: Handbook of Food Structure Development. Edited by F. Spyropoulos, A. Lazidis, I. Norton. The Royal Society of Chemistry; Cambridge, p. 1-28.
- [5] Shrivastava, M., Yadav, R.B., Yadav, B.S., Dangi, N. (2018). Effect of incorporation of hydrocolloids on the physicochemical, pasting and rheological properties of colocasia starch. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 1177-1185.
- [6] Duran, N.M., Galante, M., Spelzini, D., Boeris, V. (2018). The effect of carrageenan on the acid-induced aggregation and gelation conditions of quinoa proteins. *Food Research International*, 107, 683-690.



- [7] Bak, J.H., Yoo, B. (2018). Effect of CMC addition on steady and dynamic shear rheological properties of binary systems of xanthan gum and guar gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 124-128.
- [8] Pourmolaie, H., Khosrowshahi Asl, A., Ahmadi, M., Zomorodi, S., Naghizadeh Raeisi, S. (2018). The effect of guar and tragacanth gums as edible coatings in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Food Safety*, 38(6), e12529.
- [9] Pu, C., Tang, W., Li, X., Li, M., Sun, Q. (2019). Stability enhancement efficiency of surface decoration on curcumin-loaded liposomes: Comparison of guar gum and its cationic counterpart. *Food Hydrocolloids*, 87, 29-37.
- [10] Tárrega, A., Rocaful, A., Costell, E. (2010). Effects of blends of short and long-chain inulin on the rheological and sensory properties of prebiotic low-fat custards. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 556-562.
- [11] González-Tomás, L., Bayarri, S., Taylor, A.J., Costell, E. (2008). Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. *International Dairy Journal*, 18(8), 858-866.
- [12] Verbeken, D., Thas, O., Dewettinck, K. (2004). Textural properties of gelled dairy dessert containing  $\kappa$ -carrageenan and starch. *Food Hydrocolloids*, 18, 817-823.
- [13] Özen, B., Tokul, M., Keskin, T., Şimşek, B. (2017). Keşkül özellikleri üzerine farklı oranlarda Stevia (*Stevia rebaudiana*) tatlandırıcısı kullanımının etkileri. 1. Ulusal Sütçülük Kongresi, May 25-26, 2017, Ankara, Turkey, p.99
- [14] Verbeken, D., Bael, K., Thas, O., Dewettinck, K. (2006). Interactions between  $\kappa$ -carrageenan, milk proteins and modified starch in sterilized dairy desserts. *International Dairy Journal*, 16(5), 482-488.
- [15] Granato, D., Masson, M.L., Freitas, R.J.S.D. (2010). Stability studies and shelf-life estimation of a soy-based dessert. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(3), 797-807.
- [16] Kadagan, S., Arslan, S. (2021). Effects of hydrocolloid combinations on physical, textural and sensory properties of kazandibi. *Latin American Applied Research*, 51(2), 113-118.
- [17] Altuğ, T., Elmacı, Y. (2005). Sensorial Evaluation of Food (in Turkish). Meta Publishing, İzmir, Turkey.
- [18] Ayar, A., Durmuş, S., Akbulut, M. (2009). Effect of salep as a hydrocolloid on storage stability of "incir uyutması" dessert. *Food Hydrocolloids*, 23, 62-71.
- [19] Moin, A., Ali, T.M., Hasnain, A. (2017). Characterization and utilization of hydroxypropylated rice starches for improving textural and storage properties of rice puddings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 843-851.
- [20] Nunes, M.C., Raymundo, A., Sousa, I. (2006). Gelled vegetable desserts containing pea protein,  $\kappa$ -carrageenan and starch. *European Food Research and Technology*, 222, 622-628.
- [21] Dogan, M., Ersoz, N.B., Toker, O.S., Kaya, Y., Caniyılmaz, E. (2014). Optimization of gum combination for instant pudding based on creep and recovery parameters by mixture design approach. *European Food Research and Technology*, 238, 47-58.
- [22] Tárrega, A., Costell, E. (2007). Colour and consistency of semi-solid dairy dessert: Instrumental and sensory measurements. *Journal of Food Engineering*, 78, 655-661.
- [23] Kurt, A., Kahyaoğlu, T. (2013). The rheological properties of salep-carrageenan-milk proteins. *The 2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus*, October 24-26, 2013, Ohrid, Macedonia, p. 627.
- [24] Chandra, M. V., Shamasundar, B. A. (2015). Texture profile analysis and functional properties of gelatin from the skin of three species of freshwater fish. *International Journal of Food Properties*, 18(3), 572-584.
- [25] Park, Y. W., Oglesby, J., Hayek, S. A., Aljaloud, S. O., Gyawali, R., Ibrahim, S. A. (2019). Impact of different gums on textural and microbial properties of goat milk yogurts during refrigerated storage. *Foods*, 8(5), 169-176.
- [26] Zarzycki, P., Ciołkowska, A.E., Jabłońska-Ryś, E., Gustaw, W. (2019). Rheological properties of milk-based desserts with the addition of oat gum and  $\kappa$ -carrageenan. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5107-5115.
- [27] Szwajgier, D., Gustaw, W. (2015). The addition of malt to milk-based desserts: Influence on rheological properties and phenolic acid content. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 400-407.
- [28] Wang, X., Zhou, D., Guo, Q., Liu, C. (2020). Textural and structural properties of a  $\kappa$ -carrageenan-konjac gum mixed gel: effects of  $\kappa$ -carrageenan concentration, mixing ratio, sucrose and  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations and its application in milk pudding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 3021-3029.
- [29] Krasaekoopt, W., Cabraal, T.L. (2011). Effect of hydrocolloids on sensory properties of the fermented whey beverage from different types of milk. *AU Journal of Technology*, 14, 253-258.
- [30] Rezaei, R., Khomeiri, M., Kashaninejad M., Aalami, M. (2011). Effects of guar gum and Arabic gum on the physicochemical, sensory and flow behaviour characteristics of frozen yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 64(4), 563-568.

## Soğuk Baskı Yöntemiyle Üretilmiş Greyfurt Çekirdek Yağındaki Acılığın Yıkama/Ekstraksiyon Teknikleriyle Giderilmesi

Ayten Deviren , Selçuk Ok , Emin Yılmaz  ✉

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 17020 Çanakkale

Geliş Tarihi (Received): 11.08.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 06.12.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [eyilmaz@comu.edu.tr](mailto:eyilmaz@comu.edu.tr) (E. Yılmaz)

☎ 0286-218 0018 / 20054 📠 0286-218 0541

### ÖZ

Bu çalışmada, soğuk baskı tekniğiyle üretilmiş greyfurt çekirdek yağının acılığının giderilmesi için kullanılan farklı ekstraksiyon ve yıkama teknikleri karşılaştırılmıştır. Muamele edilen örneklerde bazı fiziko-kimyasal özellikler, yağ bileşenleri ve duyu özellikleri belirlenmiştir. Muameleler ile yağlarda serbest asitlik azalırken, peroksit sayısında bir miktar yükselme oluşmuştur. Muameleler sonucunda toplam doymamış yağ asitleri oranı, tokoferol miktarı ve fitosterol konsantrasyonları önemli oranda düşüşler göstermiştir ( $p<0.05$ ). Besin değeri yüksek olan bu minör bileşenlerin çözgen fazına geçtiği değerlendirilmiştir. Oldukça acı tada sahip olan naringin, kontrol örneğinde 102.6 mg/kg iken, kostik yıkama ile 74.8 mg/kg ve etanolle ekstraksiyon ile 32.3 mg/kg seviyelerine düşürülmüştür. Benzer şekilde acı olan neohesperidin ise iki muamele ile tamamen yağdan uzaklaştırılmıştır. Duyusal analizler kontrol örneğinde ölçülen 9.8 acılık skorunun kostik yıkama ile 5.4 ve etanolle ekstraksiyon ile 2.6'ya kadar düşürüldüğünü ortaya koymuştur. Benzer şekilde muameleler ile çiğ sebze, burukluk, mentol ve gırtlak yakıcılık skorları da düşürülmüştür. Sonuç olarak yağın acılığını gidermede etanolle ekstraksiyon tekniğinin başarılı sonuç verdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Greyfurt çekirdeği, Soğuk baskı, Yağ, Acılık giderme, Flavonoid

### Debitting of Cold Pressed Grapefruit Seed Oil by Washing/Extraction Techniques

#### ABSTRACT

In this study, different extraction and washing techniques used to remove the bitterness of grapefruit seed oil produced by cold pressing technique were compared. Some physico-chemical properties, oil components and sensory properties of the treated samples were determined. While the free fatty acidities of oils decreased with the treatments, there was a slight increase in the peroxide values of oils. As a result of the treatments, the ratio of total unsaturated fatty acids, tocopherol, and phytosterol concentrations decreased significantly ( $p<0.05$ ). It is thought that these minor components, which have high nutritional value, leaked into the solvent phase. Naringin, which has a very bitter taste, was measured as 102.6 mg/kg in the control sample and reduced to 74.8 mg/kg by caustic washing and 32.3 mg/kg by extraction with ethanol. Similarly, neohesperidin, which has also a bitter taste, was completely removed from oils by these two treatments. Sensory score of bitterness was determined as 9.8 in the control sample, and it was reduced to 5.4 with caustic washing, and 2.6 with ethanol extraction. Similarly, raw vegetables, astringency, menthol and throat burning scores were also reduced with treatments. As a result, it was observed that the ethanol extraction technique was successful in removing the bitterness of oils.

**Keywords:** Grapefruit seed, Cold press, Oil, Bitterness removal, Flavonoid

## GİRİŞ

Gıda işleme atıklarının değerlendirilmesi sürdürülebilirlik, çevre sağlığı ve ekonomik fizibilite açısından bir zorunluluk haline gelmiştir. Gıdaların işlenmesi sırasında açığa çıkan artık, atık ve yan ürünlerin değerlendirilmesiyle yeni gıda ürünleri, katkı maddeleri, endüstriyel ürünler, biyo-enerji, yem ve gübre elde edilebilmektedir. Özellikle, meyve suyu üretimi sırasında açığa çıkan bazı meyve çekirdeklerinden soğuk pres yöntemiyle yağ üretimi üzerine çalışmalar yapılmaktadır [1]. Türk Gıda Kodeksindeki tanıma göre soğuk pres yağlar, uygun evsafağı çekirdek ve tohumlardan sadece mekanik işlemlerle elde edilen ve rafine edilmeksizin doğrudan tüketilebilen ürünlerdir [2]. Soğuk pres yağ üretiminde kullanılacak olan çekirdek/tohumların, temiz, saf ve güvenli olması zorunludur. Üretim sürecinde de işleme parametrelerinin (vida dönüş hızı, basınç, sıcaklık vb.) ölçülebilir olması ve yağda sıcaklık artışı ve diğer zararlıların oluşmaması temel hedeftir. Dolayısıyla, verimi düşük olan soğuk pres tekniğiyle yüksek kalitede ürün elde edilmesi hedeflenmektedir. Soğuk pres yağlar rafine edilmeden kullanılabilirdiği için herhangi bir kimyasal safsızlık ve bulaşan içermezler ve ayrıca, rafinasyon işlemi sırasında gerçekleşen besinsel kayıplar da önlenmiş olur. Dolayısıyla besin değerleri oldukça yüksektir. Ayrıca, rafine edilmedikleri için, kendilerine has lezzet ve aromaya sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı yemeklik olarak kullanılabilirler gibi, fonksiyonel ürün hazırlamada veya ilaç ve kozmetik gibi sektörlerde de değerlendirilebilirler [3, 4].

Laboratuvarımızda daha önce soğuk pres greylfurt çekirdek yağı (SGY) üretilmiş ve yağın fizikokimyasal özellikleri, yağ asidi, sterol, tokoferol, fenolik ve uçucu bileşen kompozisyonları ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir [5]. Üretilen yağın oldukça dengeli bir yağ asidi profiline sahip olduğu, fitosteroller ve tokoferoller bakımından da iyi bir kaynak olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bu yağın turunçgil flavonoidleri (eriositrin, rutin, narinjin, hesperidin, neohesperidin, kaempferol vb.), bazı fenolik asitleri (gallik, şirinjik, *tr*-ferulik, *tr*-2-hidroksinnamik asit vb.) içerdiği ve karotenoidler açısından da oldukça zengin olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, bu yağın biyo-aktiviteye sahip fonksiyonel bir ürün olduğu görülmektedir. Öte yandan, yapılan duyuşal analizler sonucunda, yağın oldukça acı olduğu ve bu acılığın tüketici beğenisini sınırlandırdığı tespit edilmiştir [5, 6].

Temel tatlardan birisi olan acılığın, dildeki ve damaktaki gustatöri tat soğancıkları ile algılandığı ve yutma sonrasında boğazda da kalıntı algısı bıraktığı bildirilmiştir. Bu tadın, belirli moleküller ile G-protein reseptörlerinin etkileşimi sonucu oluştuğu ve bu durumun insanları potansiyel toksik bileşiklere karşı uyarmak için geliştirildiği bildirilmiştir [7, 8]. Gıdalarda farklı kimyasal yapılarda acı bileşenler (flavonoidler, limonoidler, bazı fenolik asitler, siyanojenik glikozitler, izotiyosiyanatlar, poliasetilenler, glikoalkaloitler, saponinler, triterpenler, sesquiterpenler, kateşinler, kafein, kapsaisin, bazı Maillard ürünleri, vb.) bulunmaktadır. Öte yandan, bitkisel gıdalarda bulunan

bazı acı bileşenlerin son derece önemli biyo-aktiviteye ve olumlu sağlık etkilerine sahip olduğu da bildirilmiştir [9, 10]. Turunçgil flavonoidlerinden neohesperidosit (ramnopiranoz- $\alpha$ -1,2-glukopiranoz) glikozidik zincir tipine sahip olanların acı olduğu, rutinosit (ramnopiranoz- $\alpha$ -1,6-glukopiranoz) tiplerinin ise acı olmadığı belirtilmektedir. Buna göre soğuk pres greylfurt yağındaki (SGY) acı bileşenler olarak narinjin, ponsirin, neohesperidin ve neositrin bildirilmiştir. Diğer flavonoidler ise acı tada sahip değildir. Ayrıca limonoidlerden de limonin ve nomilinin acı olduğu belirtilmiştir [11-15].

Bir çalışmada, soğuk pres greylfurt yağındaki acılığı gidermek için, narinjinaz ve hesperinidaz enzimleri ile öğütülmüş çekirdek inkübe edilmiş ve daha sonra çekirdek kurutularak preslenmiştir [5]. Yapılan çalışmada, enzimlerin acılığı gidermede çok sınırlı etki gösterdikleri görülmüştür. Başka bir çalışmada, SGY acılığını gidermek için adsorpsiyon esaslı bir teknik uygulanmış ve asit-aktif doğal zeolit, sepiyolit ve montmorillonit ile Amberlit IR 120, IRA 400 ve XAD7 resinleri adsorban madde olarak kullanılmıştır [11]. Belli koşullarda bu adsorbanlar ile yağ karıştırılmış, süzölmüş ve yağ acılığı ölçülmüştür. Sonuç olarak, sepiyolit ve zeolitin sınırlı miktarlarda acılığı giderdiği görülmüştür. Benzer bir çalışmada ise, laboratuvarında sentezlenmiş 7 farklı metal-organik çerçeve (MOF) adsorban madde olarak kullanılmıştır [15]. Sonuç olarak, krom-nitrat temelli MOF'un acılığı %63 ve gırtlak yakıcılığı da %59 oranında giderdiği görülmüştür.

Turunçgil flavonoidlerinin tamamının çok önemli biyo-aktivite değerlerine sahip olduğu, ancak ürün tüketilebilirliği için acılığın yok edilmesi gerektiği açıkça ortadadır ve halen bir araştırma ihtiyacı da bulunmaktadır. Dolayısıyla, bu çalışmada daha önce denenmemiş bazı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak SGY acılığının giderilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, işlem sonrası, yağlarda bileşen analizleri ve duyuşal analizler de yapılarak, kontrol örneğine karşı tüm değişimler ortaya konmuştur. Bu araştırmanın ve benzer araştırmaların sonuçlarının greylfurt çekirdek yağının doğrudan tüketilebilir bir ürüne dönüştürülmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyaller

Beyaz Marsh çeşidi greylfurtların (*Citrus paradisi* L.) işlenmesiyle açığa çıkan çekirdekler Şubat 2019 işleme sezonunda Frigo-Pak Gıda Şti. (Bursa) isimli firmadan temin edilmiştir. Önce çekirdekler yıkanarak temizlenmiş, daha sonra 120°C sıcaklıkta yarım saat kurutularak nem seviyeleri %10-12 düzeyine getirilmiştir. Çekirdekler bekletilmeden soğuk pres tekniğiyle işlenmiştir. Analizlerde kullanılan yağ asitleri, tokoferol ve sterol standartları, sırasıyla, Supelco (Bellefonte, PA, ABD), Nu-Check (Elysian, MN, ABD) ve Sigma Chem. Co. (St. Louis, ABD) firmalarından satın alınmıştır. Flavonoid standartları olan eriositrin (C98%), rutin hidrat (C94%), narinjin (C95%), hesperidin (C80%), neohesperidin (C90%), narinjenin (C98%) ve

kaempferol (C97%) ise Sigma-Aldrich ve Fluka Chemicals (St. Louis, ABD) isimli firmalardan satın alınmıştır. Kullanılan diğer tüm kimyasallar ve çözücüler analitik kalitede olup Merck Co. (Darmstadt, Almanya) isimli firmadan satın alınmıştır.

### Soğuk Pres Yağ Üretimi

Greyfurt çekirdeklerinin laboratuvarımızda bulunan soğuk pres makinasında (ESM 3710, Koçmaksan Makina Şti., İzmir) işlenmesiyle yağ elde edilmiştir (Şekil 1). Maksimum pres çıkış sıcaklığı 40°C olarak ayarlanmış, çıkış ucu olarak 10 mm kalıp kullanılmış ve sıkma hızı 25 rpm olarak ayarlanmıştır. Çıkarılan yağ hemen 6797 xg'de 10 dak santrifüj (Sigma 2-16 K, Postfach, Almanya) edilmiş, kahverengi şişelere doldurulmuş, azot gazı ile flaşlandıktan sonra ağzı sıkıca kapatılmıştır. Analizlere kadar ve analizler süresince yağ örnekleri buzdolabında tutulmuştur. Üretimden sonra denemelere ve analizlere derhal başlanmıştır.



Şekil 1. Greyfurt çekirdeklerinden soğuk baskı tekniği ile yağ üretimi  
*Figure 1. Oil production from grapefruit seeds by cold press technique*

Salamurada hidrasyon işleminde, 15 g greyfurt çekirdek yağına %15 tuz içeren salamuradan %5.0 oranında katılmış ve hidrasyonda olduğu gibi karışım 80°C'de 1 saat karıştırılmıştır. Fazların birbirinden ayrılması için 30 dakika beklenmiştir. Son olarak, kalan sıvının ayrılması için 10 dakika santrifüj (6461xg, Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) işlemi uygulanmıştır.

Kostik ile yıkama işlemi için, 15 g çekirdek yağına ağırlıkça %10'luk NaOH çözeltisinden %5.0 oranında katılmıştır. Karışım 30 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra, 30 dakika beklenilmiş ve süzümüştür. Son olarak, 3 kez distile su ile yıkama işlemi yapılmış ve uygulanan 15 dakikalık santrifüj (6461

### Yağın Ekstraksiyon/Yıkama İşlemiyle Muamelesi

Soğuk preslenmiş greyfurt çekirdek yağının içeriğinde bulunan acılık maddelerinin uzaklaştırılması için 5 farklı ekstraksiyon/yıkama işlemi uygulanmıştır. Asitle yıkama işleminde, 15 g greyfurt çekirdek yağına %0.3 oranında fosforik asit (pirofosfat) çözeltisi (%40'luk) katılmış ve karışım 40°C'de 30 dakika kadar karıştırılmıştır. Daha sonra, 30 dakika beklenilmiş ve çöken kısım ayrıştırılmıştır. Son olarak, distile su ile 3 kez yıkama işlemi yapılmıştır. 6461 xg hızda 10 dak santrifüj ile (Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) fazlar ayrılmıştır.

Hidrasyon işlemi için, 15 g greyfurt çekirdek yağına %3.0 oranında saf su katılmış ve karışım 80°C'de 1 saat karıştırılmıştır. Fazların birbirinden ayrılması için 30 dakika beklenilmiş ve kalan sıvının ayrılması için 6461 xg hızda 10 dakika santrifüj (Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) işlemi uygulanmıştır.

xg, Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) ile fazlar birbirinden ayrılmıştır.

Etanolle ekstraksiyon işlemi için, 15 g çekirdek yağına %99 saflıkta 50 mL etanol ilave edilmiş ve karışım 30 dakika oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Daha sonra, 15 dakikalık santrifüj (6461xg, Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) ile fazlar birbirinden ayrılmıştır. Etanolün tamamen uzaklaştırılması için yağ fazı 80°C'de yarım saat ısıtılmıştır.

En iyi sonucu veren muamele türünü bulmak amacıyla aşağıda açıklanan aletsel renk, serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı analizleri yapılmış, yağ kaybı oranı

hesaplanmış ve en önemlisi duyu analizi ile acılık skoru ölçülmüştür. Acılığın en fazla uzaklaştırıldığı iki muamele türü seçilerek, ileri denemelere geçilmiştir.

### Seçilen Muamele Yöntemleriyle Farklı İşlem Parametrelerinin Araştırılması

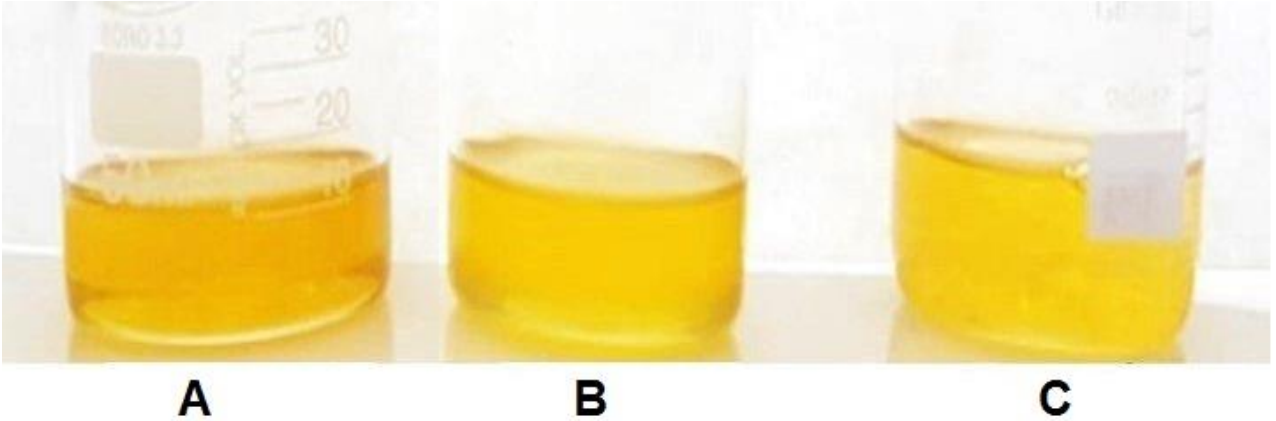
Yapmış olduğumuz analizler sonucunda, acılığı en çok düşüren muamelelerin kostik yıkama ve etanol ile ekstraksiyon olduğu görülmüş ve çalışmanın bu bölümünde farklı işlem parametrelerinin bu muamelelerin verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Kostikle yıkama testi için %10'luk NaOH çözeltisi kullanılarak işlem parametreleri değiştirilmiş ve 4 deneme grubu oluşturulmuştur;

- 1) Deneme1: 15 g çekirdek yağına %10'luk NaOH çözeltisinden 0.75 g katılmıştır. Karışım 1 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır.
- 2) Deneme2: 15 g çekirdek yağına %10'luk NaOH çözeltisinden 7.5 g katılmıştır. Karışım 1 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır.
- 3) Deneme3: 15 g çekirdek yağına %10'luk NaOH çözeltisinden 7.5 g katılmıştır. Karışım 1 saat 50°C'de karıştırılmıştır.
- 4) Deneme4: 15 g çekirdek yağına %10'luk NaOH çözeltisinden 7.5 g katılmıştır. Karışım 1 saat 80°C'de karıştırılmıştır.

Etanol ile ekstraksiyon muamelesi için %99 saflıkta etanol kullanılarak işlem parametreleri değiştirilmiş ve 4 deneme grubu oluşturulmuştur;

- 1) Deneme1: 15 g çekirdek yağına %99 saflıkta etanolden 50 mL katılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika karıştırılmıştır.
- 2) Deneme2: 15 g çekirdek yağına %99 saflıkta etanolden 60 mL katılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika karıştırılmıştır.
- 3) Deneme3: 15 g çekirdek yağına %99 saflıkta etanolden 60 mL katılmıştır. Karışım 50°C'de 30 dakika karıştırılmıştır.
- 4) Deneme4: 15 g çekirdek yağına %99 saflıkta etanolden 50 mL katılmıştır. Karışım 50°C'de 1 saat karıştırılmıştır.

Bu işlem parametreleri uygulandıktan sonra, en iyi sonucu veren birer deneme yapılan analizlerin (renk, serbest asitlik, peroksit sayısı, yağ kaybı, duyu analizi) sonucuna göre belirlenmiştir. Buna göre, kostik ile yıkama deneme grubundan; 2. deneme (15 g yağ / 2.5 g x 3 NaOH Çözeltisi / Oda sıcaklığı / 1 saat) ve etanol ile ekstraksiyon grubundan 2. deneme (15 g yağ / 20 mL x 3 etanol / Oda sıcaklığı / 30 dakika) en iyi sonucu veren işlem parametreleri olarak seçilmiştir. Bundan sonra, yağda yapılan tüm ileri analizler bu örnekler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bu yağ örnekleri Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 2. Kontrol ve muamele edilmiş yağ örnekleri (A: Kontrol örneği; B: Kostikle yıkama ile muamele edilen yağ örneği (15 g yağ / 2.5 g x 3 NaOH Çözeltisi / Oda sıcaklığı / 1 saat); C: Etanolle ekstraksiyon ile muamele edilen yağ örneği (15 g yağ / 20 mL x 3 etanol / Oda sıcaklığı / 30 dakika))

*Figure 2. Control and treated oil samples (A: Control sample; B: Caustic washing treated oil sample (15 g oil / 2.5 g x 3 NaOH solution / Room temperature / 1 hour); C: Ethanol extraction treated oil sample (15 g oil / 20 mL x 3 ethanol / Room temperature / 30 minute))*

### Yağın Fiziko-Kimyasal Analizleri

Aletsel renk Minolta Colormeter (CR-400, Minolta Camera Co., Osaka, Japonya) cihazı ile ölçülmüş ve L, a\* ve b\* değerleri kaydedilmiştir [5]. Benzer şekilde yağ bulanıklığı Hach 2100 AN turbidimeter (ABD) cihazıyla ölçülmüştür. Yağ kaybı, muamelelerden önce ve sonra yağın tartılmasıyla hesaplanmıştır. Yağ serbest asitlik değeri Ca 5a-40, yağ peroksit sayısı Cd 8-53 ve sabunlaşma sayısı Tl 1a-64 resmi metotlarıyla ölçülmüştür [16]. Serbest asitlik değeri yağda baskın yağ asidi olarak tespit edilen linoleik asit cinsinden

verilmiştir. Yağda bulunan toplam sabunlaşmayan madde miktarı ISO 3596 metoduyla ölçülmüştür [17].

### Duyusal Acılık Skoru Ölçümü

Duyusal yoğunlaşma grup testi (focus group) çalışmasıyla kontrol ve muamele edilmiş yağ örneklerinin acılık skorları belirlenmiştir. Bunun için 5 deneyimli panelist (4 kadın, 1 erkek, 21-48 yaş aralığında) kullanılmıştır. Ölçümlerde 10-cm'lik çizgi skalası kullanılmıştır. Skalanın sol başı (0 skor) sıfır acılığı, sağ başı (10 skor) maksimum acılığı ifade etmektedir. Ölçümlerde standart olarak 10 skor için

%0.1'lik sulu kafein çözeltisi, 5 skoru için %0.001'lik kafein çözeltisi kullanılmıştır. Her bir oturumda panelistlere 3 adet kodlanmış yağ örneği, kafein standartları, tükürme kabı, bol su ve tuzsuz kraker verilmiştir. Tekerrür ölçümler farklı günlerde yapılan farklı oturumlar ile tamamlanmıştır.

### Örneklerin Yağ Asidi, Sterol ve Tokoferol Bileşim Analizleri

Kontrol ve iki muamele grubu yağ örneklerinin yağ asitleri bileşimi bizim daha önceki çalışmalarımızda detaylarını verdiğimiz metotlarla analiz edilmiştir [5, 11, 15]. Analizlerde gaz kromatografisi cihazı (Agilent 7890B, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD), HP 88 kapilar kolon (100 m × 0.25 mm, 0.2 µm), Agilent G4513A oto-örnekleyicisi ve FID detektör kullanılmıştır. Benzer şekilde, önceki çalışmalarımızda detayları verilen teknik kullanılarak, sterol bileşimi de yine aynı gaz kromatografisi cihazında DB5 kapilar kolon (30 m × 0.25 mm ID × 0.1 µm, J & W Scientific Co, CA, ABD) kullanılarak belirlenmiştir [5, 11, 15].

Yağların tokoferol bileşimi Yılmaz ve Ege [15] metodu izlenerek HPLC cihazıyla (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya), DGU-20A5R degazer, CTQ-10ASVP kolon fırını, LC-20AT HPLC pompası, RF-20A florasan detektör, SIL-20AHT oto-örnekleyici ve ODS-3 kolonu (250 mm × 4.6 mm × 5 µm, GL Sciences Inc., Japonya) kullanılarak belirlenmiştir.

### Örneklerin Flavonoid Bileşim Analizleri

Yağ örneklerinin flavonoid bileşimi de yine önceki çalışmalarımızda kullanılan teknikle belirlenmiştir [5, 15]. Öncelikle, yağın fenolik fraksiyonu detayları önceki yayında açıklanan teknikle SPE kartuşu (HC-C18, 6 mL, Anpel, Çin) ve vakum manifold kullanılarak ekstrakte edilmiş ve 0.45 µm membran filtreden süzümüştür. Daha sonra, HPLC cihazı, SPD-M20A diode array detektörü (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya), ve Zorbax Eclipse Plus C18 kolonu (250 × 4.6-mm, 5 µm, Agilent Technologies, ABD) kullanılarak flavonoid bileşimi analiz edilmiştir. Tüm kantitasyon işlemlerinde analiz standartları kullanılmıştır.

### Duyusal Tanımlama Analizi

Yağ örneklerinin duyuusal tanımlama analizleri standart metot kullanılarak gerçekleştirilmiştir [7, 15]. Toplam 10 kişiden oluşan panel (6 kadın, 4 erkek, 23-48 yaş) çalışmaya gönüllü olarak katılmış ve panelistlere bir hafta boyunca farklı günlerde eğitim verilmiştir. Daha sonra, panel moderatörünün başkanlığında, panelistler yağları tanımlamak için 6 duyuusal terim geliştirmişlerdir. Geliştirilen terimler şunlardır; çiğ sebze, saman, acı, burucu, mentol ve gırtlak yakıcılık. 'Çiğ sebze' terimi için taze fasulye standart olarak kullanılmıştır. 'Saman' terimi için kuru saman, 'acı' terimi için %0.1'lik kafein çözeltisi, 'burucu' için %1.0'lik şap çözeltisi, 'mentol' için mentollü çiklet standart olarak kullanılmıştır. 'Gırtlak yakıcılık' yağ örneği yutulduktan 30 saniye sonra gırtlakta hissedilen toplam acılık ve burukluğun miktarı olarak tanımlanmıştır. Ölçümlerde 10-cm'lik skala kullanılmıştır.

Her oturumda, panelistlere 3 basamaklı sayı ile kodlanmış ve şeffaf cam bardağa konulmuş ağız kapalı örnekler sunulmuştur. Örnekler oda sıcaklığında hazırlanmış ve ölçümler oda sıcaklığında gün ışığı altında gerçekleştirilmiştir. Panelistlere örnekler ile birlikte tükürme kabı, su, elma dilimi, tuzsuz kraker verilmiştir. Örnekler rastgele düzen içinde, farklı günlerde yapılan farklı oturumlarda, tekerrürlü olarak analiz edilmiştir.

### İstatistiksel Analizler

Bu araştırmadaki soğuk pres yağ üretimi ve yağların muamele işlemleri 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Her bir tekerrür için ölçümler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla ortalama değer olarak sunulan her bir veri 6 ölçümün ortalamasını ve standart hatasını göstermektedir. Örnekleri karşılaştırmak için tek-yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılmıştır. Analizlerdeki güvenlik seviyesi en az %95 olarak belirlenmiştir. Analizler Minitab Ver. 16.1.1 bilgisayar paket programıyla gerçekleştirilmiştir [18].

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### En İyi Muamele Türünün Seçilmesi

Kontrol örneğine karşı uygulanan 5 yıkama/ekstraksiyon muamelesinden elde edilen bulgular Tablo 1'de gösterilmiştir. Hidratasyon hariç tüm muameleler, yağın parlaklık değerini (L değeri) artırmıştır. Muameleler sonucunda, yağda bulunan ve bulanıklığa sebep olan bazı maddelerin uzaklaştırıldığı ve parlaklığın yükseldiği anlaşılmaktadır. Yağ örneklerinin kırmızılık/yeşillik miktarını gösteren a\* değerinde de küçük farklılıklar ortaya çıkmıştır. Kontrol örneğine göre negatif yönde azalma olmuş, yani yeşillik değerleri azalmıştır. Bunun yağda bulunan klorofil pigmentinin yıkama çözeltilerine geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde, örneklerin sarılık/mavilik miktarını gösteren b\* değerinde de önemli oranda düşüşler görülmüştür. Kontrole (11.9) göre en düşük değer 2.2 ile kostikle yıkama denemesinde gözlenmiştir (Tablo 1). Yıkama ve ekstraksiyon çözeltilerinin yağda bulunan pigmentleri ekstrakte ettiği görülmektedir. Bu beklenen bir durumdur. Yağ örnekleri Şekil 2'de görülmekte ve renk farklılıkları gözle bile algılanmaktadır. Genel olarak acılık bileşenlerini yağdan uzaklaştırmayı amaçlayan bu işlemler ile bazı pigmentlerin de kaybolduğu düşünülmektedir.

Serbest yağ asitliği (SYA) değerleri incelendiğinde sadece bazı muamelelerin düşüğe neden olduğu görülmüştür. Kontrole göre (%0.56 linoleik asit), en fazla düşüş %0.27 linoleik asit değeri ile salamura hidrasyon ve etanolla ekstraksiyon işlemlerinde elde edilmiştir (Tablo 1). Genel olarak SYA'nin düşmesi olumlu karşılanabilecek bir değişimdir. Öte yandan, örneklerin peroksit sayısı (PS) değerlerinde kontrole göre bazı artışlar oluşmuştur. En fazla artış (15.7 meqO<sub>2</sub>/kg) kostik yıkama işleminde gerçekleşmiştir. Muameleler havaya açık koşullarda yapıldığı için, yağların okside olması beklenen bir durumdur. Olası endüstriyel uygulamaların vakum altında veya nötral gaz atmosferinde yapılması

önerilmektedir. Muameleler sonucu gerçekleşen yağ kayıplarının %27.3-66.7 değerleri arasında değiştiği görülmektedir. Yağ kaybının en az olması arzu edilen bir durumdur, ancak buradaki ana hedef yağdan acılığı uzaklaştırmak olduğu için duyuusal acılık skorları en belirleyici analiz olmuştur. Örneklerde ölçülen ortalama

acılık skorları Tablo 1'de verilmiştir. Görüldüğü gibi en düşük acılık etanolla ekstraksiyon (2.0) ve kostik yıkama (5.0) işlemleriyle elde edilmiştir. Yağ kaybı değerleri yüksek olmasına rağmen bu iki muamele seçilerek çalışmaya devam edilmiştir.

Tablo 1. Soğuk baskı greyluft çekirdek yağının acılığını gidermede kullanılan farklı ekstraksiyon tekniklerinden elde edilen veriler\*

*Table 1. Data obtained from different extraction techniques used for debittering of cold pressed grapefruit seed oil\**

	L*	a*	b*	Serbest yağ asitliği (% linoleik)	Peroksit sayısı (meqO <sub>2</sub> /kg)	Yağ kaybı (%)	Duyusal acılık skoru
Kontrol	23.7±0.9 <sup>b</sup>	-2.0±0.0 <sup>a</sup>	11.9±0.0 <sup>a</sup>	0.56±0.1 <sup>a</sup>	6.0±0.9 <sup>d</sup>	-	10.0±0.0 <sup>a</sup>
Asitle yıkama	25.7±0.3 <sup>a</sup>	-1.3±0.0 <sup>b</sup>	6.4±0.0 <sup>c</sup>	0.56±0.0 <sup>a</sup>	11.0±0.5 <sup>b</sup>	47.3±0.01 <sup>c</sup>	6.4±0.5 <sup>c</sup>
Hidratasyon	23.9±0.4 <sup>b</sup>	-0.5±0.0 <sup>c</sup>	2.8±0.2 <sup>d</sup>	0.56±0.0 <sup>a</sup>	8.3±0.5 <sup>c</sup>	35.3±0.01 <sup>d</sup>	9.8±0.5 <sup>b</sup>
Salamura hidratasyonu	25.1±0.3 <sup>a</sup>	-1.9±0.1 <sup>a</sup>	9.9±0.1 <sup>b</sup>	0.27±0.0 <sup>c</sup>	11.7±0.5 <sup>b</sup>	27.3±0.01 <sup>e</sup>	9.8±0.5 <sup>b</sup>
Kostik yıkama	24.7±1.2 <sup>a</sup>	-0.2±0.0 <sup>d</sup>	2.2±0.1 <sup>d</sup>	0.42±0.2 <sup>b</sup>	15.7±0.5 <sup>a</sup>	66.7±0.01 <sup>a</sup>	5.0±0.7 <sup>c</sup>
Etanolla ekstraksiyon	24.9±1.0 <sup>a</sup>	-1.1±0.0 <sup>b</sup>	7.2±0.2 <sup>c</sup>	0.27±0.0 <sup>c</sup>	8.3±0.5 <sup>c</sup>	63.3±0.01 <sup>b</sup>	2.0±0.7 <sup>d</sup>

\*: Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen örnekler istatistik olarak birbirlerinde farklıdır (p<0.05). Kontrol örneği herhangi bir muamele uygulanmayan soğuk pres yağ örneğidir.

\*: *Small letters in the columns indicate the statistically significant differences (p<0.05). Control sample is the untreated cold pressed oil sample.*

Literatürde, yağlarda acılığın azaltılmasıyla ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Bizim önceki çalışmalarımızın birinde, soğuk pres greyluft çekirdek yağından acılığı gidermek için çeşitli adsorbanlar kullanılmış, sepiyolit, zeolit ve XAD7 amberlit en başarılı sonuçları veren adsorbanlar olmuştur [11]. Bu adsorbanlar ile acılık skorlarında %60'a varan düşüşler gözlenmiştir. Bir diğer çalışmamızda, soğuk pres greyluft çekirdek yağından acılığı gidermek için çeşitli metal organik kafes yapılar kullanılmış ve duyuusal acılık skorunda %62'lere varan oranlarda düşüşler görülmüştür [15]. Başka bir çalışmada, zeytinyağından acılığı gidermek için sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniğinden yararlanılmış, bu amaçla su çözücü olarak kullanılmış ve acılık önemli ölçüde düşürülerek duyuusal özellikler geliştirilmiştir [19]. Literatürle kıyaslandığında, özellikle etanolla ekstraksiyon tekniğinin oldukça başarılı bir sonuç verdiği görülmektedir.

### Optimum İşlem Parametrelerinin Seçilmesi

Bir önceki bölümde belirlenen iki muamele yöntemi (kostik yıkama ve etanolla ekstraksiyon) kullanılarak, farklı işlem parametrelerinin uygulamaya etkisi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla, metot bölümünde açıklanan dörder farklı deneme düzeninde deneyler yapılmış ve analiz sonuçları Tablo 2'de sunulmuştur.

Bu denemelerde seçilen parametreler ve seviyeleri bizim bu konudaki tecrübelerimize dayanılarak belirlenmiştir. Burada hem işlem ekonomisi hem de olası etki durumu gözetilmiş, ancak deneme sayısı sınırlı tutulmaya çalışılmıştır. Bu deneme gruplarının arasından en iyi sonucu verenlerin seçiminde birinci bölüme benzer bir yol takip edilmiştir. Ölçümlere ait

veriler analiz edilmiş ve acılık skorunda en fazla düşüşü sağlayan iki deneme ileri analizler için seçilmiştir. Seçilen iki denemenin ve diğerlerinin analiz sonuçları Tablo 2'de sunulmuştur. Seçilen bu iki deneme ile yağ tekrar muamele edilmiş ve bundan sonraki tüm analizler bu örneklerde gerçekleştirilmiştir. Kontrol örneği, yıkama/ekstraksiyon işlemi hariç, diğer aşamalarda işlemlere (belirli bir sıcaklıkta belirli bir süre bekletme ve süzme işlemi) tabi tutulmuştur.

### Kontrol Örneği ve Muamele Edilen Örneklerin Özellikleri

Örneklerde yapılan analizlerin sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir. Etanolla ekstraksiyon işleminden sonra yağın bulanıklık değerinde bir miktar artış olmuştur. Sabunlaşma sayısı değerleri arasında ise önemli farklılıklar oluşmuştur. Kontrol ve etanolla ekstraksiyon muamelesi benzer sonuç gösterirken (152.7 ve 154.8 mg KOH/g), kostik yıkama sonunda sabunlaşma sayısı ciddi oranda artmıştır (224.3 mg KOH/g). Sabunlaşma sayısı, trigliseritlerin ortalama molekül ağırlığıyla alakalı bir analiz olup, sabunlaşma sayısı yüksek yağların daha düşük molekül ağırlıklı trigliseritlerden oluştuğu anlaşılmaktadır. Kostik ile yıkama sonunda sabunlaşma sayısı arttığına göre bu muamele sırasında bazı yüksek molekül ağırlıklı trigliseritlerin kaybolduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca, yüksek molekül ağırlıklı serbest yağ asitlerinin de bu işlem sırasında tuzlarına dönüşüp daha sonra yağdan ayrılması olasıdır. Sonuç olarak, kostik ile yıkama işleminin yağda bazı yapısal değişikliklere neden olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 2. Belirlenen iki ekstraksiyon tekniğinde parametrelerin seçilmesi  
*Table 2. Selection of parameters in the two extraction techniques*

		L	a*	b*	Serbest yağ asitliği (%linoleik)	Peroksit sayısı (meqO <sub>2</sub> / kg)	Yağ kaybı (%)	Duyusal acılık skoru
Kostik yıkama (%10 NaOH)	Deneme1	24.70±1.20	-0.20±0.05	2.20±0.14	0.42±0.20	15.70±0.50	66.70±0.01	5.00±0.70
	Deneme2	25.90±0.20	-2.20±0.03	11.80±0.02	0.42±0.20	19.60±1.40	47.40±0.01	4.60±1.30
	Deneme3	25.90±0.20	-1.98±0.08	10.80±0.05	0.28±0.00	14.60±0.90	49.90±0.01	4.80±1.40
	Deneme4	25.90±0.20	-1.80±0.04	8.80±0.50	0.42±0.20	18.30±0.50	64.70±0.01	4.80±1.30
Etanolle ekstraksiyon	Deneme1	24.90±1.00	-1.10±0.05	7.20±0.20	0.27±0.01	8.30±0.50	63.30±0.01	2.40±0.70
	Deneme2	26.10±0.00	-1.40±0.07	10.30±0.03	0.28±0.01	12.60±0.90	39.10±0.01	2.00±0.54
	Deneme3	26.10±0.40	-1.20±0.03	8.40±0.06	0.28±0.01	15.60±1.40	41.80±0.01	2.60±0.54
	Deneme4	26.30±0.00	-1.40±0.08	9.38±0.07	0.28±0.01	16.60±0.90	33.60±0.01	2.60±0.54

Örneklerin sabunlaşmayan madde miktarları muamelelerden sonra bir miktar düşmüştür (Tablo 3). Yağlarda sabunlaşmayan maddeler, yağ asidi dışında kalan sterol, alkol, hidrokarbon, uçucu bileşenler ve

minerallerin toplam oranını gösteren bir değerdir. Bu muameleler esnasında bu maddelerin bazılarının çözelti fazına geçerek yağdan ayrılması beklenen bir sonuçtur.

Tablo 3. Seçilen parametrelerle muamele edilen yağlarının fiziko-kimyasal özellikleri\*  
*Table 3. Physico-chemical properties of oils treated with selected parameters\**

	Bulanıklık (NTU, 20°C)	Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g)	Sabunlaşmayan madde (%)
Kontrol	7.0±0.1 <sup>b</sup>	152.7±2.8 <sup>b</sup>	1.9±0.01 <sup>a</sup>
Kostik yıkama Deneme2	7.0±0.1 <sup>b</sup>	224.3±2.1 <sup>a</sup>	1.8±0.01 <sup>b</sup>
Etanolle ekstraksiyon Deneme2	8.0±0.01 <sup>a</sup>	154.8±0.6 <sup>b</sup>	1.7±0.01 <sup>c</sup>

\*: Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen örnekler istatistik olarak birbirlerinde farklıdır (p<0.05).

\*: *Small letters in the columns indicate the statistically significant differences (p<0.05).*

### Kontrol Örneği ve Muamele Edilen Örneklerin Yağ Asidi, Tokoferol ve Sterol Bileşimi

Kontrol örneği ve muamele edilen örneklerin temel bileşenleri analiz edilmiş ve sonuçlar Tablo 4'te gösterilmiştir. Tüm örneklerde 4 yağ asidi (palmitik, stearik, oleik ve linoleik) belirlenmiştir. Bu bulgular önceki çalışmalarımızın sonuçlarıyla benzerdir [5, 15]. Bir çalışmada, greyfurt çekirdek yağında palmitik, stearik, oleik ve linoleik asitler baskın yağ asitleri olarak belirlenmiş buna ek olarak daha düşük oranlarda laurik, miristik, linolenik asit gibi yağ asitleri de görülmüştür [20]. Meyvenin türüne ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak bu tarz farklılıkların olması beklenen bir durumdur. Her iki muameleden sonra da toplam doymamış yağ asitlerinde bir miktar düşüş olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç yukarıdaki sabunlaşma sayısı sonuçlarını da açıklamaktadır. Her iki muameleden sonra örneklerde nisbi olarak linoleik asit oranında düşüş, stearik asit oranında ise artış gerçekleşmiştir. Temelde, burada yapılan yıkama ve ekstraksiyon işlemlerinin yağda izomer oluşumu gibi bir etki yapması beklenmezken, bu farklılığın farklı yağ asitlerinin çözeltiye geçişinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Muamelelerden sonra, yağlardaki tokoferol içeriğinin istatistiksel olarak önemli oranda azaldığı görülmüştür (Tablo 4). Kontrol örneğindeki toplam 282 mg/kg tokoferol, kostik yıkamayla 215.5 mg/kg'a ve etanolle ekstraksiyon işleminden sonra ise 100.2 mg/kg değerine kadar düşmüştür. Tokoferollerin çözeltiye geçerek

yağdan ayrıldığı düşünülmektedir. Özellikle ana bileşen olan  $\alpha$ -tokoferolde bu geçişin oldukça belirgin olduğu anlaşılmaktadır. Yıkama ve ekstraksiyon işlemlerinde bu beklenen bir durumdur, ancak yağ stabilitesi ve besin kalitesi açısından istenmeyen bir sonuçtur. Acılık giderme işleminden sonra yağın tokol bileşenleriyle zenginleştirilmesi önerilmektedir. Aynı yağdan acılığı gidermek için laboratuvarımızda daha önce yapılmış olan farklı adsorpsiyon deneylerinde de benzer sonuçlar gözlenmiştir [11, 15].

Fitosterollerde ölçülen düşüş oranları ise oldukça ciddi boyutlardadır (Tablo 4). Kontrol örneğinde 192.1 mg/100 g sterol belirlenmiş olup, kostik yıkama ile bu miktar 35.3 mg/100g ve etanolle ekstraksiyonla da 8.1 mg/100g değerine kadar azalmıştır. Fitosterollerin çözeltiye geçtiği anlaşılmaktadır. Benzer muamelelerde ve yağ rafinasyonunda da benzer sonuçların olduğu bilinen bir gerçektir. Yağın besin değeri açısından bu durum da istenmeyen bir sonuçtur. Acılık giderme işleminden sonra yağ fitosterollerce zenginleştirilebilir.

Zeytinyağından acılığın giderilmesiyle ilgili bir çalışmada, sıvı-sıvı ekstraksiyonuyla fenolikler uzaklaştırılırken tokoferol gibi önemli bileşenlerin miktarının değişmediği, fizikokimyasal özelliklerin korunduğu görülmüştür [19]. Çalışmamızda kullandığımız teknikler modifiye edilerek belirtilen kayıplar azaltılabilir.



Tablo 4. Kontrol ve muamele edilmiş yağların yağ asidi, tokoferol ve sterol bileşimleri\*

Table 4. Fatty acid, tocopherol and sterol compositions of control and treated oils\*

	Kontrol	Kostik yıkama Deneme2	Etanolle ekstraksiyon Deneme2
<b>Yağ asidi (%)</b>			
Palmitik	33.9±0.7 <sup>a</sup>	34.4±3.2 <sup>a</sup>	35.4±1.2 <sup>a</sup>
Stearik	1.8±0.1 <sup>b</sup>	3.3±0.3 <sup>a</sup>	3.3±0.0 <sup>a</sup>
Oleik	27.0±0.6 <sup>a</sup>	27.1±0.6 <sup>a</sup>	27.1±0.8 <sup>a</sup>
Linoleik	37.1±1.7 <sup>a</sup>	35.1±2.3 <sup>b</sup>	34.2±0.1 <sup>b</sup>
Σ Doymuş	35.7 <sup>c</sup>	37.7 <sup>b</sup>	38.7 <sup>a</sup>
Σ Doymamış	64.1 <sup>a</sup>	62.2 <sup>b</sup>	61.3 <sup>c</sup>
<b>Tokoferol (mg/kg yağ)</b>			
α-Tokoferol	225.7±8.4 <sup>a</sup>	166.2±1.1 <sup>b</sup>	74.5±5.7 <sup>c</sup>
β-Tokoferol	20.8±2.8 <sup>a</sup>	19.0±2.2 <sup>a</sup>	11.4±1.4 <sup>b</sup>
γ-Tokoferol	8.2±0.4 <sup>a</sup>	8.0±0.6 <sup>a</sup>	7.6±0.9 <sup>ab</sup>
δ-Tokoferol	27.3±3.8 <sup>a</sup>	22.3±4.7 <sup>b</sup>	6.7±0.0 <sup>c</sup>
Σ Tokoferol	282.0 <sup>a</sup>	215.5 <sup>b</sup>	100.2 <sup>c</sup>
<b>Fitosterol (mg/100 g yağ)</b>			
Kolesterol	2.7±0.6 <sup>b</sup>	5.3±0.4 <sup>a</sup>	2.3±0.08 <sup>b</sup>
Kampesterol	5.4±0.3 <sup>a</sup>	1.4±0.09 <sup>b</sup>	0.7±0.05 <sup>c</sup>
Stigmasterol	1.9±0.6 <sup>a</sup>	0.4±0.06 <sup>b</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>
Brassikasterol	23.7±0.5 <sup>a</sup>	3.8±0.3 <sup>b</sup>	0.5±0.02 <sup>c</sup>
β-Sitosterol	158.4±4.5 <sup>a</sup>	24.4±1.6 <sup>b</sup>	4.3±0.1 <sup>c</sup>
Σ Sterol	192.1 <sup>a</sup>	35.3 <sup>b</sup>	8.1 <sup>c</sup>

\*: Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen örnekler istatistik olarak birbirlerinde farklıdır (p<0.05).

\*: Small letters in the columns indicate the statistically significant differences (p<0.05).

### Kontrol ve Muamele Edilen Örneklerin Flavonoid Bileşimi

Yağ örneklerinde 6 turunçgil flavonoidi tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur. Daha önce greyluft çekirdek yağıyla yaptığımız çalışmalarda da bu 6 flavonoid ve ayrıca rutin ölçülmüştür, ancak miktarlar arasında bazı farklılıklar da görülmüştür [5, 11, 15]. Farklı çalışmalarda farklı tür greyluft çekirdekleri kullanıldığı ve farklı yılların hasat ürünü oldukları için bazı farklılıkların oluşması beklenen bir durumdur. Belirlenen flavonoidlerden sadece narinjin ve neohesperidin'in acı olduğu diğerlerinin ise acı olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada analiz edilmemiş olmasına rağmen turunçgil limonoidlerinden limonin ve nomilin'in de acı olduğu bildirilmiştir [12, 14]. Tüm turunçgil flavonoidlerinin önemli biyo-aktivite özelliklerinin ve olumlu sağlık etkilerinin olduğu da literatürde bildirilmiştir [9, 10]. Dolayısıyla hangi

muamele yapılırsa yapılsın, seçici olarak acılığa sahip flavonoidlerin ve limonoidlerin uzaklaştırılması, acılığı olmayan diğer çok sayıda bileşenin ise yağda kalması arzu edilmektedir. Bu durum halen açık bir araştırma konusu olarak bulunmaktadır. Her iki muamele sonucunda da narinjin konsantrasyonunda önemli düşüşler görülmüş, ancak tamamı uzaklaştırılmamıştır. Bu bileşen acı olduğu için oluşan kayıp olumlu olarak değerlendirilmiştir. Acılığı olmayan narinjeninde ise çok ciddi azalmalar oluşmuş ve etanolle ekstraksiyon ile tamamı alkol fazına geçirilebilmiştir. Hesperidin de acı değildir ve her iki muameleyle de tamamı yağdan uzaklaştırılmıştır. Benzer durum acı olan neohesperidin için de gözlenmiştir (Tablo 5). Kaempferol ve eriositrin bileşenlerinde de muameleler ile bir miktar düşüşler oluşmuş ancak tamamı uzaklaştırılmamıştır. Bu iki muamelenin neohesperidin'in tamamını ve narinjinin büyük bölümünü yağdan uzaklaştırarak acılığı düşürdüğü anlaşılmaktadır.

Tablo 5. Kontrol ve muamele edilmiş yağların fenolik kompozisyonu (mg/kg)\*

Table 5. Phenolic composition of control and treated oils (mg/kg)\*

	Narinjin	Narinjenin	Hesperidin	Neohesperidin	Kaempferol	Eriositrin
Kontrol	102.6±7.8 <sup>a</sup>	79.1±3.8 <sup>a</sup>	31.04±0.2 <sup>a</sup>	148.3±9.4 <sup>a</sup>	89.3±6.4 <sup>a</sup>	53.2±5.2 <sup>a</sup>
Kostik Yıkama Deneme2	74.8±4.7 <sup>b</sup>	33.2±1.9 <sup>b</sup>	T.e.	T.e.	23.6±8.0 <sup>b</sup>	32.3±2.1 <sup>c</sup>
Etanolle Ekstraksiyon Deneme2	32.3±1.0 <sup>c</sup>	T.e.	T.e.	T.e.	13.9±5.8 <sup>c</sup>	40.6±3.4 <sup>b</sup>

\*: Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen örnekler istatistik olarak birbirlerinde farklıdır (p<0.05). T.e.: Tespit edilemedi.

\*: Small letters in the columns indicate the statistically significant differences (p<0.05). T.e.: not determined

### Kontrol ve Muamele Edilen Örneklerin Duyusal Tanımlama Testi Sonuçları

Eğitilmiş panel tarafından yağ örneklerine yapılan duyusal tanımlama testi sonuçları Tablo 6'da sunulmuştur. 'Çiğ sebze' değeri muameleler ile önemli düzeyde azalmış, özellikle etanolle ekstraksiyon işlemiyle değer 1.8 skoruna inmiştir. Kontrol örneğinde

5.2 olan skor, kostik yıkama ile 2.4 değerine düşmüştür. Bu lezzet terimi panel tarafından olumsuz bir özellik olarak açıklanmış ve muameleler ile azaltılması olumlu bir sonuç olarak ortaya konmuştur. 'Saman' skorunda sadece kostik yıkama ile önemli bir düşüş görülmüştür. En belirgin ve önemli duyusal özellik olan ve bu çalışmanın temel hedefi olarak azaltılması planlanan 'acılık' kontrol örneğinde 9.8 gibi yüksek bir değerde

iken, kostik yıkama ile 5.4 ve etanolle ekstraksiyon ile de 1.4 gibi çok düşük değerlere azaltılmıştır. Özellikle etanolle ekstraksiyonun başarılı sonuç verdiği görülmektedir. Ancak acılığın halen tamamen giderilmediği de ortadadır. Yemeklik yağlarda yine olumsuz bir özellik olarak bulunabilen 'burukluk' değerleri de muamelelerle önemli oranda azaltılmış ve yine etanolle ekstraksiyon işleminin daha başarılı sonuç verdiği görülmüştür. Ağızda hissedilen serinlik hissiyle belli olan mentol teriminde ise kostik yıkamanın etkili

olmadığı, ancak etanolle ekstraksiyon muamelesinin kısmen başarılı olduğu anlaşılmıştır. Acılık ve burukluk sonuçlarına paralel bir şekilde 'gırtlak yakıcılık' değerlerinde de özellikle etanolle ekstraksiyon muamelesinden sonra önemli azalmalar ölçülmüştür. Sonuç olarak, olumsuz nitelikler olan acılık, burukluk, gırtlak yakıcılık ve mentol duyuşal özelliklerinin özellikle etanolle ekstraksiyon muamelesiyle oldukça başarılı bir şekilde azaltıldığı, kostik yıkamanın ise daha az oranda başarı sağladığı görülmüştür.

Tablo 6. Kontrol ve muamele edilmiş yağların tanımlayıcı duyuşal analiz sonuçları\*

Table 6. Descriptive sensory analysis results of control and treated oils\*

	Çiğ sebze	Saman	Acılık	Buruk	Mentol	Gırtlak yakıcılık
Kontrol	5.2±2.3 <sup>a</sup>	2.8±2.1 <sup>a</sup>	9.8±0.4 <sup>a</sup>	6.2±2.1 <sup>a</sup>	3.2±2.3 <sup>a</sup>	8.8±0.7 <sup>a</sup>
Kostik yıkama Deneme2	2.4±1.4 <sup>b</sup>	1.2±1.1 <sup>b</sup>	5.4±1.5 <sup>b</sup>	3.2±1.6 <sup>b</sup>	3.4±1.5 <sup>a</sup>	4.8±1.3 <sup>b</sup>
Etanolle ekstraksiyon Deneme2	1.8±0.7 <sup>c</sup>	2.6±0.9 <sup>a</sup>	1.4±0.5 <sup>c</sup>	1.8±1.6 <sup>c</sup>	1.4±0.9 <sup>b</sup>	2.4±1.2 <sup>c</sup>

: Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen örnekler istatistik olarak birbirlerinde farklıdır (p<0.05).

\*: Small letters in the columns indicate the statistically significant differences (p<0.05).

## SONUÇ

Soğuk pres yöntemiyle üretilmiş greyluft çekirdek yağından acılığın uzaklaştırılması amacıyla yapılan bu araştırmada, iki muamele (kostik yıkama ve etanolle ekstraksiyon) ve belli işlem parametreleri seçilmiş ve örnekler uygulandıktan sonra, yağın bazı fiziko-kimyasal, bileşim ve duyuşal analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular özellikle etanolle ekstraksiyon muamelesiyle yağdan acılık bileşenlerinin uzaklaştırılabildiğini ve duyuşal acılık skorunun önemli derecede düşürüldüğünü göstermiştir. Ancak bu muameleler aynı zamanda yağdan bazı faydalı bileşenlerin de (tokoferol, sterol gibi) kaybolmasına neden olmuştur. Etil alkolle ekstraksiyon işleminin kazanımı ve kayıplarıyla beraber toplam bir değerlendirilmesi bu işlemin pratik uygulaması için önerilebilir. Ayrıca işlem maliyeti de hesaba katılmalıdır. Bu bilimsel çalışmanın sonuçları bu alanda benzer diğer çalışmalar için de bir kapı aralamaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Galanakis, C.M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26, 68-87.
- [2] Anonim (2012). Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliği (Tebliğ No: 2012/29). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Resmî Gazete, Ankara.
- [3] Bachman, J. (2001). Small-scale oilseed processing-value added and processing guide. *ATTRA*, 1-24.
- [4] Williams, M.A. (2005). Obtaining Oils and Fats from Source Material. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Edited by Y.H. Hui, Wiley, New York, 1156p.
- [5] Yılmaz, E., Aydeniz Güneser, B., Ok, S. (2019). Valorization of grapefruit seeds: cold press oil production. *Waste and Biomass Valorization*, 10, 2713-2724.
- [6] Malacrida, C.R., Kimura, M., Jorge, N. (2012). Phytochemicals and antioxidant activity of citrus seed oils. *Food Science and Technology Research*, 18, 399-404.
- [7] Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T. (1991). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, Boca Raton, FL, 416p.
- [8] Upadhyaya, J., Singh, N., Bhullar, R., Chelikani, P. (2017). Biochemistry of Human Bitter Taste Receptors. In *Bitterness: Perception, Chemistry and Food Processing*, Edited by M. Aliani, M.N.A. Eskin, John Wiley & Sons Inc., NJ.
- [9] Gao, Z., Gao, W., Zeng, S-L., Li, P., Liu, E-H. (2018). Chemical structures, bioactivities and molecular mechanisms of citrus polymethoxyflavones. *Journal of Functional Foods*, 40, 498-509.
- [10] Mahato, N., Sharma, K., Sinha, M., Cho, M.H. (2018). Citrus waste derived nutraceuticals for health benefits: Current trends and future perspectives. *Journal of Functional Foods*, 40, 307-316.
- [11] Aydeniz Güneser, B., Yılmaz, E. (2018). Bitterness reduction of cold pressed grapefruit seed oil by adsorbent treatment. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120, 1700308-1700316.
- [12] Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. Springer, New York, ABD.
- [13] Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A. (1997). Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), 4505-4515.
- [14] Hoehn, X., Baumgartner, X. (2017). Fruits and Vegetables. In *Bitterness: Perception, Chemistry and Food Processing*, Edited by M. Aliani, M.N.A. Eskin, John Wiley & Sons Inc., NJ.
- [15] Yılmaz, E., Ege, Z.Ş. (2020). Debitting of cold pressed grapefruit seed oil by metal-organic framework adsorbents. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44, e14390-e14401.

- [16] AOCS (1998). Official Methods and Recommended Practices Vol I and II. American Oil Chemists' Society, Urbana-Champaign, IL.
- [17] ISO (2000). International Standards Official Methods. Animal and Vegetable Fats and Oils—Determination of Unsaponifiable Matter-Method Using Diethyl Ether Extraction. International Organisation for Standardisation, Geneva.
- [18] Minitab (2010). Minitab Statistical Software (Version 16.1.1). Minitab Inc., State College, PA.
- [19] Abenzoza, M., Raso, J., Oria, R., Sanchez-Gimeno, A.C. (2015). Debitting olive oil by liquid–liquid extraction: Kinetics and the effect on the quality of Arbequina olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118, 1243-1249.
- [20] Waheed, A., Mahmud, S., Saleem, M., Ahmad, T. (2009). Fatty acid composition of neutral lipid: Classes of Citrus seed oil. *Journal of Saudi Chemical Society*, 13, 269-272.
-

## Probiyotik Bakteri İçeren Ayranın Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Şule Azime Yeniçeri<sup>1</sup> , Emine Mine Çomak Göçer<sup>2</sup> , Ahmet Küçükçetin<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Siirt

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Antalya

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 27.11.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 22.12.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [kucukcetin@akdeniz.edu.tr](mailto:kucukcetin@akdeniz.edu.tr) (A. Küçükçetin)

☎ 0 242 310 65 69 📠 0 242 310 63 06

### ÖZ

Bu çalışmada, probiyotik bakteriler olarak *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 veya *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 kullanılarak iki farklı üretim yöntemi ile üretilen probiyotik ayran örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada içilebilir nitelikte su ile kurumadesi ayarlanan sütün fermente edildikten sonra tuz ilave edilmesiyle ayran üretimi (standardize süttten ayran üretimi) ve probiyotik yoğurda içilebilir nitelikte su ve tuz ilave edilmesiyle ayran üretimi (yoğurttan ayran üretimi) olmak üzere iki farklı üretim yöntemi kullanılmıştır. Üretiminde probiyotik bakteri kullanılmayan ayran örnekleri çalışmanın kontrol gruplarını oluşturmuştur. Ayran örnekleri 4°C'de 30 gün süresince depolanmıştır. Üretim yönteminin ayran örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerinde önemli etkisi olduğu saptanmıştır. Standardize süttten üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği ve viskozite değerlerinin yoğurttan üretilen ayran örneklerine göre daha düşük, serum ayrılması ve pH değerlerinin ise daha yüksek olduğu bulunmuştur. Depolama süresince, üretiminde *L. acidophilus* kullanılan ayran örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının 7.6-8.7 log kob/mL arasında değiştiği, üretiminde *B. bifidum* kullanılan ayran örneklerindeki *B. bifidum* sayısının ise 6.9-8.7 log kob/mL arasında değiştiği saptanmıştır. Üretimlerinde probiyotik bakteri kullanılan ayran örneklerinin 30 günlük depolama sonunda  $>10^6$  kob/mL probiyotik bakteri içerdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, probiyotik ayran üretiminde her iki probiyotik bakterinin de kullanılabileceği, ancak üretim yöntemi olarak yoğurttan ayran üretiminin daha uygun olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ayran, Probiyotik, Üretim yöntemi, Kalite özellikleri

### Physicochemical and Microbiological Properties of Ayran Drinks Containing Probiotic Bacteria

#### ABSTRACT

In this study, the physicochemical and microbiological properties of probiotic ayran samples produced by two different production methods using *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 or *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 as probiotic bacteria were determined. Two different production methods were the one produced by adding salt after fermented milk whose total solids content is adjusted by drinkable water (ayran production from standardized milk) and the other produced by adding drinkable water and salt to probiotic yoghurt (ayran production from yoghurt). Ayran samples containing no probiotic bacteria were control groups of the study. Ayran samples were stored at 4°C for 30 days. It was determined that the production method had a significant effect on the physicochemical and microbiological properties of ayran samples. The titratable acidity and viscosity values of ayran samples produced from standardized milk were lower, and their serum separation and pH values were higher than those produced from yoghurt. During storage, the count of *L. acidophilus* in ayran samples produced using *L. acidophilus* ranged from 7.6 to 8.7 log cfu/mL, and the count of *B. bifidum* in ayran samples produced using *B. bifidum* ranged from 6.9 to 8.7 log cfu/mL. Ayran samples produced

using probiotic bacteria contained  $>10^6$  cfu/mL probiotic bacteria after 30 days of storage. Results indicated that both probiotic bacteria could be used in the production of probiotic ayran, but the ayran production from yoghurt was more suitable as a production method.

**Keywords:** Ayran, Probiotic, Production methods, Quality properties

## GİRİŞ

Süt insan beslenmesi açısından benzersiz bir gıdadır [1]. Protein, kalsiyum, magnezyum ve fosfor kaynağı olarak bilinen süt, zengin besin maddesi içeriğiyle aynı zamanda mikrobiyal gelişimi de desteklemektedir [2, 3]. Bu nedenle sütün uzun süre muhafazasını sağlayabilmek için çeşitli ürünlere işlenmesi gerekmektedir [4]. Bu amaçla fermantasyon teknolojisi yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [5]. Fermantasyon teknolojisi ile hem raf ömrü uzun hem de karakteristik tat, aroma ve yapıya sahip süt ürünleri üretilmektedir [6]. Bu ürünlerden biri olan ayran, TS 6800 Ayran Standardı'nda "Yoğurda içilebilir nitelikte su ve gerektiğinde tuz veya süte içilebilir nitelikte su, yoğurt bakterileri katılıp, fermantasyon işleminden sonra gerektiğinde tuz ilavesi ile tekniğine uygun olarak üretilen fermente bir süt ürünü" olarak tanımlanmaktadır [7]. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne göre ise ayran, yoğurda su katılarak veya kurumaddesi ayarlanan süte *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un kültürleri katılarak hazırlanan fermente süt ürünüdür [8]. Ayran, yoğurdun tüm besleyici özelliklerini, ilave edilen su miktarına bağlı olarak değişen düzeylerde içermektedir [9, 10]. Bazı ülkelerde ayran benzeri, viskozitesi düşük ve yoğurt grubunda değerlendirilen ürünler üretilmekte ve "içilebilir yoğurt" veya "laktik içecek" olarak adlandırılmaktadır [11].

Vücudtaki kronik rahatsızlıklar gibi çeşitli sağlık sorunlarının giderilmesine/azaltılmasına destek olmaya yönelik, besinsel içerikleri ile faydalı etki gösteren ve biyolojik olarak aktif bileşik/bileşen ihtiva eden gıdalar "fonksiyonel gıda" olarak adlandırılmaktadır [12]. Gıdalara fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla bileşimlerine fitokimyasal bileşikler, biyoaktif peptitler, omega 3 ( $\omega$ -3) çoklu doymamış yağ asitleri, probiyotikler, prebiyotikler ya da probiyotik-prebiyotik karışımları eklenebilmektedir [13]. Süt, fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik bakteriler için uygun bir besi ortamıdır [14]. Üretiminde probiyotik bakterilerin en çok kullanıldığı gıdalar fermente süt ürünleridir [15]. Sağlık açısından gıda alerjisi gibi bazı rahatsızlıkların tedavisinde olumlu etkileri olan fonksiyonel süt ürünleri, tüketicilerin ilgisini çekmektedir [16, 17]. Probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen süt ürünlerinin tüketimi sonrasında istenen faydaların sağlanabilmesi için, probiyotik bakterilerin canlılıklarını koruması ve bağırsakta kolonize olması gerekmektedir [18]. Fermente süt ürünlerinin üretimlerinde kullanılan yoğurt bakterileri (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) mide asidine direnç gösterememekte, kısmen canlı kalanlar ise bağırsağa ulaşarak yararlı etkiler gösterebilecek düzeyde kolonize olamamaktadır. Probiyotik bakteriler ise mide asidine direnç göstererek bağırsaklara kadar canlı olarak ulaşarak kolonize olabilmektedir [19, 20]. Böylece probiyotik

bakteriler laktöz intolerans ve antibiyotik kullanımının yol açtığı bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde faydalı etki gösterebilmektedir [15]. Probiyotik bakterilerin büyük çoğunluğu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* ve *Streptococcus* cinslerinden oluşmaktadır [21]. Fermente süt ürünlerinin üretimlerinde en fazla kullanılan probiyotik bakterilerin ise laktobasil ve bifidobakteri türleri olduğu bildirilmektedir [22, 23]. Bifidobakteriler Gram pozitif, anaerobik ve pH 4.5-8.5 aralığında gelişebilmekte; laktobasiller ise Gram pozitif, fakültatif anaerobik veya mikroaerofilik ve çubuk şekilli bakterilerdir [23]. Probiyotik bakterilerin bağırsak mikrobiyotasını geliştirmesi ve patojenlere karşı mukozal direnci artırması gibi sağlıkla ilgili yararlı etkilerinden dolayı, laktobasil ve bifidobakteri türlerinin süt ürünlerinin üretiminde kullanımı yaygınlaşmıştır. Aynı zamanda probiyotik bakterilerin bağırsıklığı güçlendirici, serum kolesterol düzeylerini azaltıcı ve antibakteriyel etkileri de bulunmaktadır [24].

Probiyotik ürünlerin üretimi ve depolanması sırasında probiyotik bakterilerin canlılığında azalma meydana gelebilmektedir [23]. Birçok faktör probiyotik bakterilerin ürün içerisinde canlılığını etkileyebilmektedir. Söz konusu faktörler içerisinde üretim metodu, probiyotik bakteri türü, ortamın pH'sı, inhibitörler, bakteri gelişimini destekleyiciler, ortamın tamponlama kapasitesi, hidrojen peroksit ve çözünmüş oksijen varlığı, aşılama miktarı, ısı işlem, homojenizasyon, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, depolama sıcaklığı ve ambalaj bulunmaktadır [23, 25]. Konu ile ilgili literatür incelendiğinde; farklı türde hayvanların sütleri [4], farklı keçi ırklarının sütleri [26], mikroenkapsüle bakteriler [27, 28], çeşitli yağ ikame maddeleri [29], spirulina ve peyniraltı suyu proteini hidrolizatı [30], peyniraltı suyu ürünleri ve kapa karagenan [31] ve sinbiyotikler [33] kullanılarak probiyotik ayran üretimi üzerine bazı çalışmaların yapıldığı belirlenmiştir. Probiyotik bakterilerin ayran üretiminde kullanımına yönelik çeşitli araştırmalar yapılmış olmasına rağmen, farklı probiyotik bakteriler ve üretim yöntemleri kullanılarak üretilen probiyotik ayranların kalite özelliklerini ortaya koyan herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Yapılan bu çalışmada, farklı probiyotik bakteriler (*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*) ve farklı üretim yöntemleri ile üretilen probiyotik ayranların depolama süresince fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Probiyotik ayran üretimlerinde kullanılan yağsız süt tozu İzi Süt Gıda Mamülleri Sanayi ve Tic. A.Ş.'den (Konya), *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) ve *Bifidobacterium bifidum* (DSM 20456) ise Alman

Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu (DSMZ, Braunschweig, Almanya)'dan temin edilmiştir. Yoğurt starter kültürü (CH-1 Yo-Flex) Chr. Hansen's Laboratorium Denmark A/S'nin İstanbul temsilcisi Peyma Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den satın alınmıştır.

## Yöntem

### Probiyotik Ayran Üretimi

Probiyotik ayran üretimi, üretimde kullanılan sütün içilebilir nitelikteki su ile ayran kurumaddesine seyreltildikten sonra yoğurt starter kültürü ve probiyotik bakteriler ile inkübe edilmesiyle ayrına işlenmesi (Standardize süttten ayran üretimi) ve yoğurt starter kültürü ve probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen yoğurdun içilebilir nitelikteki su ile seyreltilerek ayrına işlenmesi (Yoğurttan ayran üretimi) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca çalışmanın kontrol gruplarını sadece yoğurt starter kültürü kullanılarak iki farklı yöntem ile üretilen ayran örnekleri oluşturmuştur. Yağsız süt tozundan hazırlanan rekonstitüye sütlerin bir kısmının kurumaddesi %8, diğer kısmının kurumaddesi ise %12 olacak şekilde standardize edilmiştir. Kurumaddesi standardize edilen sütler 2 saat 4°C'de bekletildikten sonra 90°C'de 5 dakika ısıtma işlemi uygulanmış ve 42°C'ye soğutulurak ayran üretimlerinde kullanılmıştır. Probiyotik ayran üretimlerinde probiyotik bakteri olarak kullanılan *L. acidophilus* ve *B. bifidum* Çomak Göçer vd.'nin [34] belirttiği yöntemlere göre hazırlanmıştır.

### Standardize Süttten Ayran Üretimi

Isıl işlem sonrası 42°C'ye soğutulan %8 kurumaddeli sütler, %0.03 (w/v) yoğurt starter kültürünün yanı sıra son üründe en az  $10^8$  kob/mL *L. acidophilus* veya *B. bifidum* içerecek şekilde probiyotik bakteri aşılandıktan sonra 42°C'de pH'sı  $4.6 \pm 0.1$ 'e ulaşınca kadar inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi yaklaşık pH 4.6'da sonlandırılmış ve örnekler 20°C'ye soğutulmuştur. Soğutulan örnekler %0.4 (w/w) oranında tuz ilave edildikten sonra ultra turrax (9000 rpm, 2 dak.) ile karıştırma işlemine tabi tutulmuştur. Standardize süttten üretilen kontrol grubu ayranlar, sadece yoğurt starter kültürü kullanılarak ve probiyotik ayran üretimindeki üretim aşamaları izlenerek üretilmiştir. Ayran örnekleri, ağzı kapaklı 200 mL'lik ambalajlara doldurulduktan sonra 4°C'de 30 gün süresince depolanmıştır.

### Yoğurttan Ayran Üretimi

Isıl işlem sonrası 42°C'ye soğutulan %12 kurumaddeli sütlere, %0.03 (w/v) yoğurt starter kültürünün yanı sıra, son üründe en az  $10^8$  kob/mL *L. acidophilus* veya *B. bifidum* içerecek şekilde probiyotik bakteri aşılandıktan sonra 42°C'de pH'sı  $4.6 \pm 0.1$ 'e ulaşınca kadar inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi yaklaşık pH 4.6'da sonlandırılmış ve örnekler 20°C'ye soğutulmuştur. Soğutulan örnekler %8 ayran kurumaddesine ulaşınca kadar içilebilir nitelikteki su ile seyreltildikten sonra %0.4 (w/w) oranında tuz ilave edilerek ultra turrax (9000 rpm, 2 dak.) ile karıştırma işlemine tabi tutulmuştur. Yoğurttan üretilen kontrol grubu ayranlar, sadece yoğurt starter

kültürü kullanılarak ve probiyotik ayran üretimindeki üretim aşamaları izlenerek üretilmiştir. Ayran örnekleri, ağzı kapaklı 200 mL'lik ambalajlara doldurulduktan sonra 4°C'de 30 gün süresince depolanmıştır.

## Analizler

Ayran üretimlerinde kullanılan sütlerin kurumadde [35] ve kül [36] içerikleri gravimetrik yöntemle, yağ içeriği Gerber yöntemiyle [37] ve protein içeriği Kjeldahl yöntemiyle [36] tespit edilmiştir. Sütlerin pH değerleri WTW 537 (Inolab pH level 2, WTW GmbH, Weilheim, Almanya) marka pH metre kullanılarak, titrasyon asitliği ise TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda belirtilen yöntem [35] kullanılarak %laktik asit cinsinden belirlenmiştir. Ayran örneklerinin toplam kurumadde [7] ve kül [36] içerikleri gravimetrik yöntemle, yağ içeriği Gerber yöntemiyle [7], protein içeriği Kjeldahl yöntemiyle [38], titrasyon asitliği ise titrimetrik yöntemle [7] belirlenmiştir. Ayran örneklerinin pH değerleri WTW 537 (Inolab pH level 2, WTW GmbH, Weilheim, Almanya) marka pH metre kullanılarak tespit edilmiştir. Örneklerin viskozite değerleri, Burucu'nun [31] uygulamış olduğu yöntem modifiye edilerek saptanmıştır. Ölçümler Brookfield viskozimetresinde (Model DV II+Pro, Brookfield Engineering Laboratories Inc, Middleboro, MA, ABD) 4°C'de 1 numaralı spindle kullanılarak ve 100 d/d dönüş hızında yapılmış olup sonuçlar cP olarak verilmiştir. Serum ayrılması analizi Özdemir ve Kılıç'ın [39] kullandıkları yöntemlere göre yapılmış olup 50 mL ayran örneği mezürlere konularak 4°C'deki serum ayrılması tespit edilmiştir.

Mikrobiyolojik analizlerde dilüsyonların hazırlanmasında, ringer çözeltisi ( $\frac{1}{4}$  kuvvetinde) kullanılmıştır [40]. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayımında MRS Agar (pH 5.2) besiyerine dökme plak kültürel sayım yöntemine göre ekim yapılarak petri kutuları 45°C'de 72 saat süresince anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. *S. thermophilus* sayımında M17 Agar (%1 laktöz) besiyerine dökme plak kültürel sayım yöntemine göre ekim yapılarak petri kutuları 45°C'de 48 saat süresince inkübe edilmiştir [41]. *L. acidophilus* sayımında bromokresol yeşili (20 mL/L) ve klindamisin (2 mL/L) ilave edilmiş, MRS-BC Agar (pH 6.2) besiyerine dökme plak kültürel sayım yöntemine göre ekim yapılarak petri kutuları 37°C'de 72 saat süresince anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir [42]. *B. bifidum* sayımında lityum klorür (%0.2 w/v) ve sodyum propiyonat (%0.3 w/v) ilave edilmiş MRS-LP Agar (pH 6.7) besiyerine dökme plak kültürel sayım yöntemine göre ekim yapılarak petri kutuları 37°C'de 72 saat süresince anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir [43]. Ayran örneklerinin kurumadde, yağ, protein ve kül içerikleri depolamanın 1. gününde; pH, titrasyon asitliği, serum ayrılması, viskozite değerleri ve mikrobiyolojik özellikleri ise 4°C'deki depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde tespit edilmiştir. Araştırma 2 tekerrürlü gerçekleştirilmiş ve analizler paralelli olarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuş ve farklı bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır [44].

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Ayran üretimlerinde kullanılan rekonstitüye sütlerin ortalama kurumadde, yağ, protein, kül, pH ve titrasyon asitliği (%laktik asit) değerleri %8 kurumadde için sırasıyla %7.99±0.06, %0.10±0.00, %2.83±0.30, %0.70±0.02, 6.70±0.03 ve %0.16±0.02; %12 kurumadde için ise sırasıyla %12.00±0.01, %0.15±0.00, %4.25±0.34, %1.01±0.03, 6.68±0.03 ve %0.18±0.02 olarak belirlenmiştir. TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardına göre inek sütlerinde protein miktarının en az %2.8, titrasyon asitliği değerinin ise laktik asit cinsinden en çok %0.2 olması gerektiği bildirilmiştir [35]. Üretimlerde kullanılan süt örneklerinde saptanan değerlerin, standartta belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür. Tüm ayran örneklerinin ortalama kurumadde, yağ, protein ve kül değerleri sırasıyla %8.19±0.03, %0.10±0.00, %2.92±0.08 ve %1.05±0.00 olarak belirlenmiştir. Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre ayranın protein miktarının en az %2.0, yağsız ayranda yağ miktarının ise en çok %0.5 olması gerektiği belirtilmektedir [8]. TS 6800 Ayran Standardına göre ise ayranların yağsız kurumadde miktarının en az %6, yağsız ayranda yağ miktarının ise en çok %0.5 olması gerektiği bildirilmiştir [7]. Üretilen ayran örneklerinde saptanan değerlerin, ilgili tebliğ ve standartta belirtilen değerler ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Ayran örneklerinin pH değerlerinin depolamanın 1. gününde 4.20-4.25, 15. gününde 4.10-4.16 ve 30.

gününde 4.02-4.07 arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 1). Kontrol grubu ayran örneklerinin pH değerlerinin probiyotik ayran örneklerine göre daha yüksek olduğu, bununla birlikte *L. acidophilus* içeren probiyotik ayran örnekleri ile *B. bifidum* içeren probiyotik ayran örneklerinin pH değerleri arasındaki farklılığın önemli olmadığı ( $P>0.05$ ) tespit edilmiştir (Tablo 2). Üretim yönteminin ayran örneklerinin pH değerleri üzerine etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Ayrıca 30 günlük depolama sonunda örneklerin pH değerlerinin azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P<0.05$ ) bulunmuştur. Depolama süresince ayranların pH değerlerindeki azalmanın, ayranla ilgili yapılan diğer çalışmaların sonuçları [4, 45-48] ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Sütte bulunan laktozun fermente süt ürünleri üretimlerinde kullanılan starter kültür bakterileri tarafından metabolize edilmesiyle laktik asit gibi organik asitler, az miktarda CO<sub>2</sub> ve formik asit oluşmakta ve ürünlerin pH değerleri düşmektedir [4, 46]. Ayrıca depolama sırasındaki post asidifikasyonun, β-galaktosidaz enzimi ve fermentasyon esnasında starter kültür bakterileri tarafından üretilip 0-5°C'lerde aktif olan diğer enzimlerin aktivitesinden kaynaklandığı bildirilmektedir [24]. Hayatoğlu [4] yapmış olduğu çalışmada probiyotik ayran örneklerinin pH değerinin, kontrol grubu ayran örneklerine göre daha düşük olduğunu belirtmiştir. Kontrol ayran örnekleri ile probiyotik ayran örneklerinin pH değerleri arasındaki farklılığın endüstriyel olarak anlamlı olmadığı değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Probiyotik ayran örneklerinin fizikokimyasal özellikleri\*

	Örnek	Depolama (gün)	pH	Titrasyon asitliği (%laktik asit)	Viskozite (cP)	Serum ayrılması (%)
Standardize süttten ayran üretimi	A	1	4.25±0.02	0.80±0.04	32.0±0.6	11.0±1.2
		15	4.16±0.01	0.93±0.08	33.1±0.2	36.8±1.0
		30	4.07±0.02	0.95±0.08	34.2±0.1	39.0±1.2
	B	1	4.20±0.03	0.94±0.04	39.2±4.5	9.5±2.4
		15	4.11±0.01	1.10±0.02	39.7±1.0	34.2±0.3
		30	4.05±0.01	1.16±0.02	40.3±2.5	36.3±1.7
	C	1	4.21±0.03	0.90±0.02	41.2±2.1	8.0±0.8
		15	4.13±0.03	1.02±0.02	42.0±0.4	33.8±0.5
		30	4.04±0.01	1.08±0.04	42.1±4.9	36.0±0.0
Yoğurttan ayran üretimi	D	1	4.23±0.04	0.90±0.02	36.5±0.7	10.0±0.0
		15	4.14±0.03	0.98±0.04	38.9±1.2	35.4±1.7
		30	4.06±0.02	1.02±0.03	40.2±1.4	37.3±0.9
	E	1	4.22±0.01	0.93±0.02	44.0±0.5	6.8±1.5
		15	4.10±0.03	1.10±0.12	45.8±1.1	31.5±1.0
		30	4.04±0.02	1.13±0.09	47.8±0.7	35.6±0.9
	F	1	4.21±0.01	0.95±0.02	71.8±0.7	6.5±1.0
		15	4.11±0.01	1.04±0.02	76.2±2.3	28.3±0.5
		30	4.02±0.01	1.10±0.08	76.5±3.0	31.5±1.9

\*: A: Standardize süttten üretilen ve probiyotik bakteri içermeyen ayran, B: Standardize süttten üretilen ve *L. acidophilus* içeren ayran, C: Standardize süttten üretilen ve *B. bifidum* içeren ayran D: Yoğurttan üretilen ve probiyotik bakteri içermeyen ayran, E: Yoğurttan üretilen ve *L. acidophilus* içeren ayran, F: Yoğurttan üretilen ve *B. bifidum* içeren ayran. Sonuçlar, ortalama değer±standart sapma olarak verilmiştir.

Ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin depolamanın 1. gününde %0.80-0.95, 15. gününde %0.93-1.10 ve 30. gününde %0.95-1.16 arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 1). Tablo 2'de görüldüğü üzere, kontrol grubu ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin probiyotik bakteri içeren örneklere göre daha

düşük olduğu, bununla birlikte *L. acidophilus* içeren probiyotik ayran örneklerinin en yüksek titrasyon asitliği (%) değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Yoğurttan üretilen ayran örneklerinin, standardize süttten üretilen ayran örneklerine göre daha yüksek titrasyon asitliği değerine sahip olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak

önemli ( $P<0.05$ ) olduğu bulunmuştur. Sütün toplam kurumadde miktarındaki artış, titrasyon asitliğinin artmasına neden olmaktadır [49]. Yoğurttan ayran üretimi yönteminde kullanılan rekonstitüye sütün kurumadde miktarının daha yüksek olmasından dolayı bu yöntemle üretilen ayran örneklerinin daha yüksek titrasyon asitliği değerlerine sahip olabileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca depolama süresince örneklere ait titrasyon asitliği (%) değerlerinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli ( $P<0.05$ ) olduğu belirlenmiştir.

Depolama süresince starter kültür faaliyeti ve mikroorganizmaların ürettiği enzimlerin aktiviteleri sonucunda fermente süt ürünlerinin asitliğinde artış meydana geldiği bildirilmektedir [50]. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde Atamer vd. [45], Tonguç [51], Tamuçay-Özünü ve Koçak [50] ve Ivanovska vd. [47] tarafından yapılan çalışmalarda da depolama süresince ayranların titrasyon asitliği değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Tablo 2. Ayran örneklerinde depolama süresince belirlenen pH, titrasyon asitliği, viskozite ve serum ayrılması değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	pH	Titrasyon asitliği (%laktik asit)	Viskozite (cP)	Serum Ayrılması (%)
Kontrol örneği	4.14±0.08 a*	0.93±0.08 c	35.7±3.3c	28.2±13.8 a
<i>L. acidophilus</i> içeren ayran	4.11±0.08 b	1.06±0.10 a	42.7±3.6 b	25.6±13.7 b
<i>B. bifidum</i> içeren ayran	4.12±0.08 b	1.01±0.08 b	58.2±18.2 a	24.0±13.2 c
<b>Üretim Yöntemi</b>				
Standardize süttten ayran üretimi	4.13±0.07 a	0.98±0.11 b	38.1±4.0 b	27.1±13.4 a
Yoğurttan ayran üretimi	4.12±0.08 a	1.01±0.08 a	53.0±16.7 a	24.7±13.1 b
<b>Depolama Zamanı</b>				
1. gün	4.21±0.02 a	0.90±0.05 c	44.0±14.2 b	8.6±1.8 c
15. gün	4.12±0.02 b	1.02±0.07 b	45.9±15.4 a	33.3±3.0 b
30. gün	4.04±0.02 c	1.07±0.08 a	46.8±15.2 a	35.9±2.5 a

\* Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $P<0.05$ ).

Ayran örneklerinin viskozite değerlerinin (Tablo 1) depolama süresince 32.0-76.5 cP arasında değiştiği saptanmıştır. En düşük viskozite değerine standardize süttten üretilen kontrol ayran örneğinin depolanmanın ilk gününde, en yüksek viskozite değerine ise yoğurttan üretilen ve *B. bifidum* içeren ayran örneğinin depolanmanın 30. gününde sahip olduğu belirlenmiştir. Probiyotik ayran örneklerinin, kontrol örneklerine göre daha yüksek viskozite değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek viskozite değerinin *B. bifidum* içeren ayran örneklerine ait olduğu saptanmıştır. Bu durumun çalışmada kullanılan probiyotik bakterilerin farklı miktarlarda ekzopolisakkarit üretmeleri ile ilgili olabileceği değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ayran üretimlerinde kullanılan *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 [52] ve *B. bifidum* DSM 20456 [53] suşlarının ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmektedir. Kök Taş [54] yapmış olduğu çalışmada, sadece yoğurt bakterileri kullanılarak üretilen ayran örnekleri ile yoğurt bakterileri ve probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen ayran örneklerinin görünür viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını tespit etmiştir. Burucu [31] yapmış olduğu çalışmada *L. acidophilus* bakterisi ile yoğurt starter kültürü kullanılarak üretilen ayran örneklerinin viskozite değerlerinin, sadece yoğurt starter kültürü kullanılarak üretilen ayran örneklerine ait viskozite değerlerinden daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Hayatoğlu [4] yapmış olduğu çalışmada sadece yoğurt bakterileri kullanılarak üretilen kontrol ayran örneklerinin, probiyotik içeren ayran örneklerine göre daha düşük viskoziteye sahip olduğunu tespit etmiştir. Probiyotik bakterilerin yoğurt bakterilerinin aktivitesini artırıp fermentasyon süresince ürünlerin jel oluşturma özelliklerini artırarak yüksek viskozite oluşmasında etkili olabileceği bildirilmiştir [4]. Ayrıca üretim yöntemlerinin de ayran örneklerinin viskozite değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu ( $P<0.05$ ) ve

yoğurttan üretilen ayran örneklerine ait viskozite değerlerinin, standardize süttten üretilen ayran örneklerine ait viskozite değerlerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Sütün toplam kurumadde içeriğinin artması sonucu içilebilir yoğurt örneklerinin viskozite değerlerinin arttığı bildirilmektedir [32]. Ayrıca viskozite değeri üzerinde, kazein ve peyniraltı suyu proteinleri miktarları arasındaki oran, peyniraltı suyu proteinlerinin denatürasyon oranı, asitlik, starter kültür aktivitesi ile karıştırma ve soğutma gibi inkübasyon sonrası işlemler de etkili olabilmektedir [55, 56]. Yoğurttan ayran üretiminde kullanılan süttlerin, fermentasyon esnasında daha yüksek kurumadde içeriğine sahip olması ve uygulanan ısı ile birlikte içeriği oluşturmuş olduğu kurumadde miktarından dolayı, daha fazla miktarda denatüre peyniraltı suyu proteinleri içermesinin ayran örneklerinin viskozite değerlerini etkileyebileceği değerlendirilmiştir. Depolama süresince ayran örneklerinin viskozite değerleri incelendiğinde 4°C'de ilk 15 günlük depolama süresince viskozite değerlerindeki artışın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P<0.05$ ), 4°C'de 15 gün depolanan ayran örnekleri ile 4°C'de 30 gün depolanan ayran örneklerinin viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ( $P>0.05$ ) belirlenmiştir. Depolama süresince viskozite değerinde meydana gelen artışın fermentasyon işleminde süt ürünlerinin üretimlerinde kullanılan yoğurt bakterilerinin ve probiyotik bakterilerin ekzopolisakkarit ve kısa zincirli yağ asitlerini sentezlemesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir [34, 57]. Bununla birlikte soğukta depolama sırasında pH düşüşüne bağlı olarak asit kazein jellerinde protein-protein etkileşimlerinin de örneklerinin viskozite değerlerinde değişime neden olabileceği belirtilmiştir [32].

Ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerinin (Tablo 1) depolama süresince, %6.5-39.0 arasında değiştiği saptanmıştır. Probiyotik ayran örneklerinin serum



ayrılması değerlerinin kontrol grubu ayran örneklerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Burucu [31] yapmış olduğu çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde probiyotik bakteri içeren ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerinin kontrol grubu ayran örneklerine ait serum ayrılması değerlerine göre daha düşük olduğunu belirtmiştir. Ayrıca standardize süttten üretilen ayran örneklerine ait serum ayrılması değerlerinin yoğurttan üretilen ayran örneklerine ait serum ayrılması değerlerinden yüksek olduğu saptanmıştır. Serum ayrılması; süttün kazein içeriğinin artırılması, yoğurdun depolanması esnasında artan asitliğe dayanıklı ve ekzopolisakkarit üreten probiyotik bakteri seçimi, inkübasyon sıcaklığı ve asit üretim hızının düşürülmesi ile veya polisakkarit ilavesiyle azaltılabilmektedir [58]. Çalışmamızda kullanılan yöntemlerde fermantasyon sırasında ayran üretimlerinde kullanılan süttlerin kurumadde miktarları arasında farklılık bulunmaktadır. Standardize süttten üretilen ayranların viskozite değerlerinin yoğurttan üretilen ayranlara göre daha düşük olduğu da göz önünde bulundurularak serum ayrılması değerleri arasındaki farklılığın ayran üretimlerinde kullanılan bakterilerin üretim yöntemine bağlı olarak farklı miktarlarda ve yapılarında ekzopolisakkarit üretmesinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir. Depolama

süresince ayran örneklerinin ortalama serum ayrılması değerlerinin arttığı belirlenmiştir (Tablo 2). Depolamada yoğurt bakterilerinin ve probiyotik bakterilerin faaliyetleri sonucunda proteinler hidrolize uğramakta ve kazein miselleri tarafından tutulan serum, protein-protein etkileşimlerinin yeniden düzenlenmesiyle serbest kalmaktadır. Depolama süresince artan asitlikle birlikte kazein misellerinin biraraya toplanmasını önleyen elektron yüklü gruplar itici kuvvetler oluşturarak serumun ayrılmasını teşvik edilmektedir [59, 60]. Konu ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda da benzer şekilde depolama süresince ayran serum ayrılmasının arttığı belirtilmiştir [45, 50, 61].

Yapılan mikrobiyolojik analizlerin sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Ayran örneklerinde depolama süresince *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının 5.5 ile 8.9 log kob/mL, *S. thermophilus* sayısının 4.5-8.8 log kob/mL, üretiminde *L. acidophilus* kullanılan ayranlarda *L. acidophilus* sayısının 7.6 ile 8.8 log kob/mL, üretiminde *B. bifidum* kullanılan ayranlarda ise *B. bifidum* sayısının 6.9 ile 8.7 log kob/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Depolama süresince yoğurt bakterileri, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayılarında azalma olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4).

Tablo 3. Ayran örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum*'a ait sayım sonuçları (log kob/mL)\*

Örnek	Bakteri	Depolama		
		1. gün	15. gün	30. gün
A	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	8.3±0.3	7.6±0.3	5.8±0.2
	<i>S. thermophilus</i>	8.5±0.1	7.4±0.2	7.0±0.2
	<i>L. acidophilus</i>	8.7±0.0	8.5±0.1	7.6±0.1
B	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	8.9±0.1	8.6±0.1	7.8±0.1
	<i>S. thermophilus</i>	8.8±0.1	8.0±0.2	7.0±0.3
	<i>B. bifidum</i>	8.7±0.1	7.8±0.2	6.9±0.1
C	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	8.9±0.1	8.4±0.1	7.7±0.2
	<i>S. thermophilus</i>	8.6±0.2	7.7±0.2	6.6±0.2
D	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	7.7±0.3	7.3±0.1	5.5±0.3
	<i>S. thermophilus</i>	5.6±0.3	5.0±0.1	4.5±0.0
	<i>L. acidophilus</i>	8.8±0.0	8.7±0.0	7.7±0.3
E	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	8.6±0.0	8.1±0.0	6.9±0.3
	<i>S. thermophilus</i>	8.5±0.1	7.8±0.2	7.0±0.3
	<i>B. bifidum</i>	8.7±0.1	8.1±0.2	7.0±0.2
F	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	8.8±0.0	8.2±0.1	7.0±0.3
	<i>S. thermophilus</i>	8.7±0.1	8.0±0.2	6.8±0.3

\*: A: Standardize süttten üretilen ve probiyotik bakteri içermeyen ayran, B: Standardize süttten üretilen ve *L. acidophilus* içeren ayran, C: Standardize süttten üretilen ve *B. bifidum* içeren ayran D: Yoğurttan üretilen ve probiyotik bakteri içermeyen ayran, E: Yoğurttan üretilen ve *L. acidophilus* içeren ayran, F: Yoğurttan üretilen ve *B. bifidum* içeren ayran. Sonuçlar, ortalama değer±standart sapma olarak verilmiştir.

Konu ile ilgili literatür incelendiğinde; ayran [31, 62, 63] ve yoğurtla [34, 64] ilgili çeşitli çalışmalarda da benzer şekilde depolama süresince yoğurt bakterileri ve/veya probiyotik bakterileri sayılarının azaldığı görülmüştür. Depolama sırasında üründe meydana gelen biyokimyasal değişimler, bu değişimlere karşı duyarlılıklarına bağlı olarak probiyotik bakterilerin canlılıklarında azalmaya neden olabilmektedir. Yoğurt

bakterileri, laktobasiller ve bifidobakteriler β-galaktosidaz, β-fosfogalaktosidaz veya her iki enzimi birden içerebilmektedir. Bu nedenle, canlı olmayan probiyotik bakterilerin metabolik enzimleri, adapte olmuş probiyotik bakterilerin fermantasyon kabiliyetini artırarak biyokimyasal değişikliklere neden olabilmekte ve bu değişiklikler de canlı probiyotik bakteri sayısında azalmaya sebep olabilmektedir [65].

Tablo 4. Depolama süresince ayran örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* ve *B. Bifidum*'un sayılarına (log kob/mL) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>
Kontrol örneği	7.0±1.17 b*	6.3±1.55 b		
<i>L. acidophilus</i> içeren ayran	8.1±0.73 a	7.8±0.75 a		
<i>B. bifidum</i> içeren ayran	8.1±0.72 a	7.7±0.88 a		
<b>Üretim Yöntemi</b>				
Standardize süttten ayran üretimi	8.0±1.02 a	7.7±0.79 a	8.3±0.6 a	7.8±0.9 b
Yoğurttan ayran üretimi	7.5±1.02 b	6.8±1.54 b	8.3±0.6 a	7.9±0.9 a
<b>Depolama Zamanı</b>				
1. gün	8.5±0.47 a	8.1±1.24 a	8.7±0.1 a	8.7±0.0 a
15. gün	8.0±0.49 b	7.3±1.16 b	8.6±0.1 a	7.9±0.2 b
30. gün	6.7±1.00 c	6.4±0.98 c	7.6±0.1 b	6.9±0.1 c

\* Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0.05).

Üretiminde kullanılan probiyotik bakteri çeşidinin, ayran örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayıları üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ( $P>0.05$ ), ancak probiyotik ayran örneklerinde bulunan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayılarının kontrol grubu ayran örneklerinde bulunanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4). Ayar ve Burucu [63] yapmış oldukları çalışmada probiyotik ayranın tespit ettikleri *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile *S. thermophilus* sayılarının kontrol grubu örneklerinden daha yüksek olduğunu ve probiyotik bakterinin yoğurt bakterilerinin gelişimini önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir. Burucu [31] yapmış olduğu çalışmada, kontrol grubu ayran örneklerindeki ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayılarının, probiyotik ayran örneklerindeki ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayılarından düşük olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızdaki mikrobiyolojik analiz sonuçları incelendiğinde; standardize süttten üretilen ayran örneklerindeki ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayılarının yoğurttan üretilen ayran örneklerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yoğurttan üretilen ayran örneğindeki *B. bifidum* sayısının standardize süttten üretilen ayran örneğine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Standardize süttten üretilen ayranlarda tespit edilen yoğurt bakterilerinin sayısının daha yüksek olması nedeniyle *B. bifidum* gelişimi üzerinde antogonistik etki yaptığı düşünülmektedir. Yoğurt bakterilerinin (özellikle *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), post asidifikasyon yoluyla probiyotik bakteri gelişimini azalttığı bildirilmektedir [15]. Böylece artan titre edilebilir asitlik ve azalan pH ile birlikte hidrojen peroksit, kısa zincirli yağ asitleri ve bakteriyosinler gibi bazı metabolitlerin oluşumuna bağlı olarak bakteri hücrelerinin zarar gördüğü ve probiyotik bakterilerde canlılık kaybı olabildiği belirtilmektedir [66]. Bununla birlikte asidik ortamlarda Bifidobakterilerin direncinin diğer probiyotik bakterilere göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir [60]. Çalışma sonucunda üretilen tüm probiyotik ayran örnekleri değerlendirildiğinde, örneklerin depolama süresince  $>10^6$  kob/mL probiyotik bakteri içerdiği belirlenmiştir.

## SONUÇ

Bu çalışmada, yoğurt starter kültürü ve probiyotik bakteriler kullanılarak farklı üretim yöntemleri ile probiyotik ayran üretilmiştir. Örneklerin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri karşılaştırmalı olarak ortaya konulmuştur. Farklı üretim yöntemleri kullanılmasının örneklerin fizikokimyasal özellikleri ve mikrobiyolojik özellikleri üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Fizikokimyasal özellikler bakımından değerlendirildiğinde, yoğurt starter kültürü ve probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen yoğurdun içilebilir nitelikteki su ile seyreltilerek ayrana işlenmesi olan yoğurttan ayran üretimi yönteminin probiyotik ayran üretimi için daha uygun olduğu belirlenmiştir. Mikrobiyolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde ise probiyotik mikroorganizma olarak *L. acidophilus* kullanılması durumunda *L. acidophilus*'un canlılığı üzerinde üretim yöntemin herhangi bir etkisinin olmadığı, probiyotik mikroorganizma olarak *B. bifidum*'un kullanılması durumunda ise yoğurttan üretilen ayran örneklerindeki *B. bifidum* sayısının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, her iki üretim yöntemiyle üretilen ayran örneklerinde depolama süresince *L. acidophilus*'un sayısı *B. bifidum*'a göre daha yüksek bulunmuş, ancak iki probiyotik bakterinin sayıları arasındaki farkın 1 log birimden az olduğu belirlenmiştir. Bu nedenlerle probiyotik ayran üretiminde probiyotik mikroorganizma olarak hem *L. acidophilus*'un hem de *B. bifidum*'un kullanılabilirliği, üretim yöntemi olarak ise yoğurttan ayran üretim yönteminin kullanılmasının daha uygun olacağı değerlendirilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2009.02.0121.029).

## KAYNAKLAR

- [1] Aleksandra, A., Niveska, P., Vesna, V., Jasna, T., Tamara, P., Marlia, G. (2009). Milk in human nutrition: comparison of fatty acid profiles. *Acta Veterinaria*, 59(5-6), 569-578.

- [2] Yücecan, S., Ekinciler, T. (1974). Sütün beslenmemizdeki yeri ve kullanılması. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 3(2), 112-126.
- [3] Chandan, R.C., Gandhi, A., Shah, N.P. (2017). Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade. In: Yogurt in health and disease prevention, Edited by N.P. Shah. Academic Press, 533p.
- [4] Hayatoğlu, F. (2021). Probiyotik Bakteri İlavesi ile Üretilen Ayranların Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, Türkiye.
- [5] Çetin, B., Atik, A., Karasu, S. (2014). Kırklareli'nde üretilen yoğurt ve ayranların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. *Akademik Gıda*, 12(2), 57-60.
- [6] Taşkın, B., Bağdatlıoğlu, N. (2011). Süt ve fermente süt ürünlerinin antioksidan özellikleri. *Akademik Gıda*, 9(5), 67-74.
- [7] Anonim. (2013). TS 6800 Ayran. Türk Standartları Enstitüsü, 5ss, Ankara.
- [8] Anonim. (2009). Türk Gıda Kodeksi-Fermente Süt Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2009/25. T.C. Resmi Gazete 16.02.2009 tarih ve 27143 sayı. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.
- [9] Seyrekoğlu, F. (2020). Bazı Kantaron Ekstraktlarının Enkapsülasyon Tekniği ile Ayran Üretiminde Kullanılması. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Samsun, Türkiye.
- [10] Uzay, M., Öztürk, H.İ., Buzrul, S., Maskan, M. (2021). A study on rheological properties, sensory evaluation and shelf life of ayran-shalgam mixtures. *Journal of Food Science and Technology*, 58(7), 2479-2486.
- [11] Bölükbaşı, B. (2007). Trakya Bölgesinde Farklı Köylerden Alınan Yoğurtlardan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Bunların EPS (Ekzopolisakkarit) Üretim Kabiliyetlerinin Belirlenmesi ve Bu Bakteriler Kullanılarak Ayran Üretimine Uygun Kombinasyonlarının Seçilmesi Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.
- [12] Ozcan, O., Ozcan, T., Yılmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayazit, A., Delikanlı, B. (2016). The use of prebiotics of plant origin in functional milk products. *Food Science and Technology*, 4(2), 15-22.
- [13] Sağdıç, O., Küçüköner, E., Özçelik, S. (2004). Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3-4), 221-228.
- [14] Koçak, Ç., Kök Taş, T. (2013). Fonksiyonel süt ürünlerinin bağışıklık sistemi üzerine etkisi ve yakult örneği. *Akademik Gıda*, 11(3-4), 114-118.
- [15] Barat, A., Özcan, T. (2016). Fermente süt içeceğinde probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine meyve ilavesinin etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53(3), 259-267.
- [16] Sezen, A., Koçak, C. (2006). Fonksiyonel süt ürünleri teknolojisindeki gelişmeler. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Mayıs, 24-26, 2006, Bolu, Türkiye, 89-92p.
- [17] Seçkin, A.K., Baladura, E. (2011). Süt ve süt ürünlerinin fonksiyonel özellikleri. *Celal Bayar University Journal of Science*, 7(1), 27-38.
- [18] Shortt, C. (1999). The probiotic century: Historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10(12), 411-417.
- [19] Tosun, H., Demirel, N.N. (2006). *Lactobacillus acidophilus* ve bifidobakterlerin özellikleri ve süt endüstrisinde kullanımı. *Akademik Gıda*, 4(21), 13-14.
- [20] Kaya, M. (2015). Sinbiyotik Yoğurt Üretimi ve Reolojik, Fonksiyonel ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [21] Maden, E.A., Altun, C. (2012). Probiyotikler ve ağız sağlığı. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 22(3), 334-339.
- [22] Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve kullanım alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 95-104.
- [23] İravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S.V. (2015). Technology and potential applications of probiotic encapsulation in fermented milk products. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8), 4679-4696.
- [24] Panesar, P.S., Shinde, C. (2011). Effect of storage on syneresis, pH, *Lactobacillus acidophilus* count, *Bifidobacterium bifidum* count of aloe vera fortified probiotic yoghurt. *Current Research in Dairy Sciences*, 1-7.
- [25] Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasilyevic, T., Shah, N.P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt. *International Dairy Journal*, 16, 1181-1189.
- [26] Uysal-Pala, Ç., Karagül-Yüceer, Y., Pala, A. (2006). Farklı keçi ırkı sütlerinden üretilen probiyotik ayranın karakteristik özellikleri. *Akademik Gıda*, 4(2), 3-5.
- [27] Mortazavian, A.M., Ehsani, M.R., Azizi, A., Razavi, S.H., Mousavi, S.M., Sohrabvandi, S., Reinheimer, J.A. (2008). Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. *Australian Journal of Dairy Technology*, 63(1), 25.
- [28] Tipigil, E. (2015). İki Farklı Yöntem Kullanılarak Probiyotik Bakteri Mikroenkapsülasyonu ve Ayranda Depolama Periyodu Boyunca Hücre Stabilitesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- [29] Kök-Taş, T., Güzel-Seydim, Z. 2010. Çeşitli yağ ikame maddeleri ve probiyotik kullanımının ayran kalite kriterleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Gıda*, 35(2): 105-111.
- [30] Alajılı Alslı, Z. (2019). Influence of Spirulina and Whey Protein Hydrolysate on Growth Rate and Activity of Some Probiotic Bacteria in Ayran. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, Türkiye.
- [31] Burucu, H. (2008). Ayran Üretiminde Peyniraltı Suyu Ürünleri ile Kappa Karragenan Kullanımının Duyusal Fiziko-Kimyasal ve Probiyotik Özelliklerin Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.

- [32] Güler-Akın, M.B., Ferliarslan, I., Akın, M.S. (2016). Apricot probiotic drinking yoghurt supplied with inulin and oat fiber. *Advances in Microbiology*, 6, 999-1009.
- [33] Ivanovska, T.P., Zhivikj, Z., Bogdanovska, L., Pavlova, M.J., Gjurovski, I., Ristoski, T., Mladenovska, K., Petrushevska-Tozi, L. (2016). Probiotic/synbiotic enriched ayran as functional food product–quality and therapeutic benefits. 6<sup>th</sup> Congress of Pharmacy in Macedonia with International Participation. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 62, 253-254.
- [34] Çomak Göçer, E.M., Ergin, F., Aşçı Arslan, A., Küçükçetin, A. (2016). Farklı inkübasyon sıcaklığı ile inkübasyon sonlandırma pH'sının probiyotik yoğurdun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 14(4), 341-350.
- [35] Anonim. (2002). TS 1018 İnek Sütü-Çiğ Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 14 ss, Ankara.
- [36] Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1993). Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum.
- [37] Anonim. (1995). TS 8189 Sütte Yağ Tayini-Gerber Metodu (Rutin Metod) Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 10 ss, Ankara.
- [38] Anonymous. (1986). Milk Determination of Nitrogen Content (Kjeldahl Method) and Calculation of Crude Protein Content. International IDF Standard, 20A, Belgium.
- [39] Özdemir, U., Kılıç, M. (2004). Influence of fermentation conditions on rheological properties and serum separation of ayran. *Journal of Texture Studies*, 35, 415-428.
- [40] Anonymous. 2001. Milk and Milk Products-General Guidance for the Preparation of Test Samples, Initial Suspensions and Decimal Dilutions for Microbiological Examination. International IDF Standard, 122, Belgium.
- [41] Tabasco, R., Paarup, T., Janer, C., Peláez, C., Requena, T. (2007). Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal*, 17(9), 1107- 1114.
- [42] Phillips, M., Kailasapathy, K., Tran, L. (2006). Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 276-280.
- [43] Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A. (1999). Culture media for enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9, 497-505.
- [44] Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- [45] Atamer, M., Gürsel, A., Tamuçay, B., Gençer, N., Yıldırım, G., Odabaşı, S., Karademir, E., Şenel, E., Kırdar, S. (1999). Dayanıklı ayran üretiminde pektin kullanım olanakları üzerine bir araştırma. *Gıda Teknolojisi Dergisi* 24(2), 119-126.
- [46] Gunawardhana, W.A.D.C., Dilrukshi, H.N.N. (2016). Development of yoghurt drink enriched with avocado pulp (*Persea americana*). *International Journal of Advanced Scientific Research and Management*, 1(9), 97-102.
- [47] Ivanovska, T.P., Zhivikj, Z., Bogdanovska, L., Mladenovska, K., Petrushevska-Tozi, L. (2018). Application of *Lactobacillus casei* 01 and oligofructose-enriched inulin in ayran. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 37(1), 43-52.
- [48] Akbulut Çakır, Ç., Bozkurt, A. (2020). Impact of pH on the salty taste perception of the yogurt drink, ayran. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(3), 301-309.
- [49] Küçükakgöl, Ö., Koçak, C., Sezen, F., Yıldız, F. (2009). Yağ ikame maddesi kullanılarak (litesse@ ultra™) kurumadde artırımının yağsız yoğurdun kalitesi üzerine etkisi. *Gıda*, 34(5), 271-278.
- [50] Tamuçay-Özünü, B., Koçak, C. (2010). Farklı inkübasyon sonu asitliğinin ayran kalitesine etkisi. *Gıda*, 35(2), 113-119.
- [51] Tonguç, İ.E. (2006). Probiyotik Ayran Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- [52] Khedr, O. M. S., El-Sonbaty, S. M., Moawed, F. S. M., Kandil, E. I., Abdel-Maksoud, B. E. (2021). *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 Exopolysaccharides Suppresses Mediators of Inflammation through the Inhibition of TLR2/STAT-3/P38-MAPK Pathway in DEN-Induced Hepatocarcinogenesis in Rats. *Nutrition and Cancer*, 1-11.
- [53] Ferrari, M., Hameleers, L., Stuart, M. C. A., Oerlemans, M. M. P., de Vos, P., Jurak, E., Walvoort M. T. C. (2021). Efficient isolation of membrane-associated exopolysaccharides of four commercial bifidobacterial strains. *Carbohydrate Polymers*, 1-8.
- [54] Kök Taş, T. (2005). Çeşitli Yağ İkame Maddelerinin Ayran Kalite Kriterleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye.
- [55] Özdemir, Ü. (2004). Üretim Parametrelerinin Ayranın Yapısal Özelliklerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [56] Tamuçay-Özünü, B. (2005). Ayranın Kalitesinde Etkili Bazı Parametreler Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- [57] Da Silva, D.C.G., De Abreu, L.R., Assumpção, G.M.P. (2012). Addition of water-soluble soy extract and probiotic culture, viscosity, water retention capacity and syneresis characteristics of goat milk yogurt. *Ciência Rural*, 42(3), 545-550.
- [58] Ghasempour, Z., Alizadeh, M., Bari, M.R. (2012). Optimisation of probiotic yoghurt production containing zedo gum. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 118-125.
- [59] Köksoy, A., Kılıç, M. (2003). Effects of water salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink. *International Dairy Journal*, 13, 835-839.
- [60] Parvarei, M.M., Fazeli, M.R., Mortazavian, A.M., Nezhad, S.S., Mortazavi, S.A., Golabchifar, A.A.,

- Khorshidian, N. (2021). Comparative effects of probiotic and paraprobiotic addition on microbiological, biochemical and physical properties of yogurt. *Food Research International*, 140, 110030, 1-45.
- [61] Ergönüllü, E., Demiryol, İ. (1983). Yoğurda değişik oranlarda su katılarak yapılan ayranların bazı özellikleri üzerinde araştırma. *Gıda*, 8(5), 203-208.
- [62] Kocabaş, H. (2019). Laktoz İçeriği Azaltılmış Ayran Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, Türkiye.
- [63] Ayar, A., Burucu, H. (2013). Effect of whey fractions on microbial and physicochemical properties of probiotic ayran (drinkable yogurt). *International Food Research Journal*, 20(3), 1409-1415.
- [64] 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. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2578-2590.
- [65] Sarlak, Z., Rouhi, M., Mohammadi, R., Khaksar, R., Mortazavian, A.M., Sohrabvandi, S., Garavand, F. (2017). Probiotic biological strategies to decontaminate aflatoxin M1 in a traditional Iranian fermented milk drink (Doogh). *Food Control*, 71, 152-159.
- [66] Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A.M., Khosravi-Darani, K., Rad, A.H. (2013). Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12, 139-144.
-

## Turunçgil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarının Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Aktivitesi

Gökhan Akarca , Fatma Baytal 

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

Geliş Tarihi (Received): 04.05.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 25.10.2021

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

☎ 0272 228 1423 📠 0272 228 1422

### ÖZ

Bu çalışmada, Ege bölgesinden toplanan turunçgil meyvelerinin (mandalina, limon, greyfurt, portakal) kabuk ve yapraklarından (taze ve kurutulmuş) elde edilen etanol ekstraktlarının, gıda kaynaklı üç Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) ve dört Gram negatif (*Salmonella* Typhi, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) patojen bakteri türü üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin varlığı ile minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri disk difüzyon metodu ile araştırılmıştır. Dört farklı turunçgil türünün taze ve kuru kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları içerisinde en yüksek antimikrobiyal etkileri sırasıyla; 21.51 mm zon çapı ile *Listeria monocytogenes* ve 34.65 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde mandalina kabuğu etanol ekstraktları göstermiştir ( $p<0.05$ ). Turunçgil kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının en düşük MIC ve MBC değerleri sırasıyla 11.72 µg/mL ve 3.90 µg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde kurutulmuş mandalina ve limon kabukları etanol ekstraktında olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Turunçgil yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının en düşük MIC ve MBC değerleri ise sırasıyla 5.86 µg/mL ile *Bacillus cereus* üzerinde kurutulmuş limon ve 3.90 µg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde kurutulmuş mandalina kabukları etanol ekstraktında olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Disk difüzyon, MIC, MBC, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*

### Antimicrobial Activity of Citrus Peel and Leaf Extracts against Foodborne Pathogenic Bacteria

#### ABSTRACT

In this study, the presence of antimicrobial effects of ethanol extracts obtained from the peel and leaves (fresh and dried) of citrus fruits (mandarin, lemon, grapefruit, orange) collected from the Aegean region of Turkey on three Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) and four Gram negative (*Salmonella* Typhi, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) foodborne pathogenic bacteria species and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values were investigated by disk diffusion method. Among the ethanol extracts obtained from fresh and dried peels of four different citrus species, the highest antimicrobial effects were obtained for mandarin peel ethanol extracts on *Listeria monocytogenes* with a zone diameter of 21.51 mm and *Staphylococcus aureus* with a zone diameter of 34.65 mm ( $p<0.05$ ). The lowest MIC and MBC values of ethanol extracts of citrus peels were obtained for dried tangerine and lemon peels on *Listeria monocytogenes* with 11.72 µg/mL and 3.90 µg/mL ( $p<0.05$ ), respectively. The lowest MIC and MBC values of ethanol extracts of citrus leaves were determined for dried lemon peels on *Bacillus cereus* with 5.86 µg/mL and dried tangerine peels on *Listeria monocytogenes* with 3.90 µg/mL ( $p<0.05$ ), respectively.

**Keywords:** Disk diffusion, MIC, MBC, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*

## GİRİŞ

Turunçgiller veya Turunçgil *Rutaceae* familyasının *Aurantoideae* alt familyasına dahil olup birçok tür içermektedirler. Ancak bunlardan en önemlileri *Citrus paradisi* (altıntop), *Citrus limon* (limon), *Citrus sinensis* (tatlı portakal), *Citrus reticula* (mandarin), *Citrus aurantium* (acı portakal), *Citrus maxima* ya da *Citrus grandis* (Pomelo)'dir [1]. İnsan sağlığına önemli yararları bulunan turunçgillerin Anavatanı Çin, Hindistan ve Güney Doğu Asya olduğu belirtilmektedir [2]. Dünyada üretimi en fazla olan meyve grubu 140 milyon ton ile turunçgillerdir [3]. Dünya turunçgil üretim alanının en kuzey sınırında yer alan Türkiye de turunçgil yetiştiriciliği en fazla Ege, Akdeniz ve kısmen de Doğu Karadeniz bölgelerinde yapılmaktadır Türkiye'de turunçgil yetiştiriciliğinde üretim miktarı olarak en çok payı, toplam üretim miktarının %70'ine sahip olan Çukurova almaktadır. Turunçgillerin duysal kokusu; kabuk kimyasındaki uçucu yağlardan, karakteristik rengi; flavonid ve karotenoidlerden, tadı ise; organik asit-şeker (çoğunlukla sitrik asit) oranı ile az miktarda bulunan aromatik bileşenlerden kaynaklanmaktadır [4].

Turunçgillerin dış kısmında 2 katmandan oluşan (flavedo ve albedo) kabuk kısmı yer almaktadır. En dışta bulunan, sarıdan portakal kırmızısına kadar değişen ince tabaka flavedo, flavedonun altında bulunan; keçe benzeri yapıda, beyaz renkli, daha iri hücrelerden oluşan ise albedo tabakasıdır. Flavedo kısmında karotenoid pigmentleri ve yağ hücreleri yer almakta, albedoda ise su ve besin maddeleri taşıyan damarlar yer almaktadır [5]. Yapılan çalışmalarda kabukların bileşimindeki vitamin, toplam fenolik madde ve mineral madde içeriğinin meyve ve meyve suyundan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [6]. Günümüzde turunçgil türleri ve çeşitlerinin kültürü yapılanlarının büyük bir çoğunluğu diploid kromozom yapısında olup  $2n=18$  kromozom içermektedirler [7]. Bileşiminde bulunan folik ve askorbik asit, lif, potasyum, magnezyum, pektin, vitaminler (tiamin, niyasin, B6 vitamini) flavonoidler ve karotenoidler ile insan sağlığı üzerine olumlu etkileriyle öne çıkan turunçgillerin bileşenlerinin miktarı; turunçgilin olgunluk ve çeşidi, saklama koşulları, işleme yöntemlerine göre değişmektedir [8].

Turunçgillerin meyvelerinden gıda olarak faydalanmakla birlikte kabuk, çiçek veya yapraklarından parfümeri sanayisinde kullanılan uçucu yağ elde edilebilmektedir. Elde edilen yağlar aynı zamanda; gıda, eczacılık, kimya ve kozmetik gibi birçok alanda da kullanılmaktadır. Gıda alanında gazlı içeceklerin hazırlanmasında sitrus meyvesinin kabuk yağından faydalanılmaktadır [5]. Turunçgillerin yenilen kısmının haricinde, çekirdek ve kabuklardan oluşan atık kısımlarından halk arasında bazı hastalıkların tedavisinde de (diyabet, hipertansiyon gibi) kullanılmaktadır [6].

Bu çalışmada, dört farklı taze ve kurutulmuş turunçgil meyvesinden elde edilen kabuk ve yaprakların etanol ekstraktlarının, bazı önemli gıda kaynaklı patojen bakteri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Bu çalışmada kullanılan turunçgil meyveleri ve yaprakları (mandalina (*Citrus reticulata*), limon (*Citrus lemon*), greyfurt, (*Citrus paradisi*) portakal (*Citrus cinensis*)); Ege bölgesi Aydın ili Söke ilçesinde (37° 42' 11"N 27° 21' 56"E ile 37° 42' 21"N 27° 22' 06" E arası, denizden yükseklik 40 m) bulunan meyve bahçelerinden Ekim- Ocak 2020 ayları arasında hasat edilmiştir. Örneklerin gerekli alt tür ve varyete düzeyinde teşhisi Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyeleri tarafından yapılmıştır.

### Örneklerin Analiz için Hazırlanması

Taze olarak kullanılacak kabuk ve yapraklar, hasat işlemlerini takip eden iki gün içerisinde ayrılmış, kuru olarak kullanılacak olanlar ise; ayrıldıktan sonra gölgede oda sıcaklığında 15 gün süre ile kurutulmuştur.

### Ekstraksiyon İşlemi

Taze olarak analiz edilecek örnekler el ve keskin bir bıçak yardımı ile olabildiğince küçük parçalara ayrılmış, kurutulan örnekler ise, laboratuvar tipi değirmende (D300, Sundem, Türkiye) toz haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Ardından her örnekten 300'er g hassas terazide (Radwag PS 510 R, Polonya) tartılarak üzerine 1:3 (w/v) oranında %85' lik etanolden (Merck, 100983, Almanya) 400 mL ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler shaker (Wishesake SHO-2D, Witeg, Kore) 120 dev/dk 24 saat çalkalanmıştır. Ekstraktlar sterilize edilmiş filtre kağıdından (Watman No:32) süzülükten sonra, süzütüdeki çözücü rotary evaporatörde (Heidolph, Almanya) 100 rpm hızda, 40- 50°C uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlar ayrı ayrı steril cam şişelere alınarak alüminyum folyo ile kaplanmış, analizleri tamamlanincaya kadar serin ve karanlık bir ortama muhafaza edilmişlerdir [9].

### Araştırmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Araştırmada; *Esherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 51774), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) *Salmonella Typhi* (ATCC 14028) ve *Bacillus cereus* (ATCC 14579) Türlerine ait bakteriler kullanılmıştır.

### İnokulumların Hazırlanması

Kanlı agarda (Merck, 110886, Almanya) 4-7°C'de muhafaza edilen bakteri suşlarından steril öze yardımıyla alınarak, her bakteri kültürü için özel seçici besiyerine geçilmiş ve uygun koşullarda, 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen ayrı ayrı düşmüş kolonilerden steril bir öze yardımıyla ile alınan koloniler, içerisinde 9 mL steril ringer (Merck, 115525, Almanya) solüsyonu bulunan tüpler içerisinde süspansiyon edilmiş ve homojen bir bulanıklık oluşturulmuştur. Ele edilen inokulum süspansiyonunun

yoğunluğu densitometre (Biosan, 1B, Türkiye) ile 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanan inokulumlardan 0.1 mL ( $10^6$ - $10^7$  kob/mL) steril bir pipet (Eppendorf, Research plus, Almanya) yardımıyla alınarak yeni hazırlanmış 22°C'de, katkısız Muller Hinton Agar (Merck 1,05437, Almanya) (MHA) yüzeyine homojen bir şekilde inokule edilmiştir. Inokulum steril drigalski spatülleri (Orlab, Türkiye) aracılığı ile homojen emilim sağlanana kadar petri yüzeyine yayılmıştır [10, 11].

### Ekstrakt İçeren Disklerin Hazırlanması

Elde edilen turunçgil ekstraktlarından 10'ar µL steril uçlu otomatik pipet (Research Plus, Eppendorf, Almanya) yardımı ile petri kutuları (Steril, 90 x 15, Fıratmed, Türkiye) içerisine alınarak ve üzerine boş antibiyotik diskleri (Bio-Disk 316010001) yerleştirilmiştir. Disklerin ekstraktları emmesi için petri kutuları kapakları kapalı şekilde 1 saat boyunca buzdolabında (4°C'de) bekletilmiş, ardından diskler 25°C'de inkubatörde (Incucell, MMM, Almanya) 10-12 saat süre ile kurutulmuştur [12].

### Disk Difüzyon Metodu ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Mueller Hinton Agar (Merck 1,05437) besiyeri yüzeyine yayılan inokulasyonların emilmesi için 10 dk beklendikten sonra, turunçgil ekstraktları emdirilmiş ve kurutulmuş antibiyogram diskler (Bio-Disk 316010001, Türkiye) besiyerinin yüzeyine oluşacak zonların bir birisine değmeyeceği uzaklıkta olacak şekilde penset aracılığıyla (3'lü ve 4'lü) yerleştirilmiş ve disklerin sabitlenmesi için 15 dakika petri kutularının hareketsiz kalması sağlanmıştır [13]. Daha sonra petri kutuları içerisine inokule edilen bakteri türüne uygun koşullarda *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* ve *Salmonella Typhi* aerobik koşullarda, 35±1°C'de 16-20 saat, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus cereus*; aerobik koşullarda, 30±1°C'de 16-20 saat ve *Listeria monocytogenes* ise; %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda, 35±1°C'de 16-20 saat etüvde (Incucell, MMM, Almanya) inkübasyona bırakılmış [14]. Süre sonunda oluşan zonlar, yeterli gün ışığı altında digital bir kumpas (Mitutoyo, 500-181-30, Japonya) yardımıyla ölçülmüştür [11].

### Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) Değerinin Belirlenmesi

Birden fazla konsantrasyonlarda test edilen antimikrobiyal bileşen veya maddelerin mikrobiyal gelişiminin gözle görülür biçimde engellendiği, inhibe olduğu en düşük antimikrobiyal konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) olarak tanımlanmıştır [15]. Çalışmada kullanılan bakteri suşları, Mueller-Hinton broth (Merck 110293) üzerinde inoküle edilerek uygun gelişim süre ve sıcaklıklarında inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriye suşların inokülasyonu 24 saatlik genç kültür kültürlerden hazırlanmış ve süspansiyonlar 0.5 McFarland türbidite standardına ayarlanmıştır.

Her biri 2 mL steril Nutrient broth (Merck 1.05443, Almanya) içeren altı tüpten ilkinde, 2 mL turunçgil ekstraktı bir steril uçlu otomatik pipet (Research Plus, Eppendorf) kullanılarak ilave edilmiştir. İlk tüpteki turunçgil ekstraktı ve Nutrient broth karışımından 2 mL alınarak, bir sonraki tüp içerisinde bulunan içerik (2 mL steril Nutrient broth) ile karıştırılmıştır. İşleme bu şekilde son tüpe kadar devam edilmiş, bu şekilde içerisinde aynı miktarlarda, ancak bir önceki tüpün yarı konsantrasyonunda broth ve ekstrakt karışımları elde edilmiştir. Ayrıca, sadece 2 mL Nutrient broth ve yalnızca 2 mL turunçgil ekstraktları içeren pozitif ve negatif kontrol tüpleri de oluşturulmuştur. Ardından Tryptic Soy broth (Merck, 105459, Almanya) içerisinde bulunan genç bakteri suşlarından steril bir otomatik pipet yardımıyla 1'er µL alınmış ve negatif kontrol tüpü hariç tüm tüpler içerisine inokule edilmiş ve tüplerin uygun sıcaklık, zaman ve koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda bulanıklık, membranlı ve yüzeyinde çökelti bulunan tüpler bakteri üremesi pozitif olarak tanımlanmıştır. MIC değeri, pozitif büyüme tespit edilen tüp ile bir öncesindeki tüpün konsantrasyonlarının toplamının yarısı alınarak hesaplanmıştır. Ayrıca inkübasyon süresinin sonunda negatif kontrol tüpünde bakteri üremesi olmadığı, ancak pozitif kontrol tüpünde bakteri üremesi olduğu da tespit edilmiştir [11, 16, 17].

### Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) Değerinin Belirlenmesi

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC), MIC değeri belirlendikten sonra, MIC testinin devamı olarak yapılan bir analizdir [18]. MIC değerinin belirlenmesi analizinde, gelişmenin gözlemlendiği ilk tüpten başlayarak, sonraki tüm tüplerden steril bir öze yardımıyla örnekler alınmış ve Muller Hinton Agar besiyerinin yüzeyine çizme şeklinde inokule edilmiştir. Ardından besiyeri her bir bakteri uygun sıcaklıkta, zamanda ve koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından, MBC değeri, petri kutularında hiçbir gelişimin tespit edilmediği konsantrasyon olarak belirlenmiştir [11, 19, 20].

### İstatistiksel Analizler

Araştırmada tüm analizler üç paralel olacak kez yapılmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi SPSS V 23.0.0.0 programı ile tek yönlü ANOVA testi kullanılarak yapılmıştır. Önemli bir farka sahip ortalama değerler ( $p < 0.05$ ) Duncan'ın çoklu aralık testleri ile karşılaştırılmıştır [21].

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Antibakteriyel etki, MIC ve MBC değerleri üzerinde, kurutma işlemi, turunçgil çeşidi (kabuk ve yaprak ayrı ayrı olacak şekilde), bakteri türü, kurutma işlemi x turunçgil çeşidi, kurutma işlemi x bakteri türü, turunçgil çeşidi x bakteri türü ve kurutma işlemi x turunçgil çeşidi x bakteri türü etkileşimlerinin tamamının çok fazla etkili olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan yedi farklı gıda kaynaklı patojen bakteri üzerinde, dört farklı taze ve kurutulmuş turunçgil



kabuğu etanol ekstraktının antibakteriyel etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmada kullanılan turunçgil kabukları içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi mandalina kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları göstermiştir ( $p<0.05$ ).

Ayrıca antibakteriyel etki araştırmada kullanılan bakteriler arasında Gram pozitif olanlarda, Gram negatif olanlara kıyasla daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Turunçgil kabuklarına uygulanan kurutma işlemi de patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinin artmasına neden olmuştur.

Tablo 1. Turunçgil kabuklarının antimikrobiyal aktivitesi

**Table 1. Antimicrobial activity of citrus peels**

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	10.75±1.41 <sup>b</sup>	7.01±0.17 <sup>d</sup>	16.62±0.51 <sup>b</sup>	13.43±0.33 <sup>e</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.10±0.68 <sup>b</sup>	34.65±5.66 <sup>a</sup>	18.44±0.29 <sup>a</sup>	32.17±0.47 <sup>a</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	8.015±1.18 <sup>b</sup>	9.015±1.87 <sup>d</sup>	12.61±0.78 <sup>cd</sup>	14.01±0.30 <sup>e</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9.32±1.07 <sup>b</sup>	8.01±0.59 <sup>d</sup>	12.11±0.33 <sup>d</sup>	12.53±0.17 <sup>f</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	21.51±2.02 <sup>a</sup>	27.72±3.39 <sup>b</sup>	13.53±0.45 <sup>c</sup>	20.01±0.21 <sup>c</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	8.19±1.36 <sup>b</sup>	10.77±1.24 <sup>d</sup>	13.01±0.28 <sup>cd</sup>	17.17±0.20 <sup>d</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.05±1.44 <sup>b</sup>	20.785±2.48 <sup>c</sup>	12.45±0.44 <sup>cd</sup>	22.28±0.24 <sup>b</sup>
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	9.88±0.23 <sup>c</sup>	12.38±0.34 <sup>d</sup>	14.77±0.48 <sup>b</sup>	27.09±0.51 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.22±0.15 <sup>d</sup>	12.62±0.24 <sup>d</sup>	17.64±0.42 <sup>a</sup>	19.18±0.66 <sup>c</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	10.29±0.20 <sup>bc</sup>	12.33±0.17 <sup>d</sup>	12.31±0.22 <sup>c</sup>	16.67±0.35 <sup>d</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	14.26±0.28 <sup>a</sup>	26.29±0.78 <sup>a</sup>	10.03±0.26 <sup>d</sup>	18.63±0.40 <sup>c</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	14.31±0.25 <sup>a</sup>	26.73±0.54 <sup>a</sup>	14.51±0.24 <sup>b</sup>	16.22±0.15 <sup>d</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	10.52±0.28 <sup>b</sup>	14.44±0.45 <sup>c</sup>	13.47±0.51 <sup>c</sup>	20.56±0.44 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.38±0.33 <sup>e</sup>	17.08±0.18 <sup>b</sup>	11.53±0.11 <sup>c</sup>	20.71±0.28 <sup>b</sup>

Dört farklı turunçgil türünün taze kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları içerisinde en yüksek antibakteriyel etkiyi *Listeria monocytogenes* üzerinde 21.51 mm zon çapı ile mandalina kabuğu etanol ekstraktı göstermiştir. Bu etkiyi sırasıyla *Staphylococcus aureus* üzerinde 18.44 mm zon çapı ile portakal ve yine *Staphylococcus aureus* üzerinde 17.64 mm zon çapı ile limon kabuğu etanol ekstraktları göstermiştir ( $p<0.05$ ). Benzer şekilde kurutulmuş turunçgil kabuklarında ise en yüksek antibakteriyel etki; 34.65 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde mandalina kabuğu etanol ekstraktı tarafından oluşturulmuştur. Bu etkiyi sırasıyla *Staphylococcus aureus* üzerinde 32.17 mm zon çapı ile portakal ve *Listeria monocytogenes* üzerinde 27.72 mm zon çapı ile yine mandalina kabuğu etanol ekstraktları takip etmişlerdir ( $p<0.05$ ).

Yapılan araştırmalar mandalina, portakal, greyfurt ve limon kabukları içerisinde en fazla bulunan bileşenin limonen (> %90) olduğunu ortaya koymuştur [22-26] Limonen gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerinde yüksek antibakteriyel etkiye sahiptir [27]. Çalışmamızda kullandığımız turunçgil kabuklarının başlıca antibakteriyel etkisi limonenden kaynaklanmaktadır.

Yashaswini ve Arvind [28] araştırmalarında portakal kabuk etanol ekstraktının patojen bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal etki gösterdiğini ifade etmiş, en yüksek etkinin 19.12 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Dorman ve ark. [29] ve Mandalari ve ark. [30] tarafından yapılan araştırmalarda turunçgil kabuklarında antibakteriyel aktivite tespit edilmiştir. Espina ve ark. [25] ise mandalina kabuğunun limon kabuğundan daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ifade

etmişlerdir. Bu bulgular, araştırma sonuçlarımıza benzerlik göstermektedir.

Bakterilerin hücre duvarının yapısı flavonoidler, fenolik bileşikler ve polifenollerin neden olduğu lokalize protonasyon etkilerine karşı çok az tamponlama kapasitesine sahiptir. Bu durum kolaylıkla hiper asitleşmeye neden olabilir, stoplazma membranı ile alakalı H<sup>+</sup> -ATPaz ilişkisi bozulabilir ve sonuçta bakteri hücresinin enerji metabolizması olumsuz bir şekilde etkilenerek ölümüne neden olabilir [28, 31]. Bu bileşikler ayrıca nükleik asit sentezinin inhibisyonu, sitoplazmik membran fonksiyonunun inhibisyonu ve enerji metabolizmasının bozulması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla da antimikrobiyal aktivite göstermektedirler [32].

Yapılan çalışmalar (istisnaları olmasına karşın) Gram pozitif bakterilerin bitki ekstraktlarına karşı Gram negatiflere kıyasla (hücre duvarında ek bir polisakkarit tabakanın varlığı nedeniyle) daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur [33, 34]. Gram negatif bakterilerde bulunan hücre duvarı bileşenlerinin yanı sıra ek bir lipopolisakkarit tabakasının varlığı, hücre duvarının etrafında bozulmamış bir plazma zarı potansiyel oluşturarak daha fazla tamponlama kapasitesine ve hidrofobikliğe sahip olmaktadır. Bu nedenle basit fenolik bileşiklerin etkisini engelleyebilir ve böylece bu bakterilerin flavonoidler ve polifenollere karşı duyarlılığını azaltabilir [28, 31]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bu ifadeler ile uyumludur.

Kurutma işlemi kabuklardaki su miktarının azalmasına, dolayısı ile fenolik bileşikler ve polifenollerin konsantrasyonlarının artması neden olmuştur. Bunun sonucunda da kurutulmuş kabuklardan elde edilen

ekstralar daha yüksek antibakteriyel etkilere neden olmuştur.

Dört farklı turunçgil türünün yaş yapraklarından elde edilen etanol ekstraktları içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi *Staphylococcus aureus* üzerinde 18.70 mm zon çapı ile mandalina kabuğu etanol ekstraktı göstermiştir. Bu etkiyi yine *Staphylococcus aureus* üzerinde sırasıyla 18.54 mm zon çapı ile portakal ve 18.11 mm zon çapı ile limon kabuğu etanol ekstraktları

göstermiştir (Tablo 2;  $p < 0.05$ ). Benzer şekilde kurutulmuş turunçgil kabuklarında ise en yüksek antibakteriyel etki; 28.75 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde mandalina kabuğu etanol ekstraktı tarafından oluşturulmuştur. Bu etkiyi yine *Staphylococcus aureus* üzerinde sırasıyla 27.39 mm zon çapı ile portakal ve 26.94 mm zon çapı ile limon kabuğu etanol ekstraktları takip etmişlerdir (Tablo 2;  $p < 0.05$ ).

Tablo 2. Turunçgil yapraklarının antimikrobiyal aktivitesi

Table 2. Antimicrobial activity of citrus leaves

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	12.10±0.32 <sup>c</sup>	15.93±0.24 <sup>c</sup>	10.58±0.22 <sup>b</sup>	20.46±0.40 <sup>e</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	18.70±0.46 <sup>a</sup>	28.75±0.24 <sup>a</sup>	18.54±0.31 <sup>a</sup>	27.39±0.37 <sup>a</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	10.56±0.28 <sup>d</sup>	13.25±0.23 <sup>e</sup>	9.73±0.14 <sup>c</sup>	20.54±0.40 <sup>e</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10.93±0.24 <sup>d</sup>	12.63±0.11 <sup>f</sup>	9.53±0.11 <sup>b</sup>	24.33±0.29 <sup>d</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	15.10±0.17 <sup>b</sup>	16.88±0.13 <sup>b</sup>	11.70±0.11 <sup>b</sup>	26.23±0.13 <sup>b</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	14.46±0.25 <sup>b</sup>	16.08±0.18 <sup>c</sup>	11.03±0.13 <sup>b</sup>	25.46±0.21 <sup>c</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.86±0.33 <sup>b</sup>	14.20±0.22 <sup>d</sup>	9.02±0.15 <sup>d</sup>	17.06±0.37 <sup>f</sup>
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	11.16±1.34 <sup>c</sup>	12.29±0.76 <sup>d</sup>	15.25±0.31 <sup>c</sup>	14.34±0.28 <sup>c</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.99±0.29 <sup>a</sup>	17.27±0.62 <sup>a</sup>	18.11±0.13 <sup>b</sup>	26.94±0.25 <sup>a</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	10.73±0.28 <sup>c</sup>	13.85±0.32 <sup>c</sup>	10.27±0.20 <sup>e</sup>	14.04±0.30 <sup>c</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10.25±1.28 <sup>c</sup>	12.03±0.29 <sup>d</sup>	10.43±0.33 <sup>e</sup>	12.48±0.33 <sup>d</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	16.65±0.54 <sup>a</sup>	17.83±0.42 <sup>a</sup>	15.33±0.28 <sup>c</sup>	19.39±0.37 <sup>b</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	14.34±0.27 <sup>b</sup>	15.37±0.39 <sup>b</sup>	18.71±0.24 <sup>a</sup>	19.80±0.52 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.81±0.35 <sup>d</sup>	9.50±0.53 <sup>e</sup>	11.34±0.16 <sup>d</sup>	14.31±0.19 <sup>c</sup>

Turunçgil kabuklarının gösterdiği etki ile kıyaslandığında daha düşük bir antibakteriyel etki göstermelerine karşın yapraklar içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi kabuklara benzer şekilde mandalina yapraklarından elde edilen etanol ekstraktları göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Aynı şekilde yaprak etanol ekstraktları Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatiflere kıyasla daha etkili olmuşlardır. Kabuk etanol ekstraktlarında olduğu şekilde kurutma işlemi yine patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinin artmasına neden olmuştur.

Hojjati ve Barzegar [35] limon yapraklarının elde edilen etanol ekstraktları en yüksek antibakteriyel etkiyi çalışmalarında kullandıkları Gram pozitif bakterilerden *Bacillus cereus* (33.46 mm zon çapı) ve *Staphylococcus aureus* (31.52 mm zon çapı) üzerinde gösterdiklerini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Filip ve ark. [36] portakal yapraklarının %70 etanol ekstraktının araştırmada kullandıkları Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olmadığını, buna karşın Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar araştırma bulgularımıza paralellik göstermektedir.

Lawal ve ark. [37] mandalina yapraklarının ana bileşeninin pinokarvon, Hojjati ve Barzegar [35], Huang ve ark. [38], Waikedre ve ark. [39], ve Abdel-Gaber ve ark. [40] mandalina portakal ve limon yapraklarının ana bileşeninin linaol ve Paoli ve ark. [41] ise greyfurt yapraklarının ana bileşeninin sabinen olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan araştırmalar pinokarvon, linaol ve sabinen'in yüksek antibakteriyel etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır [42-46]. Buna göre çalışmamızda turunçgil yapraklarının tespit edilen antibakteriyel etkisinin başlıca bu üç bileşenden kaynaklandığı düşünülmektedir.

MIC, mikroorganizmanın gelişmesini tamamen durduran en düşük ilaç/ esansiyel yağ/ ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır [47]. Taze ve kurutulmuş turunçgil kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının yedi farklı gıda kaynaklı patojen bakteri üzerindeki MIC değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Buna göre en düşük MIC değeri kuru mandalina kabuğu etanol ekstraktında 11.72 µg/mL ile *Listeria monocytogenes*, en yüksek MIC değeri ise taze mandalina kabuğu etanol ekstraktında 750 µg/mL ile *Enterobacter aerogenes* üzerinde olduğu üzerinde tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Chanthaphon ve ark. [48] araştırma sonuçlarımıza benzer şekilde farklı turunçgil türlerinin kabuk ekstraktlarının en düşük MIC değerinin 0.56 mg/mL değer ile *Listeria monocytogenes* üzerinde kumkat kabuğundan elde edilen ekstraktta olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar MIC değerlerini, çalışmalarında kullandıkları Gram pozitif bakterilerde Gram negatif bakterilere kıyasla daha düşük olarak belirlediklerini bildirmişlerdir.

Taze ve kurutulmuş turunçgil yapraklarının yedi farklı patojen bakteri üzerindeki en düşük MIC değeri 5.86 µg/mL ile kurutulmuş limon yaprağı etanol ekstraktında *Bacillus cereus* üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu

değerin ardından en düşük MIC değerleri 8.79 µg/mL ile sırasıyla kurutulmuş mandalina ve limon yaprağı etanol ekstraktları *Salmonella Typhi* ve *Enterobacter aerogenes* üzerinde göstermişlerdir. Buna karşın en yüksek MIC değeri ise 375 µg/mL ile taze greyfurt

yaprağı etanol ekstraktında *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4; p<0.05). Ayrıca araştırmamızda kabuklara ve yapraklara uygulanan kurutma işleminin MIC değeri üzerinde düşürücü bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3. Turunçgil kabuklarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri (µg/mL)

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) values of citrus peels (µg/mL)

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Taze Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	140.63±66.29 <sup>bc</sup>	140.63±66.29 <sup>ab</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>	29.30±24.86 <sup>ab</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	70.32±33.14 <sup>c</sup>	140.63±66.29 <sup>ab</sup>	17.58±8.29 <sup>ab</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	117.19±99.43 <sup>bc</sup>	35.16±16.57 <sup>b</sup>	29.30±24.86 <sup>ab</sup>	17.58±8.29 <sup>b</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	750.00±0.00 <sup>a</sup>	281.25±132.58 <sup>a</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>	46.88±0.00 <sup>ab</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	281.25±132.58 <sup>b</sup>	11.72±0.00 <sup>c</sup>	17.58±8.29 <sup>ab</sup>	17.58±8.29 <sup>b</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	140.63±66.29 <sup>bc</sup>	35.16±16.57 <sup>b</sup>	117.19±99.43 <sup>a</sup>	70.32±33.14 <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	187.5±0.00 <sup>bc</sup>	29.30±24.86 <sup>b</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	140.63±66.29 <sup>b</sup>	70.32±33.14 <sup>b</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>	58.60±49.72 <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	35.12±16.52 <sup>c</sup>	35.16±16.57 <sup>b</sup>	17.58±8.29 <sup>b</sup>	23.44±0.00 <sup>b</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	140.63±66.29 <sup>b</sup>	70.32±33.14 <sup>b</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>	117.19±99.43 <sup>ab</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	187.50±0.00 <sup>b</sup>	35.16±16.57 <sup>b</sup>	46.88±0.00 <sup>ab</sup>	187.50±0.00 <sup>a</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	35.16±16.57 <sup>c</sup>	17.58±8.29 <sup>b</sup>	23.44±0.00 <sup>ab</sup>	17.58±8.29 <sup>b</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	187.50±0.00 <sup>b</sup>	70.32±33.14 <sup>b</sup>	70.32±33.14 <sup>a</sup>	93.75±0.00 <sup>ab</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	375.00±0.00 <sup>a</sup>	187.50±0.00 <sup>a</sup>	35.16±16.57 <sup>ab</sup>	35.16±16.57 <sup>b</sup>

Tablo 4. Turunçgil yapraklarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri (µg/mL)

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) values (µg/mL) of citrus leaves

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	70.31±33.15 <sup>a</sup>	23.44±0.00 <sup>a</sup>	93.75±0.00 <sup>c</sup>	17.58±8.29 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	140.63±66.29 <sup>a</sup>	58.60±49.72 <sup>a</sup>	70.31±33.15 <sup>c</sup>	14.65±12.43 <sup>a</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	35.16±16.57 <sup>a</sup>	8.79±4.15 <sup>a</sup>	140.63±66.29 <sup>bc</sup>	21.48±13.81 <sup>a</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	140.63±66.29 <sup>a</sup>	17.58±8.29 <sup>a</sup>	117.19±99.44 <sup>bc</sup>	35.15±16.57 <sup>a</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	117.19±99.44 <sup>a</sup>	70.31±33.15 <sup>a</sup>	281.25±132.58 <sup>ab</sup>	93.75±0.00 <sup>a</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	234.38±198.87 <sup>a</sup>	117.19±99.44 <sup>a</sup>	375.00±0.00 <sup>a</sup>	140.63±66.29 <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93.75±0.00 <sup>a</sup>	58.59±49.72 <sup>a</sup>	140.63±66.29 <sup>bc</sup>	93.75±0.00 <sup>a</sup>
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	70.31±33.15 <sup>b</sup>	35.16±16.58 <sup>b</sup>	58.59±49.72 <sup>a</sup>	11.72±0.00 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	35.12±16.52 <sup>b</sup>	23.44±0.00 <sup>b</sup>	93.75±0.00 <sup>a</sup>	35.16±16.57 <sup>a</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	93.75±0.00 <sup>b</sup>	70.31±33.14 <sup>b</sup>	35.16±16.57 <sup>a</sup>	17.58±8.29 <sup>a</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	140.63±66.29 <sup>b</sup>	35.16±16.57 <sup>b</sup>	23.44±0.00 <sup>a</sup>	8.79±4.14 <sup>a</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	35.16±16.57 <sup>b</sup>	17.58±8.29 <sup>b</sup>	140.63±66.29 <sup>a</sup>	46.88±0.00 <sup>a</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	140.63±66.29 <sup>b</sup>	93.75±0.00 <sup>b</sup>	17.58±8.29 <sup>a</sup>	5.86±0.00 <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	375.00±0.00 <sup>a</sup>	281.25±132.58 <sup>a</sup>	117.19±99.43 <sup>a</sup>	35.16±16.57 <sup>a</sup>

Swarnamoni ve ark. [49] Pomelo (*Citrus maxima*) yapraklarının etanol ekstraktlarının en düşük MIC değerinin 0.312 mg/mL ile araştırmada kullandığı bakterilerden *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacıları elde ettikleri veriler araştırma bulgularımıza paralellik göstermektedir.

MBC değeri (mg/L veya µg/mL) incelenen bakterinin %99.9'unu öldüren en düşük ilaç/ esansiyel yağ/ ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır [46]. Taze ve kurutulmuş turunçgil kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının gıda kaynaklı yedi farklı patojen bakteri üzerindeki MBC değerleri Tablo 5'de gösterilmiştir. Buna göre en düşük MBC değeri 3.90 µg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde, kurutulmuş

mandalina ve limon kabukları etanol ekstraktlarında olduğu, buna karşın en yüksek MBC değeri ise taze mandalina kabuğu etanol ekstraktında 187.5 µg/mL ile *Enterobacter aerogenes* üzerinde olduğu üzerinde tespit edilmiştir (Tablo 5; p<0.05).

Chanthaphon ve ark. [48] araştırmalarında sonuçlarımıza paralel şekilde Gram pozitif bakterilerin MBC değerlerinin Gram negatif bakterilerden daha düşük olduğunu belirterek, en düşük MBC değerinin 1.13 mg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğunu bunu 2.25 mg/mL ile *Bacillus cereus*'un takip ettiğini bildirmişlerdir.

Taze ve kurutulmuş turunçgil yapraklarının araştırmamızda kullandığımız patojen bakteriler üzerindeki en düşük MBC değeri; 3.90 µg/mL ile kurutulmuş mandalina yaprağı etanol ekstraktında *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Bu değerinden en düşük MBC değeri 5.86 µg/mL ile kurutulmuş portakal yaprağı etanol ekstraktında *Staphylococcus aureus* üzerinde tespit olduğu edilmiştir. En yüksek MBC değeri ise; 250 µg/mL ile taze greyfurt yaprağı etanol ekstraktında *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 6; p<0.05).

Tablo 5. Turunçgil kabuklarının minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri (µg/mL)

**Table 5. Minimum bactericidal concentration (MBC) values (µg/mL) of citrus peels**

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Taze Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 <sup>b</sup>	46.88±22.10 <sup>a</sup>	11.72±5.54 <sup>ab</sup>	11.72±5.54 <sup>bc</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	31.25±0.00 <sup>b</sup>	62.50±0.00 <sup>a</sup>	7.80±0.00 <sup>b</sup>	7.80±0.00 <sup>c</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	15.63±0.00 <sup>b</sup>	11.72±5.54 <sup>ab</sup>	15.63±0.00 <sup>bc</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	187.5±88.39 <sup>a</sup>	62.50±0.00 <sup>a</sup>	15.63±0.00 <sup>ab</sup>	11.72±5.54 <sup>bc</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	93.75±44.19 <sup>ab</sup>	3.90±0.00 <sup>b</sup>	7.80±0.00 <sup>b</sup>	7.80±0.00 <sup>c</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	31.25±0.00 <sup>b</sup>	11.72±5.54 <sup>b</sup>	15.63±0.00 <sup>ab</sup>	23.44±11.05 <sup>bc</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93.75±44.19 <sup>ab</sup>	11.72±5.54 <sup>b</sup>	23.44±11.05 <sup>a</sup>	31.25±0.00 <sup>a</sup>
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 <sup>bc</sup>	31.25±0.00 <sup>b</sup>	15.63±0.00 <sup>b</sup>	11.72±5.54 <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.72±5.54 <sup>c</sup>	7.80±0.00 <sup>b</sup>	11.72±5.54 <sup>b</sup>	7.80±0.00 <sup>b</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	62.50±0.00 <sup>bc</sup>	46.88±22.10 <sup>b</sup>	15.63±0.00 <sup>b</sup>	19.53±16.58 <sup>b</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	46.88±22.10 <sup>bc</sup>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	23.44±11.05 <sup>b</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	15.63±0.00 <sup>c</sup>	7.80±0.00 <sup>b</sup>	7.80±0.00 <sup>b</sup>	3.90±0.00 <sup>a</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	93.75±44.19 <sup>ab</sup>	31.25±0.00 <sup>b</sup>	46.88±22.10 <sup>a</sup>	23.44±11.05 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125±0.00 <sup>a</sup>	93.75±44.19 <sup>a</sup>	11.72±5.54	19.53±16.58 <sup>b</sup>

Tablo 6. Turunçgil yapraklarının minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri (µg/mL)

**Table 6. Minimum bactericidal concentration (MBC) values (µg/mL) of citrus leaves**

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 <sup>ab</sup>	11.72±5.52 <sup>a</sup>	62.50±0.00 <sup>a</sup>	11.72±5.54 <sup>ab</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	93.75±44.19 <sup>ab</sup>	19.53±16.57 <sup>a</sup>	46.88±22.10 <sup>a</sup>	5.86±2.76 <sup>b</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	7.81±2.76 <sup>a</sup>	125.00±0.00 <sup>a</sup>	15.63±0.00 <sup>ab</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	125±0.00 <sup>ab</sup>	7.81±0.00 <sup>a</sup>	62.50±0.00 <sup>a</sup>	23.44±11.05 <sup>ab</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	93.75±44.19 <sup>ab</sup>	3.90±0.00 <sup>a</sup>	125.00±0.00 <sup>a</sup>	62.5±0.00 <sup>ab</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	187.5±88.39 <sup>a</sup>	62.50±0.00 <sup>a</sup>	187.50±88.39 <sup>a</sup>	125.00±0.00 <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62.5±0.00 <sup>ab</sup>	23.44±11.05 <sup>a</sup>	93.75±44.19 <sup>a</sup>	46.88±22.10 <sup>ab</sup>
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 <sup>ab</sup>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	31.25±5.54 <sup>a</sup>	7.81±0.00 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	9.77±8.28 <sup>b</sup>	39.06±0.00 <sup>a</sup>	23.44±11.25 <sup>a</sup>
<i>Salmonella Typhi</i>	62.50±0.00 <sup>ab</sup>	46.88±22.10 <sup>b</sup>	31.25±16.58 <sup>a</sup>	11.71±5.53 <sup>a</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	93.75±44.19 <sup>ab</sup>	31.25±0.00 <sup>b</sup>	15.62±11.05 <sup>a</sup>	7.81±0.00 <sup>a</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	23.44±11.05 <sup>b</sup>	11.71±5.53 <sup>b</sup>	93.72±0.00 <sup>a</sup>	31.25±0.00 <sup>a</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	125.00±0.00 <sup>ab</sup>	62.50±0.00 <sup>ab</sup>	15.62±11.05 <sup>a</sup>	23.44±11.25 <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250.00±0.00 <sup>a</sup>	187.50±88.39 <sup>a</sup>	93.75±5.54 <sup>a</sup>	19.53±16.58 <sup>a</sup>

Ayrıca araştırmamızda kabuklara ve yapraklara uygulanan kurutma işleminin MIC değerlerine benzer şekilde MBC değeri üzerinde de düşürücü bir etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Swarnamoni ve ark. [49] Pomelo (*Citrus maxima*) yapraklarının etanol ekstraktlarının en düşük MBC değerlerini 1.25 mg/mL ile *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğunu belirtmişlerdir.

## SONUÇ

Bu araştırma dört farklı turunçgil meyvesinin taze ve kurutulmuş kabuk ve yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının gıda kaynaklı yedi farklı bakteri

üzerindeki antibakteriyel etkilerini ortaya koymuştur. Çalışmada kullanılan turunçgil kabukları içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi mandalina kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları göstermiştir. En düşük MIC ve MBC değerleri kuru mandalina kabuğu etanol ekstraktında *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda bitkilerden elde edilen doğal bileşiklere karşı oluşan ilgi tıp, gıda ve eczacılık alanlarında hızla yayılmaktadır. Elde edilen bileşiklerin ortaya koymuş olduğu antibakteriyel etki bu bileşiklerin gıda, tıp, eczacılık, ziraat ve veteriner alanlarında kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca özellikle





son yıllarda bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş olduğu direncin kırılmasında bu bileşiklerin alternatif olarak kullanım imkanları olduğu görülmektedir. Şüphesiz ki bahsedilen etkilerin sağlanabilmesi adına konu hakkında daha kapsamlı çalışmalar yapılması, etken bileşenlerin insan ve hayvan sağlığı ile gıdalar üzerindeki etkilerinin ortaya konulması gerekmektedir. Bu amaçla araştırmanın ileride yapılacak olan benzer çalışmalara kaynak olacağı ümit edilmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Yılmaz, E. (2000). Turunçgil meyvelerinin insan sağlığına etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 47-52.
- [2] Uysal, O., Polatöz, S. (2017). Dünyada ve Türkiye'de turunçgil üretimi ve dış ticareti. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 6-11.
- [3] Saraçoğlu, T. (2017). Bazı turunçgil türlerinin seçilmiş fiziksel ve hidrodinamik özellikleri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 206-215.
- [4] Tağa, Ö. (2007). Ege ve Akdeniz Bölgelerinde Yetişen Turunçgil Ürünlerindeki Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- [5] Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, M. (2006). Turunçgil kabuk yağlarının elde edilmesi ve gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 71-77.
- [6] Güzel, M., Akpınar, Ö. (2017). Turunçgil kabuklarının biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7, 153-167.
- [7] Gülşen, O., Uzun, A. (2011). Turunçgil Araştırmalarında Biyoteknoloji çalışmaları. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 26, 68-76.
- [8] Cin, P., Gezer, C. (2017). Fonksiyonel bir besin olarak turunçgiller ve metabolik sendrom ilişkisi. *Gıda ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2), 49-58.
- [9] Akarca, G., Tomar, O., Güney, İ., Erdur, S., Gök, V. (2019). Determination of sensitivity of some food pathogens to spice extract. *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5253-5261.
- [10] Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 36, 493-496.
- [11] Akarca, G. (2019). Composition and antibacterial effect on food borne pathogens of *Hibiscus sarrattensis* L. calyces essential oil. *Industrial Crops and Products*, 137, 285-289.
- [12] Tomar, O., Akarca, G. (2020). The Antibacterial effects of çiriş (*Asphodelus aestivus* Brot.) on some foodborne pathogenic bacteria. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 18, 11-15.
- [13] Cruz-Gálvez, A.M., Castro-Rosas, J., Rodríguez-Marín, M.L., Cadena-Ramírez, A., Tellez-Jurado, A., Tovar-Jiménez, X., Chavez-Urbiola, E., Abreu-Corona, A., Gómez-Aldapa, C.A. (2018). Antimicrobial activity and physicochemical characterization of a potato starch-based film containing acetic and methanolic extracts of *Hibiscus sabdariffa* for use in sausage. *LWT Food Science and Technology*, 93: 300-305.
- [14] EUCAST, (2018). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_8.0\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf)
- [15] Şahin, E. (2006). Bitkisel kaynaklı antimikrobiallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [16] By Aamer, A.A., Abdul-Hafeez, M.M., Sayed, S.M. (2015). Minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC & MBC) of honey and bee propolis against multidrug resistant (mdr) *staphylococcus* spp. isolated from bovine clinical mastitis. *GJSFR D Agriculture Veterinary* 15(2), Version 1.0.
- [17] Chikezie, I.O. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *Africa Journal of Microbiology Research*, 11(23), 977-980.
- [18] Sümerkan, B., Gökahmetoğlu, S. (1998). MIC ve MBC Testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(2), 91-95.
- [19] Bauer, A.W., Perry, D.M., Kirby, W.M.M. (1959). Single disc antibiotic sensitivity testing of Staphylococci. *Archive of International Medicine*, 104, 208-216.
- [20] Dhiman, A., Nanda, A., Ahmad, S., Narasimhan, B. (2011). In vitro antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Psidium guajava* L. *Journal of Pharmacy and Bioallied Science*, 3(2), 226-229.
- [21] Anonymous, (2015). SPSS Version 23 for Windows SPSS Inc. Chicago IL, USA.
- [22] Kirbaslar, S., Boz, I., Kirbaslar, F.G. (2006). Composition of Turkish lemon and grapefruit peel oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18(5): 525-543.
- [23] Kirbaslar, F.G., Tavman, A., Dülger, B., Türker, G. (2009). Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pakistan Journal of Botany*, 41(6): 3207-3212.
- [24] Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Kallel, M., Sebei, H. (2010). Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*, 123(4): 1098-1104.
- [25] Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined. *Food Control*, 22(6): 896-902.
- [26] Ozogul, Y., Ozogul, F., Kulawik, P. (2021). The antimicrobial effect of grapefruit peel essential oil and its nanoemulsion on fish spoilage bacteria and food-borne pathogens. *LWT- Food Science and Technology*, 136, 110362.
- [27] Haiyan, L., Chongxin, X., Xiao, Z., Ying, L., Xianjin, L. (2016). Antibacterial effect of limonene on food-

- borne pathogen. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Science)*, 42(3), 306-312.
- [28] Yashaswini, P., Arvind. (2018). Antimicrobial properties of orange (*Citrus reticulata* var. *kinnow*) peel extracts against pathogenic bacteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(3), 737-746.
- [29] Dorman, H.J.D., Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- [30] Mandalari, G., Bennett, R.N., Bisignano, G., Trombetta, D., Saija, A., Faulds, C.B., Narbad, A. (2007). Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), 2056-2064.
- [31] Du, W.X., Olsen, C.W., Avena-Bustillos, R.J., Friedman, M., McHugh, T.H. (2011). Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 76(2), 149-155.
- [32] Cushnie, T.P., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- [33] Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- [34] Kalemba, D.A.A.K., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- [35] Hojiati, M., Barzegar, H. (2017). Chemical composition and biological activities of lemon (*Citrus limon*) leaf essential oil. *Nutrition and Food Sciences Research*, 4(4), 15-24.
- [36] Filip, S., Durovic, S., Blagojevic, S., Tomic, A., Ratinovic, A., Gasic, U., Tesic, Z., Zekovi, Z. (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of Osage orange (*Maclura pomifera*) leaf extracts. *Archiv der Pharmazie*, 354: e2000195 1-9.
- [37] Lawal, O.A., Ogunwande, I.A., Owolabi, M.S., Giva, A.O., Kasali, A.A., Abudu, F.A., Sanni, A.A., Opoku, A.R. (2014). Comparative analysis of essential oils of *Citrus aurantifolia* Swingle and *Citrus reticulata* Blanco, from two different localities of Lagos State, Nigeria. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(2), 08-12.
- [38] Huang, Y., Pu, Z., Chen, Q. (2000). The chemical composition of the leaf essential oils from 110 citrus species, cultivars, hybrids and varieties of Chinese origin. *Perfumer and Flavorist*, 25(1), 53-66.
- [39] Waikedre, J., Dugay, A., Barrachina, I., Herrenknecht, C., Cabalion, P., Fournet, A. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from new Caledonian *Citrus macroptera* and *Citrus hystrix*. *Chemistry and Biodiversity*, 7(4), 871-877.
- [40] Abdel-Gaber, A.M., Hijazi, K.M., Younes, G.O., Nsouli, B. (2017). Comparative study of the inhibitive action between the bitter orange leaf extract and its chemical constituent linalool on the mild steel corrosion in HCl solution. *Quim Nova*, 40(4), 395-401.
- [41] Paoli, M., de Rocca Serraa, D., Tomia, F., Lurob, F., Bighellia, A. (2016). Chemical composition of the leaf essential oil of grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) in relation with the genetic origin. *Journal of Essential Oil Research*, 28(4), 265-271.
- [42] Nwaogu, L.A., Alisi, C.S., Ibegbulem, C.O., Igwe, C.U. (2007). Phytochemical and antimicrobial activity of ethanolic extract of *Landolphia owariensis* leaf. *African Journal of Biotechnology*, 6(7), 890-893.
- [43] Park, S.N., Lim, Y.K., Freire, M.O., Cho, E., Jin, D., Kook, J.K. (2012). Antimicrobial effect of linalool and  $\alpha$ -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe*, 18(3), 369-372.
- [44] Ouedrhiri, W., Balouiri, M., Bouhdid, S., Mja, S., Chahdi, F.O., Taleb, M., Greche, H. (2016). Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils: Optimization of their antibacterial effect. *Industrial Crops and Products*, 89, 1-9.
- [45] Ben Salah, H., Bouaziz, H., Allouche, N. (2019). Chemical composition of essential oil from *Rhanterium suaveolens* Desf. and its antimicrobial activity against foodborne spoilage pathogens and mycotoxigenic fungi. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(3), 592-603.
- [46] Liu, X., Cai, J., Chen, H., Zhong, Q., Hou, Y., Chen, W., Chen, W. (2020). Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis*, 141, 103980.
- [47] Shetty, S.B., Mahin-Syed-Ismael, P., Varghese, S., Thomas-George, B., Kandathil-Thajuraj, P., Baby, D., Haleem, S., Sreedhar, S., Devang-Divakar, D. (2015). Antimicrobial effects of *Citrus sinensis* peel extracts against dental caries bacteria: An in vitro study. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(1), 71-77.
- [48] Chanthaphon, S., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(1), 125-131.
- [49] Swarnamoni, D., Bora, M., Ahmed, S. (2013). Antibacterial activity of the ethanolic extract of leaves of *Citrus maxima* (burm.) Merr. on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 136-139.

## Mikroplastikler ve Gıda Güvenliği

Orhan Atakan<sup>1</sup> , Muhammed Yüceer<sup>2</sup> , Cengiz Caner<sup>3</sup>  <sup>1</sup>Tarım ve Orman Bakanlığı, Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Çanakkale<sup>2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gıda İşleme Bölümü, Terzioğlu Kampüsü, Çanakkale<sup>3</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Terzioğlu Kampüsü, Çanakkale

Geliş Tarihi (Received): 28.08.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 14.12.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ccaner@comu.edu.tr (C. Caner)

☎ 0 286 218 0018 📠 0 286 218 0541

### ÖZ

Mikroplastik (MP) birikimi çevre ve insan sağlığı bakımından önemini korumaktadır. Plastiklerin küçük parçacıklara (<5 mm çap) ayrılmasıyla insan ve hayvan sağlığı ile ekosistem üzerinde yol açtığı sonuçların araştırılması gerekmektedir. Çevreye verdiği zararın yanı sıra hem insan hem de hayvan sağlığı açısından potansiyel bir risk unsuru olan mikroplastiklerin gıda maddelerinde ne kadar bulunduğu konusunda detaylı veriler bulunmamaktadır. Gerek üretim aşamalarında kullanılan katkı maddeleri gerekse de bozunma ürünlerinin toksisitesi sebebiyle mikroplastikler sağlık açısından önemli bir risk oluşturmaktadırlar. Bu çalışmada, tüm tüketicileri yakından ilgilendiren gıda maddelerindeki mikroplastik miktarını belirlemek için son yıllarda yapılan MP'ler ile ilgili araştırmalar derlenmiştir. Gıda ekosistemi açısından özellikle deniz ürünlerinde (özellikle midye ve karides) ve deniz tuzunda MP birikimi tespit edilmiştir. Bu durum yaygın olarak bildirilmiş bir çevresel konu olmakla birlikte gıda endüstrisindeki etkisi üzerine yapılan çalışmalar henüz yeterli sayıda değildir.

**Anahtar Kelimeler:** Plastik, Mikroplastik, Gıda güvenliği, Risk değerlendirmesi

### Microplastics and Food Safety

#### ABSTRACT

Microplastic (MP) accumulation maintains its importance in terms of environmental and human health. As plastics breakdown into tiny particles (<5 mm diameter), the consequences on human and animal health and ecosystem need to be further studied. In addition to its damage to environment, we do not have much data on how much MPs are present in food stuffs, which is a potential risk for both animal and human health. Microplastics pose a significant health risk due to both the additives used in the production stages and the toxicity of decomposition products. In this article, studies on MPs have been compiled in recent years to determine the amount of microplastics in food stuffs that are closely related to all consumers. In terms of the food ecosystem, MP accumulation has been detected especially in seafood (especially mussels and shrimp) and sea salt. It is a widely reported environmental issue, but its impact on food industry has been somewhat under-reported.

**Keywords:** Plastic, Microplastics, Food safety, Risk assessment

#### GİRİŞ

1950 yılında hayatımıza giren plastiğin üretimi ve tüketimi katlanarak artmaktadır. 1950 yılında 1,5 milyon ton plastik üretilirken bu miktar 2017 yılı itibarıyla 348

milyon tona ulaşmıştır [1]. Bu üretim miktarının 2025 yılına kadar iki katına çıkacağı 2050 yılında ise üç kattan fazla artarak 1 milyar tona ulaşacağı ön görülmektedir. Tüketicimin bu kadar yüksek olması atık yönetimi sorununu da beraberinde getirmektedir. Sadece 2010

yılı içerisinde 4.8–12.7 milyon ton plastik atığın okyanuslara atıldığı ve okyanuslarda yüzen plastik miktarının 280 bin tondan fazla olduğu tahmin edilmektedir. Birçok plastik çok yavaş bozunmaktadır. Çok sayıda plastik atık, bertaraf edilmesiyle ilgili katı düzenlemelerin olmaması nedeniyle sucül ve karasal ortamlarda ciddi kirliliğe neden olmaktadır [2, 3]. Ancak ultraviyole (UV) ışığa ve sürekli aşınmaya maruz kaldığında ise bu süreç önemli ölçüde hızlanmaktadır. Plastik atıklar, "mikroplastik" adı verilen küçük parçalara ayrıldıklarında (boyut < 5 mm) daha da büyük tehlikeler oluştururlar.

Son yıllarda üzerinde en çok durulan konularından biri de mikroplastiklerdir. Mikroplastığın uluslararası alanda kabul görmüş net bir tanımı yoktur. Mikroplastikler değişen boyut ve kimyasal bileşime sahip parçacıkları içerir. 2008 yılında Ulusal Okyanus ve Atmosfer Dairesi (NOAA) tarafından genel olarak MP denildiğinde organizmalar için zararlı olabilecek boyutu 5 mm'den küçük plastik parçacıkları ifade edilmektedir. Mikroplastik kontaminasyonun ana sebepleri olarak plastik atıkların yavaş yavaş parçalanarak çevreye dağılmasını ve güzellik ürünlerinde eksfoliyon olarak mikro boncukların kullanılmasını gıda ambalajları ve içecek şişelerini, sentetik tekstil ürünlerini, araç lastiklerini, boyaları, kişisel bakım ürünlerini ve elektronik ekipmanlarının yaygın ve gelişigüzel kullanımını söylemek mümkündür. Küçük boyutları nedeniyle bu kirleticiler su filtrasyon sistemlerinden geçebilir ve ciddi çevresel ve gıda güvenliği endişelerine

neden olabilirler. Gıda ambalajları ve içecek şişeleri, sentetik tekstil ürünleri, araç lastikleri, boyalar, kişisel bakım ürünleri ve elektronik ekipmanların yaygın ve gelişigüzel kullanımı, çevrenin ve gıda zincirinin MP kontaminasyonuna ana katkıda bulunanlardan biridir [4]. Plastikler kolayca parçalanmazlar. Plastikler, fotodegradasyon sürecinde güneşten gelen ultraviyole (UV) radyasyon parçalanır, büyük bir plastik birimi zamanla daha küçük ve daha küçük parçalara ayrılarak plastiğin kimyasal yapısını bozulur (Tablo 1). Bu ürünlerin bozunması uzun bir zaman, muhtemelen yüzlerce yıl alacaktır. Bozunmasının ne kadar süreceğini belirlemek, polimer türü, boyutu, kalınlığı ve çevresel koşullar (örneğin, güneş ışığına maruz kalma miktarı veya konum – kara veya suda) gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Plastikler daha küçük parçalara ayrıldıkça "mikroplastikler" olarak bilinen küçük plastik parçaları (yani uzunluğu 5 mm'den az) üretirler [5].

Mikroplastikler birincil ve ikincil MP'ler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. MP'ler doğrudan insan aktivitesinden (birincil MP'ler) veya daha büyük plastik nesnelere (ikincil MP'ler) mekanik, biyodegradasyon ve fotodegradasyon ile parçalanabilen lifler, fragmanlar, sferoidler, boncuklar, granüller, pelletler veya pullar olarak bulunabilir. Birincil mikroplastikler özellikle mikro boyutta üretilmiş plastikleri kapsarken ikincil mikroplastikler ise daha büyük boyutta üretilen plastiklerin zaman içerisinde kırılması, parçalanması sonucu meydana gelen parçaları ifade etmektedir [5].

Tablo 1. Çeşitli polimer yoğunluk değerleri ve doğada bozunma süreleri [6, 7]

Polimer	Polimer yoğunluğu (g/cm <sup>3</sup> )	Doğada Bozunma Süresi (yıl)
Polipropilen (PP)	0.90-0.91	10-600
Polietilen (PE)	0.965-0.971	10-600
Poliamid (nylon)(PA)	1.02-1.05	
Polistiren (PS)	1.04-1.1	50-80
Polivinil klorür (PVC)	1.16-1.58	50-100+
Polyester	1.23-2.3	
Polietilen teraftalat (PET)	1.37-1.45	~450

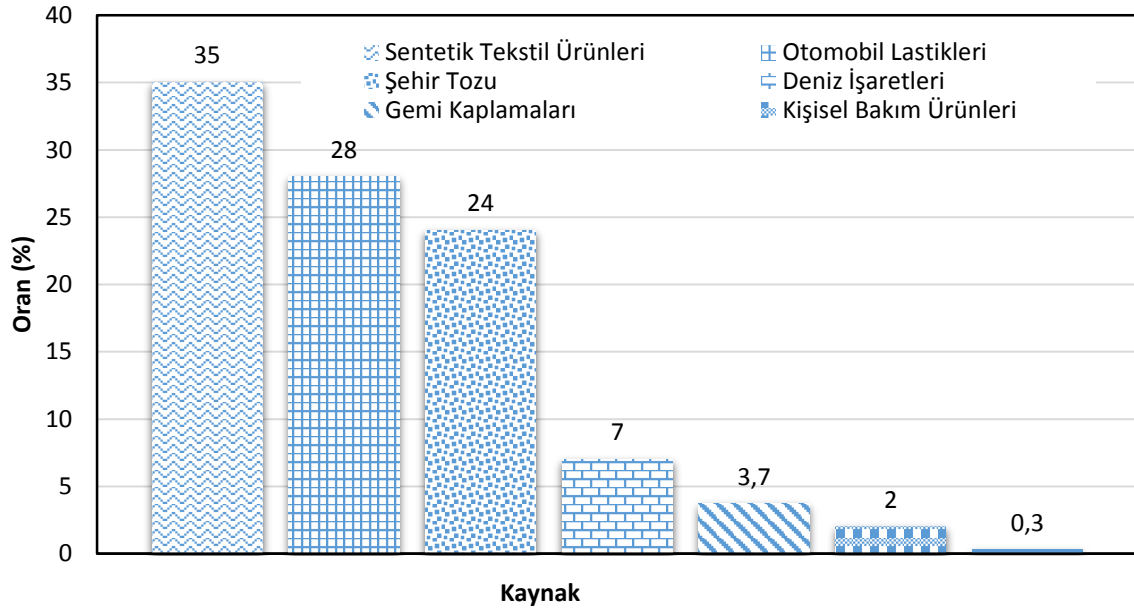
Birincil mikroplastikler çoğunlukla kozmetik sektöründe kullanılır. Mikroküre veya pellet şeklinde üretilirler ve genel olarak diş macunu ve kremler gibi kişisel temizlik ürünlerinin içerisinde bulunur. İkincil mikroplastikler ise okyanuslarda yüzen plastik yığınlarının çeşitli sebeplerle (uzun süre ultraviyole ışınlarla maruz kalma, mikroorganizmalar, deniz canlılarının etkisi vb.) fiziki olarak daha küçük parçalara parçalanması ve ayrışmasından kaynaklanır. İkincil MP'ler birincil MP'lere göre doğada daha fazla bulunur [8]. Araçların lastiklerinden kopan mikroplastikler okyanuslardaki plastik atık birikintilerinin asıl sebebinin oluşturmaktadır (Şekil 1). Deniz ve okyanuslarda bulunan MP'lerin %69-81 oranında ikincil mikroplastikler olduğu bildirilmiştir [9].

Mikroplastikler çevresel kirleticiler ve üretim süreçleri sırasında eklenen diğer kimyasallar için araç veya

taşıyıcı görevi görebilir. Stiren, toksik metaller, ftalatlar, bisfenol A, poliklorlu bifeniller ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi kimyasallar mikroplastiklerin yüzeyinde emilebilir ve "substrat" olarak işlev görebilir. Bu kirleticiler ve katkı maddeleri yutulan MP'lerden hayvan dokularına aktarılabilir ve temel vücut fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir [4].

Mikroplastikler genellikle 0.1-5000 µm arasında tanımlanırken, 0.001 µm ile 0.1 µm arasındaki boyutlarda yer alan MP'lere 'nanoplastik' ismi verilmektedir. Gıdalarda nanoplastik varlığı hakkında literatürde çok fazla veri bulunmamaktadır. Bu maddelerin tespit edilebilmesi amacıyla analitik metotların geliştirilmesi hala devam etmektedir [2].





Şekil 1. Okyanuslardaki mikroplastiklerin kaynakları (%) [10]

Figure 1. Sources of microplastics in the oceans (%) [10]

Günümüzde tüm okyanuslarda, nehirlerde, göllerde, atık sularında, içme sularında ve çeşitli gıda maddelerinde ve hatta yağmur suyunda dahi mikroplastiklerin varlığı tespit edilmiştir. Mikroplastikler denize karıştıktan sonra genel olarak çok hafif oldukları ve suda batmadıkları için çok uzak noktalara kadar gidebilmektedir. Arktik ve Antarktika'da bulunan buzulların içerisinde dahi mikroplastiklere rastlanmıştır. Bu kadar geniş bir alanda yayılmalarında rüzgârların da etkisi bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda mikroplastiklerin atmosferde bulunabildiği bunun yanı sıra kapalı alan ve açık alanlarda havada mikroplastiklerin bulunduğu görülmüştür. Mikroplastikler birçok şekil, boyut ve kimyasal bileşimde yayılmışlardır [11, 12].

Çeşitli plastik türlerinin ortamdaki MP'lere nasıl ayrıldığı ve besin zincirine nasıl girdiği hakkında yeterince bilgi mevcut değildir. Hayvanların MP'lerle kontamine olmuş gıdaları yemesiyle mikroplastiklerin besin zincirine girdiği anlaşılmıştır. Balıklar sürekli su alımı yapmaları nedeniyle küçük plastik parçaları yutabilmektedir. Mikroplastikleri vücuduna almış olan balıkları diğer hayvanlar yediğinde mikroplastikler besin zincirinde bir üst basamağa geçebilmektedirler. Bu şekilde mikroplastikler besin zincirinin en üstüne kadar hareket edebilirler [4].

Mikroplastiklerin doğada bu kadar yaygın olmasının hem hayvan hem de insan sağlığı üzerinde olumsuz etkisinin olabileceği söz konusudur. Mikroplastikler hayvanların sindirim sistemini tıkayarak onların ölümüne ya da beslenme alışkanlıklarını değiştirmesine neden olabilirler. Bununla beraber mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki etkisi henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Fakat akciğerlerde enflamasyona yol açması ile birincil veya ikincil genotoksik etkilerinin olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur [13]. Mikroplastiklerin önemli bir diğer etkisi de toksik kimyasallar için taşıyıcı görevi görmesidir. Ortamda

bulunan toksik kimyasallar adsorpsiyon yoluyla mikroplastığe tutunur ve daha sonra bu mikroplastığın canlılar tarafından yenmesi sonucu sindirim sisteminde desorbe olurlar. Böylece toksik maddeler canlı organizmaların sindirim sistemine girer ve buralarda birikir. Söz konusu kimyasal maddelerin pek çoğu karsinojen, mutajen ve teratojen etkiye sahip olduğundan ciddi sağlık tehdidine yol açarlar. Demir, mangan, alüminyum, kurşun, bakır, gümüş, çinko gibi ağır metaller ve hidrofobik organik kirleticiler bu maddelere örnek verilebilir. Bunlara aynı zamanda kalıcı organik kirleticiler de denilmektedir [14]. Plastik polimerlerin toksisitesi polimer türüne göre farklılık göstermektedir. Örneğin tatlı su istiridyesinde polivinil klorür (PVC) veya polistiren (PS); polietilen tereftalat (PET) veya polietilen (PE)'e göre daha fazla histolojik anormalliklere yol açmaktadır [15].

Plastik üretim sürecinde çeşitli kimyasal katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu katkı maddeleri kimyasal bağlarla polimer matrisine bağlanmadığı için kolayca dış ortama karışabilir. Bu yüzden plastik maddeler daha küçük parçalara ayrıldıkça çevreye verdiği zararın artması da olasıdır [16]. Son üründe istenen özelliklere göre üretim prosesinde polimerlere plastikleştirici, antioksidan, yanma dayanımını arttırıcılar, ultraviyole stabilizatörler, yağlayıcılar ve renklendirici maddeler katılmaktadır. Bu aşamada en çok kullanılan katkı maddeleri fitalatlar, bisfenol A, nonilfenol ve alev geciktiricilerdir [17].

Bunun yanı sıra plastik malzemelerin sahip olduğu fiziksel özellikler çeşitli mikroorganizmalar için bir yaşam alanı oluşturabilmektedir. Plastik yüzeyde oluşan biyofilmler bir vektör görevi görebilir ve patojen mikroorganizmalar, fekal indikatör mikroorganizmalar ve alglerin çoğalmasına yardımcı olabilir. Mikroplastikleri kolonize eden potansiyel zararlı mikroorganizmaların varlığıyla ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur [18].

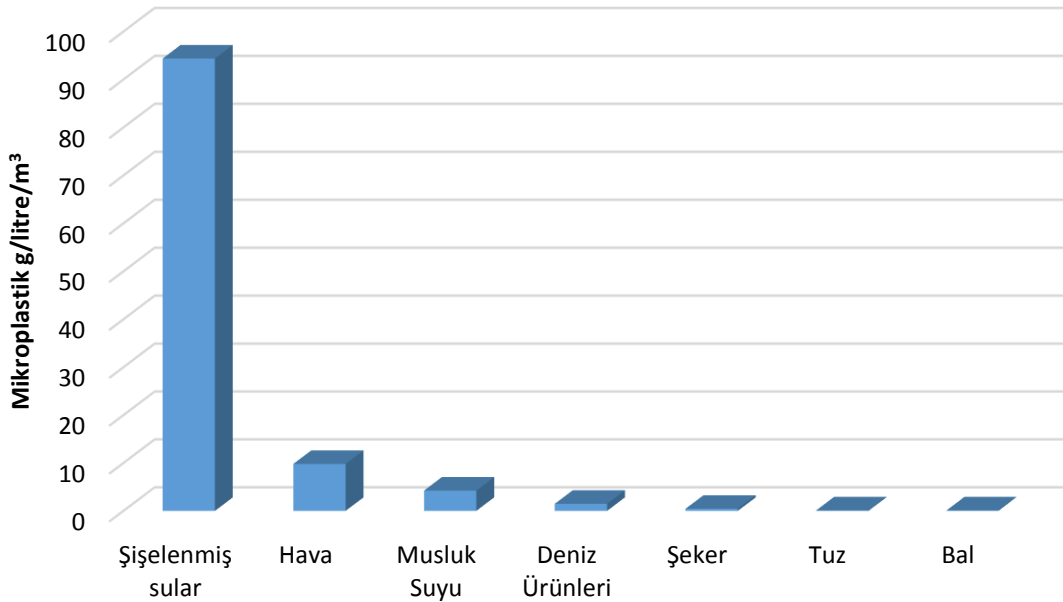
Mikroplastikler doğada bu kadar yaygın bulunmalarına ve günümüzün en popüler konularından biri kabul edilmekte ancak belirsizlik, değişkenlik ve vücutta birikimi konusu çözülememiştir. Ayrıca insan sağlığı üzerine olan etkileri ile ilgili çok fazla araştırma yapılmamıştır [19]. Mevcut çalışmalar, hücreleri veya insan dokularını MP'lere maruz bırakan veya fare veya sıçan gibi hayvanları kullanan laboratuvar deneylerine dayanmaktadır. Büyük oranda MP'le beslenen farelerin ince bağırsaklarında iltihaplanma görülmüştür. Mikroplastiklere maruz kalan farelerin sperm sayılarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ayrıca bu gruptaki farelerin daha az sayıda yavru olduğu ve yavrularının ağırlıklarının kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir. İnsan hücreleri veya dokuları üzerindeki in vitro çalışmaların bazıları da toksisite olduğunu göstermektedir. Önemli bir soru ise, mikroplastiklerin insan vücudunda kalabileceği ve potansiyel olarak bazı dokularda birikip birikmeyeceğidir. Farelerde yapılan çalışmalar, yaklaşık 5 mikrometre çapında mikroplastiklerin bağırsaklarda kalabileceğini veya karaciğere ulaşabileceğini göstermiştir. Parçacıkların hücrelerin içine girebilmesi için birkaç yüz nanometreden daha küçük olması gerekir [20].

Mikroplastiklere maruz kalma miktarıyla ilgili Amerika Birleşik Devletleri'nde bir tahminleme çalışması yapılmıştır [21]. Buna göre yıllık mikroplastik tüketiminin yaşa ve cinsiyete bağlı olarak 39000 ila 52000 parçacık arasında olduğunu tahmin edilmiştir. Hava yoluyla vücudumuza alıyor olabileceğimiz parçacıklar da dahil edildiğinde bu sayı 121000'e ulaşmaktadır.

Araştırmacılar bu tahminleme modelinde kişilerin musluk suyu yerine şişelenmiş su tüketmeleri durumunda bu sayıya 9000 parçacığın daha ilave edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada [22], kişi başına düşen MP alımının 37-1000'i deniz tuzundan, 4000'i musluk suyundan ve 11.000'i kabuklu deniz ürünlerinden olmak üzere 39.000-52.000 parçacık olduğu tahmin edilmiştir. Benzer bir çalışmada [23] dokuz gıda maddesi üzerinden (balık, yumuşakça, kabuklu deniz hayvanları, musluk suyu, şişelenmiş su, tuz, bira ve süt) bir kişinin ömrü boyunca ne kadar mikroplastiğe maruz kalacağı ön görülmeye çalışılmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucu kişi başına günlük 583 nanogram (ng) mikroplastiğe maruz kaldığı tahmin edilmiştir. Bu sayı çocuklar için 184 ng olarak bulunmuştur.

Gıda ürünlerinin MP kontaminasyonu ve insan gıda güvenliği üzerindeki etkilerinin çalışılması yeni ortaya çıkan bir alandır ve gri bir alandır. Mikroplastiklerin insan vücuduna yutulması ile ilişkili risk, tehlike ve maruz kalmanın bir fonksiyonudur.

Mikroplastiklerden gelen risklerin değerlendirilmesi için tehlike (olumsuz etkilere neden olma potansiyeli), maruz kalma seviyeleri (insan gıdalarında tespit edilen miktarlar) ve etkileri (eşik seviyelerinin tanımlanması) hakkında bilgiler gerektirir. Deniz ürünlerinde, içme sularında, tuzda, balda ve çeşitli gıda ürünlerindeki mikroplastiklerin konsantrasyonu üzerine de çalışmalar yapılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Çeşitli ürünlerde gram, litre, metreküp başına düşen mikroplastik miktarı [24]  
Figure 2. Microplastic amount per gram, liter, cubic meter in various products [24]

## İÇME SULARINDA MİKROPLASTİK

Mikroplastiklerin doğada yayılma yollarını tespit edebilmek kolay değildir. Dolayısıyla tatlı sulara ne şekilde bulaştığı hakkında çok az bilgi mevcuttur.

Bulaşma yollarını bilebilmek için öncelikle mikroplastığın özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Tüketiciler tarafından kullanılan plastik maddelerin yoğunluğu 0.85 ile 1.41 g/cm<sup>3</sup> arasında değişmektedir. Tatlı suyun yoğunluğunun 1 g/cm<sup>3</sup> olduğu düşünülürse

mikroplastiklerin bir kısmı suda batarken bir kısmı suda yüzer. En çok kullanılan plastik çeşitlerinin yoğunluk değerleri ve doğada bozunma süreleri Tablo 1'de gösterilmiştir [25].

İçme sularının arıtılması aşamasında su kaynaklı partiküllerle birlikte muhtemelen MP'ler de uzaklaştırılmaktadır. Fakat bu sistemlerde de çeşitli plastik parçalar kullanıldığı için zamanla bunların aşınması sonucu sulara mikroplastik geçişi olabilmektedir. Bununla beraber plastik şişelerde satılan sularda MP varlığı çok daha fazla olabilmektedir. Nitekim 2018 yılında yapılan bir çalışmada şişe sularda da MP kalıntılarına rastlanılmıştır. 11 farklı tek kullanımlık PET şişe sularda litre başına ortalama 14 parça tespit edilmiştir. Çok kullanımlık plastik şişelerde bu sayının litre başına 118 parçaya kadar çıktığı gözlemlenmiştir. En yüksek oran 50 parça/litre ile cam

şişelerde bulunmasına rağmen diğer şişelere kıyasla istatistiki olarak önemli bir farkın bulunmadığı görülmüştür [26]. Bir başka çalışmada 32 şişelenmiş maden suyu numunesi MP'ler, pigment ve katkı partikülleri ile kontaminasyon açısından araştırılmıştır. Plastik parçacıkların %95'inden fazlası 5µm'den daha küçük ve yaklaşık %50'si de 1.5µm'den daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Cam şişelerde daha büyük partiküller (~%15 > 5µm ve ≤10µm ve ~7% > 10µm) saptanmıştır. Cam şişede litre başına 3074-6292; tek kullanımlık PET şişelerde 2649; çok kullanımlık PET şişelerde ise 4889 parça bulunmuştur. PET şişelerde muhafaza edilen elde edilen suda, MP'lerin çoğu polietilen teraftalat PET iken cam şişelerdeki sularda polietilen (PE) (%46), polipropilen (PP) (%23) ve stiren-bütadien-kopolimer (%14) baskın polimer tipleridir (Tablo 2) [27].

Tablo 2. Şişe türlerine göre tespit edilen mikroplastiklerin polimer tipi dağılımı [27]

Polimer oranı (%)	Tek Kullanımlık Pet (%)	Çok Kullanımlık PET (%)	Cam (%)
PET	78	74	3.6
PET+olefin	11	7.7	-
PE	0.7	5.4	46
PP	10	10	23
Stiren-Butadien Kopolimer	-	-	14
diğer	1.0	2.6	13

Aynı çalışmada depozitolu şişelerde tespit edilen mikroplastik miktarı tek kullanımlık şişelerden 8 kat, karton kutudaki içeceklerden ise yaklaşık 10 kat daha yüksek bulunmuştur. Gazlı içeceğin bulunduğu şişelerde MP miktarı gazsız içeceklerin olduğu şişelere göre daha yüksek seviyelerde bulunmuştur. Bunun sebebinin gazlı içeceklerdeki yüksek basıncın plastik maddelerde strese yol açması ve plastik yüzeyinden parçacıkların kopmasına sebep olmasının olduğu düşünülmektedir. Karton ambalajlarda satışa sunulan içeceklerde tespit edilen polimerler içerisindeki baskın polimerin polietilen olması aynı zamanda selülozun tespit edilmesi söz konusu kontaminasyon ambalajdan kaynaklandığı düşüncesine yol açmıştır. Karton ambalajların iç ve dış yüzeyinde polietilen (PE) kaplama ve selüloz materyal kullanılmaktadır [26].

Cam şişelerde mikroplastik seviyesinin bu kadar yüksek olmasının sebebinin zaman içerisinde kapak kısmında meydana gelen aşınma sebebiyle olduğu düşünülmektedir. Tespit edilen polimer türü de bu hipotezi destekler niteliktedir [27].

Mikroplastikler tatlı sularda 0-10<sup>3</sup> partikül/L arasında değişen partikül sayımları bildirilmiştir. Tespit edilen mikroplastiklerin bağlı konsantrasyonu, konuma, örnekleme tekniğine (filtre boyutu) ve analiz yöntemine bağlıdır. Rapor edilen MP konsantrasyonları, kullanılan filtrelere bağlı olarak ortalama 0,00026-4,7 partikül/L aralığındadır. Boyut, şekil ve polimer türü, toksisitesi, ve içme suyu arıtımının etkinliği MP'leri etkileyebilecek özellikleridir [28].

Şişe sularda MP varlığının en büyük nedeni kapak ve açma kapama sırasında sürtünme nedeniyle kapak materyalinde meydana gelen aşınma, yırtılma gibi fiziksel deformasyonlardır. 2019 yılında yapılan çalışma mekanik stresin HDPE kapak ve PET şişede MP varlığını doğrudan etkilediğini göstermiştir. 3 farklı markanın şişe sularında yapılan çalışmada şişe kapağının iç yüzeyinde mm<sup>2</sup> başına düşen MP miktarı A markasında 120; B markasında 2150; C markasında 373 olarak ölçülmüştür. B markasında tespit edilen bu yüksek düzeyin temel sebebinin kapak sisteminin tasarımındaki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Gıda kullanımında genel olarak güvenli kabul edilen PET ve HDPE ambalajların kullanım sıklığına bağlı olarak değişmekle birlikte MP salımı konusunda bazı yetersizlikleri bulunmaktadır. Markalara bağlı olarak şişe ağzı ve kapaktan suya MP geçişinde çok fazla farklılığın olması gıdyla temas eden madde ve malzemelerin tanımlanması ve değerlendirilmesinde yeni düzenlemelerin yapılmasını gerekli kılmaktadır [29].

## TUZDA MİKROPLASTİK

Tuz insanlar tarafından doğrudan tüketilmesinin yanı sıra çeşitli gıda maddelerine koruyucu olarak da katılmaktadır. Bunun yanı sıra çeşitli kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde de kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda dünya genelinde farklı bölgelerde tüketilen deniz tuzlarında mikroplastik tespit edilmiştir. En yüksek değer kg başına 13500-19800 parça ile Hırvatistan'da üretilen tuzlarda bulunmuştur [30].

Bu konuda ülkemizde yapılan bir çalışmada deniz, kaya ve göllerden elde edilen tuzlardaki MP oranı araştırılmıştır. Çalışılan 5 farklı tuz markasında da MP tespit edilirken en yüksek kirlilik kilogram başına 46 parça ile deniz tuzunda tespit edilmiştir. Kaya tuzundaki oranların nispeten daha düşük olduğu ve bunun sebebinin de kaya tuzuna mikroplastığın tek bulaşma kaynağının işleme aşaması olduğu bildirilmiştir[31].

Yapılan başka bir çalışmada [32] ise altı kıtada 16 ülke/bölgeden coğrafi olarak farklı alanlarda üretilen toplam 39 farklı tuz markası araştırılmıştır. Deniz, göl ve kaya tuzlarında yapılan çalışmada tuzlarda en çok rastlanan polimerlerin PE, PP ve PET olduğu görülmüştür. Deniz tuzlarında tespit edilen mikroplastiklerin %35 PE, %30 PP, %30 PET; göl tuzlarında %47 PET, %28 PE, %11 Teflon, %10 PET; kaya tuzlarında ise %41 PET, %26 PE, %23 PP'den oluştuğu tespit edilmiştir. Mikroplastik miktarı deniz tuzlarında 13-629 adet/kg arasında değişmektedir. Kaya tuzunda bu miktar 0-148 adet/kg olurken göl tuzunda ise 28-462 adet/kg olarak bulunmuştur. Çalışmada Asya kıtasında üretilen tuzların mikroplastik kirliliğinin diğer kıta ürünlerine göre yüksek olduğu, en yüksek MP kirliliği tespit edilen 10 markanın 9'unun Asya kıtasına ait olduğu görülmüştür. Asya kökenli tuzlarla diğerleri arasındaki fark önemli bulunmuş fakat kaya tuzlarında böyle bir farklılıkla karşılaşmamıştır. Tuz üretim aşamalarında rafinasyon prosesinin MP varlığını azaltabileceği belirtilmiştir.

2021 yılında Afrika'da 8 farklı ülkede satışa sunulan 23 farklı tuz markası mikroskobik/spektroskopik tekniklerle incelenmiştir [33]. Çalışmada tuz örneklerinde kg başına  $0.67 \pm 1.15$  adet ile  $3.42 \pm 4.94$  adet arasında MP tespit edilmiştir. Polimerler türlerine göre incelendiğinde polivil asetat, polipropilen ve polietilenin baskın olduğu görülmüştür. Bu bilgi MP kontaminasyonunun tuz paketlerinden kaynaklanmadığını, muhtemelen ya tuz üretimi sırasındaki kontaminasyondan ya da deniz kirliliğinden kaynaklandığını göstermektedir.

## DENİZ ÜRÜNLERİNDE MİKROPLASTİK

Mikroplastikler fiziksel özellikleri sebebiyle hem su yüzeyinde asılı kalabildiği hem de suya batabildiği için ve çok daha küçük parçalara ayrılabilirdiği için denizler ve okyanuslarda her tarafa yayılmış durumdadır. Kıyılarda, açık denizlerde, kutuplarda, denizdeki çökeltilerin içerisinde olmak üzere her yerde MP bulunmaktadır. Bu nedenle su ekosisteminde varlığını sürdüren her tür canlı değişen oranlarda MP kirliliğine maruz kalmaktadır. Çok yaygın olmasının yanı sıra görünüş ve boyut olarak planktonlara benzediği için pek çok sucul canlı tarafından yenilmektedir [34].

Plastik mikropartiküller esas olarak hayvanların gastrointestinal kanalında birikir. Uygun bir şekilde tüketilmeden önce balığın sudan arındırılması MP'lere doğrudan maruz kalmayı en aza indiren yaygın bir uygulamadır. Mikroplastikler sucul organizmaların bağırsaklarında biriktiği ve de bağırsakların tüketim öncesi çıkarıldığı için insan sağlığı üzerinde doğrudan etkisinin olmayacağı bildirilmiştir. Ancak çıkarılan bağırsakların hayvan yemlerine katılması sebebiyle

dolaylı yoldan da olsa insan sağlığını etkileyeceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, istisnalar arasında sardalya, hamsi, bütün olarak yenen bir dizi küçük boyutlu tatlı su balığı gibi küçük pelajik balık türleri, kabuklular (örn. Karides) ve ekinodermiler (örn. Kestaneler) bulunur. Çift kabuklular da özellikle endişe vericidir. Çünkü gastrointestinal sistem de dahil olmak üzere tüm hayvan (sindirim sistemi ile beraber) tüketilmektedir. Midyelerde en düşük mikroplastik konsantrasyon seviyesi (0.5 parçacık/g'dan az) Avrupa'da rapor edilmiştir. Buna karşılık midye içindeki en yüksek mikroplastik konsantrasyonu Çin'de 4 parçacık/g olarak gözlemlenmiştir [5, 35].

Midye çok geniş bir alana dağılmış halde yaşadığı ve çok çeşitli şartları tolere edebildiği için MP çalışmalarında indikatör olarak seçilen organizmalardan biridir. Bu konuda ülkemizde yakın zamanda yapılan bir çalışmada [36] Türkiye'nin kıyı şeridinin %76'sını kapsayacak şekilde (Karadeniz, Marmara Denizi ve Akdeniz) 23 farklı noktadan alınan midye örnekleri incelenmiştir. Toplanan 342 midye örneğinde toplamda 222 adet MP parçacığı tespit edilmiştir. Bu MP'lerin %67.6'sını parçacıklar, %28.4'ünü lifler, kalan kısmını da filmler oluşturmaktadır. Tespit edilen parçaların polimer türlerine göre dağılımında ise PET, PP ve PE öne çıkmaktadır (sırasıyla %32.9; %28.4; %19.4). Çalışmada her lokasyondaki örneklerde MP saptanırken denizler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür.

Deniz ürünleri arasında yumuşakçaların sırasıyla 8.07 (partikül/g doku ıslak ağırlığı) ve 428.4 partikül/g 'nin %50 ve 95 ile en yüksek MP konsantrasyon dağılımına sahip olduğunu belirlenmiştir. Bu yüzdeler, kabuklular için bulunan konsantrasyonlardan yaklaşık dört kat daha yüksek olup balıklardan 40 kat daha yüksektir. Bu kısmen organizmaların beslenme ekolojisine ve mikroplastiklerin farklı çevresel bölmelerdeki dağılımına bağlanabilir [23].

## HAVADA MİKROPLASTİK

Dünya plastik üretiminin %16'sını plastik tekstil lifi oluşturmaktadır. Yıllık üretim hacmi 60 milyon metrik ton olan bu ürünler parçalandığında lif benzeri mikroplastikler ortaya çıkar ve bunların hem ev içi ortamlarda hem de açık havada bulunduğu tespit edilmiştir. Teneffüs edilen bu parçalar genellikle vücut tarafından tolere edilirken bir kısmı ise akciğerlerde inflamasyon gibi etkilere yol açabilir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi kontaminantlar ve plastik içerisinde bulunan boya ve plastikleştirici gibi katkı maddeleri karsinogenik ve mutajenik etki gösterebilir [13].

## BALDA ve ŞEKERDE MİKROPLASTİK

Almanya'da yapılan ve Almanya, Fransa, İtalya, İspanya ve Meksika'dan temin edilen 19 bal örneğinde yapılan çalışmada [37] tüm örneklerde lifler ve parçacıkları tespit edilmiştir. Baldaki lif miktarı 40-660/kg (ortalama  $166 \pm 147$ /kg), parçacık miktarı 0-38/kg (ortalama  $9 \pm 9$  kg) olarak tespit edilmiştir. Lif parçalarının uzunluğu 40 µm ile 9 mm arasında değişmektedir. Parçacıkların boyları

ise 10-20 µm arasında ölçülmüştür ve çoğunluğun mavi renkte olduğu görülmüştür. Araştırmacılar balda bulunan bu mikroplastiklerin arılar tarafından kovana taşınmış olabileceğini veya balın işlenmesi aşamasında meydana gelen bir bulaşma sonucu bala geçmiş olabileceğini belirtmişlerdir. Her iki durum da olasıdır ve aynı anda gerçekleşmiş de olabilir. Araştırmacılar aynı çalışmada şeker örneklerinde de MP tespit etmişlerdir. Tüm rafine şeker örneklerinde saydam ve renkli lifler (ortalama 217±123/kg) ile parçacıklar (32±7/kg) bulunmuştur. Rafine edilmemiş şeker örneklerinde ise bu sayı çok daha fazladır. Kilogram başına 560 lif ve 540 parçacık bulunduğu raporlanmıştır.

## POŞET ÇAYDA MİKROPLASTİK

Kanada'da yapılan bir çalışmada sıcak suda bekletme sonrası poşet çayın ambalaj materyalinden suya geçen mikroplastik miktarı araştırılmıştır. Dört farklı markanın kullanıldığı çalışmada çayın kendisinden gelen mikroplastikler değerlendirmeye alınmamış olup sadece ambalaj materyalinden suya geçen MP miktarı hesaplanmıştır. Bunu sağlamak için ambalajlar kesilerek çay örnekleri çıkarılmış ve sadece ambalajlar sıcak suya (95°C, 5 dakika) daldırılarak bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında mikro ve nano parçacıkların tespiti elektron mikroskopu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Poşetlerin ve süzütünün kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ve X-Işını Fotoelektron Spektrometresi tekniğinden yararlanılmıştır.

Çalışma sonucunda bir plastik çay poşeti ile hazırlanan çay bardağı başına plastik yükün 16 µg olduğu tahmin edilmiştir. Bu değer sofraya tuzunda (0.005 µg/g tuz) bildirilen en yüksek seviyenin üzerindedir. Bununla birlikte çay poşeti oda sıcaklığında demlendiğinde çok daha az parçacığın salındığı görülmüştür. Mikroplastiklere maruz kalma konusunda ambalajın kullanım koşullarının ne kadar etkili olduğunu göstermektedir. Bir fincan çayla beraber 2.3 milyon adet mikron boyutunda (~1-150 µm) parçacığın ve 14.7 milyar mikron altı (<1 µm) boyuttaki parçacığın demleme sonucu suya salındığı tahmin edilmektedir.

16 µg olarak tahmin edilen 2.3 milyon mikron büyüklüğünde parçacıklar ve 14.7 milyar mikron altı plastik parçacıklar 1 fincan çaya salınabilir. Bu şekilde açığa çıkan plastik parçacıkları sadece insanlar tarafından tüketilmemekte aynı zamanda atık olarak kanalizasyona ve su sistemlerine karışmakta ve oradan da çeşitli ortamlara yayılarak mikroplastik kirliliğinin boyutunu artırmaktadır [38].

## TAVUK ETİNDE MİKROPLASTİK

Fransa'da ekstrüde polistiren köpük (XPS) tepsilerde satışa sunulan tavuk eti örneklerinde yapılan çalışmada [39] önemli sonuçlar elde edilmiştir. FTIR ve mikroskop kullanılarak Fransa marketlerinde satılan 4 farklı markaya ait paketlenmiş tavuk eti üzerinde yapılan incelemede paketlerin iç kısmında ve et ile tepsi arasında aynı zamanda da ambalajın dış kısmında mikroplastik varlığı saptanmıştır. Tepsinin iç ve dış

kısımında tepsi ile et arasında ve et ile koruyucu film arasında MP-XPS parçacıklarına rastlanmış olması MP kontaminasyonunun ürünün paketlenme sürecinden önce başlamış olabileceği ihtimalini akıllara getirmektedir. Üretimin gerçekleştirildiği ortamda havada asılı halde MP-XPS parçacıkları olabileceği düşünülmektedir. MP'lerin küçük boyutta olması ve düşük molekül ağırlığının yanı sıra elektrostatik yük ile birlikte çeşitli yüzeylere yapışabilme özelliği bu ihtimali kuvvetlendirmektedir. Her ne kadar kullanılan PS malzeme gıda ile temas için uygun özelliklere sahip olsa da tavuk üzerinde kalan MP'lerin toksisitesi, stirenin desorpsiyonu ve pişirme sırasında ortaya çıkabilecek bozunma ürünlerinin varlığı önemli bir soruna işaret etmektedir. Tavuk etlerinde tespit edilen mikro parçacıklar kimyasal yapı, renk ve gözeneklerin varlığı yönünden XPS tepsi ile benzer yapıdadır. Bu nedenle tepside ürüne geçip geçmediği noktasında bir soru işareti yoktur. FTIR spektrumları ve mikroskopik analizler sonrasında ambalaj materyalinin sadece dış yüzeyinde değil iç yüzeyinde de MP varlığına rastlanmıştır. Aynı zamanda tavuk eti ile plastik mühür arasında da MP-XPS varlığı da dikkate alınmalıdır. Ambalaj materyalinin dış yüzeyindeki MP XPS miktarı markaya göre değişmekle birlikte kilogram başına 1.1±1.9 adet ve 10.8±6.0 adet arasında; iç yüzeyde ise 4.0±4.5 adet ile 18.7±8.3 adet arasında ölçülmüştür. Her örneğin kendi içindeki sapması yüksek olduğu için fark önemli bulunmamıştır. Fakat p değeri 0.05'e çok yakın bulunduğu için zayıf da olsa bir farklılıktan söz edilebilir. Çalışmada elde edilen önemli sonuçlardan biri de yıkama sonucunda MP parçacıklarının etten kolay kolay uzaklaşmadığıdır. Bu da göstermektedir ki pişirme öncesi eti yıkamanın MP yüküne etkisi çok azdır. Dolayısıyla mikroplastik varlığının önemli kısmı pişirme sırasında etin yüzeyinde bulunmaktadır. Ayrıca çalışmada tespit edilen MP varlığından yola çıkılarak yapılan hesaplamada yetişkin bir insanın günde yaklaşık 1.4 mg MP tükettiği sonucuna varılmıştır.

## PLASTİK GIDA KAPLARINDA MİKROPLASTİK

Gıda dağıtım sisteminin küresel çaptaki değerinin 2015 yılı verilerine göre 89 milyar ABD doları olduğu ve yıllık ortalama %2.7 artışı ifade edilmektedir. Hazır gıda ve içecek sektörüne olan talebin artması ve değişen alışkanlıklar neticesinde gıda endüstrisinde plastik ürünlerin özellikle de tek kullanımlık plastik malzemelerin kullanım oranı giderek artmaktadır. Dünya genelinde üretilen plastiklerin %40'ünün tek kullanımlık olduğu ve büyük oranda gıda ambalajlamada kullanıldığı belirtilmektedir. Bu noktada gıdaların taşındığı plastik malzemelerin yapısının MP varlığı açısından değerlendirilmesi de önem arz etmektedir. 2020 yılında yapılan bir çalışmada [40] yuvarlak ve dikdörtgen şekilli plastik kaplar ile plastik bardakların MP varlığı incelenmiştir. Buna göre plastik kaplardan yuvarlak şekilli olanlardan 12±5.12 mg; dikdörtgen şeklinde olanlardan 38±5.29 mg; plastik bardaklardan ise 3±1.13 mg MP parçacığı izole edilmiştir. Bu çalışma MP konusunda plastik kapların şekillerinin dahi önemli bir parametre olduğunu göstermektedir.

## SONUÇ

Plastik, hayatımızın hemen hemen her alanında kullandığımız ve kolay kolay da hayatımızdan çıkaramayacağımız bir maddedir. Plastiklerin tüketiciler tarafından bilinçsiz kullanımı ve geri dönüşümün yetersiz olması çevre sorunlarına yol açabilmektedir. Mikroplastik kontaminasyonu ve dağılımını anlamak, MP'lerin hangi gıdalarda sorun taşınabileceği, hangi plastik öğelerin kontaminasyonu etkilediğini ve eleme önlemlerinin alınmasında faydalıdır.

Mikroplastik kirlilik, Arktik kar ve Alp topraklarından en derin okyanuslara kadar tüm gezegen de tespit edilmiştir. Mikroplastiklerin boyutları nedeniyle biyolojik birikim potansiyelleri çok yüksektir. Parçacıklar toksik kimyasallar ve zararlı mikroplar barındırabilir ve bazı deniz canlılarına zarar verebilir. Yapılan araştırmalarda havada, içme sularında, sofrta tuzlarında, balda, tavuk eti gibi gıda maddeleri MP parçacıkları tespit edilmiştir.

Mikroplastik sorunu ancak son zamanlarda fark edilmesine rağmen, bu konuda yeterince çalışmanın olduğunu söylemek güçtür. Mikroplastığe insanların maruz kalması küresel bir sorun olarak kabul edilmektedir ancak belirsizlik, değişkenlik ve yaşam boyu birikim çözülmemiştir. Araştırmacılar, şu an için ortamdaki MP ve nanoplastik seviyelerinin insan sağlığını etkilemeyecek kadar düşük olduğunu düşünmektedirler. Ancak, okyanuslarda ve iç sularda plastik kontaminasyonu sadece su ortamını değil insanları da etkileyen ciddi bir sorun olabileceği potansiyeli yüksektir. Gıda zincirindeki MP kontaminasyon son zamanlarda tüketiciler ve bilim camiası arasında büyük ilgi görmüştür. Şu anda MP'lerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri hakkında mevcut bilgiler yetersiz, dağınık ve henüz istenen seviyeden uzaktır. Şu anda Avrupa Birliği'nde ve ülkemizde gıda kontaminantı olarak MP'lerle ilgili bir yasal düzenleme bulunmamaktadır. Gıdalarda ve çevrede bulunan MP'lerle ilgili bir yasal çerçeve çizilmesine yönelik genel bir eğilim olmakla birlikte bu noktada çeşitli bilgi eksiklikleri bu konuyu zorlaştırmaktadır. Analitik metotlarda birlikteliğin sağlanması, MP'lerin toksik etkilerinin belirlenmesi, izleme verileri gibi konulardaki eksikliklerin giderilmesi bu konuda yapılacak yasal düzenlemeler için de yol gösterici olacaktır.

Mevcut bilimsel kanıtlara dayanarak, mikroplastiklerin önemli bir gıda güvenliği tehdidi oluşturmadığını ve balıkçılık ürünlerinin alımıyla ilişkili sağlık yararlarının potansiyel riskleri aşmayacağını belirtmek güvenlidir. Bununla birlikte, yaygın olarak yutulan plastiklerin toksikolojik verileri, yüksek sıcaklıkta pişirme veya işleme mikroplastiklerin toksisitesi üzerindeki potansiyel etki ve dokular ve organlardaki nanoplastik parçacıkların translokasyonu, dağılımı ve emilmesi için spesifik yollar gibi birçok bilgi boşluğu vardır. Farklı gıda türlerinden henüz bilinmeyen mikroplastiklerin alımları araştırılmalı ve tartışılmalıdır.

Sorunu kaynağında azaltmak için, geri dönüşümün daha yaygın hale getirilmesi, tüketicilerin bilinçlendirilmesi ve konu hakkında gerekli yasal düzenlemelerin yapılması



hem gıda güvenliği hem insan ve hayvan sağlığı hem de ekolojik denge açısından önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Sunday, N.F. (2020). Microplastics: Holistic overview of source, identification, interaction, health and environmental implications and strategies of abatement. *Acta Chemica Malaysia*, 5(1), 18-23.
- [2] Lusher, A., Hollman, P., Mendozal, J. (2017). Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 615, Rome, Italy.
- [3] Ginneken, V. Van., (2019). Plastic in the food chain and the expected pandemic of cancer? *Novel Approaches in Cancer Study*, 3(3), 277-279.
- [4] Nara, R. (2019). Microplastic Contamination of the food supply chain. *Food Safety Magazine* (December 2018), 1-12.
- [5] Rainieri, S., Barranco, A. (2019). Microplastics, a food safety issue? *Trends in Food Science and Technology*, 84, 55-57.
- [6] Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3060-3075.
- [7] A. Glaser, J. (2019). Biological Degradation of Polymers in the Environment. *Plastics in the Environment*, IntechOpen.
- [8] Liu, Y., Huang, J., Jin, J., Lou, S., Shen, C., Zang, Wang, H., Wang, L. 2020. The Classification of micro-plastics and biodegradation of plastics / Micro-plastics. *Academic Journal of Engineering and Technology Science*, 3(6), 181-190.
- [9] Myszograj, M. (2020). Microplastic in food and drinking water - environmental monitoring data. *Civil and Environmental Engineering Reports*, 30(4), 201-219.
- [10] Boucher, J., Friot, D. (2017). Primary microplastics in the oceans: A global evaluation of sources. IUCN International Union for Conservation of Nature.
- [11] Karbalaei, S., Hanachi, P., Walker, T.R., Cole, M. (2018). Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(36), 36046-36063.
- [12] Wetherbee, G.A., Baldwin, A.K., Ranville, J.F. (2019). It is raining plastic. Reston, VA.
- [13] Gasperi, J., Wright, S.L., Dris, R., Collard, F., Mandin, C., Guerrouache, M., Langlois, V., Kelly, F.J., Tassin, B. (2018). Microplastics in air: Are we breathing it in? *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 1, 1-5.
- [14] Verla, A.W., Enyoh, C.E., Verla, E.N., Nwamoru, K.O. (2019). Microplastic-toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1-30, Doi: 10.1007/s42452-019-1352-1360.
- [15] Rochman, C.M., Parnis, J.M., Browne, M.A., Serrato, S., Reiner, E.J., Robson, M., Young, T.,

- Diamond, M.L., Teh, S.J. (2017). Direct and indirect effects of different types of microplastics on freshwater prey (*Corbicula fluminea*) and their predator (*Acipenser transmontanus*). *PLOS ONE* 12(11): e0187664.
- [16] Wright, S.L., Kelly, F.J. (2017). Plastic and human health: A micro issue? *Environmental Science and Technology*, 51(12), 6634-6647.
- [17] Lusher, A.L., Welden, N.A., Sobral, P., Cole, M. (2017). Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods*, 9(9), 1346-1360.
- [18] De-la-Torre, G.E. (2020). Microplastics: an emerging threat to food security and human health. *Journal of Food Science and Technology*, 57(5), 1601-8, Doi: 10.1007/s13197-019-04138-1.
- [19] Revel, M., Châtel, A., Mouneyrac, C. (2018). Micro(nano)plastics: A threat to human health? *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 1, 17-23.
- [20] Lim, X. (2021). Microplastics are everywhere-but are they harmful? *Nature*, 593(7857), 22-25.
- [21] Cox, K.D., Covernton, G.A., Davies, H.L., Dower, J.F., Juanes, F., Dudas, S.E. (2019). Human consumption of microplastics. *Environmental Science and Technology*, 53(12), 7068-7074.
- [22] Prata, J.C. (2018). Airborne microplastics: Consequences to human health? *Environmental Pollution*, 234, 115-126.
- [23] Mohamed Nor, N.H., Kooi, M., Diepens, N.J., Koelmans, A.A. (2021). Lifetime Accumulation of Microplastic in Children and Adults. *Environmental Science & Technology*, 55(8), 5084-5096.
- [24] Armstrong, M. (2019). How We Eat, Drink and Breathe Microplastics. <https://www.statista.com/chart/18299/how-we-eat-drink-and-breathe-microplastics/>. [Erişim tarihi 16 Temmuz 2020].
- [25] Picó, Y., Barceló, D. (2019). Analysis and prevention of microplastics pollution in water: Current perspectives and future directions. *ACS Omega*, 4(4), 6709-6719.
- [26] Schymanski, D., Goldbeck, C., Humpf, H.U., Fürst, P. (2018). Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water. *Water Research*, 129, 154-62.
- [27] Oßmann, B.E., Sarau, G., Holtmannspötter, H., Pischetsrieder, M., Christiansen, S.H., Dicke, W. (2018). Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water. *Water Research* 141, 307-316.
- [28] Koelmans, A.A., Nor, N.H.M., Hermsen, E., Kooi, M., Mintening, S.M., France, J.D. (2019). Microplastics in freshwaters and drinking water: critical review and assessment of data quality. *Water Research*, 155, 410-422.
- [29] Winkler, A., Santo, N., Ortenzi, M.A., Bolzoni, E., Bacchetta, R., Tremolada, P. (2019). Does mechanical stress cause microplastic release from plastic water bottles? *Water Research*, 166, 115082.
- [30] Peixoto, D., Pinheiro, C., Amorim, J., Oliva-Teles, L., Guilhermino, L., Vieira, M.N. (2019). Microplastic pollution in commercial salt for human consumption: A review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 219, 161-168.
- [31] Gündoğdu, S. (2018). Contamination of table salts from Turkey with microplastics. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 35(5), 1006-1014.
- [32] Kim, J.S., Lee, H.J., Kim, S.K., Kim, H.J. (2018). Global Pattern of Microplastics (MPs) in Commercial Food-Grade Salts: Sea Salt as an Indicator of Seawater MP Pollution. *Environmental Science and Technology*, 52(21), 12819-12828.
- [33] Fadare, O.O., Okoffo, E.D., Olasehinde, E.F. (2021). Microparticles and microplastics contamination in African table salts. *Marine Pollution Bulletin*, 164.
- [34] Wang, W., Gao, H., Jin, S., Li, R., Na, G. (2019). The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 173, 110-117.
- [35] EFSA Publication (2016). Statement on the presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. European Food Safety Authority. the EFSA Journal, No. 4501, Vol. 14(6) <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4501>
- [36] Gedik, K., Eryaşar, A.R. (2020). Microplastic Pollution Profile of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Turkish Coasts. *Chemosphere*: 127570.
- [37] Liebezeit, G., Liebezeit, E. (2013). Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives and Contaminants -Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 30(12), 2136-2140.
- [38] Hernandez, L.M., Xu, E.G., Larsson, H.C.E., Tahara, R., Maisuria, V.B., Tufenkji, N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environmental Science and Technology*, 53(21), 12300–12310.
- [39] Kedzierski, M., Lechat, B., Sire, O., Le Maguer, G., Le Tilly, V., Bruzard, S. (2020). Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks. *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 100489.
- [40] Fadare, O.O., Wan, B., Guo, L.-H., Zhao, L. (2020). Microplastics from consumer plastic food containers: Are we consuming it? *Chemosphere*, 253, 126787.

## Baklagiller: Fonksiyonel Özellikleri, Sağlık Etkileri ve Potansiyel Kullanımı

Elif Atalay , İncilay Gökbulut  ✉

İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Malatya

Geliş Tarihi (Received): 22.03.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 26.11.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [incilay.gokbulut@inonu.edu.tr](mailto:incilay.gokbulut@inonu.edu.tr) (İ. Gökbulut)

☎ 0 422 377 4754 📠 0 422 341 0046

### ÖZ

Baklagiller bezelye, kuru fasulye, mercimek, nohut ve baklayı içeren *Fabaceae* (*Leguminosae*) familyasına ait bitkilerin kuru yenilebilir tohumlarıdır. Bakliyatlar, dünya nüfusunun özellikle hayvansal protein ile beslenemeyen veya dinsel ve kültürel alışkanlıklarından dolayı hayvansal besinleri tercih etmeyen kesimleri için önemli bir protein kaynağı oluşturmaktadır. Yüksek protein ve lif içerikleri, glutensiz olmaları, düşük glisemik indeksi ve antioksidan potansiyelleri nedeniyle gıdaların beslenme kalitesini iyileştirmek için yüksek potansiyele sahiptirler. Baklagillerin, yapılarında barındırdıkları potasyum, magnezyum, çözünür lif ve kolesterol içermeyen bileşimsel özellikleri, sağlık üzerindeki olumlu etkilerini ortaya çıkarmaktadır. Bakliyatlara yönelik farkındalık ve talep gün geçtikçe artmakta ve yeni bakliyat içeren ürünler, düşük glisemik indeksi ve lif içeriği bakımından zengindir. Aynı zamanda, glutensiz, vegan ve vejetaryen diyetlere artan ilgi, bakliyat tüketiminde artışa neden olmaktadır. Gıda formülasyonlarında bakliyat proteinlerinin, su ve yağ absorpsiyonu, çözünürlük, jel oluşturma, emülsifiye edici aktivite, köpürme kapasitesi ve köpük stabilitesi gibi teknolojik ve fonksiyonel özellikleri öne çıkmaktadır. Özellikle de endüstriyel düzeyde yenilikçi gıda işleme proseslerinde ve gıda formülasyonları hazırlama alanında da kullanılabilirliği yüksektir. Bu derlemede baklagillerin fonksiyonel özellikleri ve etkileri hakkında bilgi verilmiş, ayrıca bakliyatların gıda alanındaki alternatif kullanımları değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Baklagil, Bitkisel protein, Gıda

### Legumes: Functional Properties, Health Effects and Potential Uses

#### ABSTRACT

Legumes are dry edible seeds of plants belonging to the *Fabaceae* (*Leguminosae*) family, which include field peas, dry beans, lentils, chickpeas and faba beans. Pulses constitute an important protein source for the parts of the world population who cannot be fed with animal protein or do not prefer animal foods due to their religious and cultural habits. Legumes have high potential to improve the nutritional quality of foods due to their high protein and fiber content, gluten-free nature, low glycemic index and antioxidant potential. Legumes, which are cholesterol-free, contain potassium, magnesium, and soluble fiber, and this nature reveals their beneficial effects on human health. The awareness and demand for pulses are still growing, and new products with various pulses contain proteins and fibers with a low glycemic index. Simultaneously, the increasing interest in gluten-free, vegan, and vegetarian diets is accelerating legumes consumption. In food formulations, the technological and functional properties of legume proteins such as water and oil absorption, solubility, gel-forming, emulsifying activity, foaming capacity, and foam stability come to the fore. It can also be used in innovative food processing processes and food formulations, especially at the industrial level. In this review, information about the functional properties of legumes is given, and alternative uses of legumes in the food applications are evaluated.

**Keywords:** Legume, Vegetable protein, Food



## GİRİŞ

"Baklagil" terimi, meyvesi bir kabuk içine alınmış bitkileri ifade eder. Bakliyat, baklagil ailesinin bir alt grubudur, ancak "bakliyat" terimi sadece kurutulmuş tohumu ifade eder [1]. Mercimek, bezelye ve nohut gibi baklagiller önemli bir protein, karbonhidrat, vitamin ve mineral kaynağıdır ve yaygın olarak tüketilir [2]. Baklagiller, dünya çapında sürdürülebilir ve ucuz bir et alternatifi olarak değerlendirilmektedir. Hububattan sonra ekonomik açıdan en önemli mahsuller arasında yer alan bakliyat, dünyadaki ekilebilir arazinin yaklaşık %15'ini (270–300 milyon hektar) temsil etmektedir [3]. Beslenme açısından oldukça zengin olan baklagillerde, temel amino asitleri içeren proteinler (%20-45), kompleks karbonhidratlar (≈%60) ve diyet lifi (%5-37) bulunmaktadır. Kolesterol içermeyen baklagiller genellikle yer fıstığı (≈%45), nohut (≈%15) ve soya fasulyesi (≈%47) dışında yağ bakımından fakir, ancak mineral ve vitamin bakımından zengindirler [4]. İnsan tüketimi için kullanılan bakliyatlar arasında; bezelye, çeşitli fasulye türleri, nohut, mercimek, lupin ve diğer ürünler bulunmaktadır [5, 6]. Bakliyatlar, dünya nüfusunun özellikle hayvansal protein ile beslenemeyen veya dinsel ve kültürel alışkanlıklarından dolayı hayvansal besinleri tercih etmeyen kesimleri için önemli bir protein kaynağı oluştururlar. Gıda proteinlerinin besleyici değeri ve kalitesi onların esansiyel amino asit bileşimlerine, sindirilebilirliklerine, etki değerleri ve sağladıkları faydalara göre belirlenmektedir. Hayvansal proteinler, dokuz adet esansiyel amino asitlerin tamamını içerirken, bitkisel proteinler metiyonin ve sistein gibi içerisinde sülfür barındıran amino asitleri ya bulundurmazlar ya da az miktarda bulundururlar. Genellikle temel amino asit olan lizin açısından zengin olan baklagiller, %20-45 civarında protein içermektedir. Bezelye ve fasulye %17-20 protein oranı ile alt sıralarda yer alırken, acı bakla ve soya fasulyesi ise %38-45 protein oranıyla üst sıralarda yer almaktadır [4]. Boye ve ark. [7] çalışmalarında, bezelye çeşitlerinin protein

içeriğini %23.1 ile %30.9 arasında belirlemiş, yapıdaki albümin ve globulinin toplam proteinin sırasıyla %15-25 ve %50-60'ını temsil ettiğini belirlemişlerdir. Başka bir bakliyat çeşidi olan börülce, lizin açısından çok zengin, yüksek sindirilebilirliğe sahip, yüksek protein (%22-%30) kaynağı olarak bildirilmektedir [8]. Baklagillerin, çoğu bitkisel gıdadan daha yüksek protein içeriğine sahip oldukları, tahılların protein içeriğinin yaklaşık iki katı kadar protein içerdikleri bildirilmektedir [9]. Baklagillerin yüksek protein içeriği, bitkinin daha sonra protein sentezine kattığı, köklerdeki nitrojen bağlayıcı bakterilerin aktivitesiyle olan ilişkisine bağlanmaktadır. Tüm bunlara rağmen, soya proteini hariç baklagil proteinleri triptofan yanı sıra metiyonin, sistin ve sistein gibi kükürt içeren esansiyel amino asitler bakımından zayıf olduğu gerekçesi ile eksik bir protein kaynağı olarak kabul edilmektedir [10]. Baklagiller, yapısında sülfür içeren amino asitler bulunduran (tahıllar gibi) yiyeceklerle birlikte tüketildiğinde dengelenmiş ve yeterli miktarda amino asit alımı sağlanmış olmaktadır. Baklagiller kükürt içeren amino asit açısından düşük (tahıllarda yüksek) ve lizin bakımından yüksek (tahıllarda düşük) olduklarından, baklagiller ve tahıllar protein açısından birbirlerini tamamlamaktadır. Besin dengesi için baklagiller ve tahılların 35:65 oranında tüketilmesi önerilmektedir [11]. Gıdalardan elde edilen proteinler, peptitler, amino asit ve fenolik bileşikler vücut antioksidan savunma sistemine katkıda bulunmaktadır [3, 6, 12]. Bakliyatlarda bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler (örn. gallik, siringik, klorojenik ve kafeik asit), flavonoidler (örn. kateşin, epikateşin), antosiyaninler ve tanenlerdir [6, 8]. Giusti ve ark. [8] tarafından yapılan çalışmada, nohut proteini hidrolizatlarındaki antioksidan peptitleri, gastrointestinal sindirim enzimleri (pepsin ve pankreatin) kullanılarak tanımlanmış, karakterize edilmiş, böylece karakterize edilen peptitlerin in vivo ilgili bir etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir. Tablo 1'de baklagillerin besinsel bileşen oranları yaklaşık olarak gösterilmiştir.

Tablo 1. Baklagillerin besinsel bileşen oranları

*Table 1. Nutritional component ratios of legumes*

Bileşen	Miktar (%)	Kaynak
Protein	20-45	
Karbonhidrat	≈ 60	Maphosa ve ark. (2017)
Diyet lifi	5-37	
Kül	1-5	
Yağ	0.83-7.00	Boye ve ark. (2010)

## BAKLAGİLLERİN SAĞLIK AÇISINDAN ETKİLERİ

Düzenli bakliyat tüketimi ile bazı kronik hastalıkların önlenmesi arasında pozitif bir korelasyon göze çarpmaktadır. Günlük baklagil tüketiminin, LDL kolesterol [13], toplam kolesterol [14], kan basıncı, vücut ağırlığı, glisemik indeks (GI), insülin direncini azaltıcı etkiye sahip olduğu rapor edilmektedir [15]. Baklagillerin, yapısında barındırdığı potasyum, magnezyum, çözünür lif ve kolesterol barındırmayan bileşimsel özellikler, sağlık üzerindeki olumlu etkilerini ortaya çıkarmaktadır. Bakliyatlar (özellikle fasulye) mükemmel folat kaynağı olarak bilinmektedir. Yüksek folat alımı ile kolon kanseri arasındaki ters orantı folatın nükleotidlerin sentezi ve

DNA metilasyonuna müdahale ederek, DNA stabilitesini etkileme kapasitesine sahip olması ile ilişkilendirilmektedir [16, 17]. Benzer şekilde Li ve Mao, [18] çalışmalarında düzenli bakliyat tüketimi ile prostat kanseri riski arasında ters bir ilişki olduğunu rapor etmişler ve bu durumu baklagillerin fitoöstrojen içeriği ile ilişkilendirmişlerdir. Ayrıca baklagil tüketiminin, içeriğindeki flavonol, flavon, izoflavon bileşimleri nedeniyle meme kanseri riskini azaltabileceği öne sürülmektedir [19]. Çalışmalar, hamilelik esnasında annenin baklagil tüketiminin, bebeklerde akut lenfoblastik lösemi oluşumuna karşı koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur [20]. Baklagillerin düşük glisemik indeks ve yağ içeriklerinin yanı sıra yüksek lif

çerikler, kan şekeri ve insülin seviyelerinde dengelenmeye yardımcı olmaktadır. Bu durum, bakliyatların tüketimini kilo kontrolü için ideal kılmaktadır [21]. Ayrıca baklagil tüketiminin açlık hissini ve akut gıda alımını azalttığı, obezite ve obezite ile ilişkili mortalitenin yönetimine yardımcı olabileceği belirtilmektedir [22, 23]. Celleno ve ark. [24] yaptıkları çalışmada, sindirim enzimi  $\alpha$ -amilaz inhibitörleri içeren fasulye ekstraktlarının, nişasta sindirimini azaltarak vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi ve yağ kütlesinde önemli ölçüde azalmaya yol açtığını rapor etmişlerdir. Baklagillerin, dirençli nişasta ve amiloz içeriğinin daha yüksek olması nedeniyle tip 2 diabetes hastalarında glisemik kontrolü iyileştirdiği gösterilmiştir [25]. Dirençli nişasta tüketiminin artması, gelişmiş glikoz toleransı ve insülin duyarlılığı ile ilişkilidir [26]. Kısa süreli çalışmalar, baklagil tüketiminin kan şekerini ve insülin tepkilerini düşürdüğünü ve insülin duyarlılığını arttırdığını göstermiştir [27]. Baklagillerin tip 2 diabetes üzerindeki koruyucu etkisi, yüksek lif içeriği, düşük glisemik indeks ve izoflavonlar ve lignanlar dahil olmak üzere potansiyel biyoaktif bileşenlerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir [28]. Baklagillerin insan sağlığına fayda sağlama potansiyeli yüksek olan ve kardivasküler hastalıklar, doğum öncesi ve sonrası bakımı, diyabet ve Parkinson hastalığı gibi bazı hastalıkların önlenmesine atfedilen bazı biyoaktif bileşikler içerdiği öne sürülmektedir [29, 30]. Bu bileşiklerin bazıları proteinler, glikozitler, tanenler, polifenoller, saponinler ve alkaloidler olarak belirtilmektedir [22]. Baklagil tüketiminin sarılık, diş ağrısı ülser ve kas-iskelet sorunlarının tedavisinde kullanılmakta olduğu rapor edilmiştir [31]. Anderson ve Major, [32] baklagil (soya fasulyesi dışında) tüketimi ile, LDL kolesterol seviyesinde % 6.2 ve trigliserid seviyesinde ise %22'lik azalma tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Baklagillerin hipokolesterolemik etkileri, çözünür diyet lifi, bitkisel protein, oligosakaritler, izoflavonlar, fosfolipitler ve yağ asitleri ve saponinlerle ilişkili olarak değerlendirilmiştir [33].

Patojenlere ve mikroorganizmalara karşı inhibe edici aktiviteye sahip olan doğal bileşikler, günümüzde gıda ve sağlık alanında alternatif antimikrobiyal moleküller olmaya potansiyel adaylardır [34]. Son çalışmalar, yaygın fasulye çeşitlerinin antifungal özelliklerinin bitkilerde (*Rhizoctonia solani*, *Mycosphaerella arachidicola*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahlia* ve *Setosphaeria turcica* vs) ve insanda (*Helminthosporium maydis* veya *Candida albicans*'ın büyümesini inhibe ederek) tespit edildiği bildirilmiştir [12]. Lupin protein hidrolizatları, farklı gıda sistemlerinde Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizma türlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir, bu da onların gıdalarda biyokoruyucu olarak potansiyel kullanımlarını öne çıkarmaktadır [35]. Baklagiller çeşitli gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal özellikleri nedeniyle *Listeria monocytogenes* (nohut metillenmiş proteinler); *Salmonella* spp. (Nohut proteini ve bezelye ile saflaştırılmış peptit tohumu); *Escherichia coli* (mercimek lektinleri, bezelye peptid fraksiyonları); *Staphylococcus aureus* (yaygın bezelye peptid fraksiyonları) ve saflaştırılmış mercimek lektinleri; ve ayrıca nozokomiyal patojenler *Pseudomonas aeruginosa* (*V. faba* peptidleri) çalışılmıştır [34, 36].

## BİLEŞİMİNDEKİ ANTİBESİNSEL FAKTÖRLER

Baklagillerde, sağlığımız açısından faydalı bileşenler (diyet lifi, düşük yağ içeriği, yüksek protein, mineraller) olduğu gibi, antibesinsel bileşenler de bulunmaktadır [37]. Baklagiller, izoflavonlar, lignanlar, proteaz inhibitörleri, tripsin ve kimotripsin inhibitörleri, saponinler, alkaloidler, fitoöstrojenler ve fitatlar gibi besleyici olmayan biyoaktif bileşikler içermektedir. Çoğu "anti-besin maddeleri" olarak adlandırılan bu yapılar toksik olmamalarına rağmen, olumsuz fizyolojik etkiler oluşturarak, protein sindirilebilirliği ve bazı minerallerin biyoyararlanımına müdahale etmektedirler. Genellikle ısıya dayanıksız olan anti-besinsel maddeler, işlenmeden önce kabuklarından arındırma, ıslatma, kaynatma, buharlama, filizlendirme, kavurma ve fermentasyon yoluyla detoksifiye edilebilmektedirler [38].

Baklagillerdeki antibesinsel öğelerin, biyolojik aktivitesine olan ilgi ve çalışmalar son yıllarda ivme kazanmıştır. Baklagil proteinleri, sağlık ve zindeliği teşvik eden ve belirli hastalıkları önleyen veya kontrol eden, negatif veya pozitif etkileri olan, antibesinsel veya probesinsel faktörler olarak kabul edilmektedir [22, 39]. Yapısal olarak bakliyatlardan elde edilen antibesinsel faktörler, protein yapısında olanlar ve protein yapısında olmayan bileşikler olarak sınıflandırılabilir. Bakliyalarda daha yaygın olan antibesinsel proteinler, lektinler, proteaz inhibitörleri (tripsin ve kimotripsin rekabetçi inhibitörleri) veya antifungal peptidleri içermektedir. Proteaz inhibitörleri, insan sindirim sisteminde bulunan proteolitik enzimler üzerindeki inhibitör etkilerinden dolayı sindirime müdahale ederler, pepsin ve midenin asit pH'ına dirençlidirler. Bu nedenle, antibesinsel faktörlerin seviyeleri bakliyatların beslenme kalitesinin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Lektinler (aglutininler), spesifik şeker ve proteinlerle kompleksler oluşturma kapasitesine sahip besin emilimini etkileyen glikoproteinlerdir. Ham tohum veya undaki içeriklerine bağlı olarak, lektinlerin tüketilmesi, şişkinlik, kusma, ishal ve kırmızı kan hücreleri aglütinasyonu gibi olumsuz etkilere neden olabilmektedir [39, 41]. Baklagillerdeki protein olmayan antibesinsel faktörler, alkaloidler, fitik asit, tanenler ve saponinler gibi bileşenlerdir. Bitki savunma mekanizmalarında da yer alan alkaloidler, doğal olarak oluşan aminlerdir ve tadı olumsuz etkilemektedir [22, 26, 41]. Polifenoller, pozitif yüklü proteinler, amino asit ve/veya çok değerlikli kationlarla (kalsiyum, demir veya çinko dahil) kompleksler oluşturabilmektedir. Özellikle tanenler, proteinleri çöktürme potansiyeline sahiptir, bu da protein sindirilebilirliğinin ve amino asit mevcudiyetinin azalmasına neden olmaktadır. Aslında, tanenlerin büzücü özellikleri, tükürük glikoproteinleri ile kompleksler oluşturma kapasiteleri ile birlikte lezzetlerini azaltır ve bakliyatların besin değerini de azaltabilirler [40, 41]. Bakliyalardaki antibesinsel faktörler genellikle olumsuz etkilerine göre: i) protein sindirimini etkileyen (örn., Tripsin ve kimotripsin inhibitörleri), ii) mineral emilimini azaltan (örn., Lektinler, fitatlar ve oksalatlar) ve iii) nişasta sindirimini etkileyen (yani, amilaz inhibitörleri ve saponinler) olarak sınıflandırılabilir [42]. Bitkisel protein kaynaklarının lezzetinin ve protein sindirilebilirliğinin artırılması için gerekli işlemlerin

uygulanması, aslında baklagillerin ihtiva ettiği antibesinsel öğeleri de inaktive etmekte veya en aza indirmektedir. Örneğin, proteaz inhibitörleri ve bazı lektinler ısıya dayanıksızdır ve pişirme sırasında elimine edilir veya etkisiz hale getirilebilmektedir. Bununla birlikte, diğer antibesinsel bileşenler (tanenler, fitik asit veya saponinler dahil) ısıya dayanıklıdır ve genellikle hafif ısı işlemlere direnç göstermektedirler. Aslında, damıtılmış suda ıslatmanın lektin, toplam ve çözünür oksalat içeriğini önemli ölçüde azalttığı bildirilirken, fitik asit üzerinde herhangi bir etkisi belirtilmemiştir [42]. Bu durumlarda, antibesinsel içeriği azaltmak / ortadan kaldırmak ve protein kalitesini arttırmak için farklı işleme teknikleri geliştirilmiştir. Bunlar; i) fiziksel işlemler (kabuklarının açılması, bakliyatın parçacık boyutunun azaltılması); ii) ısı işlemler (ıslatma, pişirme, otoklavlama); iii) biyolojik işlemler (çimlenme / filizlenme) ve iv) spesifik enzimlerin kullanımı (örneğin fitaz ile fitik asit indirgeme) [3]. Tohum zarı (kabuğu), acı bir tada sahip olmasının yanında normalde sindirilememektedir. Kabuğunu alma, tanenleri ve fitik asit içeriğini azaltmanın yanı sıra bazı bakliyatların lezzetini ve tadını iyileştirmenin etkili bir yolunu temsil etmektedir. Aynı şekilde, kabuğu ayrılmış bileşenlerin sindirilebilirliği, tüm tohumunkinden önemli ölçüde daha yüksektir. Kabuk alma işlemi, pişirme sırasında su alımını iyileştirip, pişirme süresini azalttığı için (tohum kabuğu su geçirmez olduğundan) teknolojik avantajlara da sahiptir [43, 46] İlginç bir şekilde, konserve işleminin, evde pişirmeye kıyasla fitat içeriğini sınırlandırmada yararlı etkiler yarattığı bildirilmiştir [47]. Ekstrüzyonla pişirme işlemi ise, nişasta ve proteinler üzerinde önemli modifikasyonlara yol açarak, bunların sindirilebilirliğini artırdığı ve tripsin inhibitörlerinin, lektinlerin, fitik asitin ve tanenlerin içeriğini azalttığı için, son ürünlerin besin özellikleri üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir [48]. Ancak bakliyat tüketimiyle ilgili temel sorunlardan birinin yetersiz beslenme ile ilgili olduğu unutulmamalıdır. İyi dengelenmiş bir diyetle, biyoaktif bileşiklerin seviyesi kronik hastalık riskini azaltmaya katkıda bulunabilir, ancak dengesiz bir diyetle fitatlar gibi bileşikler, mineral biyoyararlanımına müdahale ederek diyetin beslenme kalitesini düşürebilmektedir [47]. Besinlerin biyoyararlılığını geliştirmenin yanı sıra, konsantreler veya protein izolatları elde etmek için bakliyatlarda başka teknolojik metodolojiler de uygulanmıştır. Tüm bu metodolojiler bir araya geldiğinde, hayvansal kaynaklardan elde edilen proteinlere (örn. kazein, jelatin, ovalbumin, peynir altı suyu), gluten bazlı proteinlere (buğday) veya genetiği değiştirilmiş soyadan elde edilen proteinlere sağlıklı alternatif olarak iyi bir yanıt olabilir. Örneğin bakliyatlardan elde edilen protein izolatları, gıda proteini zenginleştirilmesi için düşük fiyatlı ve glutensiz bir bileşen olarak kabul edilebilir [49, 50].

## FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Bakliyat proteinlerinin yüksek besin kalitesine ek olarak, biyoaktif özelliklerinin yanı sıra, (proteinlerin kendileri ve salgılanan peptidler veya diğer bakliyat biyoaktif bileşiklerle sinerjik ilişkinin sonucu olarak), bu bileşikler ayrıca gıda formülasyonunda ve işlemede, yani glutensiz ve protein açısından zengin (hayvansal kaynaklara alternatif) ürünlerin geliştirilmesinde de

önemlidir [50]. Fonksiyonel özellikler, proteinlerin gıda sistemlerinde işleme, saklama, hazırlama ve tüketim sırasında davranış şeklini değiştirebilen fiziksel ve kimyasal özelliklere karşılık gelmektedir. Protein çözünürlüğü, su ve yağ absorpsiyon kapasitesi, köpürme kapasitesi ve köpük stabilitesi, emülsifiye edici aktivite ve jel oluşturma gibi fonksiyonel özellikler, karbonhidrat, protein, lipit, tuz, uçucu bileşen ve su gibi diğer moleküllerle etkileşimi ile ilgilidir. Bu fonksiyonel özellikler aynı zamanda proteinlerin / peptitlerin moleküler boyutundan, yapıdan (birincil a.a dizisi, ikincil ve üçüncül düzenleme) ve yük dağılımından da etkilenmektedir. İlâveten, gıda işleme sürecinde farklı ortam koşulları nedeniyle proteinlerin geçirebileceği yapısal değişiklikler de fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir [39, 50, 52]. Konsantreler, izolatlar ve protein unları dahil olmak üzere bazı protein formülasyonları, besin değerlerini veya potansiyel sağlık yararlarını iyileştirmek veya ayrıca istenen spesifik fonksiyonel özellikleri sağlamak için gıdalara eklenebilmektedir. Aslında, farklı bakliyat proteinlerinin fonksiyonel özellikleri, gıda ürünlerinin endüstriyel gelişiminde zaten kullanılmaktadır. Kısaca, çözünürlük özellikleri, gıda içecek sistemlerinde çok önemli bir teknolojik parametre olan protein çözünmesine yol açmaktadır. Su emilimi ve bağlanması, su tutulması (et, sosisler, ekmekler, kekler v.s); yağ absorpsiyonu, serbest yağ bağlama (etler, sosisler ve donutlar v.s); protein emülsifiye edici özellikler, yağ emülsiyonları oluşumu (sosisler, makarnalar, çorbalar, kekler) ve stabilizasyonuna yol açmakta; proteinlerin köpürme özellikleri, (unlu mamuller, çırpılmış soslar, tatlılar ve kekler) gazı hapsetmek için stabil filmlerin oluşumuna izin vermekte, jelleşme özellikleri ise protein matris oluşumunu desteklemektedir (etler, lor peyniri ve peynir) [50, 51, 53].

## KULLANIM ALANLARI

Baklagiller, küresel gıda güvenliği sorunlarını çözmeye yardımcı olmanın olası yollarından birini temsil etmektedir. Ucuz, sürdürülebilir, protein ve diğer temel besin kaynağı olarak bakliyat, dünya nüfusunun beslenme ve gıda güvenliği gereksinimlerini karşılamakta ve iklim nedeniyle olumsuz etkileri sınırlayabilecek sürdürülebilir ve istikrarlı tarımsal üretim sistemlerinin oluşturulmasını desteklemektedir. Aynı zamanda, glutensiz, vegan ve vejetaryen diyetlere artan ilgi, bakliyat tüketiminde artışa neden olmaktadır. Gıda formülasyonunda bakliyat proteinlerinin yer alması, su ve yağ absorpsiyonu, çözünürlük, jel oluşturma, emülsifiye edici aktivite, köpürme kapasitesi ve köpük stabilitesi gibi teknolojik ve fonksiyonel özellikleri öne çıkmaktadır. Özellikle de endüstriyel düzeyde zaten uygun bulunmuş olan yenilikçi gıda işleme proseslerinde ve gıda formülasyonları alanında da kullanılabilirliği yüksektir [3].

Bitkisel kökenli alternatif protein kaynakları, tam tane veya protein izolatları halinde, inovatif ve fonksiyonel gıda ürünleri gibi artan yenilikçi taleplere cevap niteliğinde olmaları ve sağlıklı olmaları açısından incelenmiştir. Aslında, olumlu sağlık yararları olduğu öne sürülen birkaç fonksiyonel gıda, hızla büyüyen küresel

bir endüstriye aşamalı olarak dahil edilmiştir. Katı diyetlere (laktosuz veya glutensiz) veya kişisel tercihlere (vejetaryenler, veganlar) bağlı insanların sayısının artması, işlevsel ve özel gıda ürünlerinin titiz bir seçimine yol açmaktadır. Günümüzde gıda endüstrisi, tüketici ihtiyaçlarına veya eğilimlerine cevap verecek ürünleri ele almak için Ar-Ge'ye yatırım yapmaktadır. Örneğin laktoz intoleransı olan bireyler kalsiyum ihtiyaçlarını kalsiyum takviyeli portakal suyu veya bitkisel içecekler (pirinç-yulaf), soya bazlı ürünler (tofu gibi) ile karşılayabilirler. Bu ürünler vejetaryen olarak beslenen kişilere de alternatif gıda olabilir. Bu şekilde, bakliyat (tam tohum, unlar veya protein konsantreleri veya protein izolatları gibi üretilmiş ürünler), yalnızca tek başına tüketildiğinde değil, aynı zamanda diğer gıda ürünleriyle (örneğin tahıllar) karıştırıldığında ve uygun şekilde pişirildiğinde de fonksiyonel gıdaları temsil edip, besin değerlerini artırmakta ve anti besinsel içeriğini azaltmaktadır [52, 54, 55] Günümüzde bakliyat ve bakliyat ile ilişkili birkaç bilimsel çalışma, insan sağlığına katkıda bulunmak ve gıda ürünlerinin fonksiyonlarını arttırmak adına, yeni ürünlerin formülasyonlarını geliştirmek için gıda endüstrisi ile iş birliği içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu tür gıda ürünlerinin geliştirilmesi, özellikle glutensiz diyetler ile ilgili olabilir. Gluten intoleransından muzdarip insan sayısında dünya çapında bir artış mevcuttur. Ayrıca, insan proteaz sindirimine dirençli, yüksek glutamin/prolin içerikli peptit içeren proteinlerin varlığı, bağırsak rahatsızlıklarına ve ciddi sağlık komplikasyonlarına yol açabilmektedir. Tüm tahıllar arasında pirinç, glutensiz ürünlerde kullanılmaya en uygun olanıdır. Bununla birlikte, düşük protein içeriği ve lizin eksikliği, gluten intoleransı olan kişilerin protein alımını sınırlayabilmektedir. Benzer şekilde birkaç çalışmada, ticari birçok glutensiz ürünün (bazı ekmek türleri, makarnalar, kurabiyeler veya kekler) karbonhidrat ve yağ oranının yüksek olduğu, ancak protein oranının düşük olduğu bildirilmiştir [50, 56, 57]. Bu nedenle, bakliyat unları ve protein konsantrelerinin dahil edilmesi yoluyla protein zenginleştirmeleri oldukça avantajlı olabilir. Ayrıca, bakliyat unları gibi alternatif bileşenlerin kullanılması, nihai ürüne duysal kalite sağlayan yapı oluşumu, esneklik ve koheziflik dahil olmak üzere gluten proteini işlevselliklerini taklit edebilmektedir. Bakla ununun (tam veya nişastadan zengin fraksiyonu), ham veya biyofermente edilmiş (laktik asit bakterileri tarafından) formları yüksek protein içerikli (tipik glutensiz makarnada gözlenen iki veya üç kat) gluten içermeyen bakla un ilaveli makarna üretmek için kullanılmış ve geleneksel irmikli makarnaya benzer dokusal özelliklerin korunduğu görülmüştür [56]. Börülce protein izolatları da glutensiz pirinç keklerinde alternatif bileşenler olarak kullanılmış, beyaz ve kırmızı çeşitler kullanıldığında farklı fonksiyonel özellikler sağlamıştır. Shevkani ve ark. [50], bir çalışmalarında beyaz börülceden elde edilen protein izolatlarının, kırmızı çeşitten elde edilen protein izolatlarından daha fazla emülsifiye edici etki sağladığını ve daha fazla köpük stabilitesine sahip olduğunu bildirmiştir. Klinik araştırmalar, acı bakla içeren gıda ürünlerinin (un veya protein izolatları olarak) tüketilmesinin aşırı kilolu bireylerin kan basıncını düşürmeye yardımcı olabileceğini göstermiştir [53]. Baklagillerden elde edilen diyet lifleri yüksek su

bağlama, yağ bağlama, şişme kabiliyetine sahiptirler ve bu da onları çorbalarda koyulaştırıcı, et ürünlerinde yağ ikamesi, emülsiyonlarda stabilizatör, ekmekte tekstüre edici ve yoğurt gibi ürünlerde ağız hissini geliştirmede kullanıma uygun hale getirmektedir [4]. Ayrıca Bambara yerfıstığı gibi baklagillerden elde edilen diyet lifleri prebiyotik özelliklere sahiptir ve prebiyotik takviyelerin üretiminde kullanılabilir [4]. Aynı şekilde bezelye, mercimek, bakla ve acı bakla unlarından elde edilen hidrolizatlar, reolojik ve duysal özelliklerini koruyarak, doğal gıda koruyucuları olarak test edilmiş ve böylece gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmak için alternatif biyo-koruyucular olarak potansiyellerini arttırmışlardır [35]. Baklagillerden elde edilen nişastanın, suda yağ emülsiyonlarının stabilitesini ve reolojik özelliklerini olumlu bir şekilde iyileştirdiği bildirilmiştir [58]. Soya proteini, fiziksel olarak zinde bireyler arasında yaygın olan protein karışımlarında kullanılır [59]. Soya sütü, peynir ve yoğurt, veganlar ve laktoz intoleransı olan bireyler için mükemmel süt ürünleri ikameleridir. Soya sütü ve tatlı mısır karışımından üretilen soya mısır sütü de mevcuttur. Tatlı mısırı soya sütü ile karıştırmak, baklagil sütünde bulunan fasulye aromasını maskeleymeye yardımcı olur ve besin değerini artırır [59]. Genel olarak bakliyat bazlı ürünlerdeki gelişim, glutensiz, düşük glisemik indeksli, düşük kalorili, kilo kaybı ve kas kazanımı sağlayan gıda takviyeleri gibi fonksiyonel gıdalara olan ilgiyi arttırmıştır. Teknolojik bir bakış açısına göre, bakliyattan üretilmiş bileşenler iyi protein çözünürlüğüne, emülsifiye edici köpürmeye, kapsüllemeye ve reolojik güçlendirme özelliklerine sahiptir [3].

## SONUÇ

Diyet ve sağlık arasındaki ilişki nedeniyle, çoğu gıda ürününün, özellikle de yüksek şeker ve yağ içeriğine sahip olanların beslenme profilinin iyileştirilmesine yönelik artan bir ilgi vardır. Unlu mamuller yaş ve gelir düzeyine bakılmaksızın toplumun tüm kesimleri tarafından tüketilmektedir. Bu alanda çıkarılacak önemli bir sonuç, mevcut araştırma çalışmalarının meyve vermesidir. Unlu mamullerde, karbonhidrat, protein ve yağ sağlayan geleneksel içerikler, besin kalitesi kaybı olmaksızın, daha sağlıklı besin öğeleriyle başarılı bir şekilde değiştirilebilir. Baklagillerin zengin besleyici kompozisyonları onların ekmek başta olmak üzere çeşitli fırın ürünlerinin bileşiminde başarılı bir şekilde kullanım olanaklarını arttırmaktadır. Tüm verilerdeki tanımlamalara göre, bakliyatlar yeni gıda formülasyonlarına sayısız katkı sunmaktadır. Bitkisel protein kaynakları, besleyici zenginliklerinin ötesinde, hayvansal besinlerin üretimindeki çevresel etkileri azaltmayı amaçlar. Vurgulanan avantajlara rağmen, bakliyatların protein kaynakları olarak araştırılması, yani en uygun türlerin seçilmesi veya reolojik ve duysal özelliklerini iyileştirmek için optimize edilmiş üretim ve işleme teknolojilerinin uygulanması konusunda hala büyük çaba gerekmektedir. Bununla birlikte tüketicilerin kabul edilebilirliği açısından, istenmeyen tatları azaltmak / ortadan kaldırmak gerekli olabilir (örneğin, genel olarak baklagillerle ilişkili iyi bilinen "börülce" aroması). Ayrıca belirtildiği gibi baklagillerde bulunan antibesinsel faktörler, farklı işleme teknikleri (ıslatma, kabuk soyam,

pişirme) ve enzimatik işlemler ile azaltılabilir. Bakliyatların insan vücudundaki bazı sınırlamalara (sindirilebilirlik, alerjenite ve antibesinsel öğelerin varlığı) rağmen, bakliyat proteinlerinin gıda proteini taleplerinin karşılanmasında son derece önemli olacağı ve bu şekilde gıda güvenliğine büyük ölçüde katkıda bulunacağı açıktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Sarioğlu, G., Velioğlu, Y.S. (2018). Baklagillerin bileşimi. *Akademik Gıda*, 16(4), 483-496.
- [2] Aider, M., Sirois-Gosselin, M., Boye, J.I. (2012). Pea, lentil and chickpea protein application in bread making. *Journal of Food Research*, 1(4), 160.
- [3] Bessada, S.M.F., Barreira, J.C.M., Oliveira, M.B.P.P. (2019). Pulses and food security: dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *In Trends in Food Science and Technology*, 93, 53-68.
- [4] Maphosa, Y., Jideani, V.A. (2017). The role of legumes in human nutrition. *Functional Food - Improve Health through Adequate*, 103-121.
- [5] FAO. (1994). *Pulses and derived products*.
- [6] Giusti, F., Caprioli, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Sagratini, G. (2017). Determination of fourteen polyphenols in pulses by High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection (HPLC-DAD) and correlation study with antioxidant activity and colour. *Food Chemistry*, 221, 689-697.
- [7] Boye, J., Zare, F., Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414-431.
- [8] Awika, J.M., Duodu, K.G. (2017). Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (*vigna unguiculata*) and their health promoting properties: A review. *In Journal Of Functional Foods*, 38, 686-697.
- [9] FAO. (2016). Legumes can help fight climate change, hunger and obesity in Latin America and the Caribbean.
- [10] Kouris-Blazos, A., Belski, R. (2016). Health benefits of legumes and pulses with a focus on Australian sweet lupins. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 25(1), 1-17.
- [11] Anonymous. (2013). Grain Composition Lupin Food.
- [12] Luna-Vital, D.A., Mojica, L., González de Mejía, E., Mendoza, S., Loarca-Piña, G. (2015). Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus Vulgaris* L.): A review. *In Food Research International*, 76(1), 39-50.
- [13] Ha, V., Sievenpiper, J.L., de Souza, R.J., Jayalath, V.H., Mirrahimi, A., Agarwal, A., Chiavaroli, L., Mejia, S.B., Sacks, F.M., Di Buono, M., Bernstein, A.M., Leiter, A.L., Kris-Etherton, P.M., Vuksan, V., Bazinet, R.P., Josse, R.G., Beyene, J., Kendall, C.W.C., Jenkins, D.J.A. (2014). Effect of dietary pulse intake on established therapeutic lipid targets for cardiovascular risk reduction: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Canadian Medical Association Journal*, 186(8), 252-262.
- [14] Bazzano, L.A., Thompson, A.M., Tees, M.T., Nguyen, C.H., Winham, D. M. (2011). Non-soy legume consumption lowers cholesterol levels: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 21(2), 94-103.
- [15] Tor-Roca, A., Garcia-Aloy, M., Mattivi, F., Llorach, R., Andres-Lacueva, C., Urpi-Sarda M. (2020). Phytochemicals in Legumes: A Qualitative Reviewed Analysis. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 68, 13486-13496.
- [16] Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Oomah, B.D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *In Food Research International*, 43(2), 461-482.
- [17] Lucock, M. (2000). Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Molecular Genetics and Metabolism*, 71(1-2), 121-138.
- [18] Li, J., Mao, Q. (2017). Legume intake and risk of prostate cancer: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Oncotarget*. 8(27), 44776-44784.
- [19] Chen, M., Rao, Y., Zheng, Y., Wei, S., Li, Y., Guo, T., Yin, P. (2014). Association between soy isoflavone intake and breast cancer risk for pre- and post-menopausal women: A meta-analysis of epidemiological studies. *Plos One* 9, (2).
- [20] Dessypris, N., Karalexi, M.A., Ntouvelis, E., Diamantaras, A.A., Papadakis, V., Baka, M., Hatzipantelis, E., Kourti, M., Moschovi, M., Polychronopoulou, S., Sidi, V., Stiakaki, E., Petridou, E.Th. (2017). Association of maternal and index child's diet with subsequent leukemia risk: A systematic review and meta analysis. *Cancer Epidemiology*, 47, 64-75.
- [21] Schlesinger, S., Neuenschwander, M., Schwedhelm, C.G., Bechthold, A., Boeing, H., Schwingshackl, L. (2019). Food groups and risk of overweight, obesity, and weight gain: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Advances in Nutrition; Oxford University Press*, 205-218.
- [22] Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., Pedrosa, M.M. (2012). Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. implications for nutrition and health. *In Phytochemistry Reviews*, 11(2-3), 227-244.
- [23] Rebello, C.J., Greenway, F.L., Finley, J.W. (2014). A review of the nutritional value of legumes and their effects on obesity and its related comorbidities. *Obesity Reviews*, 15(5), 392-407.
- [24] Celleno, L., Tolaini, M.V., D'Amore, A., Perricone, N.V., Preuss, H.G. (2007). A dietary supplement containing standardized Phaseolus vulgaris extract influences body composition of overweight men and women. *International Journal of Medical Sciences*, 4(1), 45-52
- [25] Çakır, Ö., Uçarlı, C., Tarhan, Ç., Pekmez, M., Turgut-Kara, N. (2019). Nutritional and health benefits of legumes and their distinctive genomic properties. *Food Science and Technology*, 39(1), 1-12.

- [26] Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C.L., Chibbar, R.N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*, 108(1), 1, 11-S26.
- [27] Nestel, P., Cehun, M., Chronopoulos, A. (2004). Effects of long-term consumption and single meals of chickpeas on plasma glucose, insulin, and triacylglycerol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(3), 390-395.
- [28] Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Ioannou, M., Karathanos, V.T., Hassapidou, M., Andrikopoulos, N.K. (2010). Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chemistry*, 121(3), 682-690.
- [29] Ogwu, M.C., Osawaru, M.E., Obahiagbon, G.E. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for traditional reproductive care by Usen people of Edo State, Nigeria. *Malaya Journal of Biosciences*, 4(1), 17-29.
- [30] Benevides, C.M., De J., Trindade, B.A., Lopes, M.V. (2018). Potentialities of legumes in the pharmaceutical industry. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 7(3), 369-373.
- [31] Uprety, Y., Asselin, H., Boon, E.K., Yadav, S., Shrestha, K.K. (2010). Indigenous use and bio-efficacy of medicinal plants in the Rasuwa District, Central Nepal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 6(3), 1-10.
- [32] Anderson, W.J., Major, A.W. (2002). Pulses and lipemia, short- and long-term effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. *British Journal of Nutrition*, 88(3), 263-271.
- [33] Flight, I., Clifton, P. (2006). Cereal grains and legumes in the prevention of coronary heart disease and stroke: a review of the literature. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, 1145-1159.
- [34] Pina-Pérez, M.C., Ferrús Pérez, M.A. (2018). Antimicrobial potential of legume extracts against foodborne pathogens: A Review. *In Trends in Food Science and Technology*, 72, 114-124.
- [35] Osman, A. El-araby, G.M., Taha, H. (2016). Potential use as a bio-preservative from lupin protein hydrolysate generated by alcalase in food system. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 4(02), 76-81.
- [36] Karkouch, I., Tabbene, O., Gharbi, D., Ben Mlouka, M.A., Elkahoui, S., Rihouey, C., Coquet, L., Cosette, P., Jouenne, T., Limam, F. (2017). Antioxidant, antityrosinase and antibiofilm activities of synthesized peptides derived from vicia faba protein hydrolysate: a powerful agents in cosmetic application. *Industrial Crops and Products*, 109, 310-9319.
- [37] Pekşen, E., Artık, C. (2005). Antibesinsel maddeler ve yemelik baklagillerin besleyici değerleri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2), 110-120.
- [38] Sánchez-Chino, X., Jiménez-Martínez, C., Dávila-Ortiz, G., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E. (2015). Nutrient and nonnutrient components of legumes, and its chemopreventive activity: A review. *Nutrition and Cancer*, 67(3), 401-410.
- [39] Roy, F., Boye, J.I., Simpson, B.K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: pea, chickpea and lentil. *In Food Research International*, 43(2), 432-442.
- [40] Gilani, G.S., Cockell, K.A., Sepehr, E. (2005). Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *Journal of AOAC International*, 88(3), 967-987.
- [41] Jezierny, D., Mosenthin, R., Bauer, E. (2010). The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: A Review. *In Animal Feed Science And Technology*, 157(3-4), 111-128.
- [42] Shi, L., Arntfield, S.D., Nickerson, M. (2018). Changes in levels of phytic acid, lectins and oxalates during soaking and cooking of canadian pulses. *Food Research International*, 107, 660-668.
- [43] Gupta, R.K., Gangoliya, S.S., Singh, N.K. (2015). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *In Journal of Food Science And Technology*, 52(2), 676-684.
- [44] Oghbaei, M., Prakash, J. (2016). Effect of Primary processing of cereals and legumes on its nutritional quality: a comprehensive review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1-14.
- [45] Vasantha Kumari, P., Sangeetha, N. (2017). Nutritional significance of cereals and legumes based food mix- A Review. *International Journal of Agricultural and Life Sciences-IJALS*, 3(1), 115-122.
- [46] Wang, N., Hatcher, D.W., Toews, R., Gawalko, E.J. (2009). Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). *LWT - Food Science and Technology*, 42(4), 842-848.
- [47] Margier, M., Georgé, S., Hafnaoui, N., Remond, D., Nowicki, M., Du Chaffaut, L., Amiot, M.J., Reboul, E. (2018). Nutritional composition and bioactive content of legumes: characterization of pulses frequently consumed in france and effect of the cooking method. *Nutrients*, 10(11), 1668.
- [48] Pasqualone, A., Costantini, M., Coldea, T., Summo, C. (2020). Use of legumes in extrusion cooking: A Review. *Foods* 9 (7), 958.
- [49] Lam, A.C.Y., Can Karaca, A., Tyler, R.T., Nickerson, M.T. (2018). Pea protein isolates: structure, extraction and functionality. *Food Reviews International*, 34(2), 126-147.
- [50] Shevkani, K., Kaur, A., Kumar, S., Singh, N. (2015). Cowpea protein isolates: functional properties and application in gluten-free rice muffins. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 927-933.
- [51] Barać, M.B., Pešić, M.B., Stanojević, S.P., Kostić, A.Z., Čabrilo, S.B. (2015). Techno-functional properties of pea (*pisum sativum*) protein isolates-a review. *in Acta Periodica Technologica* 46, 1-18.
- [52] Day, L. (2013). Proteins from land plants - potential resources for human nutrition and food security. *In Trends in Food Science And Technology*, 32(1), 25-42.
- [53] Capraro, J., Magni, C., Scarafoni, A., Caramanico, R., Rossi, F., Morlacchini, M., Duranti, M. (2014).

Pasta supplemented with isolated lupin protein fractions reduces body weight gain and food intake of rats and decreases plasma glucose concentration upon glucose overload trial. *Food And Function*, 5(2), 375-380.

- [54] Babault, N., Paizis, C., Deley, G., Guérin-Deremau, L., Saniez, M.H., Lefranc-Millot, C., Allaert, A.F. (2015). Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial vs. Whey protein. *Journal of the International Society Of Sports Nutrition*, 12(1), 1-9.
- [55] Boschini, G., Scigliuolo, G.M., Resta, D., Arnoldi, A. (2014). Ace-inhibitory activity of enzymatic protein hydrolysates from lupin and other legumes. *Food Chemistry*, 145,34-40.
- [56] Rosa-Sibakov, N., Heiniö, R.L., Cassan, D., Holopainen-Mantila, U., Micard, V., Lantto, R., Sozer, N. (2016). Effect of bioprocessing and fractionation on the structural, textural and sensory properties of gluten-free faba bean pasta. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 27-36.
- [57] Giménez, M.A., González, R.J., Wagner, J., Torres, R., Lobo, M.O., Samman, N.C. (2013). Effect of extrusion conditions on physicochemical and sensorial properties of corn-broad beans (*Vicia Faba*) spaghetti type pasta. *Food Chemistry*, 136(2), 538-545.
- [58] Gabriel, E.G., Jideani, V.A., Ikhu-omeregbe, D.I.O. (2013). Investigation of the emulsifying properties of Bambara groundnut flour and starch. *International Journal of Food Science and Engineering*, 7, 539-547.
- [59] Fasoyiro, S., Widodo, Y., Taiwo, K.A. (2012). Processing and utilization of legumes in the tropics. In book: *Trends in Vital Food and Control Engineering*, 71-84.
-

## Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

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

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com) web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com) e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirilebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve

tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

### Yazar Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makale yayınlanması için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

### Etik Beyanı

Dergi yayın politikası, makalelerin değerlendirilmesi ve etik hususlar ile ilgili detaylı bilgilere Etik Beyanı kısmından ulaşılabilir.

### Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz,



Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) \*.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayımlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

## Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F. (2009). İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 9(1), 6-12.

## Kitap

- [2] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

## Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

## Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşlı, A., Kınık, Ö. (2004). Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Editörler tarafından belirtilen süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

## Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com). Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com).

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

### Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

### Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

### Ethics Statement

Detailed information about journal publication policy, evaluation of manuscripts and ethical issues can be found in the Ethics Statement section.

### Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international

system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as \*.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

#### Article

[1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on

physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

#### Book

[2] Kilic, S. (2001). Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

#### Book Chapter

[3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

#### Proceedings of the Congress-Symposium

[4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O. (2004). Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office.

13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

## Etik Beyanı

Akademik GIDA®, gıda bilimi ve teknolojisi alanında orijinal araştırma ve derleme makalelerinin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Dergi üç ayda bir Sidas Medya Ltd. Şti. (Çankaya, İzmir, Türkiye) tarafından yayınlanmaktadır. Derginin genel bilimsel kalitesini iyileştirmek için yayıncı tarafından aşağıdaki yönergeler belirlenmiştir.

### Yayın Politikası

Akademik Gıda dergisine gönderilen tüm makaleler Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları için Davranış Kurallarında ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) belirtilen Genel Kılavuzlara uygun olarak değerlendirilmektedir. Bilimsel yazılar dergiye gönderilmeden önce derginin Yazım Kurallarının okunmasını önemle tavsiye ederiz. Yazarlar aynı zamanda Avrupa Bilim Editörleri Birliği'nin (EASE) ([European Association of Science Editors](#)) İngilizce olarak basılacak makaleler için "Bilimsel Makalelerin Yazarları ve Çevirmenleri İçin Rehber"e uymalıdır. Yazarlar, insan veya hayvan verilerini içeren araştırmaları için Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([International Committee of Medical Journal Editors](#)) önerilerini takip etmelidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Dergiye gönderilen tüm makaleler, bilimsel içeriklerinin özgünlüğü ve kalitesi ölçütlerine göre değerlendirilir.

- Dergiye gönderilen tüm yazılar, ilk olarak yayın ofisindeki (teknik ve genel kalite değerlendirilmesi açısından) eleme işleminden geçer ve ardından teknik ve bilimsel editörler tarafından değerlendirilir.
- İlk değerlendirmeden sonra, editörler (i) dergi kapsamı dışında kalan bir konu hakkında hazırlanmış makaleleri (ii) teknik olarak eksik/yetersiz makaleleri, (iii) kısmi ve marjinal artan sonuçları içeren makaleleri veya (iv) kötü yazılmış makaleleri reddetme hakkına sahiptir.
- İlk inceleme sonucunda makalenin ileri değerlendirme için uygun olduğuna karar verilirse, dergide yayımlanmak üzere kaliteli makalelerin seçimini yapmak amacıyla, makaleler çift-körlü (hakemin ve yazar/yazarların birbirlerini görmedikleri) değerlendirme sistemi ile en az iki bağımsız hakemden oluşan bir değerlendirme sürecinde bilimsel incelemeye alınır.
- Hakemler tarafından talep edilirse, makalenin hakem görüşleri doğrultusunda yazarlar tarafından revize edilmiş versiyonu orijinal hakemler tarafından tekrar değerlendirilir. Değerlendirmelerin ardından

editörler hakem önerileri doğrultusunda makale hakkındaki nihai kararlarını verirler. Gerekirse editörler, hakemlerin istedikleri tüm şartların yerine getirilmesi için yazarlardan ilave revizyon isteyebilir.

- Kabul edilen makalelerin son versiyonu, yayın öncesi taslağın (galley proof) hazırlanması için teknik editörlere gönderilir. Yazarlardan, makalelerinin dizgisi hazırlanmış taslaklarını son kontrol için yayın öncesinde incelemeleri istenir.
- Tüm makaleler, nihai formlarında DOI numarası alması ve çevrimiçi olarak pdf dosyaları halinde yayımlanır. İlgili veritabanlarında bu şekilde indekslenir.

### Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makalelerin yayınlanması için herhangi bir yayın ücreti talep edilmemektedir.

### Gizlilik

Editörler, Akademik Gıda'ya gönderilen tüm makaleleri tam bir gizlilikle ele alır. Editörler, hakemler haricinde, COPE tavsiyelerine uyulmadığı takdirde, üçüncü şahıslara makale ile ilgili hiçbir bilgi vermezler. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen makaleler hakemler için de gizlidir ve bilimsel değerlendirme için aldıkları makalelerin herhangi bir bölümünü üçüncü şahıslarla paylaşmalarına veya dağıtmalarına izin verilmez. Suiistimal şüphesi olduğunda, hakemlerin derhal gizli bir şekilde yayın ofisine başvurmaları önerilir. Hakemler ayrıca, Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kuralları ile Dergi Yayıncıları için Davranış Kuralları'nı ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederek editöre gizli yorumlarında belirli bir eylem önerebilirler.

Akademik Gıda, çift-kör bir hakem inceleme süreci yürütür, yani çalışmanın eleştirel değerlendirmesini sağlamak için hakemlerin isimleri gizlidir. Hakemlerden, raporlarında adlarını veya irtibat bilgilerini açıklamamaları istenir. Hakem raporları yazarlara gönderilemeden önce bu açıdan kontrol edilir.

### Yazarlık

Bir yazar, bir araştırmanın fikrine veya tasarımına, verilerin elde edilmesine, verilerin analizine veya yorumlanmasına büyük ölçüde katkıda bulunan, makalenin hazırlanmasında, yazılmasında veya gözden geçirilmesinde entelektüel içeriğe eleştirel katkı yapan bireydir. Katkıda bulunanlar diğer kişiler makalenin Teşekkür bölümünde belirtilmelidir ve çalışmanın yazarı olarak kabul edilemez. Tüm yazarların doğru ve tam isimleri ile ORCID kimlikleri dergiye gönderilen

makalenin başlık sayfasında yer almalıdır. Yazarların isimlerinin yanında çalıştıkları kurumlar ve yazışmalardan sorumlu yazarın geçerli bir adresi verilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazarın telefon ve faks numaraları ile e-posta adresi makalenin ilk sayfasında belirtilmelidir. Tüm yazarlar, gönderilen makalenin daha önce herhangi bir yerde yayınlanmadığını ve makale hakkında Akademik Gıda dergisi nihai bir karar vermeden önce makaleyi başka bir dergiye göndermeyeceklerini garanti etmelidir.

### Destekleyen/Finans Sağlayan Kuruluşlar

Araştırmanın tüm finans kaynaklarına ilişkin detaylar, Teşekkür bölümünde belirtilmelidir. Yazarlar, resmi finansman kurum/larının tam isimlerini ve proje/hibe numaralarını belirtmelidir.

### Yazarlarda Değişiklik

Makalenin Akademik Gıda'ya sunulmasından sonra yazar isimlerinde değişiklik ancak revizyon sırasında gerekli olan ek çalışmalar durumunda olabilir. Makalenin yayına kabul edilmesinden sonra herhangi bir değişikliğe izin verilmez. Yazarlıktaki değişiklik, hakem görüşlerine verilen cevaplar sırasında yazışmalarda belirtilmeli ve tüm yazarlar tarafından kabul edilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazar, yazarların sırası da dahil olmak üzere makalenin revize edilmiş versiyonundaki değişikliklerden sorumludur.

### Çalışma Verilerinde Düzeltme

Yayınlanan verilerin doğruluğundan tüm yazarlar sorumlu olmalıdır. Verilerin düzeltilmesi için, yazışmalardan sorumlu yazardan yayın öncesi taslağı (galley proof) incelemesi ve makalenin yayınlanmasından 4 gün önce dikkatlice düzeltilmesi istenir.

### Makalenin Geri Çekilmesi

Bir makalenin geri çekilmesi, gönderim veya yayın hatalarını düzeltmek için kullanılır. Yazarlar makaleyi geri çekebilir ve bu durumda Yayın Etiği Komitesi (COPE) Geri Çekme Kurallarına [(COPE) retraction guidelines] uymalıdır. Tekrarlanan veya benzerlik oranı yüksek bir yayın, verilerin hileli kullanımı, intihal veya etik dışı araştırma yapılması durumunda, makale editör tarafından geri çekilecek ve geri çekilen makale linklerine bağlantı korunacak ancak elektronik veri tabanına (makale sayfasına) bir geri çekme bildirimi eklenecektir.

### Etik Hususlar

#### Çıkar çatışması:

- Yazar/lar başvuru sırasında herhangi bir çıkar çatışması varsa beyan etmelidir. Yazar/ların başvuru sırasında bilimsel değerlendirme için en az üç potansiyel hakem önermeleri istenir. Önerilen hakemler çalışma arkadaşları, ortak çalıştıkları kişiler veya çalıştıkları kurumların üyeleri olamazlar.
- Hakemler makaleyi değerlendirmelerini önleyen herhangi bir çıkar çatışması olması durumunda

Editörleri bilgilendirmesi ve bu konuda COPE kurallarına uyması tavsiye edilmektedir.

- Editörler Kurulu üyeleri veya kurul üyelerinin ortak çalıştıkları kişiler tarafından dergiye gönderilen makaleler için, değerlendirme sırasındaki önyargıları en aza indirmek amacıyla, değerlendirme süreci ilgili kurul üyelerini dışarıda tutacak şekilde değiştirilerek uygulanır.
- Düzeltmeler (revizyonlar) sırasında, editörler Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzu ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını (Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers) takip ederler.

### İnsan denekleri, hayvan veya bitki içeren araştırmalar

- Araştırmanın insan denekleri veya hayvanları içermesi durumunda, yazarların Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin (the International Committee of Medical Journal Editors) yönergelerini izlemeleri önerilir.
- İnsan denekleri içeren çalışmalarda, deneklerin çalışmaya katılmak için imzaladıkları onamlar yazarlar tarafından sağlanmalıdır. 18 yaşın altındaki deneklerin çalışmaya katılmaları için ebeveyn veya velileri tarafından izin verilmelidir.
- Test edilen tüm denekler için, makalenin, ilgili kurallara ve/veya uygun izinlere veya lisanslara uyumunu gösteren belgelerin sunulması gerekir.
- Hayvanlar üzerinde yapılacak her türlü araştırma kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalı ve etik kurul tarafından onaylanmalıdır.
- Bitki materyallerinin toplanması dahil, bitkiler üzerinde yapılan deneysel araştırmalar, kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalıdır.
- Saha çalışmalarını yerel mevzuata uygun olarak yapılmalı ve uygun izinleri ve/veya lisansları belirten bir açıklama makalede yer almalıdır.

### Yayın suistimali

- Akademik Gıda dergisi, Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını (Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers) takip eder.
- Makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi, intihal, yayınlanmış makalenin yeniden yayınlanması, etik kuralların ihlali vb. şüpheli bir suistimal durumunda, araştırmacılar, hakemler veya okuyucular Yayın Ofisi (ogursoy@yahoo.com) ile iletişime geçmeye teşvik edilir.
- Makaledeki benzerlik oranı tek bir kaynaktan %10'dan fazla olmamak üzere en fazla %25 ile sınırlandırılmıştır. Bu koşula uymayan makaleler reddedilir. Bu şartların ihlal edilmesi durumunda, COPE (COPE recommendations) tavsiyeleri izlenecek ve ilgili tüm taraflara bildirilecektir.

## Telif Hakkı

Akademik Gıda, yayınlanan bütün makalelere orijinal eserin uygun şekilde belirtilmesi ve ticari amaçlarla kullanılmaması şartıyla, herhangi bir ortamda kullanılmasına, dağıtılmasına ve çoğaltılmasına izin veren "Creative Commons Attribution 4.0 CC BY-NC" lisansını ([Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)) tüm yayınlanmış makalelere uygular. Yayınlanmadan önce, Telif Hakkı Devir Formu yazışmalardan sorumlu yazar tarafından imzalanmalı ve derginin yayın ofisine gönderilmelidir. Yayınlanan yazıların telif hakkı Sidas Medya Limited Şirketi'ne (Çankaya, İzmir) aittir. Yazarlar, yayınladıkları makaleleri serbestçe ve ticari olmayan amaçlarla, bütünlüğü korunduğu ve yazarları, alıntı detaylarını ve yayıncıları açıkça belirtildiği sürece kullanma hakkına

sahiptir. Bireysel kullanıcılar, yazarların fikri ve ahlaki haklarının, saygınlığının ve bütünlüğünün tehlikeye atılmaması şartıyla, Akademik Gıda'da yayınlanan yazılara erişebilir, indirebilir, kopyalayabilir, görüntüleyebilir ve uyarlayabilir. Kullanıcılar herhangi bir yeniden kullanım, sahiplerin telif hakkı politikalarına uygun olmasını sağlamalıdır. Yayınlanan yazıların içeriği, ticari olmayan araştırma ve eğitim amaçlı kopyalanır, indirilir veya başka bir şekilde yeniden kullanılırsa, uygun şekilde bir atf yapılmalı ve ilgili makaleye bir link [yazarlar, dergi unvanı, el yazması adı, cilt, yıl ve sayfa numaraları ve yayınlanan link] Derginin web sitesinde sürüm] sağlanmalıdır. Telif hakkı bildirimleri ve feragatnameler silinmemelidir.

## Ethics and Publication Malpractice Statement

Akademik GIDA® is a peer-reviewed journal where original research and review articles are published quarterly by Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey) in the field of food science and technology. In order to improve the overall scientific quality of the journal, following guidelines have been established by the publisher.

### Editorial Policy

General Guidelines stated in the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#) are followed by all papers submitted to Academic GIDA. Prior to submission, authors are highly recommended to read the [Journal's Instructions to Authors](#). Authors should also follow the [European Association of Science Editors \(EASE\) Guidelines for Authors and Translators of Scientific Articles to be Published in English](#). For any research involving human or animal data, the recommendations of the [International Committee of Medical Journal Editors](#) should be followed by the authors of the manuscripts.

### Peer Review

All contributions are evaluated according to the criteria of originality and quality of their scientific content.

- All manuscripts pass through an initial screening process (technical and overall quality evaluation) in the editorial office followed by an internal review by the technical and scientific editors.
- After the first evaluation, editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.
- If the manuscript is considered suitable for further evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication.
- If requested, the revised version is evaluated by the reviewers, and editors make a decision about final acceptance based on their suggestions. If necessary, further revision can be asked for to fulfil all the requirements of the reviewers.
- The final version is then sent to the technical editor in order to produce a galley proof, and the authors receive this proof for final check before publishing.
- All manuscripts are posted online as pdf files in their final form, indexed in databases with the assigned DOI numbers.

### Publication Fee

Akademik GIDA welcomes article submissions and does not charge any publication fee.

### Confidentiality

Editors handle all papers submitted to Akademik GIDA in strict confidence. With the exception of reviewers, they do not disclose any information regarding submissions to third parties, unless in case of a suspected misconduct, where COPE recommendations are followed. Submissions are also confidential for reviewers and they are not allowed to share or distribute any part of the manuscripts which they receive for evaluation to third parties. For a case of suspected misconduct, reviewers are encouraged to contact the editorial office immediately in a confidential manner. Reviewers can also recommend a particular course of action in their confidential comments to the editor, following [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Akademik GIDA conducts a double-blind peer review process, i.e. the names of the reviewers are confidential to ensure the critical evaluation of the work. Reviewers are asked not to disclose their names or contact details in their comments for authors.

### Authorship

An author is an individual who substantially contributed to the idea or design of a research, acquisition of data, analysis or interpretation of data, was involved in drafting, writing or revising the manuscript critically for important intellectual content. Other contributors should be mentioned in the Acknowledgements section of the manuscript and cannot be considered as authors of the study. Correct and full names of all authors and their [ORCID](#) IDs should be on the title page of the manuscript. Names of authors must be supplemented with their affiliations and a valid address of the corresponding author. The phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be stated in the first page of the manuscript. All authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.

### Funding Sources

Details for all funding sources of the research should be stated in the Acknowledgements. Authors should provide

the full official funding agency name(s) and grant number(s).

### **Alteration in Authorship**

Alteration in authorship after the submission of the manuscript to Akademik GIDA can be justified only by the additional work required during the revision. Any change is not allowed after the acceptance of the manuscript for publication. Alteration in authorship should be indicated in the responses to reviewers, and should be accepted by all authors. The corresponding author is primarily responsible for any alteration in the revised version of the manuscript, including the order of authors.

### **Correction of Data**

All authors should be responsible for the accuracy of the published data. For the correction of data, the corresponding author receives the galley proof of the paper and is asked to correct it carefully within 4 days before publication.

### **Retraction of an Article**

A retraction of an article is used to correct errors in submission or publication. Authors can retract the paper and should follow the Committee on Publication Ethics (COPE) [retraction guidelines](#). In case of a duplicate or overlapping publication, fraudulent use of data, plagiarism or unethical research, the paper will be retracted by the editor, and a retraction notice will be included into the electronic database while all links to the retracted article will be maintained.

### **Ethical Considerations**

#### ***Conflict of interest:***

- Authors should declare any conflict of interest in their submission form. Authors are requested to suggest at least three potential reviewers before submission, and these reviewers cannot be their colleagues, collaborators or members of their institutions.
- Reviewers should notify the editors on any conflict of interest which prevents them from reviewing the paper, and they are recommended to follow the [COPE guidelines](#).
- For the manuscripts submitted by the members of the Editorial Board or their collaborators, peer reviewing is modified to exclude them from the entire evaluation process in order to minimize any bias during the evaluation.
- During revision, the editors follow the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

#### ***Research involving human subjects, animals or plants:***

- If the research involves humans or animals, the authors are recommended to follow the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#).

- In studies involving human subjects, their informed consent to participate in the study should be supplied by the authors. For subjects under the age of 18, their parents or guardians should give the permission for their participation in the study. For all tested subjects, the manuscript must accompany with a statement detailing compliance with relevant guidelines and/or appropriate permissions or licenses.
- Any research on animals must comply with institutional, national or international guidelines and, where possible, should be approved by an ethics committee.
- Any experimental research on plants, including collection of plant materials, must comply with institutional, national, or international guidelines.
- Field studies should be conducted in compliance with local legislation, and a statement specifying the appropriate permissions and/or licences should be included in the manuscript.

#### ***Publication misconduct:***

- The Journal follows the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).
- In a case of a suspected misconduct such as redundant or duplicate submission, plagiarism, text recycling, violation of ethical norms, etc., researchers, reviewers or readers are encouraged to contact the Editorial Office ([ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com)).
- The overlapping in the manuscript is highly restricted to the maximum of 25% with no more than 10% from a single source; otherwise, the manuscript will be rejected. If these terms are violated, COPE recommendations will be followed and all parties involved will be notified.

### **Copyright**

Akademik GIDA applies the [Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC license](#) to all published papers, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes. Before publication, the [Copyright Transfer Form](#) must be signed by the corresponding author and returned to the editorial office of the journal. Copyright of published papers is retained by the Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey). Authors have the right to use their published article freely and in noncommercial purposes, as long as its integrity is maintained and its original authors, citation details and publisher are clearly stated. Individual users may access, download, copy, display, and adapt the manuscripts published in Akademik GIDA, provided that the authors' intellectual and moral rights, reputation and integrity are not compromised. Users must ensure that any reuse complies with the copyright policies of the owners. If the content of the published manuscripts is copied, downloaded or otherwise reused for noncommercial research and educational purposes, a link to the appropriate bibliographic citation (authors, journal title, manuscript title, volume, year and page



numbers, and the link to the published version on the [Journal's website](#) should be provided. Copyright notices and disclaimers must not be deleted.

---

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR  
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06 E-mail: [sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com)

**SIDAS MEDYA**