

e-ISSN 2822-2873

ISSN 1303-3107

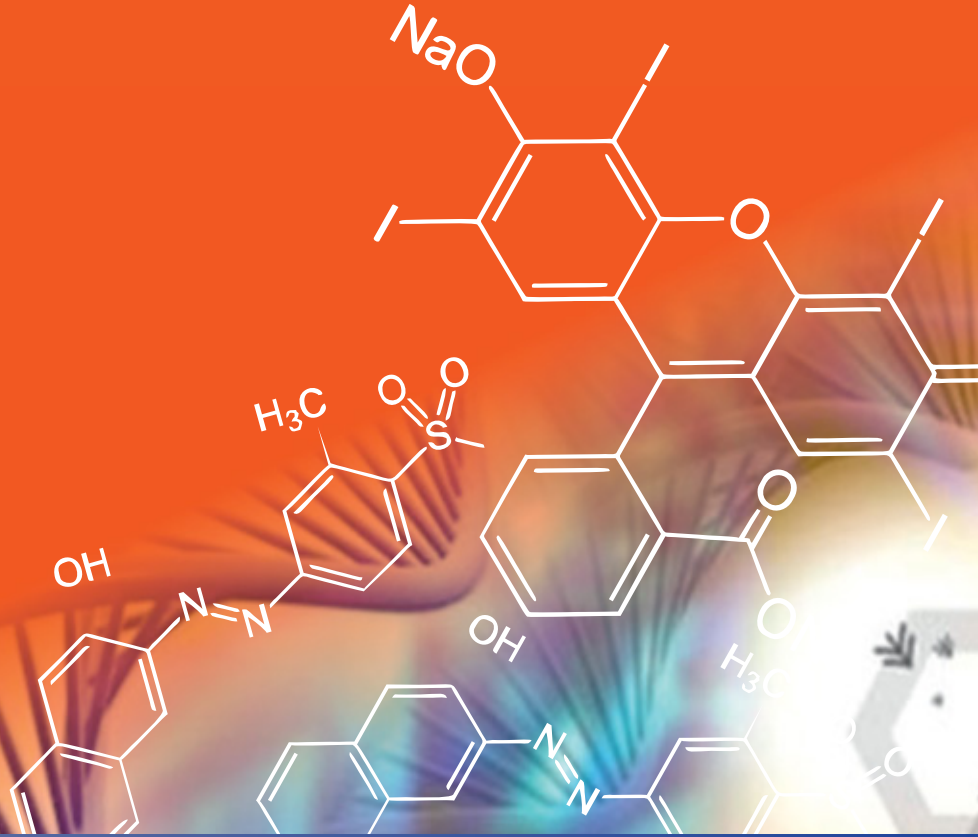
GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ

JOURNAL OF FOOD AND FEED SCIENCE - TECHNOLOGY

Yıl/Year: 21

Sayı/Number:31

2024/1



GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

Journal of Food and Feed Science - Technology

ISSN 1303-3107

e-ISSN 2822-2873

Yayın Bilgileri (Editorial Information)

Gıda ve Yem Kontrol Merkez
Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü adına sahibi
Owner on behalf of Central Research
Institute of Food and Feed Control

Dr. Yıldray İSTANBULLU*

Dergi Sahibi-Journal Owner
(Enstitü Müdürü-Institute Manager)

Dr. Nazan ÇÖPLÜ*

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü (Editor in Chief)

Dr. Vesile ÇETİN*

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)
ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Dr. Hakan TOSUNOĞLU*

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)

Ekrem KATMER*

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)
Reklam ve Abone İşleri (Advertisement and Subscription)
Grafik Tasarım (Graphics Design)

Dr. Arzu YAVUZ*

Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor)

Dr. Banu AĞGÜN*

Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor)

Filiz ÇAVUŞ*

Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Dr. Erdiç ALTINÇEKİÇ*

Alan Editörü (Technical Editor), İstatistik Editörü (Statistical Editor)
ve Mizanpaj Editörü (Layout Editor)

Nagihan UĞUR*

Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Şifa ÇALIŞKAN*

Alan Editörü (Technical Editor), Dil Editörü (Language Editor)
ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

* Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye

Yönetim ve Yayın Adresi (Administration and Publishing Address)

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Adalet Mah. 1. Hürriyet Cad., No: 128-2
Hürriyet - 16160 Osmangazi / BURSA

Telefon (Telephone) : + 90 224 246 4720 (Pbx)

Belgegeçer (Fax) : + 90 224 246 1941

E-posta (e-mail): bursagida@tarimorman.gov.tr

Web adresleri (Web sites):

dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/
dergipark.org.tr/en/pub/bursagida/
arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida/
foodandfeed.org

Bu Sayının Bilimsel Yayın Danışmanları* (Advisory Board)

Prof. Dr. Fahrettin Göğüş

Gaziantep Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği

Prof. Dr. Güzin Kaban

Atatürk Üniversitesi
Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği

Prof. Dr. Hayrettin Akkaya

İstanbul Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü

Prof. Dr. Hülya Güll

Süleyman Demirel Üniversitesi
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Remziye Yılmaz

Hacettepe Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Tuğba Kök Taş

Süleyman Demirel Üniversitesi
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Halil Yalçın

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni Ve Teknolojisi Bölümü

Doç. Dr. İlker Yılmaz

Başkent Üniversitesi
Gastronomi ve Mutfak Sanatları Programı

Doç. Dr. Serap Duraklı Veliöğlu

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Bölümü

Dr. Öğr. Görevlisi Berrak Delikanlı Kıyak

Bursa Uludağ Üniversitesi
İzmit Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme, Gıda Teknolojisi Programı

Dr. Öğr. Üyesi Funda Yılmaz Eker

İstanbul Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Bölümü

Dr. Ercan Sarıca

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Bölümü

Dr. Ergün Ayanoğlu

Bursa Uludağ Üniversitesi
Karacabey Meslek Yüksekokulu, Bitkisel Ve Hayvansal Üretim

Dr. Pınar Uzun

Süleyman Demirel Üniversitesi
Gelendost Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü

Dr. Seda Kayahan

Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü

Dr. Yavuz Yüksel

Balıkesir Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

*İsimler unvanlarına göre alfabetik sıra ile yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.



arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida
foodandfeed.org

ISSN 1303-3107
e-ISSN 2822-2873

GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

*Journal of
Food and Feed
Science - Technology*

Yıl/Year: 21

Sayı/Number: 31

2024/1

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Central Research Institute of Food and Feed Control

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Dr.Nazan ÇÖPLÜ, Sorumlu Yazı İşleri Müdürü (Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Vesile ÇETİN, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Hakan TOSUNOĞLU, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Ekrem KATMER, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Arzu YAVUZ, Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Banu AKGÜN, Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Filiz ÇAVUŞ, Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Erdinç ALTINÇEKİÇ, Alan Editörü (Technical Editor), İstatistik Editörü (Statistical Editor) ve Mizanpaj Editörü (Layout Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Nagihan UĞUR, Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Şifa ÇALIŞKAN, Alan Editörü (Technical Editor), Dil Editörü (Language Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Prof.Dr.Abdulkadir ÇILTAŞ (Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Abdullah ÖKSÜZ (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ahmet İNCE (Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Ali GÜNDOĞDU (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Aycan TOSUNOĞLU (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Bahattin AKDEMİR (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Behiç COŞKUN (Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Belgin İZGİ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Belgin SIRIKEN (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Betül GÜROY (Yalova Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı, Türkiye)

Prof.Dr.Bilgen OSMAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Canan Ece TAMER (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Cem KARAGÖZLÜ (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Cemalettin SARIÇOBAN (Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Derya YEŞİLBAĞ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Elif TÜMAY ÖZER (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen -Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Prof.Dr.Esra ÇAPANOĞLU (İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Emrah TORLAK (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Ve Genetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Fahrettin GÖĞÜŞ (Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Faruk BALCI (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr. Fatih ŞEN (Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Çanakkale Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ferit ÇOBAN (Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Filiz ÖZÇELİK (Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Gürbüz GÜNEŞ (İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Güzin KABAN (Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hale ŞAMLI (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Harun DIRAMAN (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hasan VURAL (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hasan YALÇIN (Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hasan YETİM (İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Mühendislik Ve doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof. Dr. Hayrettin Akkaya (İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü)

Prof.Dr.Hülya GÜL (Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hüseyin ESECELİ (Bandırma On yedi Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.İbrahim AK (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Kağan KÖKTEN (Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Lütfiye YILMAZ ERSAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.M. Haluk TÜRKDEMİR (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mehmet YÜCEER (İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mete YILMAZ (Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mihriban KORUKLUOĞLU (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Muhammet ARICI (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR(Gebze Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Murat TAŞAN (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mustafa KIRALAN (Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Prof.Dr.Nurgül ÖZBAY (Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya ve Süreç Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Osman KOLA (Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Osman ÜÇÜNCÜ (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Osman TİRYAKİ (Çanakkale Onsekiz Mart, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Oya IŞIK (Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ozan GÜRBÜZ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ömer Utku ÇOPUR (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Özlem TURGAY (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ramazan GÖKÇE (Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Remziye YILMAZ (Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Saliha ŞAHİN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Semih ÖTLEŞ (Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Seran TEMELLİ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Serkan SELLİ (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Sibel SOYCAN ÖNENÇ (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Zootehni Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Şefik KURULTAY (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Şerife Şule CENGİZ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Şule TURHAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Tanay BİLAL (İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Tuba YILDIRIM (Amasya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Tülay ÖZCAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ufuk KARADAVUT (Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ufuk Tansel ŞİRELİ (Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof. Dr. Tuğba Kök Taş (Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü)

Prof.Dr.Uğur GÜNŞEN (Bandırma Onyedil Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Uğur TAMER (Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Şerife TÛTÛNCÛ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Yasemin ŞAHAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Zehra BÛYÛKTUNCER DEMİREL (Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Zeki GÛRLER (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Prof.Dr. Zeynel DALKILIÇ (Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Ali İhsan ATALAY (Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Alya ASLANER (Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Ahmet Levent İNANÇ (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Arzu AKPINAR BAYİZİT (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ (Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr. Ayşe Neslihan DÜNDAR (Bursa Teknik Üniversitesi, Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Ayşegül KUMRAL (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Cemalettin BALTACI (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Çağrı Özgür ÖZKAN (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Gökşun Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Derya KOÇAK YANIK (Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Dilek DEMİRBÜKER KAVAK (Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr. Dilek Dülger ALTINER (Kocaeli Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Emine BUDAKLI ÇARPICI (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr. Ertan ERMIŞ (İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Esmeray KÜLEY BOĞA (Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Fatih TÖRNÜK (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Assoc.Professor Gabriela IORDACHESCU (Dunarea de Jos University, Faculty of Food Science and Engineering, Food Science, Food Engineering Biotechnologies and Aquaculture Department, Romania)

Doç.Dr.Gamze TOYDEMİR ŞEN (Alanya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Üretim Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Halil Yalçın (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni Ve Teknolojisi Bölümü)

Doç.Dr.Hasan CANKURT (Kayseri Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Gıda Teknolojisi Programı, Türkiye)

Doç.Dr.Hasan Hüseyin KARA (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr. İlkay YILMAZ (Başkent Üniversitesi, Güzel Sanatlar, Tasarım ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Programı, Türkiye)

Doç.Dr.İlkem DEMİRKESEN MERT (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)

Doç.Dr. İncilay GÖKBULUT (İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Köksal KARADAŞ (Iğdır Üniversitesi, Iğdır Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Assoc.Professor Liliana MIHALCEA (Universitatea Dunarea de Jos Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology, Romania)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Doç.Dr. Merve TOMAŞ (İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Murat ZORBA (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Assoc.Lecturer.Dr.Mustafa Zafer ÖZEL (Green Chemistry, Department of Chemistry, University of York, UK)

Doç.Dr.Mustafa Kürşat DEMİR (Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Mustafa YAMAN (İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Oktay YERLİKAYA (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Özlem ESMER (Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Perihan YOLCI ÖMEROĞLU (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Rasim Alper ORAL (Bursa Teknik Üniversitesi; Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi; Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Seda GENÇ (Yaşar Üniversitesi, Meslek Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Salih KARASU (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr. Senem KAMILOĞLU BEŞTEPE (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç. Dr. Serap Duraklı Velioglu (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü)

Doç.Dr.Sine ÖZMEN TOĞAY (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Şebnem BUDAK (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Şebnem PAMUK (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Doç.Dr.Tuba ŞANLI (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Yekta GEZGİNÇ (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.YılmazUÇAR(Çukurova Üniversitesi, Aladağ Meslek Yüksekokulu, Ormancılık, , Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Adnan Fatih DAĞDELEN (Bursa Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Aşkın BİRGÜL (Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Çağla ÖZBEK (Toros Üniversitesi, Güzel Sanatlar, Tasarım Ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Çisem BULUT ALBAYRAK (Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Fatma CEBECİ (Bayburt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Fatma Kübra SAYIN (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr. Öğr. Üyesi Funda Yılmaz Eker (İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Bölümü)

Dr.Öğr.Üyesi Gökhan İNAT (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Halime UĞUR (Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Dr.Öğr.Üyesi Harun HURMA (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ekonomi Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Hatice Ahu ERDEM KAHRAMAN (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Hulusi AKÇAY (Aydn Adnan Menderes Üniversitesi, Zootekni Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi İnci ÇINAR (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Mahmut GENÇ (Beykoz Üniversitesi, Sanat ve Tasarım Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Mevhibe TERKURAN (Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadırlı Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Mukaddes KILIÇ BAYRAKTAR (Karabük Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Oya SİPAHİOĞLU (Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Pınar UZUN (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Rahmi UYAR (Aksaray Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sema KONYALI (Trakya Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sevgi DIBLAN (Tarsus Üniversitesi, Mersin Tarsus Organize Sanayi Bölgesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sibel BÖLEK (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sümeyra Sultan TİSKE İNAN (Karamanoğlu Mehmetbey

Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Tuğba ÖZDAL (İstanbul Okan Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Oya Irmak CEBECİ (Yalova Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr.Berrak DELİKANLI KIYAK (Bursa Uludağ Üniversitesi, İznik Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr.Cumhur BERBEROĞLU (Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr.Engin YILMAZ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr.Hacer AKPOLAT (Bayburt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr.Hüseyin Can ALPSOY (Bursa Uludağ Üniversitesi, Yenişehir İbrahim Orhan Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr.Kader ÇETİN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Mesut Ertan GÜNEŞ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Yalçın GÜÇER (Ankara Üniversitesi, Kalecik Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Dr.Ali TEKİN (Tarım ve Orman Bakanlığı, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Angel Martinez SANMARTIN (Food and Canning Industry, National Technological Centre, CTC, Spain)

Dr.Buket ÇETİNER (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Çiğdem MECİTOĞLU GÜÇBİLMEZ (Tarım ve Orman Bakanlığı, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Müdürlüğü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(Editorial Board)

Dr.Elif SAVAŞ (Balıkesir Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr. Ercan Sarıca (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü)

Dr. Ergün Ayanoglu (Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksekokulu, Bitkisel Ve Hayvansal Üretim)

Dr.Mehmet Cengiz ARSLANOĞLU (Tarım ve Orman Bakanlığı, Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Mustafa Zafer ÖZEL (Analytical Chemistry Lecturer, University of Hertfordshire, School of Life and Medical Sciences, Department of Clinical Pharmaceutical and Biological Sciences Division of Pharmaceutical Chemistry, UK)

Dr.Oğuz ACAR (T.C Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Türkiye)

Dr. Pınar Uzun (Süleyman Demirel Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü)

Dr.Ramazan KONAK (Tarım ve Orman Bakanlığı, İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Sebahattin KUTLU (Tarım ve Orman Bakanlığı, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr. Seda Kayahan (Tarım ve Orman Bakanlığı, Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr. Yavuz Yüksel (Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Özgün Araştırmalar / Original Articles

Sayfa No

- Enginar yan ürünleri ile zenginleştirilmiş bisküvilerin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi** 1-11
Physico-chemical and functional properties of cookies enriched with artichoke by-products
Zeynep Cansev, Merve Sabuncu, Günnur Gülkun, Mine Ateş, Asuman Cansev, Yasemin Şahan
- Geleneksel yöntemle gül sirkesi üretiminde asit toleranslı bazı laktik asit bakterilerinin kullanımı** 12-22
The use of some acid-tolerant lactic acid bacteria in the production of rose vinegar by the traditional method
Pelin Ertürkmen
- Gıda, yem ve tohumda multipleks GDO tarama testi geliştirilmesi ve validasyon çalışmaları** 23-32
Development and validation studies of multiplex GMO screening test in food, feed, and seed
Nihal Akman, Adnan Fatih Dağdelen
- Renkli Prebiyotik Eritme Peyniri Üretimi** 50-61
Colored Prebiotic Processed Cheese Production
Meral Kaygısız, Ferhat Polat, Orhan Eren, Nagihan Uğur, Hayriye Şebnem Harsa

Derleme Makaleler / Review Papers

- Materials and methods used in microencapsulation of probiotic microorganisms** 33-49
Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda kullanılan materyal ve yöntemler
Sinem Gümüşsoy, Fatih Tosun, Osman Kola
- Gıda kaynaklı parazitlerin önemi; epidemiyolojisi, bulaşma yolları, risk değerlendirmesi ve kontrol önlemleri** 62-73
Importance of foodborne parasites; epidemiology, transmission routes, risk assessment and control measures
Ayşe Gülin Eser

Özgün Araştırma/Original Article

Enginar yan ürünleri ile zenginleştirilmiş bisküvilerin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi

Physico-chemical and functional properties of cookies enriched with artichoke by-products

Zeynep Cansev¹, Merve Sabuncu², Günnur Gülkun², Mine Ateş², Asuman Cansev³,
Yasemin Şahan^{4*}

¹ Bursa TED Koleji, BURSA/TÜRKİYE

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, BURSA/TÜRKİYE

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, BURSA/TÜRKİYE

⁴ Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, BURSA/TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0002-2360-7724, Lise Öğrencisi

ORCID ID: 0000-0001-8771-0643, Doktora Öğrencisi

ORCID ID: 0000-0002-0227-7295, Doktora Öğrencisi

ORCID ID: 0000-0003-1538-0774, Doktora Öğrencisi

ORCID ID: 0000-0002-3353-846X, Doç. Dr.

ORCID ID: 0000-0003-3457-251X, Prof. Dr.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: yasemins@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi : 13.01.2023

Kabul Tarihi : 19.04.2023

Öz

Amaç: Akdeniz Havzası'na özgü bir bitki türü olan enginar (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) Akdeniz diyetinin önemli bir bileşeni olup, zengin inülin, diyet lif, biyoaktif bileşik ve mineral madde içeriğine sahiptir. Bitkinin tüketilen kısmı etli çiçek tablası olup (toplam biyokütlenin yalnızca %15-20'si kadarı) enginar yan ürünleri olarak isimlendirilen geri kalan %80-85'lik bölümü (yapraklar, çiçek sapı ve brakte yapraklar) evsel, endüstriyel ve tarımsal atık olarak ortaya çıkmaktadır. Sağlık açısından yararları kanıtlanmış enginar bitkisinin büyük bölümünü oluşturan bu değerli atığın, potansiyel bir kaynak olarak yeniden gıda sanayisinde değerlendirme olanağının araştırılması önem arz etmektedir. Çalışmada enginar yan ürünlerinin fonksiyonel bileşen olarak bisküvi üretimine dâhil edilmesi ve elde edilen ürünlerin fizikokimyasal, duyuusal ve fonksiyonel özelliklerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Materyal ve yöntem: Bu kapsamda, enginar yan ürünleri (çiçek sapı ve brakte yapraklar) liyofilize edilerek enginar unu (EU) haline getirilmiştir. Elde edilen EU sırasıyla; %0, 1, 5, 10 ve 20 ikame oranlarında buğday unu ile yer değiştirilerek bisküvi üretiminde kullanılmıştır. Bisküvilerin toplam fenolik madde miktarı (TFM) Folin-Ciocalteu yöntemine göre, antioksidan kapasiteleri ise CUPRAC ve FRAP yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Tartışma ve sonuç: Enginar unu katkılı bisküvilerin fiziksel özelliklerinde (en, çap, yayılım oranı) herhangi bir değişim gözlenmezken, katkı oranının artışına bağlı olarak renk koyulaşmıştır. Bisküvilerin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite içeriklerinde ise katkı oranına göre doğrusal artışlar tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre EU ile zenginleştirilen tüm bisküvilerin kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, daha sağlıklı gıdaları talep eden tüketicilerin ihtiyaçları doğrultusunda, atık olarak nitelendirilen enginar yan ürünlerinin, fonksiyonel bisküvi üretiminde etkin bir şekilde kullanılabilmesi belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Enginar (*Cynara scolymus* L.) unu; bisküvi; antioksidan kapasite; fonksiyonel özellikler

Abstract

Objective: Artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.), a plant species native to the Mediterranean Basin, is an important component of the Mediterranean diet and has rich inulin, dietary fibre, bioactive compounds, and mineral content. The consumed part of the plant is the fleshy flower receptacle (only 15-20% of the total biomass) and the remaining 80-85%, which is called artichoke by-products (leaves, flower stalk and bracted leaves) emerges as domestic, industrial, and agricultural waste. This waste constitutes the

majority of the artichoke plant and it has proven health benefits. Therefore, it is important to investigate the possibility of reusing it as a potential resource in the food industry. In the study, it was aimed to use artichoke by-products as a functional component in cookie production and to compare the physicochemical, sensory and functional properties of the products obtained.

Materials and methods: Artichoke flour (EU) was produced using lyophilized of artichoke by-products (flower stem and barracked leaves). EUs were used to replace wheat flour in the cookie formulation at the levels of 0, 1, 5, 10 and 20% (w/w). Total phenolic content (TFM) was analysed using Folin–Ciocalteu assay, and antioxidant capacities were assessed by CUPRAC and FRAP methods.

Results and conclusion: While no change was observed in the physical properties (width, diameter, spread rate) of the artichoke flour added cookies, the colour became darker depending on the increase in the additive ratio. Linear increases were determined in the total phenolic contents and antioxidant capacity contents of the cookies according to the additive ratio. According to the sensory analysis results, it was determined that all cookies enriched with EU were acceptable. As a result, it has been shown that artichoke by-products, which are classified as waste, can be used effectively in the production of functional cookies, in line with the needs of consumers who increasingly demand healthier food.

Keywords: Artichoke (*Cynara scolymus* L.) flour; cookie; antioxidant capacity; functional properties

1. Giriş

Enginar (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.), Asteraceae familyasına ait çok yıllık otsu bir bitki türüdür. Enginar bitkisinin tüketilen kısmını çiçeğin kapitulum (başçık) bölgesindeki etli çiçek tablası oluşturmaktadır. Bu bitki eski Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından hem gıda olarak hem de çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi amaçlı olarak kullanılmıştır. Sağlık açısından enginarın hipokolesterolemik (Silva de Costa vd., 2009; Ceccarelli vd., 2010; Pandino vd., 2012; Pereira vd., 2013; Fratianni vd., 2014), antiinflamatuvar (Lattanzio vd., 2009; Garbetta vd., 2014), antikanserojenik (Mabeau vd., 2007; Shukla vd., 2010; Soto vd., 2014; Zuorro vd., 2014) ve antidispeptik (Marakis vd., 2002) gibi etkileri kanıtlanan pek çok çalışma bulunmaktadır. Günümüzde de iyi duyuşal özellikleri ve sağlık yönünden olumlu faydaları nedeniyle özellikle de Akdeniz bölgesi ülkelerinin günlük diyetinde enginarın önemli bir yeri bulunmaktadır (Sharara ve Ghoneim, 2011). Dünya genelinde 2020 yılında enginar üretimi 1.516.955 ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkeler bazında değerlendirildiğinde ilk beş sırayı üretim miktarı bakımından sırasıyla, İtalya (367.080 ton), Mısır (308.844 ton), İspanya (196.970 ton) ve Cezayir (126.762 ton) paylaşmaktadır. Ülkemiz ise enginar üretiminde 39.280 ton ile dünyada 10. sırada yer almaktadır (FAO, 2022).

Enginar, polifenol içeriği ve biyoaktif bileşikler nedeniyle yüksek antioksidan kapasiteye sahip sebzelerden biri olarak kabul edilmekte ve aynı zamanda çözünür bir lif olan inülin gibi önemli bir fruktooligosakkarit içermektedir (Noriega-Rodríguez vd., 2020). Bu bileşikler, insan sağlığı açısından oldukça önemli faydalar sağlamaktadır. Birçok çalışmada enginarlarda bulunan polifenolik bileşiklerin hem antioksidan kapasiteleri hem de sağlık koruyucu potansiyeli gösterilmiştir (Lattanzio vd., 2009; Ceccarelli vd., 2010; Pandino vd., 2012; Pereira vd., 2013; Garbetta vd., 2014).

Çiçek sapı ile birlikte hasat edilen başın sadece çiçek tablası taze tüketim ve konserve sanayi için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, kalan kısımlar (çiçek sapı ve brakteler) toprak üstü biyokütlenin %80-85'ini oluşturmaktadır ve bu büyük miktar ıskartaya çıkartılarak kullanılmadan atılmaktadır (Pandino vd., 2012; Noriega-Rodríguez vd., 2020). Bir çalışmada, enginar atıklarından (brakte ve çiçek sapı) polifenolik antioksidanların hafif ekstraksiyon işlemleriyle elde edilmesi amaçlanmış ve 40°C, %75 etanol ve 10 dakikalık reaksiyonda elde edilen sonuçların en iyi olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda çalışmada enginar

atık özütünün Caco-2 (İnsan Kolorektal kanser hücre hattı) ve MCF-7 (İnsan meme kanseri hücre hattı) hücreleri üzerinde iyi bir anti-proliferatif potansiyel etki sunduğu gösterilmiştir (Soto-Maldonado vd., 2020). Başka bir çalışmada, *C. cardunculus* var. *scolymus* ve *C. cardunculus* var. *ferocissima* (*Madeira cardoon*) türlerinin metanolik ekstrakt ve toz formlarının fenolik bileşimini karşılaştırmak ve sinarin, luteolin, apigenin ve quercetin içeriği yönüyle değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışma sonuçları, enginar içeren ürünlerin yüksek bir radikal süpürücü etki gösterdiğini, *Madeira cardoon*'dan elde edilen ekstraktın ise bu yönlerden zayıf kaldığını kanıtlamıştır (Gouveia ve Castilho, 2012). Atık ekstraktlarının gıda takviyesi olarak kullanılmasının yanı sıra bu atıkların ekmek yapımına ilave edilmesinin olumlu etkilerini gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Frutos vd. (2008) tarafından enginar brakte ve sap küspesinin % 3, 6, 9 ve 12 oranlarında buğday ekmeğine ilavesiyle elde edilen ekmeklerde renk, özgül hacim, nem, doku ve duyuşal özellikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, %9'un üzerindeki enginar lifinin eklenmesi ekmek dokusunu önemli ölçüde değiştirmiştir. Enginar içeren ekmekler daha yüksek lif içeriğine sahip olmuş ve duyuşal panel tarafından kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Başka bir çalışmada ise enginar sapı tozu, sırasıyla %0, %2,5, %5, %7,5 ve %10 oranlarında ekmek yapımında kullanılmıştır. Enginar sapı ilavesi ile ekmeklerde tekstür ve görünümde değişimler, daha koyu renkli iç ve daha yoğun koku gözlemlenmiş aynı zamanda ekmeklerin toplam fenol içeriği önemli ölçüde artmıştır. Duyusal testte, en kabul edilebilir oranlar olarak %7,5 ve %10 oranları belirlenmiştir (Boubaker vd., 2016).

Tüketicilerin sağlıklı beslenmeye olan ilgisinin artması ile gıdaların fonksiyonelleştirilmesi, daha sağlıklı hale getirilmesi uygulamaları gün geçtikçe artmaktadır. Fonksiyonel gıdalar üretilirken; zenginleştirme, yerine koyma ve güçlendirme olmak üzere 3 farklı şekilde gıdalardaki besin öğeleri artırılmaktadır (Özer ve Güner, 2008). Zenginleştirme kavramı, gıdada doğal olarak bulunan veya bulunmayan bir besin maddesinin uygulanan prosesler sonucunda kaybedilen kısmının veya daha fazlasının yerine koyulması olarak tanımlanabilir (Aslan ve Köksel, 2003). Bu amaçla zenginleştirilecek gıdaların tüketici tarafından sıklıkla tüketilen gıdalar olmasına dikkat edilmektedir. Bu gıdaların başında ekmek, erişte, tarhana, bisküvi, kek, kurabiye, kraker vb. unlu mamuller gelmektedir (Rupasinghe vd., 2008;

Adegunwa vd., 2012; Gül vd., 2013; Göçmen vd., 2019; İnce ve Çağındı, 2020; Dülger Altınar vd., 2021; İter Erilmez, 2021).

Bisküviler, dünya çapında en yaygın tüketilen atıştırmalıklardan biridir ve yüksek doymuş yağ girdisi, rafine edilmiş polisakkaritler nedeniyle özellikle çocuklarda obezite oranındaki artışla sıkı bir şekilde bağlantılıdır. Bu ürünlerdeki kompleks karbonhidrat içeriğine ana katkı, buğday unudur. Buğday ununun daha yüksek besin kalitesine sahip unlarla kısmi ikamesi, özellikle küçük çocuklarda bu atıştırmalıkların aşırı kilo ve obezite problemlerindeki etkisini azaltabilir (Díaz vd., 2019). Bu anlamda, besleyici değeri artırılmış ve yeterli renk, doku ve kabul edilebilirlik özelliklerine sahip bisküvilerin elde edilmesini sağlayan geleneksel olmayan unlar kullanılarak, buğday ununun kısmi ikamesi üzerine yapılacak çalışmalar büyük önem arz etmektedir. Literatürde atık yan ürünlerin alternatif kullanım olanaklarının araştırıldığı yumurta kabuğu tozu katkılı kurabiye (Zerek, 2021); badem iç kabuğu tozu ilaveli bisküvi (Sardoğan, 2016); vişne, nar ve kayısı çekirdeği tozu ilaveli kek (Tuna, 2015); üzüm çekirdeği unu ilaveli kurabiye (Acun ve Gül, 2014) gibi birçok unlu mamullerle yapılan çalışma yer almaktadır. Bu çalışmalardan çıkartılan ortak sonuçlara göre; gıda endüstrisi tarafından atık olarak nitelendirilen birçok hammaddenin uygun formlara (un veya ekstrakt) dönüştürülerek unlu mamullerin zenginleştirilmesi amacıyla kullanılabilirliği yönündedir.

Enginar atıklarının gıda sanayisinde değerlendirilmesi ile ilgili kısıtlı sayıda araştırma var iken bu değerli atığın bisküvi üretiminde kullanımına yönelik bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Buradan yola çıkılarak, bu çalışmanın amacı, oldukça zengin bir içeriğe sahip enginar bitkisinin atık kısımlarından un elde edilmesi ve bu hammaddenin buğday ununun kısmi ikamesi ile besinsel olarak geliştirilmiş ve duyuşsal olarak kabul edilebilir bisküvi formüle etmektir. Böylece herkes tarafından sevilerek tüketilen bir gıda maddesi olan bisküvinin besleyici değerinin yükseltilmesi ve sektöre fonksiyonel özelliklere sahip yeni alternatif bir ürün kazandırılması hedeflenmiştir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılacak atık enginarlar (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L. cv. Bayrampaşa) üreticiden temin edilmiştir. Örneklerin brakte ve sap kısımlarından hasarlı ve hastalıklı olanlar ayıklanmış, sağlam ve kullanılabilir özellikte

olanlar 2 kere distile su ile yıkanarak, 3 gün süre ile liyofilize (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Almanya) edilmiştir. Liyofilize edilen örnekler sap ve brakte yapraklar olarak değirmen tipi öğütücü (Arzum, Türkiye) kullanılarak ayrı ayrı un haline getirilmiş, 212 µm gözenek çaplı elekten geçirilerek ve eşit oranda karıştırılarak analizlerde ve bisküvi üretiminde kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Bisküvi üretimi

Bisküvi üretiminde AACCI Metot No: 10.54.01 uygulanmıştır (Anonim, 1999). Enginar unu katkılı bisküvilerde buğday unu sırasıyla kendi ağırlığının; %1, %5, %10 ve %20 ikame oranlarında enginar unları ile yer değiştirerek kullanılmıştır. Enginar unu ilave edilmeksizin kontrol örnekleri de üretilmiştir. Kullanılan bisküvi formülasyonu Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Bisküvi formülasyonu

Bileşenler ¹	Oran (%)
Un ²	100, 99, 95, 90, 80
Enginar unu	0, 1, 5, 10, 20
Sakkaroz	32
Esmer şeker	10
Yağsız süt tozu	1,0
Tuz	1,25
Sodyum bikarbonat	1,0
Shortening	40
Yüksek fruktozlu mısır şurubu	1,5
Amonyum bikarbonat	0,5
Deiyonize su	Farinograf analizi ile

¹Bileşenler 21 ± 1 °C; ²%14 rutubet esasına göre

Un ve amonyum bikarbonat dışındaki diğer kuru bileşenler bir kaptaki iyice karıştırılmış ve hazırlanan bu kuru karışım ile yağ, mikserin haznesine aktarılıp her 1 dakikada bir sıyırma işlemi yapılarak toplam 3 dakika karıştırılmak suretiyle krema elde edilmiştir. Ayrı bir kaptaki su, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve amonyum bikarbonat ile hazırlanan sıvı karışım kremaya eklenerek ve her 15 saniyede bir sıyırma işlemi yapılarak toplam 1 dakika karıştırılmıştır. Bu karışıma, un ilave edilip her 10 saniyede bir sıyırma işlemi yapılarak toplam 30 saniye karıştırma sonucunda bisküvi hamuru elde edilmiştir. Hamur mikserin haznesinden alınarak eşit parçalara bölünerek ve her birine oblong şekil verilerek tepsiye yerleştirilmiştir. Oklava ile üzerinden 1 kez ileri ve 1 kez geri geçilerek hamur açıldıktan (6 mm yükseklik) sonra kalıpla (60 mm çap) şekil verilmiştir.

170±2°C'deki fırında (İnoksan FKE 006, TR) 11 dakika pişirilmiştir.

2.2.2. Fiziko-kimyasal analizler

Un ve bisküvi örneklerinin nem ve titre edilebilir asitlik (TEA-sitrik asit cinsinden) değerleri sırasıyla, Anonim (1990) (AOAC Metot No:925.40) ve Anonim (2007)'e göre belirlenmiştir. pH ölçümleri dijital pH metre (Hanna 210, Germany) yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Un ve bisküvi örneklerinin renkleri Minolta CM 3600d model renk ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir. CIE Renk Değerleri (L*, a*, b*)'nden oluşan üçlü skalada L*=100 beyaz, L*=0 siyah; yüksek pozitif a* kırmızı, yüksek negatif a* yeşil; yüksek pozitif b* sarı ve yüksek negatif b* mavi olarak değerlendirilmiştir.

Üretilen bisküvilerde fiziksel özelliklerden çap ve kalınlık, AACCI Metot No.10.54 (Anonim, 1999)'a göre, kumpas kullanılarak belirlenmiştir. Bisküvilerin yayılma oranı, her bisküvi için çapın kalınlığa oranı hesaplanarak tespit edilmiştir (Anonim, 1995).

2.2.3. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

Un ve bisküvi örnekleri toplam fenol miktarı ve antioksidan analizlerinde kullanılmak üzere Vitali vd. (2009) tarafından uygulanan prosedür modifiye edilerek ekstraksiyonlar hazırlanmıştır. Bu amaçla, 2,0 g örnek tartılarak üzerine 20 mL %37'lik HCl/metanol/su (1:80:10 v/v) çözeltisi eklenmiştir. Tüpler döner çalkalayıcı (JB50-D, Shanghai, Çin) ile 250 rpm 20°C'de 2 saat boyunca çalkalama işlemine bırakılmıştır. Daha sonra 4°C'de 10 dakika 3500 rpm'de santrifüj (Sigma 3K 30, Almanya) edilmiştir. İşlem sonucunda tüpteki berrak üst faz (supernatant) farklı bir tüpe ayrılıp -16°C'de analiz edilinceye kadar muhafaza edilmiştir.

2.2.4. Toplam fenolik madde (TFM) miktarının belirlenmesi

Un ve bisküvi örneklerinin içerdiği TFM miktarının belirlenmesi amacıyla Folin-Ciocalteu kolorimetrik metodu, Nacz ve Shahidi (2004)'nin belirttiği yönteme göre tespit edilmiştir. 750 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Optizen marka 3220 UV-Mecasys) okuma yapılmıştır. Sonuçlar 100 g taze ağırlık (TA) başına mg gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekrarlı gerçekleştirilmiş ve ± Standart Sapma Değerleri (SD) verilmiştir.

2.2.5. Antioksidan kapasite

Un ve bisküvi örneklerinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla CUPRAC (Kuprik indirgeyici antioksidan kapasite) Apak vd. (2004) ve FRAP (Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü) Sun vd. (2017)'ne göre uygulanmıştır.

CUPRAC: 1,0×10⁻² M Bakır(II)klorür çözeltisi, 7,5×10⁻³ M neokuproin çözeltisi, 1 M amonyum asetat tampon çözeltilerinin her birinden 1'er mL ile x mL örnek ekstraktı ve (4-x) mL damıtık su, bir deney tüpüne konulmuştur. Karanlık ortamda 30 dakika bekletildikten sonra, spektrofotometrede 450 nm'de kör örneğe karşı absorbans değerleri okunmuştur.

FRAP: 250 mL TPTZ, 250 ml FeCl₃ ve 62,5 ml asetat buffer çözeltileri karıştırıldıktan sonra 37°C'de su banyosunda ısıtılarak FRAP solüsyonu hazırlanmıştır. x mL örnek, (4-x) mL saf su ve 3 mL hazırlanan FRAP çözeltisi deney tüpünde karıştırılarak 37°C'de 15 dk su banyosunda bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Optizen marka 3220 UV-Mecasys) 595 nm'de kör örneğe karşı absorbans değerleri okunmuştur.

Her iki antioksidan kapasite analizleri 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar hesaplanırken hazırlanan kalibrasyon denklemi kullanılarak g taze ağırlık başına (TA) µmol troloks eşdeğeri (TE) olarak hesaplanmıştır.

2.2.6. Duyusal analiz

Duyusal değerlendirmeler duyusal kalite kriterleri içeren form üzerinden 1-9 hedonik skalasına (en çok beğenilen bisküviye 9 puan, en az beğenilene ise 1 puan) göre yapılmıştır. Duyusal analiz, 15-50 yaşları arasındaki 30 kişi tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistler birbirinden etkilenmeyecek şekilde, aydınlık ve dış etkenlere kapalı bir ortamda puanlama yapmıştır. Bisküviler renk, lezzet/tat, görünüş, gevreklik, ağızda dağılma, koku ve genel kabul edilebilirlik olmak üzere 6 özellikten değerlendirmeye tabi tutulmuştur.

2.2.7. İstatistiksel analiz

İstatistik analiz SPSS (23.0) kullanılarak yapılmıştır. Örnekler arası farklılıklar $p \leq 0,05$ önemlilik düzeyinde test edilmiş ve ortalama değerler arasındaki farklılıklar TUKEY çok yönlü alan testiyle belirlenmiştir.

3. Bulgular ve tartışma

3.1. Fiziko-kimyasal özellikler

Enginar unu ve EU ile zenginleştirilmiş bisküvilerin kimyasal özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Bisküvilerdeki en yüksek nem içeriği

EU-%20 bisküvi örneklerinde (%7,25) tespit edilirken, kontrol grubu bisküvilerde nem içeriğinin en düşük (%5,78) olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Atık enginar ununun nem içeriğinin yüksek olması (%11,90) nedeniyle, katılma oranıyla doğru orantılı bir şekilde bisküvilerin nem içeriğini arttırdığı saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Enginarın lif içeriği bakımından zengin bir tür (Borsini vd., 2021) olduğu ve bitkisel liflerin de yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu göz önüne alındığında EU ve EU ile zenginleştirilmiş bisküvilerin yüksek nem içeriğine sahip olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızla benzer şekilde Göçmen vd. (2019),

kahve çekirdeği zarının bisküvi ununa belirli oranlarda karıştırılmasının, kontrol grubuna (%6,41) göre bisküvilerin nem içeriğini yükselttiğini, en yüksek nem içeriğine %7,5 kahve çekirdeği zarı ilave edilen (%7,89) bisküvilerin sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Škrbić ve Cvejanov (2011), endüstriyel olarak üretilen bisküvilerin %2,0-7,5 nem içerdiğini, Smith (1972) ise bisküvi nem içeriğinin %14'ü geçmemesi gerektiğini belirtmişlerdir. Buna göre, EU ilaveli bisküvi unlarının nem içeriğini bir miktar arttırmakla birlikte, tüm örneklerin nem değerleri belirtilen sınırın altında kalmıştır.

Çizelge 2. Enginar unu ve EU ile zenginleştirilmiş bisküvilerin bazı fiziko-kimyasal özellikleri

Örnek	Nem (%)	TEA (%)	pH
EU	11,90±0,80	0,12±0,00	5,04±0,01
Kontrol (EU-%0)	5,78±0,35 ^d	0,06±0,00 ^b	7,97±0,05 ^a
EU-%1	5,97±0,63 ^{cd}	0,06±0,00 ^b	8,01±0,04 ^a
EU-%5	6,03±0,46 ^c	0,06±0,00 ^b	7,79±0,01 ^b
EU-%10	7,06±0,79 ^{ab}	0,08±0,00 ^b	7,74±0,02 ^b
EU-%20	7,25±0,68 ^a	0,12±0,00 ^a	7,42±0,01 ^c

Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p \leq 0,05$). TEA: Titre Edilebilir Asitlik; EU: Enginar unu

Enginar ununda TEA %0,12 olarak belirlenmiştir. Bisküvi örneklerinde ise kontrol grubu ile EU-%1 ve EU-%5 örneklerinde %0,06 TEA belirlenirken, EU artışına paralel olarak en yüksek TEA değeri %0,12 ile EU-%20'de ölçülmüştür.

Çalışmada, pH değerleri karşılaştırıldığında en düşük pH değerinin 5,04 ile EU'da, en yüksek pH değerinin ise, kontrol (7,97) ile EU-%1 (8,01)'de olduğu saptanmıştır. Bu durumun, enginarın organik asit içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Beş farklı enginar çeşidi üzerine yapılan bir çalışmada, enginarlarda apidik asidin en yüksek oranda olduğu, bunu malik, sitrik ve kinik

asidin takip ettiği belirlenmiştir (Turkiewicz vd., 2019).

Bisküvi kalitesinin fiziksel göstergelerinden olan ve pişirme sırasında meydana gelen boyutsal değişimlerin derecesini değerlendirmek amacıyla bisküvilerin çapı, kalınlığı ve yayılma oranları ölçülerek Çizelge 3'te verilmiştir. Lif içerikli ve glutensiz özelliğe sahip bir hammadde bisküvi hamuruna eklendiğinde, pişirme sonrası bisküvilerde boyutsal farklılıklar oluşabilmektedir (Klunklin ve Savage, 2018). Ancak sonuçlara göre, EU ilavesinin bisküvilerin çapları, kalınlıkları ve yayılma oranları üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($p \geq 0,05$).

Çizelge 3. Bisküvilerin fiziksel özellikleri

Örnek	Çap (cm)	Kalınlık (cm)	Yayılma Oranı (Ç/K)
Kontrol (EU-%0)	59,62±0,94	10,57±0,56	5,64±0,23
EU-%1	60,01±0,46	10,67±0,42	5,63±0,19
EU-%5	59,20±0,59	10,96±0,47	5,41±0,28
EU-%10	59,12±0,66	10,73±0,42	5,52±0,24
EU-%20	58,90±0,69	10,35±0,35	5,70±0,17

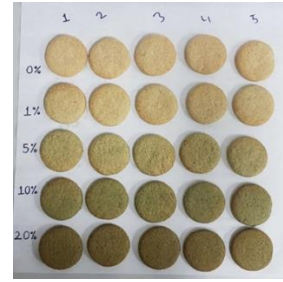
EU: Enginar unu

Renk, gıdaların ve tarım ürünlerinin temel fiziksel özelliklerinden birisi olarak kabul edilmekte ve tüketici kabulü üzerindeki büyük etkisi nedeniyle incelenen temel parametreler arasında yer

almaktadır. Elde edilen sonuçlara göre, bisküvilerin renkleri EU ilavesi ile belirgin şekilde değişmiş olup ($p \leq 0,05$) Şekil 1 ve Çizelge 4'te görülmektedir. Bisküvilerin her iki yüzeyinde de

L* değerleri, EU ilavesi arttıkça önemli ölçüde azalmıştır ($p \leq 0,05$). Aynı zamanda EU ilave oranının artışı ile birlikte a* değerlerinde de istatistiki olarak anlamlı azalışlar mevcuttur ($p \leq 0,05$). Bisküvi üst yüzeyinde a* değeri kontrol grubunda 1,84'ten EU-%20 grubunda -2,98'e; alt yüzeyde ise, kontrol grubunda 6,70'ten EU-%20 grubunda 0,10'a düşmüştür. Bununla birlikte, b* değerleri, üst yüzeyde kontrol bisküvilerinde 20,08 olarak, %1, %5, %10, %20 EU ilaveli örneklerde ise sırasıyla 20,73; 17,70; 16,05 ve 16,27 olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, bisküvilerde EU ilave oranı arttıkça, L*, a* ve b* değerleri istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır ($p \leq 0,05$). EU ilaveli bisküvilerin kontrolden daha koyu renkli olmasının nedeni enginar bitkisine yeşil rengi veren klorofil pigmentinden kaynaklanmaktadır. EU'nun renk değerleri: L: 65,34, a*: -5,50, b*:

16,10 olarak ölçülmüş olup, bu rakamlar renk skalasında yeşil rengin tonlarını temsil etmektedir.



Şekil 1. Bisküvilerin görünümü

Bu bulgulara benzer şekilde, Pasqualone vd. (2020), bisküvi formülasyonlarında badem zarı ilavesi kullanılan bisküvilerde, kullanılan hammaddenin rengine bağlı olarak parlaklığın daha az olduğunu ve rengin daha koyulaştığını rapor etmişlerdir.

Çizelge 4. Enginar unu ve EU ile zenginleştirilmiş bisküvilerin renk değerleri

Örnek	Renk					
	Bisküvi üst yüzeyi			Bisküvi alt yüzeyi		
	L	a*	b*	L	a*	b*
EU	65.34±0.08	-5.50±0.03	16.10±0.01	65.34±0.08	-5.50±0.03	16.10±0.01
Kontrol (EU-%0)	63.55±1.06 ^a	1.84±0.41 ^a	20.08±0.56 ^a	51.60±3.30 ^a	6.70±6.50 ^a	19.60±0.90 ^a
EU-%1	61.47±0.39 ^b	0.47±0.15 ^b	20.73±1.92 ^a	52.11±1.23 ^a	2.90±1.13 ^b	19.24±0.98 ^a
EU-%5	54.31±1.17 ^c	-0.86±0.24 ^c	17.70±0.32 ^b	46.74±1.12 ^b	0.41±0.44 ^c	17.34±0.97 ^b
EU-%10	47.35±0.87 ^d	-2.22±0.23 ^d	16.05±0.68 ^b	38.46±0.58 ^c	-1.79±0.37 ^d	13.67±0.49 ^c
EU-%20	42.53±0.46 ^e	-2.98±0.17 ^e	16.27±0.12 ^b	37.05±1.92 ^c	0.10±0.61 ^c	14.41±1.23 ^c

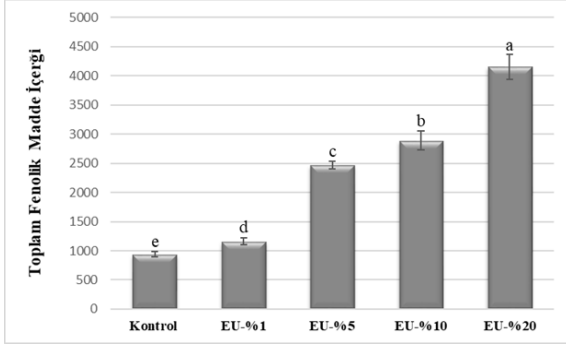
Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p \leq 0,05$). EU: Enginar unu

3.2. Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite

Bisküvilerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan kapasiteleri artan EU miktarına bağlı olarak istatistiksel olarak önemli ($p \leq 0,05$) bir artış göstermiştir (Şekil 2, Şekil 3 ve Şekil 4). Toplam fenolik madde miktarı kontrol grubu bisküvilerde 939,58 mg GAE/100g TA iken; bu değer EU-%1, EU-%5, EU-%10 ve EU-%20 örneklerinde sırasıyla, 1.161,29; 2.473,87; 2.887,87 ve 4.152,14 mg GAE/100g TA olmuştur. Benzer olarak, antioksidan kapasite değerleri de kontrol grubu, EU-%1, EU-%5, EU-%10 ve EU-%20 gruplarında CUPRAC için sırasıyla, 12,16; 13,92; 18,22; 23,13 ve 32,29 $\mu\text{mol TE/g TA}$; FRAP için ise sırasıyla 5,76; 7,47; 13,28; 25,27 ve 36,49 $\mu\text{mol TE/g TA}$ olarak belirlenmiştir. Başka bir deyişle, kontrol grubuna göre %20 oranında EU ile zenginleştirilmiş bisküvilerin toplam fenolik madde miktarları, %341,92 oranında, antioksidan kapasiteleri ise %165,45 (CUPRAC) ve %533,65 (FRAP) oranlarında artmıştır. Bu sonuçlar, bisküvi

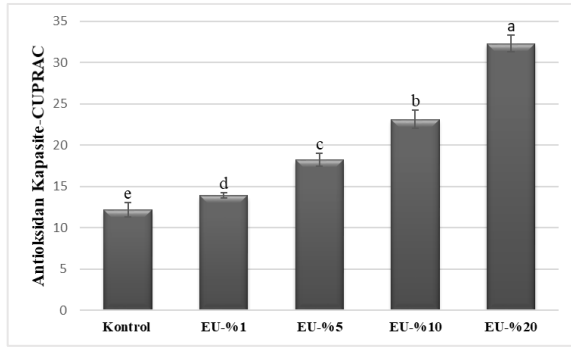
formülasyonuna EU eklenmesinin bisküvilerin fonksiyonel özelliklerinin artırılmasına oldukça yüksek oranlarda somut katkı verdiğini aynı zamanda atık olarak görülen değerli bir hammaddenin gıda sanayisinde yeni bir kullanım alanı olabileceğini göstermektedir. Magda vd. (2008), atık portakal ve mandalina kabuğunu toz haline getirerek bisküvi üretiminde kullanmıştır. Portakal ve mandalina tozu katkılı bisküvilerde, katkı oranı arttıkça diyet lif ve kül miktarı artarken protein ve karbonhidrat miktarında azalma olduğu, ayrıca her iki meyve unu katılan bisküvi örneklerinin toplam fenolik madde miktarları ile antioksidan kapasitelerinin kontrol örneğinden yüksek çıktığı bildirilmiştir. Bölek (2020), bisküvi üretiminde nar kabuğu tozu kullanımının bisküvilerin toplam fenolik madde miktarında (kontrol grubunda 88,66 mg GAE/100g ve %12 nar kabuğu tozu katkılı bisküvi grubunda 155,07 mg GAE/100g), ve DPPH yöntemine göre antioksidan kapasite miktarında (kontrol grubunda %26,2 ve %12 nar kabuğu tozu katkılı bisküvi grubunda ise %50,15) artışa sebep olduğunu bildirmiştir.

Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar, unlara katılan ürünler ile yapılmış çalışmalara benzer bir şekilde, enginar unu katkısının fenolik madde içeriği ile antioksidan kapasite miktarında artışa neden olduğunu göstermiştir.



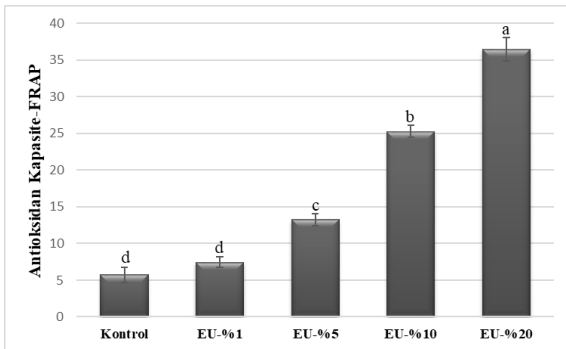
Şekil 2. Bisküvilerin toplam fenolik madde içerikleri (mg GAE/100g TA).

¹Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p \leq 0.05$). EU: Enginar unu; EU-%0: Kontrol grubu



Şekil 3. CUPRAC yöntemine göre bisküvilerin toplam antioksidan kapasiteleri (µmol TE/g TA).

¹Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p \leq 0.05$). EU: Enginar unu; EU-%0: Kontrol grubu



Şekil 4. FRAP yöntemine göre bisküvilerin toplam antioksidan kapasiteleri (µmol TE/g TA).

¹Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p \leq 0.05$). EU: Enginar unu; EU-%0: Kontrol grubu

3.3. Duyusal analiz

Bisküviler, duyu özellikleri bakımından değerlendirildiğinde (Şekil 5) formülasyonlar arasında önemli bir fark gözlenmezken, en yüksek genel kabul edilebilirlik puanı %5-EU katkılı (7,36) bisküvi örneklerinde belirlenmiştir. Bu bisküvilerin, kontrol grubu bisküvilere (7,18) oranla daha yüksek puan alması EU ilavesinin kabul edilebilir olduğunu göstermektedir. Ancak, duyu analiz sonucuna göre bisküvilerdeki EU ilave oranı arttıkça genel kabul edilebilirlik puanının azaldığı ve %20 EU katkılı bisküvi örneklerinin en düşük beğeni puanı (6,00) aldığı görülmüştür. Ayrıca EU ilavesi ile bisküvilerin gevrekliğinin kontrol örneğine göre azaldığı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Bu durum çalışmada kullanılan enginarın yüksek lif içeriğine sahip olmasıyla ilişkilendirilebilir. Benzer olarak, lif içeriği yüksek nar kabuğu (İsmail vd., 2014) ve olgunlaşmamış muz (Norhidayah vd., 2014) ilavesi ile yapılan bisküvilerde de gevrekliğin kontrol örneklerine göre daha az olduğu belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmede, yeni ürünün beşten fazla puan alması ürünün kabul edilebilirliği için yeterlidir (Knuckles vd., 1997). Bu bakımdan, tüketicilerin renk, koku, lezzet/tat, görünüş, ağızda dağılma, gevreklik açısından değerlendirmeleri, EU ilavesi ile üretilen bisküvilerin tamamının kabul edilebilir olduğunu göstermiştir.

4. Sonuç

Son yıllarda tüketicilerin, gıdaların sağlık üzerindeki potansiyel faydalarına karşı artan duyarlılığı, fonksiyonel ürünlere yönelik güçlü bir talebi doğurmaktadır. Enginar konserve sanayisi, tüm bitkinin sadece çiçek tablası kısmını kullanmakta ve geriye kalan brakte, gövde ve yapraklar (bitkinin toplam biyokütlesinin yaklaşık %80-85'i) büyük miktarda tarımsal atık oluşturmaktadır. Bununla birlikte, insan tüketiminde kullanılmayan bu kısımlar yüksek lif ve antioksidan içerikleri nedeniyle gıda katkı maddeleri ve nutrasötiklerin üretimi için değerli bir hammadde kaynağı oluşturmaktadır. Enginarın kullanılmayan brakte ve gövde kısımlarından elde edilen enginar unu, bisküvi üretiminde başarı ile kullanılmış ve bisküvilerin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite içerikleri katkı oranına göre doğrusal olarak artmıştır. Ayrıca, EU ile zenginleştirilen tüm bisküvilerin tamamının duyu olarak kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışma, hem tarımsal atık miktarının azaltılmasına ihtiyaç duyan sanayicinin hem de giderek daha sağlıklı gıda talep eden tüketicilerin ihtiyaçlarını karşılayan, kullanılmadan atılan enginar parçalarının

fonksiyonel bisküvi üretiminde etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, enginar atıkları kullanılarak üretilen unları bisküvi üretiminde kullanmak, düşük değerli bir yan ürünün değerli bir kaynağa dönüştürmenin uygun bir

yoludur ve enginar işleme endüstrisine atık bertarafı için verimli ve çevre dostu bir çözüm sunmaktadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde sağlık odaklı bir gıda ürünü hazırlarken, dönüşümün pratik bir örneği de çalışmada gösterilmiştir.



Şekil 5. Bisküvilerin duyu analiz sonuçlarının değişimi

5. Kaynaklar

Acun, S. and Gül, H. (2014). Effects of grape pomace and grape seed flours on cookie quality. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(1), 81-88.

Adegunwa, M.O., Bakare, H.A. and Akinola, O.F. (2012). Enrichment of noodles with soy flour and carrot powder. *Nigerian Food Journal*, 30(1), 74-81.

Dülger Altın, D., Sabuncu, M. and Sahan, Y. (2021). Chemical and nutritional characteristics of crackers substituted with Cucurbita pepo L. seed flour. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 423-433.

Anonim, (1990). Official Methods of Analysis of AOAC Intl. Method 925.40, 950.49. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC, USA.

Anonim, (1995). American Association of Cereal Chemists. AACC Approved methods (9th ed.). St. Paul, MN.

Anonim, (1999). Approved Methods of American Association of Cereal Chemists International (AACCI), Metot No: 10.54.01., St. Paul, MN, USA.

Anonim, (2007). Determination of titrable acidity. Official Methods of Analysis of Association of

Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC, USA.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S.E. (2004). A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.

Aslan, D. ve Köksel, H. (2003). Gıda zenginleştirilmesi ve bazı yaklaşımlar. *Türk Tabipler Birliği Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 12(11), 418-420.

Bölek, S. (2020). Kurutulmuş Nar (*Punica Granatum*) Kabuğu Tozunun Glütensiz Bisküvilerin Tekstürel, Duyusal ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 23(4), 209-218.

Borsini A.A., Lavata B., Umaña M. and Cárcel J.A. (2021). Artichoke by Products as a Source of Antioxidant and Fiber: How It Can Be Affected by Drying Temperature. *Foods*, 10(2), 459.

Boubaker M., Damergi C., Marzouk C.B., Blecker C. and Bouzouita N. (2016). Effect of artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-product on the quality and total phenol content of bread. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 5(5), 548-553.

- Ceccarelli, N., Curadi, M., Picciarelli, P., Martelloni, L., Sbrana, C., and Giovannetti, M. (2010). Globe artichoke as a functional food. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(3), 197–201.
- Díaz A., Bomben R., Dini C., Viña S.Z., García M.A., Ponzi M. and Comelli N. (2019). Jerusalem artichoke tuber flour as a wheat flour substitute for biscuit elaboration. *LWT - Food Science and Technology*, 108, 361-369.
- FAO, (2021). The Food and Agriculture Organization (FAO). <https://www.fao.org/statistics/en/> Erişim Tarihi: 16.11.2022.
- Fратиanni, F., Pepe, R. and Nazzaro, F. (2014). Polyphenol Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Quorum Quenching Activity of the “Carciofo di Montoro” (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) Global Artichoke of the Campania Region, Southern Italy. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 2053–2062.
- Frutos M.J., Guilabert-Anto'n L., Toma's-Bellido A. and Hernández-Herrer J.A. (2008). Effect of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Fiber on Textural and Sensory Qualities of Wheat Bread. *Food Science and Technology International*, 2008;14(5), 049–055.
- Garbetta, A., Capotorto, I., Cardinali, A., D'Antuono, I., Linsalata, V., Pizzi, F., and Minervini, F. (2014). Antioxidant activity induced by main polyphenols present in edible artichoke heads: Influence of in vitro gastro-intestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 10, 456–464.
- Göçmen D., Sahan Y., Yildiz E., Coskun M. and Arouf I.A. (2019). Use of coffee silverskin to improve the functional properties of cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 56(6), 2979–2988.
- Gouveia S.C. and Castilho P.C. (2012). Phenolic composition and antioxidant capacity of cultivated artichoke, Madeira cardoon and artichoke-based dietary supplements, *Food Research International*, 48:(2). 712-724.
- Gül, H., Yanık, A. and Acun, S. (2013). Effects of white cabbage powder on cookie quality. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(1), 68-72.
- İlter Erilmez B. (2022). Kumkuat Unu İlavesi ile Fonksiyonel Tarhana Geliştirilmesi. *Yüksek Lisans tezi*. Kocaeli Üniversitesi Gastronomi ve mutfak Sanatları Anabilim Dalı. Kocaeli.
- İnce, C. ve Çağındı, Ö. (2020). Beyaz Ve Tam Buğday Unlu Ekmek Çeşitlerine Eklenen Beyaz Dut (*Morus Alba*) Yaprak Ve Posasının Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivite Üzerine Etkisi. *Gıda*, 45(5), 977-988.
- İsmail, T., Akhtar, S., Riaz, M. and Ismail, A. (2014). Effect of pomegranate peel supplementation on nutritional, organoleptic and stability properties of cookies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(6), 661-666.
- Klunklin, W. and Savage, G. (2018). Effect of substituting purple rice flour for wheat flour on physicochemical characteristics, in vitro digestibility, and sensory evaluation of biscuits. *Journal of Food Quality*, 1–8.
- Knuckles, B.E., Hudson, C.A., Chiu, M.M. and Sayre, R.N. (1997). Effects of β -glucan barley fractions in high-fiber bread and pasta. *Cereal Food World*, 42(2), 94-99.
- Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V. and Cardinali, A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*. 1(2), 131-144.
- Mabeau, S., Baty-Julien, C., Hélias, A.B., Chodosas, O., Surbled, M., Metra, P. and ... Mekideche, K. (2007). Antioxidant activity of artichoke extracts and by-products. *Acta Horticulturae*, 730, 491–496.
- Magda, R.A., Awad, A.M. and Selim, K.A. (2008). Evaluation of mandarin and navel orange peels as natural sources of antioxidant in biscuits. *Alexandria Journal of Food Science and Technology. Special Volume Conference*, 75-82.
- Marakis, G., Walker, A.F., Middleton, R.W., Booth, J.C.L., Wright, J., and Pike, D.J. (2002). Artichoke leaf extract reduces mild dyspepsia in an open study. *Phytomedicine*, 9, 694–699.
- Naczki, M. and Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95–111.
- Norhidayah, M., Noorlaila, A. and Fatin Izzati, A. N. (2014). Textural and sensorial properties of cookies prepared by partial substitution of wheat flour with unripe banana (*Musa x paradisiaca* var. Tanduk and *Musa acuminata* var. Emas) flour. *International Food Research Journal*, 21(6), 2133-2139.
- Noriega-Rodríguez D., Soto-Maldonado C., Torres-Alarcón C., Pastrana-Castro L., Weinstein-Oppenheimer C. and Zúñiga-Hansen M.E. (2020). Valorization of Globe Artichoke (*Cynara*

scolymus) Agro-Industrial Discards, Obtaining an Extract with a Selective Effect on Viability of Cancer Cell Lines. *Processes*, 8, 715.

Özer., E.A. and Güner, A. (2008). Gıdaların zenginleştirilmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum.

Pandino, G., Lombardo, S., Williamson, G. and Mauromicale, G. (2012). Polyphenol profile and content in wild and cultivated *Cynara cardunculus* L. *Italian Journal of Agronomy*, 7, 254–261.

Pasqualone A., Laddomada B., Boukid F., Angelis D.D. and Summo C. (2020). Use of Almond Skins to Improve Nutritional and Functional Properties of Biscuits: An Example of Upcycling. *Foods*, 9(11),1705.

Pereira, C., Calhelha, R.C., Barros, L. and Ferreira, I.C.F.R. (2013). Antioxidant properties, anti-hepatocellular carcinoma activity and hepatotoxicity of artichoke, milk thistle and borututu. *Journal Industrial Crops and Products*, 49, 61–65.

Rupasinghe, H.P.V., Wang, L., Huber, G.M. and Pitts, N.L. (2008). Effects of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chemistry*, 107, 1217-1224.

Sardoğan, M. (2016). *Badem iç kabuğunun unlu mamüllerde değerlendirilme imkânları* (Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Shukla, S. and Gupta, S. (2010). Apigenin: A promising molecule for cancer prevention. *Pharmaceutical Research*, 27, 962–978.

Silva de Costa, R., Ferreira Ozela, E., Ramos Barbosa, W.L., Pereira, N.L. and Carrera Silva J.J.O. (2009). Physical characterization, chemistry and physic-chemistry of *Cynara scolymus* L. (*Asteraceae*) dry extract by spray-drying. *Revista Brasileira de Farmácia*, 90, 169–174.

Škrbić B. and Cvejanov J. (2011). The enrichment of wheat cookies with high-oleic sunflower seed and hull-less barley flour: Impact on nutritional composition, content of heavy elements and physical properties. *Food Chemistry*, 124(4), 1416-1422.

Smith W.H. (1972). Wire-cut cookies. In: Smith WH (ed) *Biscuits, crackers and cookies: Technology, Production and Management*. Applied Science Publishers, London, 737.

Soto-Maldonado C., Zúñiga-Hansen M.E. and Olivares A. (2020). Data of co-extraction of inulin

and phenolic compounds from globe artichoke discards, using different conditioning conditions of the samples and extraction by maceration. 31:105986, ISSN 2352-3409.

Soto, C., Caballero, E., Pérez, E. and Zúñiga, M.E. (2014). Effect of extraction conditions on total phenolic content and antioxidant capacity of pretreated wild *Peumus boldus* leaves from Chile. *Food and Bioproducts Processing*, 92, 328–333.

Sharara, M.S. and Ghoneim, I. M. (2011). Inulin in some artichoke by-Product: determination and effects of some technological processes thereon. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 8 (1), 1-8.

Tuna, H. E. (2015). *Gıda atığı olan vişne, nar, kabak ve kayısı çekirdeklerinin kek üretiminde değerlendirilmesi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Turkiewicz I.P., Wojdyło A., Tkacz K., Nowicka P. and Hernández F. (2019). Antidiabetic, Anticholinesterase and Antioxidant Activity vs. Terpenoids and Phenolic Compounds in Selected New Cultivars and Hybrids of Artichoke *Cynara scolymus* L. *Molecules*, 24(7), 1222.

Vitali, D., Vadrina Dragojević, I. and Šebec'ić, B. 2009. Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114, 1462–1469.

Zerek, E. (2021). *Yumurta kabuğu tozu eklenmiş kurabiyelerin bazı besinsel ve kalite özelliklerinin belirlenmesi* (Master's thesis, İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Zuorro, A., Maffei, G. and Lavecchia, R. (2014). Effect of solvent type and extraction conditions on the recovery of phenolic compounds from artichoke waste. *Chemical Engineering Transactions* 39, 463–468.

Özgün Araştırma/Original Article

Geleneksel yöntemle gül sirkesi üretiminde asit toleranslı bazı laktik asit bakterilerinin kullanımı

The use of some acid-tolerant lactic acid bacteria in the production of rose vinegar by the traditional method

Pelin ERTÜRKMEN^{1*} 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur Gıda Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, BURDUR, TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0003-4321-7886, Öğr. Gör. Dr.

*Corresponding author/Sorumlu yazar: perturkmen@mehmetakif.edu.tr

Geliş Tarihi : 23.02.2023

Kabul Tarihi : 08.05.2023

Öz

Amaç: Gül (*Rosa damascena* Mill.) bitkisinin insan sağlığı açısından kullanım çeşitliliği ve fonksiyonel özelliklerinin artırılması önemli bir konudur. Bu çalışmada bazı başlatıcı kültür ve asit dirençlilik özellikleri belirlenmiş laktik asit bakterilerinin (LAB) gül sirkesinin fermantasyonunda kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Materyal ve yöntem: Bu amaçla *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium* ve *Lactiplantibacillus plantarum* suşları gül sirkesi örneklerine ilave edilerek 37°C'de 18 saat fermente edilmiş ve 7 gün depolanmıştır. Kontrol grubunda ve LAB ilave edilen gül sirkesi örneklerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve gaz kromatografi-kütle spektrometre (GC-MS) cihazı ile uçucu bileşen analizleri gerçekleştirilmiştir.

Tartışma ve sonuç: Depolama sonunda pH ve toplam titrasyon asitliği içerikleri sırasıyla 3,58-3,65 ve %2,45-2,74 aralığında tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerde laktokoklar 5,15-6,33 log KOB/mL, laktobasiller 5,07-6,69 log KOB/mL, asetik asit bakterileri 4,73-6,62 log KOB/mL ve maya-küf 5,35-6,53 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. Gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile öne çıkan uçucu bileşenler; asetik asit, 2-feniletill alkol, feniletill asetat, etil asetat, sitronelil asetat, β -sitronellol, metil öjenol ve gül-oksittir. Kontrol grubuna kıyasla LAB ilaveli gruplarda bazı ester ve terpen düzeyleri daha yüksek belirlenmiştir. Sonuçlar, seçilen LAB suşlarının gül sirkesini uygun bir substrat olarak fermente edebileceğini ve sirkenin fonksiyonel özelliklerini desteklediğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Rosa damascena* Mill.; gül sirkesi; laktik asit bakterileri; uçucu bileşen

Abstract

Objective: Increasing the usage variety and functional properties of the Rose (*Rosa damascena* Mill.) plant for human health is an important topic. In this study, the usability of lactic acid bacteria (LAB) with identified starter culture and acid resistance characteristics was investigated in the fermentation of rose vinegar.

Material and method: For this purpose, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium*, and *Lactiplantibacillus plantarum* strains were added to rose vinegar samples and fermented at 37 °C for 18 hours and stored for 7 days. Physicochemical, microbiological, and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analyses were performed on the rose vinegar samples with added LAB.

Discussion and results: At the end of the storage period, pH and total titration acidity contents were determined in the range of 3.58-3.65 and 2.45-2.74%, respectively. In microbiological analyses, lactococci were determined at levels of 5.15-6.33 log CFU/mL, lactobacilli at 5.07-6.69 log CFU/mL, acetic acid bacteria at 4.73-6.62 log CFU/mL, and yeast-mold at 5.35-6.53 log CFU/mL. The volatile compounds highlighted by GC-MS analysis in the rose vinegar samples were acetic acid, 2-phenylethyl alcohol, phenethyl acetate, ethyl acetate, citronellyl acetate, β -sitronellol, methyl eugenol, and rose oxide. Some ester and terpene levels were

found to be higher in the LAB-added groups compared to the control group. The results showed that the selected LAB strains could ferment rose vinegar as a suitable substrate and support its functional properties.

Keywords: *Rosa damascena* Mill.; rose vinegar; lactic acid bacteria; volatile component

1. Giriş

Rosaceae familyasında yer alan *Rosa damascena*, *R. gallica* ve *R. centifolia* türleri bugün dünyanın birçok yerinde aktif olarak kullanılmaktadır. Suudi Arabistan, Mısır, Türkiye, Fas, Bulgaristan, İran, Fransa, Çin ve Hindistan'da ticari amaçla yetiştirilebilmektedir (Mileva vd., 2021). Özellikle, *Rosa damascena* Mill. (Şam gülü, yağlı gül, pembe gül) değeri yüksek uçucu yağ üreten en önemli gül türüdür (Baydar ve Baydar, 2013). *Rosa damascena* Mill. türünün işlenmesi ve yetiştirilmesi, Türkiye'nin güneybatısındaki "güller yöresi" denilen Isparta ve çevresinde yoğun olarak yapılmaktadır. Isparta'da ihracat için yılda yaklaşık 6.000-8.000 ton gül üretilmektedir (Özdemir ve Budak, 2022).

Rosa sp.'den elde edilen gül yağı, gül suyu ve gül biyoaktif bileşen özleri kozmetik ve ilaç endüstrilerinde oldukça önemlidir (Younis vd., 2021; Xie ve Du, 2022). Ayrıca bu ürünler alkaloidler, fenolik asitler, flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler dahil olmak üzere çeşitli fitokimyasal bileşenler içerdiğinden güçlü antioksidan, antidiyabetik, anti-HIV, antibakteriyel, antienflamatuar ve kardiyotonik özelliklere sahiptir (Labban ve Thallaj, 2020; Galal vd., 2022; Hamza vd., 2022). Tarihsel olarak adet kanaması, iltihaplanma, solunum sorunları, depresyon, kabızlık ve göğüs ağrısını tedavi etmek için de kullanılmıştır (Moein vd., 2016; Alizadeh ve Fattahi, 2021).

Fermantasyon, genellikle mevcut biyoaktif bileşikler üreten ve/veya yeni biyoaktif bileşiklerin oluşmasına izin veren bir işlemdir (Özdemir vd., 2022). Yüzey kültürü yöntemini benimseyen sirke üretimi, biyoaktif bileşiklerin nihai ürüne aktarılmasında yüksek bir etkiye sahiptir. Kullanılan hammaddeye ve üretim yöntemine bağlı olarak değişim gösteren fenolik maddeler, sirkenin antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelini de etkilemektedir (Karabıyıklı ve Şengün, 2017). Geleneksel yöntemle üretilen sirkelerin, fonksiyonel özelliklerinin, endüstriyel sirkelere kıyasla daha fazla olabileceği bildirilmiştir (Budak vd., 2014; Karabıyıklı ve Şengün, 2017). Metabolit ve uçucu aroma bileşiklerindeki artışları, sirkede olgunlaşma sürecinde oluşan organik asit ve fenolik bileşiklerdeki değişikliklerle ilişkilendirerek olumlu etkilere yol açabildiği bildirilmektedir (Nie vd., 2019).

Fermente ürünlerin insan beslenmesindeki önemi hem içerdikleri biyoaktif bileşenler hem de yararlı mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır. Sirke, etil alkol ve asetik asit fermantasyonlarından olmak

üzere iki aşamalı fermantasyon uygulaması ile nişasta ve şeker içeren hammaddeden üretilmektedir (Özdemir ve Budak, 2022). Fermantasyonda bakteriyel suşların iyileştirilmesi, türlerin tanımlanması ve fermantasyona dahil olan baskın suşların karakterizasyonu nihai ürün kalitesi açısından oldukça önemlidir (Hidalgo vd., 2010). Sirkede fermente edici mikroorganizmalar arasında asetik asit bakterileri ve mayaların kritik öneme sahip olduğu düşünülürken, laktik asit bakterilerinin (LAB) popülasyonunda sirkenin tadını iyileştirmede güçlü bir rol oynadığı düşünülmüştür (Lei, 2000). Sirke örneklerinde yapılan çalışmada maya (*Saccharomyces cerevisiae*) cinsleri düşük fenotipik ve genotipik çeşitlilik gösterirken, Lactobacillaceae (*Limosilactobacillus fermentum*, *L. plantarum*, *Lentilactobacillus buchneri*, *Lactocaseibacillus casei*), *Pediococcus* ve *Weissella* türlerinin bakteri popülasyonunda aynı evrede baskın olduğu belirlenmiştir (Wu vd., 2012). Chen vd. (2017), hem *S. cerevisiae* hem de *L. plantarum*'u içeren karma bir kültürün kullanılmasının narenciye sirkesinin kalitesini önemli ölçüde artırdığını bildirmiştir.

Fermantasyonda kullanılan suşlar aynı türün suşları arasında bile farklılık gösterebilmektedir. Bu çalışmada, başlatıcı kültür özellikleri ve asit dirençlilikleri belirlenen farklı LAB'nin hoş bir koku ve farmakolojik etkileri olan gül sirkesinde fonksiyonel olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

2. Materyal ve yöntem

2.1. LAB suşlarının 16S rRNA gen dizisi ile tanımlanması

Bu çalışmada; fizikokimyasal testler, antibiyotik duyarlılığı, organik asit ve aroma üretim kapasiteleri ile bazı başlatıcı kültür özellikleri daha önceden belirlenmiş (Alp ve Öner, 2014; Ertürkmen ve Öner, 2015) 7 LAB kullanılmıştır. Man Rogosa Sharpe (MRS) broth besiyerinde 37°C'de 18 saat aktifleştirilen kültürlerden genomik DNA ekstraksiyonu, başlangıç numunesi hazırlama protokolü ile üreticinin talimatları izlenerek NanoBiz Genomik DNA izolasyon kiti ile gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) 50 µL hacimde 1X Taq tampon çözeltisi, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, her biri primerden 0,3 pmol/µL, 1,5 U Taq DNA Polimeraz ve 100 ng/µL genomik DNA kalıbı içermiştir. Bakteri kültürlerinden izole edilen genomik DNA örneklerindeki 16S rRNA bölgelerini çoğaltmak amacıyla 27-F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG -3') ve 1492-R

(5'- TACGGYTACCTTGTTACGACTT -3') evrensel primer çiftleri kullanılmıştır. PZR programı 94°C, 1 dk; 30 döngü: 94°C, 45 sn; 55°C, 45 sn; 72°C, 45 sn olarak ayarlanmıştır. PZR ürünlerini (ileri ve ters primer) sıralamak için BigDye Terminator v3,1 Döngü Dizileme Kiti (Applied Biosystems, Foster City, CA) (Macrogen Holland Laboratuvarı) ve ABI 3100XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California) cihazı kullanılmıştır. Sekans dizi analizlerine göre elde edilen nükleik asit dizi analiz sonuçları FinchTV programında açılmış ve diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programı kullanılarak tanımlanmış olan tüm sekanslarla karşılaştırılarak sekansların hangi mikroorganizma türüne ait olabileceği bilgisine ulaşılmıştır.

2.2. Suşların düşük pH değerlerine karşı direnç özellikleri

MRS'de geliştirilen aktif kültürlerden 1'er mL steril eppendorf tüplerine alınarak 12.000 rpm'de 10 dakika +4°C'de santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmıştır. Fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi ile pelet 2 kez yıkanmıştır. Suşlara ait pelletler pH'sı 5M HCl ile 3,0'e ayarlanan PBS tampon çözeltisi içeren tüplere eklenerek vortekslenmiştir. 37°C'de inkübasyona bırakılan tüplerden 0., 1. ve 3. saatlerde örnekler alınarak seri dilüsyonlar hazırlanmış ve MRS agar ortamında paralelli yayma ekim yapılarak sayım yapılmıştır. Mikrobiyolojik sayım sonuçları log KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Maragkoudakis vd., 2006).

2.3. Geleneksel yöntemle gül sirkesi üretimi

Araştırmada kullanılan gül sirkeleri geleneksel yöntemle üretilmiştir (Özdemir, 2019). Sirke üretimi için hammadde olarak her bir denemede Burdur ilinden, gül örnekleri (*Rosa damascena* Mill.) temin edilmiştir. Gül örnekleri yıkama işleminden sonra parçalanarak 3 adet 5 L'lik cam kavonozlara 1.000'er g alınarak her partiye 1,5 L su eklenmiş ve 1 hafta +4°C'de dinlenmeye bırakılmıştır. Fermantasyonun optimizasyonu için her kavanoza 50 g bal (Özkovan Gıda Ltd., Türkiye) ve 0,3 g/L olacak şekilde maya *S. cerevisiae* kültürü (Kurumaya, Pakmaya, Türkiye) ilave edilmiştir. Fermantasyon kapakları kapatılarak 20 gün etil alkol fermantasyonuna bırakılmıştır. Alkol fermantasyonu sona erdiğinde her bir kavanoza katkı maddesi içermeyen 1/10 oranında yıllandırılmış sirke ilave edilerek toplam hacim 5 L'ye kadar su ile tamamlanmıştır. Kavanozun ağzı bir bez kullanılarak hava girişine izin verecek şekilde kapatılmış ve sirke örnekleri karanlık ortamda 28-30°C sıcaklıkta 60 gün asetik

asit fermantasyonuna tabi tutulmuştur. Sirke fermantasyon işlemini takiben, filtrasyon işlemi yapılmıştır.

2.4. LAB suşlarının sirke örneklerine ilavesi

LAB suşları MRS sıvı besiyerinde 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Hücreler PBS çözeltisinde 4.000×g'de 4°C'de 10 dakika boyunca santrifüj (Sigma 2-16KL, Germany) edilerek yıkanmıştır. Buradan, içinde 3 mL PBS bulunan tüplere aktararak 5 no'lu Mac Farland tüpleriyle eşdeğer bulanıklıkta hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Aktif suşlar cam kavonozlara aktarılan sirke örneklerine %2 oranında aşılanmıştır. Sirke örnekleri 37°C'de 18 saat fermantasyona bırakılmıştır. Sirke üretimleri 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir. Depolamanın 1., 3. ve 7. gününde fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

2.5. pH ve toplam asitlik değerleri

Sirke örneklerinde pH ölçümleri pH metre (Mettler Toledo SG23-FK2) ile yapılmıştır. Örneklerin toplam asitlik değerler 0,1 N NaOH kullanılarak titrimetrik yöntemle göre belirlenmiş ve sonuçlar % asetik asit cinsinden verilmiştir (AOAC, 1992).

2.6. Mikrobiyolojik analizler

Sirke örneklerinden uygun dilüsyonlardan yayma kültür yöntemi ile ekim yapılarak *Lactobacillus* spp. sayımı için MRS Agar besiyerinde 30°C'de 48 saat, *Lactococcus* spp. sayımı için M-17 Agar (M17, Merck) besiyerinde 30°C'de 48 saat, maya ve küf sayımı için %10'luk tartarik asit ile asitlendirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA, Merck) besiyerinde 25°C'de 3-5 gün ve asetik asit bakterileri için Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar (GYC, Himedia) besiyerinde 30°C'de 5-10 gün inkübe edilmiştir (FDA-BAM, 2001). Sayım sonuçları log KOB/mL olarak verilmiştir.

2.7. Sirkede uçucu bileşenlerin belirlenmesi

Sirkede uçucu bileşenlerin belirlenmesi, katı faz mikro ekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılarak, gaz kromatografi-kütle spektrometre (Shimadzu GC-MS- 2010 Plus, Japon) cihazı ile belirlenmiştir. Bu amaçla LAB ilaveli sirke örnekleri inkübasyonun 7. gününde, amber headspace vial (Supelco 27159 15 mL clear PTFE/Silicone septa Cap) içine konularak ağzı hava sızdırmaz silikon/PTFE kapakla kapatılmıştır. Bu vialler 30 dakika kadar 60°C'de tutulduktan sonra 75 µm inceliğinde Carbokzen-Polidimetilsiloksan (CAR/PDMS) kaplı fused silica SPME fiber (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) ile tepe boşluğunda uçucu bileşenler absorbe edilmiştir

(Sánchez-Palomo vd., 2005). Cihazda Restek (Rx-5 Sil MS 30 m × 0,25 mm, 0,25 µm, katalog no: Restek 13623) kapiler kolonu kullanılmıştır. Çalışmamızda kullanılan yonteme ait GC-MS parametreleri; enjeksiyon sıcaklığı: 250°C, kolon akış hızı: 1,61 mL/dk, kolon sıcaklığı 40°C'de 2 dakika bekledikten sonra 250°C'ye dakikada 4°C'lik artış ile ulaşma ve 250°C'de 5 dakika bekleme olarak belirlenmiş ve analizlerde kullanılmıştır. Enjeksiyon sonrası elde edilen pikleri tanımlamak için, yöntem parametreleri cihaza girildikten sonra C7-C30 alkan serisi sırasıyla cihaza enjekte edilmiş ve dört farklı (Wiley, Nist, Tutor ve FFNSC) GC-MS kütüphanelerinde tanımlanmıştır. Her bir pikin alıkonma zamanları ile hidrokarbon standardının alıkonma zamanları kullanılarak hesaplanan

“Retention Index” (RI) değerleri referans alınmıştır (Güçer, 2016).

2.8. İstatistiksel değerlendirme

Üretilen gül sirkelerinin depolama süresince yapılan analiz sonuçları Minitab17 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Gül sirkesi üretiminde kullanılan LAB suşlarının sirke örneklerinin bazı özellikleri üzerine etkisi tek faktör varyans (one-way ANOVA) analizleri ve farklılığının belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

3. Bulgular ve tartışma

Gül sirkesi fermantasyonunda kullanılan LAB suşlarının tür düzeyinde tanısı ve benzerlik oranları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. LAB suşlarının 16S rRNA ile tanısı

Table 1. Diagnosis of LAB strains with 16S rRNA

Suş kodu <i>Strain code</i>	Benzer tür <i>Similar species</i>	Genbank erişim numarası <i>Genbank access number</i>	Baz sayısı <i>Number of bases</i>	Nükleotid benzerlik (%) <i>Nucleotide similarity (%)</i>
PeE32	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MT473570	1461	99,49
PeE26	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MF369939	1403	98,57
İE25	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MT473513	1458	99,60
PeLc15	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MK290332	1480	98,83
PeLc6	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MF369939	1403	99,22
PeLc2	<i>Enterococcus faecium</i>	MN475959	1268	99,59
PeLb75	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	MZ208267	1266	94,35

16S rRNA dizi analizi ile 7 adet LAB'nin nükleotid benzerlik oranları %94-99 aralığında tespit edilmiştir. Sekans analiz sonuçlarına göre %99 benzerlik ile 3 LAB'nin (PeE32, İE25, PeLc6) *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* türüne; 1 LAB'nin (PeLc2) *Enterococcus faecium* ve 1 LAB'nin (PeLb75) %94,35 benzerlik ile *Lactiplantibacillus plantarum* türlerine benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, 16S rRNA genlerinin türler arasında iyi korunduğunu ve fenotipik çalışmalarla yapılan tanımlamaların genetik temelli çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, 16S rRNA gen dizi analizi ile İran'ın geleneksel Motal (Azizi vd., 2017) ve Lighvan peynirlerinden (Edalatian vd., 2012a; 2012b) izole ettikleri LAB'nin *Lactobacillaceae* (*Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus* ve *Levilactobacillus*), *Lactococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait olduğunu belirlemiştir.

Sirke kalitesi kullanılan hammaddeye ve uygulanan fermantasyon işlemine bağlıdır (Özdemir vd., 2022). LAB'nin sirke üretiminde kullanılabilmesi için düşük pH'ya dayanıklı olması gerekmektedir. Bu amaçla suşların pH 3,0'te dirençlilik testi gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Suşların düşük pH'ya karşı dirençlerinin büyük ölçüde türe bağlı olduğu belirtilmektedir (Muñoz-Quezada vd., 2013). Bu çalışmada, suşlara yapılan pH 3,0 dirençlilik testlerinde tüm suşların canlılığını koruduğu en az canlılık gösteren suşun PeLc15 numaralı suş olduğu 3. saat sonunda en fazla canlılık oranının (>5 log KOB/mL) ise PeE32, PeLb75, PeLc6 ve PeLc2 numaralı suşlar olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2. LAB suşların pH 3,0'te dirençlilik testi

Table 2. LAB resistance testing of strains at pH 3.0

Suş kodu <i>Strain code</i>	Suşların pH 3,0'te dirençlilik testi (log KOB/mL) <i>Resistance testing of strains at pH 3.0 (log CFU/mL)</i>		
	0. dk <i>0. min</i>	1. saat <i>1. hour</i>	3. saat <i>3. hour</i>
PeE32	8,37±0,07 ^{Aa}	7,79±0,06 ^{Ba}	5,72±0,07 ^{Ca}
PeE26	7,90±0,07 ^{Aa}	5,63±0,15 ^{Bd}	4,48±0,08 ^{Cb}
İE25	6,70±0,08 ^{Ab}	6,57±0,09 ^{Abc}	4,51±0,05 ^{Bb}
PeLc15	6,98±0,01 ^{Ab}	4,50±0,23 ^{Be}	4,30±0,09 ^{Bb}
PeLc6	8,11±0,50 ^{Aa}	7,16±0,46 ^{Bab}	5,31±0,19 ^{Ca}
PeLc2	8,15±0,55 ^{Aa}	5,92±0,53 ^{Bcd}	4,61±0,20 ^{Cb}
PeLb75	7,78±0,19 ^{Aa}	6,40±0,26 ^{Bbcd}	5,40±0,25 ^{Ca}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0,05).

*Different lowercase letters (a, b, c, d) in the same column and different capital letters (A, B, C, D) in the same row indicate the statistical difference between the mean values (p<0,05).

Bazı araştırmacılar LAB'nin asit toleransının, bu mikroorganizma grubunda bulunabilen bir enzim olan ATPaz'ın varlığı ile ilgili olabileceğini

belirtmiştir (Lertworapreecha vd., 2011; Reis vd., 2016). LAB suşlarının kullanılmadığı kontrol grubuna ilave olarak asit dirençliliği yüksek olan 4 farklı LAB ile 18 saat 37°C’de fermente edilen ve 30°C’de 1, 3 ve 7 gün depolanan gül sirkesi

örneklerinin isimleri, içerdikleri LAB, pH ve toplam titrasyon asitliği (%) gibi bazı fizikokimyasal özellikleri Çizelge 3’te gösterilmiştir.

Çizelge 3. Gül sirkesi örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri
Table 3. Some physicochemical properties of rose vinegar samples

	Sirke grubu Vinegar group	LAB LAB	1. gün 1. day	3. gün 3. day	7. gün 7. day
pH pH	Kontrol	LAB kullanılmamıştır.	3,65 ± 0,01 ^{Aa}	3,65 ± 0,01 ^{Aa}	3,66 ± 0,01 ^{Aa}
	GS1	PeLb75 <i>L. plantarum</i>	3,62 ± 0,00 ^{Aa}	3,60 ± 0,01 ^{Bb}	3,58 ± 0,01 ^{Bb}
	GS2	PeLc6 <i>Lc. lactis</i>	3,63 ± 0,02 ^{Aa}	3,60 ± 0,01 ^{Ab}	3,61 ± 0,01 ^{Ab}
	GS3	PeLc2 <i>E. faecium</i>	3,64 ± 0,02 ^{Aa}	3,62 ± 0,02 ^{Aab}	3,62 ± 0,03 ^{Aab}
	GS4	PeE32 <i>Lc.lactis</i>	3,65 ± 0,02 ^{Aa}	3,63 ± 0,03 ^{Aab}	3,62 ± 0,01 ^{Ab}
Toplam titrasyon asitliği (%) Total titration acidity (%)	Kontrol	LAB kullanılmamıştır.	2,44 ± 0,04 ^{Aa}	2,45 ± 0,05 ^{Aa}	2,48 ± 0,04 ^{Ac}
	GS1	PeLb75 <i>L. plantarum</i>	2,48 ± 0,05 ^{Ba}	2,50 ± 0,09 ^{Ba}	2,68 ± 0,09 ^{Aab}
	GS2	PeLc6 <i>Lc. lactis</i>	2,45 ± 0,07 ^{Aa}	2,52 ± 0,15 ^{Aa}	2,50 ± 0,05 ^{Abc}
	GS3	PeLc2 <i>E. faecium</i>	2,49 ± 0,06 ^{Ba}	2,54 ± 0,06 ^{ABa}	2,65 ± 0,09 ^{Aab}
	GS4	PeE32 <i>Lc.lactis</i>	2,48 ± 0,06 ^{Ba}	2,59 ± 0,06 ^{ABa}	2,74 ± 0,10 ^{Aa}

GS: Sirke kodu (Vinegar code)

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0,05).

*Different lowercase letters (a, b, c, d) in the same column and different capital letters (A, B, C, D) in the same row indicate the statistical difference between the mean values (p<0.05).

LAB suşları şekeri parçalama, fermantasyon ve depolama sırasında pH seviyesini değiştiren organik asitler üretme yeteneğine sahiptir (Ricci vd., 2018). Bu çalışmada, LAB ile fermente edilen gül sirkesi örneklerinin pH değerlerinin 3,58-3,65 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Farklı suşlar kullanılarak fermente edilen gül sirkesi örneklerinde depolamanın 3. ve 7. günlerinde pH değerleri açısından önemli bir farklılık olduğu belirlenmiştir (p<0,05). *L. plantarum* ile fermente edilen GS1 sirke örneğinin depolama sonundaki pH değeri, depolama başlangıcına göre azalış göstermiştir (p<0,05). Bu çalışmada elde edilen pH sonuçları, Özdemir vd. (2022) tarafından tespit edilen alıç sirke örneklerinin pH değerleri (3,53-3,63±0,1) ve Bayram vd. (2020) tarafından tespit edilen Trabzon hurması sirke örneklerinin pH değerleri (3,64) ile benzerlik göstermiştir.

LAB ilaveli gül sirkesi örneklerinin toplam titrasyon asitliği değerleri depolama süresinin sonunda asetik asit cinsinden %2,45-2,74 aralığında değişmiştir. Araştırma bulguları, Şengün vd. (2020) tarafından geleneksel yöntemlerle üretilen farklı sirke örneklerinde belirlenen titrasyon asitliği değer aralığına (1,11-5,61) benzer bulunmuştur. Farklı LAB kullanılarak üretilen gül sirkesi örneklerinde depolamanın 3. ve 7. günlerinde tespit edilen titrasyon asitliği değerleri, hem sirke çeşidi hem de depolama günleri açısından farklılık göstermiştir (p<0,05). Toplam titrasyon asitliği değeri depolamanın sonunda LAB suşu kullanılmayan kontrol grubunda en düşük düzeyde kalmıştır. Bu çalışmada depolama boyunca pH değerlerinde

önemli düzeyde değişiklik saptanmazken GS1, GS3 ve GS4 sirke örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde önemli düzeyde artış gözlemlenmiştir (p<0,05). Araştırmacılar, toplam titrasyon asitliği değerinin artmasının, esas olarak asetik asit ve diğer organik asitlerin üretilmesinden kaynaklanabileceğini, ayrıca pH değerinin stabilitesinin ise organik asidin zayıf bir asit özelliği göstermesinden dolayı olabileceğini belirtmektedir (Özdemir vd., 2022). Depolama sonunda en yüksek toplam asitlik değeri *L. plantarum* ve *Lc. lactis* içeren GS1 (%2,68) ve GS4 (%2,74) sirke örneklerinde tespit edilmiştir. Bu farklılıkların suş çeşitliliğinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada başlatıcı kültür özellikleri olan 4 farklı LAB’nin gül sirkesinin fermantasyonunda kullanımının mikrobiyal flora üzerine etkileri Çizelge 4’te verilmiştir.

Sirke örneklerine fermantasyon sırasında eklenen PeLb75 *L. plantarum* suşu ile *Lactobacillus* spp. sayısı depolamanın 1. gününde 5,70 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. Depolama süresinin sonunda, *L. plantarum* içeren GS1 sirke örneğinin *Lactobacillus* sayısı artış göstererek 6,00 log KOB/mL düzeyine ulaşmıştır. Bunun nedeni bu suşun düşük pH gibi stres faktörlerine karşı kısa sürede tepki vermiş olması ve bu sayede *L. plantarum*’un büyümesinin kuvvetli bir şekilde metabolize olduğunu düşündürmektedir. Buna ilave olarak, kontrol grubunda fermantasyon sonunda *Lactobacillus* ve *Lactococcus* düzeyi <5 log altında iken LAB ilave edilen gruplarda 5,0 log KOB/mL’den daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, seçilen LAB suşlarının gül sirkesini uygun bir

substrat olarak fermente edebileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, 7 günlük depolama sonunda kontrol grubunun laktobasil ve laktokok sayıları sırasıyla 4,98 ve 4,93 log KOB/mL düzeyine düşmüştür. Depolama süresi arttıkça, önemli miktarda metabolit birikimi ile gül sirkesinde LAB'nin kullanabileceği bileşenlerin önemli ölçüde azaldığı düşünülmüştür. Asetik asit bakteri sayısı depolama süresince GS2 ve GS4 örneklerinde önemli düzeyde azalış göstermiştir

($p<0,05$). 7 günlük depolama sonunda örnekler arasında en yüksek asetik asit bakteri sayısı *L. plantarum* içeren GS1 örneğinde 6,55 log KOB/mL ile en yüksek düzeyde belirlenmiştir ($p<0,05$). Bulgularımız Şengün vd. (2022)'nin meyve sirkelerinde yaptığı çalışmada sirke örneklerinde belirlenen asetik asit (2,54-7,05 log KOB/mL) ve laktik asit (1,91-6,81 log KOB/mL) bakteri sayıları aralığına benzer bulunmuştur.

Çizelge 4. Gül sirkesi örneklerinin bazı mikrobiyolojik özellikleri
Table 4. Some microbiological properties of rose vinegar samples

Sirke grubu Vinegar group	1. gün 1. day	3.gün 3. day	7. gün 7. day	
<i>Lactobacillus</i> spp.	Kontrol	5,64±0,07 ^{Ab}	5,00±0,13 ^{Bb}	4,98±0,07 ^{Bb}
	GS1	5,70±0,45 ^{Ab}	6,06±0,15 ^{Aa}	6,00±0,16 ^{Aa}
	GS2	5,54±0,20 ^{Ab}	5,07±0,34 ^{Ab}	5,00±0,35 ^{Ab}
	GS3	6,22±0,38 ^{Aab}	6,04±0,15 ^{Aa}	5,99±0,14 ^{Aa}
	GS4	6,69±0,16 ^{Aa}	5,15±0,14 ^{Bb}	5,12±0,15 ^{Bb}
<i>Lactococcus</i> spp.	Kontrol	5,53±0,21 ^{Aa}	4,97±0,09 ^{Ba}	4,93±0,07 ^{Bb}
	GS1	5,81±0,27 ^{Aa}	5,27±0,40 ^{ABa}	5,15±0,04 ^{Bab}
	GS2	5,96±0,55 ^{Aa}	5,47±0,28 ^{Aa}	5,40±0,24 ^{Aab}
	GS3	5,90±0,35 ^{Aa}	5,67±0,34 ^{Aa}	5,59±0,36 ^{Aa}
	GS4	6,33±0,26 ^{Aa}	5,22±0,22 ^{Ba}	5,19±0,21 ^{Bab}
Asetik asit bakterisi <i>Acetic acid bacteria</i>	Kontrol	5,93±0,12 ^{Aab}	5,28±0,06 ^{Bbc}	5,24±0,03 ^{Bbc}
	GS1	5,88±0,23 ^{Bbc}	6,58±0,07 ^{Aa}	6,55±0,07 ^{Aa}
	GS2	5,23±0,05 ^{Ac}	4,86±0,03 ^{Bd}	4,73±0,11 ^{Bd}
	GS3	5,99±0,41 ^{Aab}	5,44±0,29 ^{Ab}	5,42±0,32 ^{Ab}
	GS4	6,62±0,37 ^{Aa}	5,03±0,03 ^{Bcd}	5,00±0,12 ^{Bcd}
Maya-küf <i>Mold-yeast</i>	Kontrol	6,15±0,18 ^{Aa}	5,77±0,07 ^{Bb}	5,70±0,07 ^{Bb}
	GS1	6,04±0,42 ^{Aa}	6,53±0,08 ^{Aa}	6,48±0,08 ^{Aa}
	GS2	5,70±0,09 ^{Aa}	5,52±0,05 ^{Bb}	5,51±0,06 ^{Bb}
	GS3	5,80±0,27 ^{Aa}	5,46±0,19 ^{Ab}	5,38±0,20 ^{Ab}
	GS4	6,35±0,47 ^{Aa}	5,61±0,22 ^{ABb}	5,35±0,21 ^{Bb}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

*Different lowercase letters (a, b, c, d) in the same column and different capital letters (A, B, C, D) in the same row indicate the statistical difference between the mean values ($p<0,05$).

Sirkede meydana gelen bozulmalar, genellikle maya ve küf gibi istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesi sonucunda, ortam asitlik değerinin düşmesiyle gerçekleşmektedir (Giudici vd., 2017). Ayrıca, bu mikroorganizmalar oksidatif ve fermentatif aktivite, CO₂ kaynaklı bozunma ve diğer bozunma faktörlerinin aktivitelerine izin verdikleri için fermantasyon sırasında istenmezler. Ancak metabolizmalarının bir sonucu olarak diasetil gibi aroma maddeleri üreterek ürünün aroma gelişimine de yardımcı olabilirler. Bu çalışmada, LAB ilave edilen gül sirkesi gruplarında toplam maya-küf düzeyi 5,35-6,53 log KOB/mL aralığında belirlenmiştir. Depolamanın 3. gününde GS2 ve GS4 sirke örneklerinde maya-küf canlılığı azalmış ve tüm gruplar fermantasyonu, ortalama 5 log KOB/mL üzerinde tamamlamıştır. Bu sonuç, muhtemelen mayalanabilir şekerin birincil fermantasyon bittikten sonra ortamda kalması ve mayaların bu şekerleri tüketerek asit inhibisyonuna

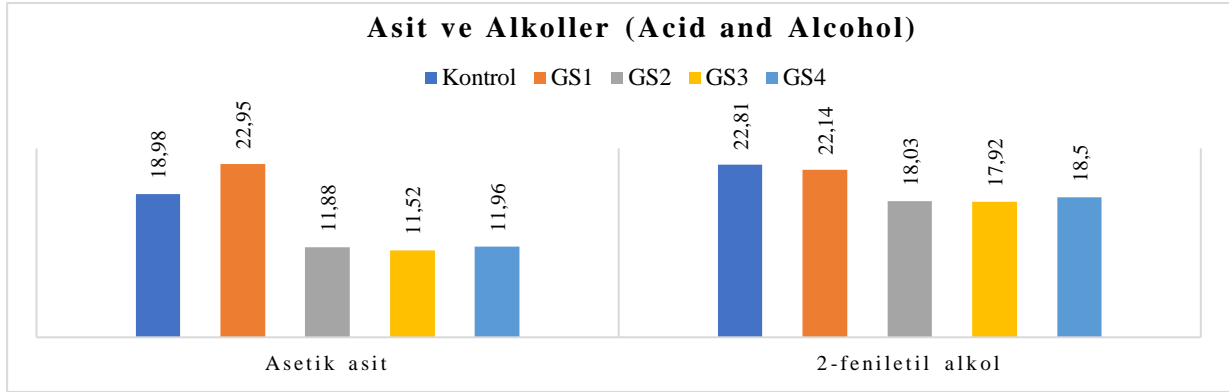
kadar ikincil fermantasyon aşamasında yer aldığı sonucunu düşündürmektedir. Fermente ürünlerde pH değerinin 4,5'in altına düşürülmesi ile *Enterobacteriaceae* gelişiminde sınırlayıcı faktör olabileceği bildirilmektedir (Özer ve Kalkan Yıldırım, 2018). Çalışmamız kapsamında da sirke örneklerinde fermantasyon sırasında ve sonunda *Enterobacteriaceae* saptanmamıştır. Ayrıca bu durum asetik asidin de laktik asit gibi diğer organik asitler ile beraber iyi bir koruyucu olmasından kaynaklı olabilir.

Gül sirkesi örneklerinde tespit edilen asit ve alkol ile terpen ve ester bileşiklerinin kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmaları ve toplam % alanları Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Sirke örneklerinde 24 adet uçucu bileşen saptanmış, bunların 2'si alkol, 3'ü asit, 10'u ester, 8'i terpen ve 1'inin ise aldehit grubundan oluştuğu tespit edilmiştir. Gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile öne

çıkan uçucu bileşenler; asetik asit, 2-feniletıl alkol, feniletıl asetat, etıl asetat, sitronelıl asetat, β -sitronellol, metıl öjenol ve gül-oksittir.

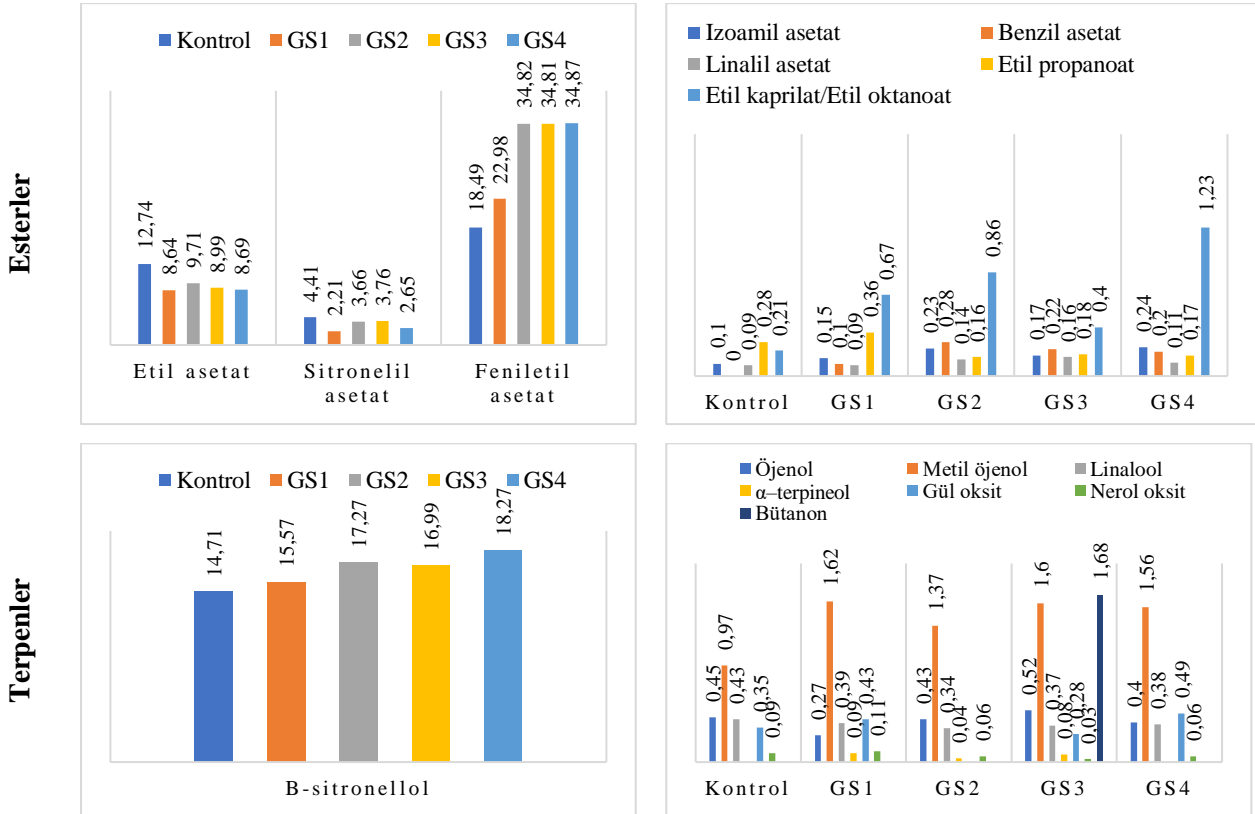
Laktik asit bakterilerinin yanı sıra mayaların da organik asit ürettiği bilinmektedir (Mukherjee vd. 2020). Çalışma kapsamında LAB ilave edilmeyen kontrol grubunda farklı miktarlarda organik asitlerin bulunması, gül sirkesinde doğal olarak bulunan mayalar tarafından da üretilebileceğini düşündürmüştür. Sirkenin ana ürünü, keskin ve ekşi tadın oluşmasında etkili olan asetik asit *L.*

plantarum içeren sirke grubunda %22,95 ile en yüksek oranda bulunmuştur. Bu durum aynı sirke grubunun asetik asit bakteri düzeyinin yüksek olması ile benzerlik göstermiştir. Çiçek, bal ve gül aromaları veren feniletıl alkol (eşik değeri; 0,2 mg/L) (FEMA, 2022) tespit edilen alkol grupları arasında en yüksek orana sahip bileşik olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, LAB ilaveli gül sirke örneklerinde ester gruplarından feniletıl asetat ve etıl asetat bazı araştırmacıların sonuçlarına benzer şekilde en sık rastlanan ester bileşikleridir (Öztürk vd., 2015; Şengün ve Kılıç, 2019).



Şekil 1. LAB ilave edilen gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile tespit edilen asit ve alkollerin kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmaları (%alan)

Figure 1. Classification of acids and alcohols detected by GC-MS in rose vinegar samples added to the LAB according to their chemical groups (area%)



Şekil 2. LAB ilave edilen gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile tespit edilen ester ve terpenlerin kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmaları (%alan)

Figure 2. Classification of esters and terpenes detected by GC-MS in rose vinegar samples added to the LAB according to their chemical groups (area%)

Etil asetat bileşiğinin üzüm şaraplarında yaygın bulunan bir ester olduğu ve bakteriyel fermantasyon sırasında üretildiği bildirilmektedir (Ribereau-Gayon vd., 2006). Çiçek, meyve, bal ve gül tatları (eşik değeri; 0,09 mg/L) (FEMA, 2022) veren feniletıl asetat kontrol grubuna göre *Lc. lactis* ve *E. faecium* içeren sirke gruplarında yüksek oranda belirlenmiştir. Bu sonuç, seçilen suşların hetero ve homo fermentatif özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu çalışma kapsamında sitronelıl asetat bileşiği gül sirkesi örneklerinde yaygın bulunan 3. ester bileşiğidir. Uçucu bileşen bulgularına göre narenciye ve gül aromaları veren β -sitronellol terpen bileşiği gül sirke örneklerinde yüksek oranda bulunarak aromaya katkıda bulunmuştur. Bunun yanında gül sirkesi örneklerinde gül oksit gibi gül bitkisine özgü terpen türevi bileşiklerde ortaya çıkmıştır. Bu durum LAB ilaveli sirke örneklerinin aromatik ve biyoaktif sirke üretimi için uygun hammadde içeriklerine sahip olabileceğini düşündürmektedir.

4. Sonuç

Bu çalışmada daha önceden farklı kaynaklardan izole edilen LAB, 16S rRNA dizi analizi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Başlatıcı kültür ve asit dirençliliği olan LAB'nin gül sirkesinin fermantasyonunda kullanımı; sirkenin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özelliklerini önemli düzeyde etkilemiştir. Kontrol grubuna kıyasla LAB ilave edilen sirke gruplarında bazı ester ve terpen miktarları daha yüksek oranda belirlenmiştir. Bu sonuç, kullanılan LAB'nin gül sirkesinin fonksiyonel özelliklerini desteklediğini göstermiştir. LAB ilave edilerek fermente edilen gül sirkesi örneklerinden elde edilen sonuçlar, *L. plantarum* içeren sirke grubunun depolama sonunda LAB ve asetik asit bakteri sayısının diğer sirke gruplarına göre daha yüksek düzeyde olduğunu göstermiştir. Gül sirkesi örneklerinin LAB düzeyi kullanılan suş çeşidine ve depolama süresine bağlı olarak değişmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan LAB suşları gül sirkesinin fermantasyonda mikrobiyal florayı kontrol altında tutup sirkede kalite parametrelerinin iyileştirilmesine ve fermantasyonun standartlaştırılmasına yardımcı olarak gül sirkesinin fonksiyonel özelliklerini destekleyebilir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur Gıda Tarım ve Hayvancılık

Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı Laboratuvarı imkânlarıyla gerçekleştirilmiştir.

6. Kaynaklar

Alizadeh, Z., and Fattahi, M. (2021). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated damask rose (*Rosa damascena*) from Iran: with chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, 288, 110341.

Alp, D. ve Öner, Z. (2014). Bazı laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlilikleri ve aroma maddeleri oluşturma özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 39(6), 331-337.

AOAC. (1992). Association of official analytical chemists. Washington: Official Methods of Analysis.

Azizi, F., Najafi, M.B.H. and Dovom, M.R.E. (2017). The biodiversity of *Lactobacillus* spp. from Iranian raw milk Motal cheese and antibacterial evaluation based on bacteriocin-encoding genes. *AMB Express*, 7(1):1–10.

Baydar, N.G. and Baydar, H. (2013). Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 41, 375-380.

Bayram, Y., Özkan, K. and Sağdıç, O. (2020). Bioactivity, physicochemical and antimicrobial properties of vinegar made from persimmon (*Diospyros Kaki*) peels. *Sigma: Journal of Engineering and Natural Sciences*, 38(3):1643-1652.

Budak, N.H., Aykin, E., Seydim, A.C., Greene, A.K. and Güzel-Seydim, Z.B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5), R757-R764.

Chen, Y., Huang, Y., Bai, Y., Fu, C., Zhou, M., Gao, B., ... and Xu, N. (2017). Effects of mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* in alcoholic fermentation on the physicochemical and sensory properties of citrus vinegar. *LWT*, 84, 753-763.

Edalati, M.R., Najafi, M.B.H., Mortazavi, S.A., Alegría, Á., Nassiri, M.R., Bassami, M.R., and Mayo B. (2012a). Microbial diversity of the

traditional Iranian cheeses Lighvan and Koozeh, as revealed by polyphasic culturing and culture-independent approaches. *Dairy Science Technology*, 92(1):75–90.

Edalatian, M. R., Habibi Najafi, M.B., Mortazavi, A. and Mayo, B. (2012b). The biodiversity and evolution of lactic flora during ripening of the Iranian semisoft Lighvan cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 81–89.

Ertürkmen, P. ve Öner, Z. (2015). Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3), 9-16.

FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual) (2001). Aerobic Plate Count. Available from: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/lab-ora-torymethods/ucm063346.htm> [Accessed 25 July 2017].

FEMA. (2022). The flavor and extract manufacturers association.

Galal, T.M., Al-Yasi, H.M., Fawzy, M.A., Abdelkader, T.G., Hamza, R.Z., Eid, E.M. and Ali, E. F. (2022). Evaluation of the phytochemical and pharmacological potential of taif's rose (*Rosa damascena* Mill var. *trigintipetala*) for possible recycling of pruning wastes. *Life*, 12(2), 273.

Giudici, P., De Vero, L. and Gullo, M. (2017). Vinegars. Chapter 10. In *Acetic acid bacteria: Fundamentals and Food Applications* (Ed. Şengün, I.Y.). CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 261-287p.

Güçer, Y. (2016). *Bazı üzüm çeşitlerinde farklı proses uygulamalarının üzüm şirasının aroma bileşenleri üzerindeki etkisi* (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara

Hamza, R.Z., Al-Yasi, H.M., Ali, E.F., Fawzy, M.A., Abdelkader, T.G. and Galal, T.M. (2022). Chemical characterization of Taif Rose (*Rosa damascena* Mill var. *trigintipetala*) waste methanolic extract and its hepatoprotective and antioxidant effects against cadmium chloride (CdCl₂)-induced hepatotoxicity and potential anticancer activities against liver cancer cells (HepG₂). *Crystals*, 12(4), 460.

Hidalgo, C., Vegas, C., Mateo, E., Tesfaye, W., Cerezo, A.B., Callejón, R.M., ... and Torija, M. J. (2010). Effect of barrel design and the inoculation of *Acetobacter pasteurianus* in wine vinegar

production. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 56-62.

Karabıyıklı, S. and Şengün, I.Y. (2017). Beneficial effects of acetic acid bacteria and their food products. Chapter 13. In *acetic acid bacteria: Fundamentals and Food Applications* (Ed. Şengün, I. Y.). CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 221-242p.

Labban, L. and Thallaj, N. (2020). The medicinal and pharmacological properties of Damascene Rose (*Rosa damascena*): A review. *International Journal of Herbal Medicine*, 8, 33-37.

Lei, M. (2000). Function of microorganisms and enzymes in vinegar production by solid state fermentation. *Chinese Condiment*, 9, 20-22.

Lertworapreecha, N., Poonsuk, K. and Chalermchakit, T. (2011). Selection of potential *Enterococcus faecium* isolated from Thai native chicken for probiotic use according to the in vitro properties. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 33 (1).

Maragkoudakis, P., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B. and Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16, 189-199

Mileva, M., Ilieva, Y., Jovtchev, G., Gateva, S., Zaharieva, M. M., Georgieva, A., ... and Najdenski, H. (2021). Rose flowers A delicate perfume or a natural healer?. *Biomolecules*, 11(1), 127.

Moein, M., Etemadfard, H. and Zarshenas, M. M. (2016). Investigation of different Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) oil samples from traditional markets in Fars (Iran); focusing on the extraction method. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 51-58.

Muñoz-Quezada, S., Chenoll, E., Vieites, J.M., Genovés, S., Maldonado, J., Bermúdez-Brito, M., ... and Gil, A. (2013). Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I4036) from the faeces of exclusively breast-fed infants. *British Journal of Nutrition*, 109 (2), 51-62.

Mukherjee, A., Verma, J.P., Gaurav, A.K., Chouhan, G.K., Patel, J.S. and Hesham, A.E.L. (2020). Yeast a potential bio-agent: future for plant growth and postharvest disease management for sustainable agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(4), 1497-1510.

- Nie, J., Li, Y., Xing, J., Chao, J., Qin, X. and Li, Z. (2019). Comparison of two types of vinegar with different aging times by NMR-based metabolomic approach. *Journal of Food Biochemistry*, 43(5), e12835.
- Öztürk, I., Çalışkan, O., Tornuk, F., Özcan, N., Yalçın, H., Başlar, M. and Sağdıç, O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 63(1), 144–151.
- Özdemir, G.B. (2019). *Alıç sirkesinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi*. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi), 83 sy.
- Özdemir, G.B., Özdemir, N., Ertekin-Filiz, B., Gökırmaklı, Ç., Kök-Taş, T. and Budak, N. H. (2022). Volatile aroma compounds and bioactive compounds of hawthorn vinegar produced from hawthorn fruit (*Crataegus tanacetifolia* (lam.) pers.). *Journal of Food Biochemistry*, 46(3), e13676.
- Özdemir, N. and Budak, N.H. (2022). Bioactive compounds and volatile aroma compounds in rose (*Rosa damascena* Mill.) vinegar during the aging period. *Food Bioscience*, 50, 102062.
- Özdemir, N., Pashazadeh, H., Zannou, O. and Koca, I. (2022). Phytochemical content, and antioxidant activity, and volatile compounds associated with the aromatic property, of the vinegar produced from rosehip fruit (*Rosa canina* L.). *LWT*, 154, 112716.
- Özer, C. and Kalkan Yıldırım, H. (2018). Production of pickles by mixed culture fermentation. *The American Journal of Chemical Applied*, 5, 57-68.
- Reis, N.A., Saraiva, M.A., Duarte, E.A., de Carvalho, E.A., Vieira, B.B. and Evangelista-Barreto, N.S. (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 121 (3), 811-20.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. (2006). Alcohols and other volatile compounds. *Handbook of Enology*, 51-64. John Wiley and Sons, Ltd.
- Ricci, A., Cirlini, M. and Levante, A. (2018). Volatile profile of elderberry juice: Effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains. *Food Research International*. 105:412–22.
- Sanchez-Palomo, E., Diaz-Maroto, M. C. and Perez-Coello, M. S. (2005). Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. *Talanta*, 66(5), 1152-1157.
- Şengün, I.Y., Kılıç, G., Charoenyingcharoen, P., Yukphan, P. and Yamada, Y. (2022). Investigation of the microbiota associated with traditionally produced fruit vinegars with focus on acetic acid bacteria and lactic acid bacteria. *Food Bioscience*, 47, 101636.
- Şengün, I.Y., Kılıç, G. and Ozturk, B. (2020). Screening physicochemical, microbiological and bioactive properties of fruit vinegars produced from various raw materials. *Food Science and Biotechnology*, 29(3): 401–408.
- Wu, J.J., Ma, Y.K., Zhang, F.F. and Chen, F. S. (2012). Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of “Shanxi aged vinegar”, a traditional Chinese vinegar. *Food Microbiology*, 30(1), 289-297.
- Xie, J., Li, M.X., and Du, Z.Z. (2022). Chemical compounds, anti-aging and antibacterial properties of *Rosa rugosa* Purple branch. *Industrial Crops and Products*, 181, 114814.
- Younis, I.Y., El-Hawary, S.S., Eldahshan, O.A., Abdel-Aziz, M.M. and Ali, Z.Y. (2021). Green synthesis of magnesium nanoparticles mediated from *Rosa floribunda* charisma extract and its antioxidant, antiaging and antibiofilm activities. *Scientific Reports*, 11(1), 1-15.

Özgün Araştırma/Original Article

Gıda, yem ve tohumda multipleks GDO tarama testi geliştirilmesi ve validasyon çalışmaları

Development and validation studies of multiplex GMO screening test in food, feed, and seed

Nihal AKMAN^{1*}, Adnan Fatih DAĞDELEN^{1*}

¹Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA-TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0003-4611-9106, Gıda Yük. Müh,

²Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, BURSA-TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0002-6777-273X, Dr. Öğr. Üyesi

*Corresponding author/Sorumlu yazar: nihal.akman@tarimormman.gov.tr

Geliş Tarihi : 17.03.2023

Kabul Tarihi : 06.10.2023

Öz

Giriş: Genetik Modifiye Organizmaların (GDO) kontrol analizlerinin ilk aşamasında GDO tarama analizi yer almaktadır. GDO'lu ürünlerin %90'ından fazlasında genetik modifikasyonu gösteren bölgeler; 35S promotor, NOS terminator ve FMV promotor bölgeleridir. Ticari kitleler de genel olarak bu bölgeleri taramak için üretilmiştir. Bu bölgeler tarandığında daha az ileri analize ihtiyaç duyulmaktadır. Ticari kitleler kullanım kolaylığı sağlaması nedeni ile tercih edilmekte ancak analiz maliyetini artırmaktadır. Bu çalışmada multipleks test materyalinin laboratuvar içi metot olarak hazırlanması ile maliyetin düşürülmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Çalışmada ilk etapta bileşenler uygun oranlarda karıştırılarak GDO tarama testi hazırlanmıştır. Bu tarama testi ile daha sonra sertifikalı referans madde (CRM), gıda ve yem matrislerinde validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Tartışma ve sonuç: Planlanan bu çalışma sonucunda LOD (tespit limiti) seviyesi 10 DNA kopyası olan hassas ve analiz maliyeti ticari kite oranla daha düşük multipleks GDO tarama testi geliştirilmiştir. Bu testin yanlış negatiflik ve yanlış pozitiflik oranları %0 bulunmuştur. Asimetrik LOD sonucu tüm bölgeler için 10 kopya/10000 kopya olmuştur. Şartlardaki küçük değişiklikler ile 30 DNA kopyasının pozitif sonuç vermesi bu tarama testinin sağlamlık kriterine uygun olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: GDO; 35S; NOS; FMV; multipleks; validasyon; PCR

Abstract

Introduction: Genetically Modified Organisms (GMO) screening analysis is the first step of the GMO control analysis. Regions showing genetic modification in more than 90% of GMO products are 35S promoter, NOS terminator and FMV promoter regions. Commercial kits are also generally produced to scan these regions. Less further analysis is needed when these regions are scanned. Commercial kits are preferred due to their ease of use, but they increase the cost of analysis. In this study, it was aimed to reduce the cost by preparing the multiplex test material as an in-laboratory method.

Materials and methods: In the study, the GMO screening test was prepared by mixing the components in appropriate proportions in the first stage. With this screening test, validation studies were carried out on certified reference material (CRM), food and feed matrices.

Discussion and conclusion: As a result of this study, a multiplex GMO screening test with a LOD (limit of detection) level of 10 DNA copies was developed. False negative and false positive rates of this test were found to be 0%. The result of asymmetric LOD was 10 copies/10000 copies for all regions. The positive result of 30 DNA copies with minor changes in the conditions showed that this screening test complied with the robustness criteria.

Keywords: GMO; 35S; NOS; FMV; multiplex; validation; PCR

1. Giriş

Bünyelerine yabancı genler dahil edilerek genetik yapıları değişikliğe uğratan, yabancı genleri genomlarına entegre eden ve bu özellikleri gösteren organizmalara “genetik modifiye organizma (GDO)” denir (Şen ve Altınkaynak, 2014). GDO’lar; doğada kendiliğinden polenleşme veya tozlaşma yoluyla gerçekleşmesi mümkün olmayan, laboratuvar şartlarında genetik zincirde değişiklikler gerçekleştirmek suretiyle oluşturulan yeni organizmalar şeklinde tanımlanabilir (Kağıt ve Aslan, 2022). Ya da başka bir tanımla GDO’lar, sahip oldukları gen dizilimleri biyoteknolojik yöntemlerle değiştirilerek yeni özellikler kazandırılmış organizmalardır (Güngör ve Demiryürek, 2021). Yeni bir özellik için organizma genomuna doğal canlı organizmalardan alınan bir parça DNA ya da birkaç küçük DNA parçasından oluşan sentetik bir kombinasyonun eklenmesi ile bu işlem gerçekleştirilir (Atsan ve Kaya, 2008).

Genetik modifiye (GD) bitkiler, doğal yapılarında olmayan bir veya birden fazla genin bir şekilde genoma eklenerek bitkinin bir parçası haline getirilmesi ile oluşturulur. Dünya çapında GD bitkilerin üretimi sürekli artmaktadır (Clive, 2009). Kullanım amaçları tarım ürünlerine virüs, mantar, bakteri, parazit, herbisit ve böceklere karşı dayanıklılık kazandırılması; sıcaklık, kuraklık, rutubet ve tuzluluk gibi olumsuz faktörlere karşı tolerans kazandırılması; albenilerinin ve dayanıklılıklarının artırılması, tat, aroma ve kokularının değiştirilmesi, meyve oluşturma sürelerinin kısaltılması, besin değerlerinin iyileştirilmesi, sekonder metabolit (aşı, ilaç) üretiminin sağlanması ve verimliliklerinin artırılmasıdır. Geliştirilmelerinden bu yana; birçok alanda gündelik hayatımıza giren GDO’ların, en yaygın uygulama alanı bulduğu sektörler, tarım ve gıda sektörü olmuştur. Ancak, uzun süredir özellikle gıda olarak tükettiğimiz GDO’ların ve türevlerinin, insan sağlığı üzerinde; alerjik ve toksik etkiler oluşturma, antibiyotiklere direnç gelişimine neden olma, kanser oluşumunda rol oynama gibi olumsuzluklara yol açabileceğini savunan tartışmalar yapılmaktadır (Şen ve Altınkaynak, 2014).

Nüfus artışı nedeniyle meydana gelen beslenme yetersizliği sorununun giderilmesi amacıyla birim alandaki verimin artırılması, ekilebilir alanların artırılmasından daha fazla önem kazanmış ve çalışmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. Yeşil devrim dönemi de denilen 1965-1985 yıllarında klasik ıslah yöntemlerinin yanı sıra gübre, hormon, tarım ilaçları ve yeni teknolojik makineler kullanılarak tarımsal ürünlerin kalite ile veriminde kayda değer

artış sağlanmıştır. Ancak zamanla tarım ilaçlarının toprakta birikmesi ile sağlığa zararlı olmaları, klasik ıslah yöntemlerinin uzun süreçte gerçekleşmesi, yüksek iş gücü maliyeti gibi dezavantajlardan dolayı yeşil devrim ihtiyaçları karşılayamaz hale gelmiştir. Artan ihtiyaçlardan dolayı yeni arayışlar sonucunda GDO’lar ortaya çıkmıştır (Arvas ve Kaya, 2019). Tarımda GDO kullanımını savunanların temel iddiası, insan nüfusunun artmasına bağlı olarak ihtiyaç duyulacak gıda maddesinin yetersiz kalacağından, gelecekte insanlığın GDO’lu tohumlara muhtaç olacağıdır (Kağıt ve Aslan, 2022).

Uluslararası Zirai-Biyoteknoloji Uygulamaları Kuruluşu (ISAAA) verilerine göre biyoteknolojik ürünlerin ticarileştirilmesinin 24. yılı olan 2019’da, 29 ülkede 17 milyona yakın çiftçi tarafından 190,4 milyon hektar biyoteknolojik mahsul ekilmiştir. İlk biyoteknolojik mahsulün ticarileştirildiği 1996 yılında 1,7 milyon hektarlık ilk ekimden itibaren, 2019 yılı ekimi yaklaşık 112 katlık bir artışa işaret etmektedir. Bu nedenle, biyoteknolojik mahsuller, modern tarım tarihinde en hızlı benimsenen mahsul teknolojisi olarak kabul edilmektedir (ISAAA, 2023).

GDO’ların riski ilk olarak 1975’teki Asilomar Konferansı’nda tartışılmıştır. Araştırmacıların endişesi daha çok rekombinant DNA teknolojisi sonucu, toplum sağlığını tehdit edecek virüslerin yaratımı ve sızıntısı konusunda olmuştur. GDO’ları güvenlik ve beslenme açısından değerlendirmek üzere 1990, 1996 ve 2000 yıllarında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) görüşmeler düzenlemiştir. GD gıdalara yerleştirilen yeni proteinlerin allerjenitesinin değerlendirilmesi için 2000 yılında bir karar ağacı oluşturulmuştur. Buna göre allerjenite risk değerlendirme prosedürlerinin güvenilirliğinin artırılması gerektiği kararına varılmıştır (Öcal ve Işıklı, 2019).

Türkiye’de uygulamaya konan Biyogüvenlik Kanunu’nun ikinci bölümü madde 5’te Türkiye sınırları içerisinde GDO’lu bitki veya hayvan üretimi yasaklanmıştır. Ayrıca bir başka yasaklanan konu ise Türkiye’ye kurul kararı dahilinde ithal edilmiş olan GDO’lu ürünlerin amacı dışında kullanılmasıdır (Anonim, 2010). Böylece hayvan yemi olarak ithal edilen GDO’lu tarım ürünlerinin başka bir alanda kullanılması mevzuat ile yasaklanmıştır (Kağıt ve Aslan, 2022).

GDO oluşturulmasında en sık kullanılan promotor ve terminatör dizileri olarak; karnabahar mozaik virüsüne (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) ait

35S promotörü, figwort mozaik virüsüne ait FMV promotörü ve *Agrobacterium tumefaciens*'den alınan nopalın sentez NOS terminatörü kullanılır. GDO tarama işlemi sırasında bu spesifik gen bölgeleri hedef alınmaktadır. Bu şekilde ürün içerisinde GDO'nun varlığı tespit edilmiş olur. Bundan sonraki aşamada ise GDO'nun türü ve miktarının tespitine geçilir (Çetinkaya vd., 2019).

GDO'larda hedef dizilerin çeşitliliği nedeni ile tespit tekniklerinin çeşitleri de sürekli artmaktadır. Analitik çabayı en aza indirmek, ancak ileri analizlere geçmeden önce bir ön seçim yaparak gerçekleştirilebilir. Bunun için kullanılacak bir multipleks PCR Kit ile birden fazla bölge taranabilir. Karnabahar mozaik virüsünün (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) 35S geni, *Agrobacterium tumefaciens*'in sentez geni nopalinin sonlandırıcısı yani NOS geni, figwort mozaik virüsünün promotör geni FMV ve toprak bakterisi *Streptomyces hygroscopicus*'un bar geni GDO'larda en yaygın kullanılan dizilerdir (Dörries vd., 2010). Bu diziler gen aktarımını sağlayan dizilerdir. İstenilen gen dizisini eklemek için kullanılan bir nevi aracı gen dizileridir.

GDO bölgelerini tespit etmek amacıyla yapılmış tarama testleri ile ilgili literatürde yeralan bazı çalışmalar şu şekildedir; Dörries vd. (2010) GDO'larda yaygın kullanılan bölgelere yönelik (35S/NOS/FMV/bar/plant) yaptıkları bir çalışmada multipleks tarama testi geliştirip ticari kit olarak (foodproof GMO Screening Kiti, BIOTECON Diagnostics GmbH, Potsdam, Germany) piyasaya sunmuşlardır. Hançerlioğulları ve Yılmaz (2023) da foodproof GMO Screening Kiti kullanarak yaptıkları çalışmada bu kalitatif tarama testlerinin güvenilir sonuçlar verdiğini, dolayısıyla kontrol laboratuvarlarında izleme için başarıyla kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Cottenet vd. (2019) daha geniş bir aralığı kapsamak için, iki tane real-time PCR reaktif tasarlamıştır. Bunların ilki altı GD bölgesini (p-35S, t-NOS, p-FMV, t-E9, Pat ve Cry1Ab/c), ikincisi bunları içermeyen GD tiplerinden olan 6 GD tipini (DAS-40278-9, VCO-1981-5, 305423, CV127, GHB614 ve 73496) kapsayan PCR reaktifleridir. Bu yöntemde fast PCR kullanılmış ve sonuç alma süresinde daha fazla azalma sağlanmıştır. Bahrdt vd. (2010) yılında yaptıkları çalışma ile GDO hedeflerinden en az birini içeren ve 100'den fazla onaylı GDO'nun taranmasını sağlayan bir heksapleks real-time PCR tarama testi geliştirmiş ve validasyon çalışmaları ile doğrulamışlardır. Guo vd. (2012), yaptıkları çalışma ile 90'dan fazla onaylı GDO tipinin içerdiği 8 bölgeyi (CP4-EPSPS, bar, pat, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1A (b/c), mCry3A ve Cry3Bb1) bir arada tarayan

quadrepleks PCR testi geliştirmiş ve hassasiyetini (LOD) 80 kopya olarak tespit etmişlerdir. Waiblinger vd. (2008), gıda ürünlerinde GDO'ları tespit etmek için bir P35S ve t-NOS dupleks real-time PCR tarama yönteminin validasyonunu laboratuvarlar arası ortak çalışma ile gerçekleştirmişlerdir. Tespit limitini 10 DNA kopyası olarak bulmuşlardır. Sistemin doğruluk ve hassasiyetini ölçmek için 35S/NOS pozitif olan Bt11, sadece NOS pozitif olan GA21 ve sadece 35S pozitif olan MON810 CRM'leri kullanılmıştır. Doğrulama verilerinin çoğu Avrupa GDO Laboratuvarları Ağı (ENGL) minimum performans gereksinimlerini karşılamıştır. Grohmann vd. (2017), 6 GD soya fasulyesi tipinin (MON 87701, MON 87708, MON 87769, DP-305423, CV-127 ve DAS-68416) 6'lı olarak tarama testini geliştirmişler ve laboratuvarlar arası ortak çalışma ile validasyon çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Debode vd. (2017), GDO tespiti için iki singlepleks (tE9 ve pea lektin) ve bir dupleks (pat/bar) gerçek zamanlı PCR yönteminin validasyonu için laboratuvarlar arası çalışmalar yapmışlardır. Bu yöntemin amaca uygun olduğunu ve GDO tarama tespiti için kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir. Huber vd. (2013), pentapleks metot ile 5 GDO bölgesinin (P-35S, t-NOS, ctp2-cp4-epsps) laboratuvarlar arası çalışma ile validasyonunu gerçekleştirmişler ve hedeflenen diziler için 20 kopyanın altında tespit limitine ulaşmışlardır. Bu tarama testi ile dünya çapında uygulanan en yaygın GDO bölgelerinin tespit edilebileceğini, bu metodun rutin GDO analizinde uygulanması ile GDO taraması için maliyet ve zaman açısından tasarruf sağlanacağını söylemişlerdir. Eugster vd. (2014), tetrapleks (P-35S, t-NOS, T-35S and P-FMV) real-time PCR metodu geliştirmiş ve doğrulamışlardır. Ayrıca sistemin sağlamlığını laboratuvarlar arası testlerle de göstermişlerdir. Bu yöntemin, GDO bölgelerini tespitinde hassas ve güvenilir bir tarama prosedürü sağladığı sonucuna varmışlardır.

Bu çalışma ile gıda, yem ve tohumlarda multipleks GDO tarama testi geliştirilmesi ve validasyon yapılması planlanmıştır. Literatürde yer alan çalışmalardan farklı olan yanı Türkiye'deki kamu ve özel laboratuvarlarında metot birlikteliği kapsamında çalışılması gereken bölgelerin hedeflenmiş olmasıdır. Bunlar; 35S, NOS, FMV, plant gen bölgeleri olup aynı zamanda ticari kitlerin de hedeflediği bölgelerdir. Bu kapsamda her bir gen bölgesi için gerekli primerler ve farklı boyalar ile boyanmış probalar temin edilmiştir. Dupleks ve single iki metot birleştirilerek tripleks şeklinde bir multipleks metot oluşturmak amaçlanmıştır. Farklı bölgelere ait primer-

probların aynı miks içerisinde birleştirilip karıştırılması ile multipleks tarama miksi elde edilmiştir. Daha sonra bu kitin metot validasyonu gerçekleştirilmiştir.

Biyogüvenlik Kanunu çerçevesinde Türkiye’de GDO analizleri kamu ve özel gıda kontrol laboratuvarlarında yapılmaktadır. GDO tarama analizlerinde çoğunlukla ticari kit metodu kullanılmaktadır. Kit metodu, kullanım kolaylığı ve hassasiyeti nedeni ile tercih edilmektedir. Ancak oldukça pahalı olan GDO analizlerinde maliyetin önemli kısmını kit maliyeti oluşturmaktadır. Tanımlama (var/yok) analizleri için kit fiyatları değişken olmakla birlikte 6-46 €/test şeklindedir (Gruden vd., 2012). Bu durum analiz yaptırmak

durumunda olan sanayici, çiftçi ve üreticide memnuniyetsizlik yaratmaktadır. Kit metodu yerine, laboratuvar ortamında kit benzeri metot oluşturulması maliyet açısından avantaj sağlayacaktır.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

2.1.1. Master miks ve oligonükleotit primerler

Çalışmada PCR master miksi olarak TaqMan™ Universal PCR Master Miks (Cat no: 4304437) kullanılmıştır. Tarama test materyali için kullanılan primer-prob gen dizilimleri ise Çizelge 1’de listelenmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan primer-problar ve gen dizilimleri

Adı	Oligonükleotidler	DNA dizilimi (5' to 3')	Referans
35S promotor	Forward primer	GCC TCT GCC GAC AGT GGT	European Commission (2011); Waiblinger vd.
	Reverse primer	AAG ACG TGG TTG GAA CGT CTT C	
	Probe	FAM-CAA AGA TGG ACC CCC ACC CAC G- BHQ1	
NOS terminatör	Forward primer	CAT GTA ATG CAT GAC GTT ATT TAT G	European Commission (2011); Waiblinger vd.
	Reverse primer	TTG TTT TCT ATC GCG TAT TAA ATG T	
	Probe	YY-ATG GGT TTT TAT GAT TAG AGT CCC GCA A-BHQ1	
FMV promotor	Forward primer	CAA AAT AAC GTG GAA AAG AGC T	European Commission (2017).
	Reverse primer	TCT TTT GTG GTC GTC ACT GC	
	Probe	CY5-CTG ACA GCC CAC TCA CTA ATG C-BHQ2	
Plant	Forward primer	ATT GAG CCT TGG TAT GGA AAC CT	Taberlet vd. (1991)
	Reverse primer	GGA TTT GGC TCA GGA TTG CC	
	Probe	FAM-TTA ATT CCA GGG TTT CTC TGA ATT TGA AAG TT - TAMRA	

2.1.2. Sertifikalı referans malzemeler (CRM) ve numuneler

Asimetrik LOD çalışmaları için 35S içeren A5547 (AOCS 0707-C8), NOS içeren FG72 (AOCS 0610-A5), FMV içeren 87705 (AOCS 0210-A2) soya CRM’leri; LOD, yanlış negatiflik ve sağlamlık çalışmalarında 35S-NOS-FMV’yi içeren MON89034 (AOCS 906-E2) mısır CRM’i kullanılmıştır. Yanlış pozitiflik (YP) ve yanlış negatiflik (YN) çalışmalarında işlenmiş gıda olarak bisküvi, işlenmemiş gıda olarak mısır özü, yem olarak damıtık mısır + çözünür madde (DDGS) ve tohum olarak da mısır tohumu çalışılmıştır. Çalışma negatif kontrolü olarak sterilize su kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

Çalışma öncesinde CRM’ler ve numunelerin DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Hazırlanacak GDO tarama testinin validasyonu için yapılacak çalışmalar Çizelge 2’deki gibi planlanmıştır. Çalışma parametreleri ve sayıları rehber

dokümanlara göre belirlenmiştir (Broeders vd., 2014; ENGL, 2015; ENGL, 2017; Anonim, 2018; ENGL 2021).

Çizelge 2. Validasyon çalışmasında yapılan analizler ve tekerrür sayıları

Materyal	LOD	Asimetrik	Sağlamlık	YP	YN
CRM	40	30	30		
İşlenmiş Gıda				10	10
İşlenmemiş Gıda				10	10
Yem				10	10
Tohum				10	10
Toplam	40	30	30	40	40
Genel Toplam			180		

Çizelge 3 ve 4’te PCR master miks karışım oranları verilmiştir. GDO tarama analizinde 35S, NOS, FMV birleştirilerek üçlü metot şeklinde, plant geni (bitki DNA’sı) analizi ise tek başına çalışılmıştır.

Çizelge 3. Plant tarama analizi PCR master miks çözeltisindeki bileşenlerin oranları

Bileşen türü	Bileşen adı	Konsantrasyon	Hacim (µL)
Reaktif çözeltisi	TaqMan® Universal PCR Master Mix (2x)	1x	12,5
	Forward primer (10 µM)	300 nM	0,75
Plant primer-prob	Reverse primer (10 µM)	300 nM	0,75
	Prob (10 µM)	200 nM	0,5
Su	Nuclease free water		5,5
Numune	DNA		5

Plant geni çalışması ile hem bitkisel DNA elde edilip edilmediği yani izolasyon kontrolü hem de inhibisyon

kontrolü sağlanmıştır. Numune miktarı maksimum 40 ng/µL olacak şekilde ayarlanmıştır.

Çizelge 4. GDO tarama analizi PCR master miks çözeltisindeki bileşenlerin oranları.

Bileşen türü	Bileşen adı	Konsantrasyon	Hacim (µL)
Reaktif çözeltisi	TaqMan® Universal PCR Master Mix (2x)	1x	12,5
	Forward primer (10 µM)	100 nM	0,25
35S primer-prob	Reverse primer (10 µM)	100 nM	0,25
	Prob (10 µM)	100 nM	0,25
	Forward primer (100 µM)	1000 nM	0,25
NOS primer-prob	Reverse primer (100 µM)	1000 nM	0,25
	Prob (10 µM)	200 nM	0,5
	Forward primer (10 µM)	340 nM	0,85
FMV primer-prob	Reverse primer (10 µM)	340 nM	0,85
	Prob (10 µM)	120 nM	0,3
	Forward primer (10 µM)		
Su	Nuclease free water		3,75
Numune	DNA		5

2.2.1. DNA izolasyonu ve spektrofotometre ölçümleri

CRM ve numunelerin DNA izolasyonunda ticari kit GENESpin DNA Ekstraksiyon Kiti (Eurofins GENESpin, 2016) protokolü uygulanmıştır. DNA izolatlarının spektrofotometrik ölçümleri Thermo Scientific Nanodrop 2000 Spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.2. Real-time PCR ve amplifikasyon koşulları

Tüm validasyon çalışmaları Qiagen Rotor Gene Q cihazında yapılmıştır. Sağlık çalışması için farklı marka PCR cihazı olarak Applied Biosystems 7500 Fast kullanılmıştır. PCR şartları; UNG 50°C'de 120 sn, başlangıç denatürasyonu 95°C'de 600 sn, 45 döngü amplifikasyon (denatürasyon 95°C'de 15 sn, annealing ve uzama aşaması 60°C'de 60 sn) şeklinde ayarlanmıştır. Okumanın yapıldığı son aşama için FAM, YY ve CY5 boyları seçilmiştir.

2.2.3. Tespit limiti (LOD)

Tespit limiti, bir test numunesinde güvenilir bir şekilde tespit edilebilen minimum analit miktarı

olarak tanımlanır. 35S, NOS ve FMV bölgelerini içeren %100 MON 89034 mısır CRM'inden 20, 10, 5 ve 1 kopya zorunlu olmak üzere en az 3 farklı seviyede (beklenen LOD üstü ve altı olacak şekilde) seyreltmeler yapılmış ve her biri 10 tekrar şeklinde GDO tarama analizine tabi tutulmuştur. Bu parametrede yanlış negatif oranının %5'den az olması gereklidir. Bu durum 10 PCR tekrarının pozitif olması ile sağlanabilmektedir. Bu nedenle her üç bölgenin de 10 tekrar ölçüm sonucunun pozitif olduğu en düşük seviye LOD değeri olarak kabul edilmiştir.

2.2.4. Asimetrik LOD (LODasym)

Asimetrik LOD (LODasym) multipleks kalitatif PCR testleri için validasyon parametrelerinden biridir. LODasym için hedeflenen bölgenin düşük miktardaki analitin, diğer bölgelerdeki yüksek konsantrasyondaki analit varlığı karşılığında tespit edilebilirliği ölçülmüştür. %95'lik güven seviyesinde yanlış negatif sonuçların %5'i geçmemesi gerekmektedir.

GDO tarama testi ile yapılan LODasym çalışması için sadece 35S bölgesini içeren %100'lük A5547, sadece NOS bölgesini içeren %100'lük FG72 ve

sadece FMV bölgesini içeren %100'lük MON87705 Soya CRM'leri kullanılmıştır. Metot, hedef bölgenin 10 kopya, diğer bölgelerin 10000 kopya analit varlığında (1:1000 oranında), 10'ar paralel şekilde teste tabi tutulmuştur.

2.2.5. Sağlık

Bu yöntemin sağlık testi, deney koşullarındaki kasıtlı sapmalar ile test edilmiştir. Sağlık çalışmaları 35S, NOS ve FMV'yi içeren MON 89034 ile LOD'nin 3 katı olarak 3'er tekerrür olarak çalışılmıştır. Prosedüre uygun faktörlere karşı değiştirilmiş faktörler çalışılarak test edilmiştir. Sağlık çalışmasında kullanılan faktörler şu şekildedir:

- Termal döngüleyicideki değişiklik için; iki farklı marka PCR cihazı kullanılmıştır (Applied Biosystems 7500 Fast ve Qiagen Rotor Gene Q 5'plex).
- Master miks konsantrasyonundaki değişiklik için konsantrasyon %10 azaltılıp %10 artırılmıştır.
- Reaksiyon hacmindeki değişiklik için; reaksiyon hacmi 1 µl azaltılıp 1 µl artırılmıştır.
- Primer ve prob konsantrasyonlarındaki değişiklik için konsantrasyon %30 azaltılmıştır.
- Tavlama (annealing) sıcaklığındaki değişiklik için sıcaklık 1°C azaltılıp 1°C artırılmıştır.

2.2.6. Yanlış pozitiflik

Yanlış pozitiflik oranı, bilinen negatif bir örneğin kullanılan metotla pozitif olarak tanımlanması olasılığı olup yüzdesel olarak ifade edilmektedir. Yem, tohum ve gıdalarda (işlenmiş ve işlenmemiş) her bir ürün için 2 ekstraktta 5 tekrarlı çalışma yapılmıştır. Çalışmada %95 güven aralığında aşağıda belirtilen formüle göre yanlış pozitif oranı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Yanlış Pozitif Sonuç} = (\text{Pozitif tespit edilen negatif örnek sayısı} / \text{Bilinen tüm negatif örneklerin sayısı}) \times 100$$

2.2.7. Yanlış negatiflik

Yanlış negatiflik oranı, bilinen pozitif bir örneğin kullanılan metotla negatif olarak tanımlanması olasılığı olup yüzdesel olarak ifade edilmektedir. Yem, tohum ve gıdalarda (işlenmiş ve işlenmemiş) her bir ürün için 2 ekstraktta 5 tekrarlı çalışma yapılmıştır. Verifikasyonu yapılan gen bölgelerini içerecek şekilde maksimum eşik değeri seviyesinde CRM ile spike yapılarak elde edilen pozitif numuneler teste tabi tutulmuştur. Çalışmada %95 güven aralığında aşağıda belirtilen formüle göre yanlış negatif oranı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Yanlış Negatif Sonuç} = (\text{Negatif tespit edilen pozitif örnek sayısı} / \text{Bilinen tüm pozitif örneklerin sayısı}) \times 100$$

Çizelge 5. Çalışmada kullanılan CRM ve numunelerin DNA miktar ve saflıkları

Numune adı	İçeriği	Nükleik asit	Saflık
		konsantrasyonu (ng/µl)	(260 nm / 280 nm)
CRM MON89034	FMV, NOS ve 35S içeren %100 Mısır	65,5	1,84
CRM MON87705	FMV içeren %100 Soya	110,9	1,84
CRM FG72	NOS içeren %100 Soya	119,4	1,78
CRM A5547	35S içeren %100 Soya	111,8	1,81
İşlenmiş gıda	Bisküvi A	36,6	1,68
İşlenmiş gıda	Bisküvi B	34,2	1,9
İşlenmemiş gıda	Mısır özü A	104,6	1,8
İşlenmemiş gıda	Mısır özü B	121,5	1,52
Tohum	Mısır tohumu A	70,5	1,71
Tohum	Mısır tohumu B	89,5	1,63
Yem	DDGS A	23,7	1,38
Yem	DDGS B	36,4	1,34

3. Tartışma ve sonuç

3.1. DNA izolasyonu

DNA ekstraksiyonu sonucu elde edilen izolatların DNA miktarı (nükleik asit konsantrasyonu) ve saflıkları nanodrop spektrofotometre ile ölçülmüştür. CRM'ler tek, numuneler ise iki paralel şekilde izole edilmiştir. Çizelge 5'te gösterilen CRM'lerin DNA miktarları daha sonraki aşamalarda kopya sayısı ayarlamalarında kullanılmıştır. Numuneler ise maksimum 40 ng/μl olacak şekilde ayarlanmıştır.

DNA ve RNA çözeltileri ışığı kısmen 280 nm'de ve protein çözeltileri 260 nm'de soğurduğundan 260 ve 280 nm (A260/A280) ölçüm aralığındaki bir oran, nükleik asitlerin saflık değerini verir. DNA ve RNA yaklaşık olarak 1,8 ve 2,0 değerlerinde A260/A280'e sahiptir. Saf DNA yaklaşık 1,8 saf RNA ise yaklaşık 2,0 değerini vermelidir. Eğer proteinden kaynaklanan bir kontaminasyon varsa A260/A280 yukarıda verilen değerlerden daha az olacaktır (Somma, 2006). Saflık 2,0'ın üstü bir değerde ise RNA'se ile muamele veya saflaştırma kolonu gibi uygulamalar ile bu değer düşürülebilir. Ancak düşük değerlerde yükseltilmez, olduğu gibi analize alınır. DNA izolasyonu sonucunda CRM ve numunelerin saflıkları ve miktarları bu çalışma için yeterli olarak elde edilmiştir.

3.2. Tespit limiti (LOD) çalışması

%100'lük MON89034 mısır CRM'i ile hazırlanan 20, 10, 5, 1 DNA kopyası ve 10'ar tekerrürlü yapılan LOD çalışması sonucu Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. LOD çalışması analiz sonuçları

Kopya sayısı	Pozitif sonuç sayısı			
	35S	NOS	FMV	Plant
20	10/10	10/10	10/10	10/10
10	10/10	10/10	10/10	10/10
5	6/10	8/10	6/10	6/10
1	4/10	3/10	1/10	4/10

Mevcut çalışmada LOD değeri bütün bölgelerde tekrarların tümünün tespit edildiği en düşük değer olan 10 kopya olarak bulunmuştur. Dörries vd. (2010) geliştirdikleri foodproof GMO Screening Kiti (BIOTECON Diagnostics GmbH, Potsdam, Germany) ile belirlenen bölgelere (35S/NOS/FMV/bar/plant) yönelik yaptıkları çalışmada da tespit limitini 10 hedef kopya/reaksiyon olarak belirlemişlerdir. İki gerçek zamanlı PCR reaktifinin tasarlandığı bir diğer çalışmada ise FAST PCR kullanılmış ve sonuç

alma süresinde daha fazla azalma olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada yöntem geniş bir tarama kapasitesi göstermiş ve LOD değerinin 20 kopyanın altında olduğu rapor edilmiştir (Cottenet vd., 2019). Taranan bölge sayısı arttıkça hassasiyetin azalması söz konusu olabilir. Nitekim Guo vd. (2012), yaptıkları çalışma ile quadrupleks PCR testi ile hassasiyeti (LOD) 80 kopya olarak tespit etmişlerdir. Bunun tersi olarak eş zamanlı daha az bölgenin taranması ise hassasiyeti arttırabilir. Örneğin iki singlepleks (tE9 ve pea lektin) ve bir dubleks (pat/bar) real-time PCR yönteminin laboratuvarlar arası çalışmalar ile validasyonu sonucunda LOD değeri 5 kopya olarak bulunmuştur (Debode vd., 2017).

3.3. Asimetrik LOD (LODasym) çalışması

CRM'lerin seviyesini 10/10000 DNA kopyası şeklinde ayarlayarak yapılan LODasym sonuçları Çizelge 7'de verilmiştir.

Çizelge 7. Asimetrik LOD çalışması analiz sonuçları

Kopya sayısı ayarlanmış CRM karışımı	Pozitif sonuç sayısı		
	35S	NOS	FMV
10 kopya 35S			
10000 kopya NOS	10/10	10/10	10/10
10000 kopya FMV			
10000 kopya 35S			
10 kopya NOS	10/10	10/10	10/10
10000 kopya FMV			
10000 kopya 35S			
10000 kopya NOS	10/10	10/10	10/10
10 kopya FMV			

LODasym çalışması ile multipleks GDO tarama testinde hedeflenen bölge için düşük miktardaki analitin, diğer bölgelerin yüksek konsantrasyondaki analit varlığı karşılığında tespit edilebilirliği ölçülmüştür.

Çalışma sonucunda diğer bölgelerin 10000 kopya varlığında hedef bölgenin 10 kopyası tespit edilmiştir. Tüm paralellerde pozitif sonuç vermesi nedeniyle (%95'lik güven seviyesinde, yanlış negatif sonuçların %5'i geçmemesi ile) elde edilen sonuçlar kabul kriterini karşılamaktadır. Bahrtd vd. (2010) yaptıkları çalışma ile GDO hedeflerinden en az birini içeren 100'den fazla onaylı GDO'yu kapsayan bir heksapleks, real-time PCR tarama testi geliştirmişler ve LODasym çalışması ile diğer tüm GDO hedeflerinin 1000 kopyasının varlığında her bir GDO sisteminin hassasiyetini ≤ 10 hedef

kopyası olarak tespit etmişlerdir. Huber vd. (2013), geliştirdikleri pentapleks metodun LODasym değerini diğer hedeflerin 20000 kopyasında P-35S, pat ve ctp2-cp4-epsps hedefleri için 20 kopya, T-NOS için 1040 kopya bulmuşlardır. T-NOS en düşük duyarlılığa sahip bölge olmuştur. Debody vd. (2017), pat/bar dupleks metodunun LODasym analizi için Bt11 ve Bt176 CRM'leri her iki hedef için 1:1000 asimetrik hedef seviyesinde

karıştırılmıştır. Diğer hedefin 20000 kopyasında bir hedefin 20 kopyası analiz edilmiştir. Altı tekrarlı analiz ile beklenen elde edilmiş ve 20 kopya tespit edilmiştir.

3.4. Sağlık çalışması

Analiz prosedüründe küçük değişiklikler uygulanarak yapılan sağlık analizinin sonuçları Çizelge 8'de verilmiştir.

Çizelge 8. Sağlık çalışması analiz sonuçları

Faktörler		Pozitif sonuç sayısı			
		35S	NOS	FMV	Plant
Kontrol	Normal şartlarda	3/3	3/3	3/3	3/3
Farklı marka PCR cihazı	ABI	3/3	3/3	3/3	3/3
Master miks konsantrasyonu	%10 azaltılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
	%10 artırılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
Reaksiyon hacmi	1 µl azaltılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
	1 µl artırılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
Primer konsantrasyonu	%30 azaltılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
Prob konsantrasyonu	%30 azaltılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
Tavlama sıcaklığı	1 °C azaltılınca	3/3	3/3	3/3	3/3
	1 °C artırılınca	3/3	3/3	3/3	3/3

Tüm şartlarda 30 DNA kopyasının pozitif sonuç vermesi GDO tarama testinin sağlık kriterine uygun olduğunu göstermiştir. Grohman vd. (2017), sağlık çalışmasını 6 farklı real-time PCR cihazında çalışarak yapmışlardır. Analiz sonuçlarında olağandışı bir duruma rastlanmadığı bildirilmiştir. Debody vd. (2017) geliştirdikleri metodun sağlık çalışması için, master miks bileşenlerinde (%30 daha az primer, %30 daha az prob, master miksin 1 µl az veya çok kullanılması), cihaz kullanımında (2 farklı cihaz) ve tavlama sıcaklıklarında (standart koşullara kıyasla 1 °C'den az/fazla) değişiklikler yaparak kontrol etmişlerdir. Bu çalışma 20 kopya üzerinde test edilmiştir. Olumsuz bir durum ile karşılaşmadığı bildirilmiştir. Huber vd. (2013), mpPCR testlerinin sağlık çalışmasını tavlama sıcaklığında değişiklik ($\pm 1^\circ\text{C}$), toplam primer-prob karışımında %20 varyasyon ve farklı cihazda çalışma şeklinde uygulamışlardır. Uygun sonuçlar alındığı bildirilmiştir.

3.5. Yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik çalışması

Yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik çalışmalarında işlenmiş gıda olarak bisküvi, işlenmemiş gıda olarak mısır özü, yem olarak DDGS ve tohum olarak da mısır tohumu olmak üzere 4 ürün grubu

kullanılmıştır. Her bir ürün için 2 ekstrakta 5 tekrarlı toplam 40 çalışma yapılmıştır. Yanlış negatiflikte ise numuneler MON89034 CRM'i ile kirletilerek hazırlanmış ve aynı şekilde 2 ekstrakta 5 tekrarlı toplam 40 çalışma yapılmıştır.

Yanlış pozitiflik çalışmasında negatif olduğu bilinen örneklerden 10'ar reaksiyon sonucunda toplam çalışılan 40 negatif örneğin hiçbirinde yanlış pozitif sonuç alınmamıştır. Yanlış negatiflik çalışmasında ise, negatif matrikslerin MON89034 ile kirletilmesi ile oluşturulan 35S/NOS/FMV bölgelerini içeren kirli örneklerden 10'ar reaksiyon sonucunda, toplam çalışılan 40 pozitif örneğin hepsinden pozitif sonuç alınmıştır.

Buna göre bu çalışmanın sonucunda %YP ve %YN oranı %0 olarak bulunmuştur. %95 güven aralığı temel alınarak sonuçlar uygun bulunmuştur. Grohmann vd. (2017), 6'lı mpPCR yöntemlerinde 720 PCR analizinin verileri değerlendirmiş ve %0,3 yanlış pozitif oranı ve %3,9 yanlış negatif oranı gözlemişlerdir. Huber vd. (2013), geliştirdikleri test materyali ile 54 farklı CRM test etmişler daha sonra bu CRM'leri gıda, yem ve tohum numunelerine karıştırarak çalışmışlar, bu çalışmanın sonucunda YN ve YP oranlarını %0 olarak belirtmişlerdir.

4. Sonuç

Bu çalışma ile laboratuvar içi metot olarak elde edilen GDO ve bitki (plant) geni tarama testlerinin validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Metodunun laboratuvar şartları altında geçerliliğini, uygunluğunu, tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini ispatlamak amacıyla yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulguların değerlendirilmesiyle bahsi geçen bu metodun uygun ve güvenilir olduğu ve bu yöntemin tüm gıdalar, tohumlar ve yemlerde GDO tarama analizleri için kullanılabilceği görülmüştür.

Tarama testinin LOD değeri 10 DNA kopyası olarak tespit edilmiştir. Bu değer aynı zamanda birçok ticari kitin de LOD değeri olup Türkiye'deki GDO laboratuvarlarında metot birlikteliği açısından da tavsiye edilen LOD değeridir. Çalışma ile laboratuvarlarda kullanılacak, ticari kit hassasiyetinde ve daha ekonomik bir GDO tarama testi elde edilmiştir. Laboratuvarlarda kullanılan ticari tarama kitleri genel olarak ithal edilmekte olup yüksek ücretler ile temin edilmektedir. Kit giderleri analiz maliyetindeki en önemli kalemi oluşturmaktadır. Ancak bu çalışmadaki gibi primer-problar bir kez sentezletilip temin edildiğinde seyreltilerek çok fazla reaksiyonda kullanılabilir. Bu çalışmanın asıl maliyet kalemini PCR master miksi oluşturmaktadır. Ancak bu da ticari kit maliyetine nazaran daha ekonomiktir. Bu çalışmada PCR master miksi olarak kullanıma hazır ticari bir ürün kullanılmıştır. Analiz maliyetini daha fazla düşürmek için PCR master miksi bileşenleri (Taq DNA Polimeraz, dNTP'ler, Mg²⁺, vs.) ayrı ayrı temin edilerek laboratuvar ortamında da PCR master miksi hazırlanabilir.

Metot ekonomik avantaj sağlamasına rağmen daha fazla işgücü ve hassasiyet gerektirmektedir. Primer problemlerin tek tek hazırlanıp, hesaplanması ve birleştirilmesi esnasındaki hata ve bulaşmalardan kaynaklanabilecek yanlış sonuçlara karşı azami dikkat göstermek gerekmektedir.

Bu çalışmada plant taraması analizi çoğalabilir bitki DNA'sı kontrolü olmasının yanı sıra inhibisyon kontrolü olarak da kullanılmıştır. Ancak bitkisel DNA'nın tespit edilmediği durumlarda DNA izolatu pozitif kontrol içeren bir master miks ile çalışılarak inhibisyon olup olmadığı tespit edilmelidir. Sonucun negatif bulunması numunede inhibisyon olduğu anlamına gelir. Bu durumda analizin devamı için inhibisyonun giderilmesi gerekecektir. Şayet bu metotta inhibisyon kontrolü dördüncü bir boya ile farklı bir kanalda, multipleks metodun içinde yapılacak olsa idi sarf ve işgücü açısından avantaj sağlayacaktı. Multipleks

kanalların artmasının yanlış pozitiflik ya da negatiflik ihtimalini arttırabileceği endişesi ile bu çalışmada dördüncü kanal kullanılmamıştır. Başka bir çalışmada metot geliştirilerek inhibisyon kontrolünü de içerecek şekilde tasarlanabilir. Böylece bitki geni kolay elde edilebilen ürünlerde plant taraması yapılmadan iki yerine tek PCR kuyucuğunda işlemin tamamlanması avantaj sağlayabilir.

5. Kaynaklar

Anonim (2010). 5977 Sayılı Biyogüvenlik Kanunu. T. C. Resmi Gazete, 27533, 26 Mart 2010.

Anonim (2018). GDO Analizlerinde Verifikasyon Rehberi. T. C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Nisan 2018.

Arvas, Y. E., ve Kaya, Y. (2019). Genetiği değiştirilmiş bitkilerin biyolojik çeşitliliğe potansiyel etkileri. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (1), 168-177.

Atsan, T. ve Kaya, T. E. (2008). Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Tarım ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2), 1-6.

Bahrtdt, C., Krech, A. B., Wurzb, A., and Wulff, D. (2010). Validation of a newly developed hexaplex real-time PCR assay for screening for presence of GMOs in food, feed and seed. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396 (6), 2103-2112.

Broeders, S., Huber, I., Grohmann, L., Berben, G., Taverniers, I., Mazzara, M.,... and Morisset, D. (2014). Guidelines for validation of qualitative real-time PCR methods. *Trends in Food Science and Technology*, 37 (2), 115-126.

Clive, J. (2009). Global status of commercialized biotech/GM crops: 2009. ISAAA brief,41.

Cottenet, G., Blanpain, C., Sonnard, V., and Chuah, P. F. (2019). Two FAST multiplex real-time PCR reactions to assess the presence of genetically modified organisms in food. *Food chemistry*, 274, 760-765.

Çetinkaya, N., Erdem, F. Çelik, C. (2019). Resmi metotlarla GDO'lu yem/ürün analiz yöntemleri. GDO'lu Yem Maddeleri ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *Türkiye Klinikleri*; p.7-1

Debode, F., Huber, I., Macarthur, R., Rischitor, P. E., Mazzara, M., Herau, V.,... and Zel, J. (2017). Inter-laboratory studies for the validation of two singleplex (tE9 and pea lectin) and one duplex (pat/bar) real-time PCR methods for GMO detection. *Food Control*, 73, 452-461.

- Dörries, H. H., Remus, I., Grönewald, A., Grönewald, C., and Berghof-Jäger, K. (2010). Development of a qualitative, multiplex real-time PCR kit for screening of genetically modified organisms (GMOs). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396 (6), 2043-2054.
- ENGL (2015). European Network of GMO Laboratories, 'Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing'.
- ENGL (2017). European Network of GMO Laboratories, 'Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods'.
- ENGL (2021). European Network of GMO Laboratories, 'Guidance document on multiplex real-time PCR methods'.
- Eugster, A., Murmann, P., Kaenzig, A., and Breitenmoser, A. (2014). Development and validation of a P-35S, T-nos, T-35S and P-FMV tetraplex real-time PCR screening method to detect regulatory genes of genetically modified organisms in food. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 68 (10), 701-704.
- Eurofins Genespin (2016). Kit for isolation of high-quality DNA from food and feed samples.
- European Commission (2011). JRC Compendium of Reference Methods for GMO Analysis (SC/ELE/013).
- European Commission (2017). Qualitative PCR method for detection of Figwort Mosaic Virus 35S promoter (QL-ELE-00-015).
- Grohmann, L., Belter, A., Speck, B., Goerlich, O., Guertler, P., Angers-Loustau, A., and Patak, A. (2017). Screening for six genetically modified soybean lines by an event-specific multiplex PCR method: Collaborative trial validation of a novel approach for GMO detection. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12 (1), 23-36.
- Guo, J., Chen, L., Liu, X., Gao, Y., Zhang, D., and Yang, L. (2012). A multiplex degenerate PCR analytical approach targeting to eight genes for screening GMOs. *Food chemistry*, 132 (3), 1566-1573.
- Gruden, K., Allnutt, T. R., Ayadi, M., Baeumler, S., Bahrtdt, C., Berben, G., ... and Žel, J. (2012). Reliability and cost of GMO detection. Genetically Modified and Non-Genetically Modified Food Supply Chains: Co-Existence and Traceability, 307-332.
- Güngör, E., ve Demiryürek, K. (2021). Türkiye'de Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar. *Tarım Ekonomisi Araştırmaları Dergisi*, 7 (2), 140-154.
- Hançerlioğulları, B. Z., ve Yılmaz, R. (2023). Screening of P-35S, P-FMV, and T-NOS genetic elements in microwave-treated genetically modified cereal flours. *Molecular Biology Reports*, 1-10.
- Huber, I., Block, A., Sebah, D., Debode, F., Morisset, D., Grohmann, L.,... and Busch, U. (2013). Development and validation of duplex, triplex, and pentaplex real-time PCR screening assays for the detection of genetically modified organisms in food and feed. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 61 (43), 10293-10301.
- ISAA (2023), Pocket K No. 16: Biotech Crop Highlights in 2019, <https://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/>, (erişim tarihi 08.03.2023)
- Kağıt, Y., ve Aslan, N. (2022). Tarımda Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Sorunsalları ve Türkiye'nin Durumu. *Lectio Socialis*, 6 (1), 23-38.
- Öcal, E. E., ve Işıklı, B. (2019). Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Yararlı Mı, Zararlı Mı?-Genetically Modified Organisms: Useful Or Harmful? *Estüdam Halk Sağlığı Dergisi*, 4(1), 71-79.
- Şen, S. ve Altınkaynak, S. (2014). Genetiği değiştirilmiş gıdalar ve potansiyel sağlık riskleri. *Sakarya University Journal of Science*, 18 (1) , 31-38.
- Somma, M. (2006) The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms, Training Course On, Session 4.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant molecular biology*, 17 (5), 1105-1109.
- Waiblinger, H. U., Ernst, B., Anderson, A., and Pietsch, K. (2008). Validation and collaborative study of a P35S and T-nos duplex real-time PCR screening method to detect genetically modified organisms in food products. *European Food Research and Technology*, 226 (5), 1221-1228.
- Şen, S. ve Altınkaynak, S. (2014). Genetiği değiştirilmiş gıdalar ve potansiyel sağlık riskleri. *Sakarya University Journal of Science*, 18 (1) , 31-38.

Review Paper/Derleme Makale

Materials and methods used in microencapsulation of probiotic microorganisms

Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda kullanılan materyal ve yöntemler

Sinem GÜMÜŞSOY^{1*}, Fatih TOSUN¹, Osman KOLA²

¹ Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Agricultural Research and Policies, ANKARA-TÜRKİYE

² Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University, ADANA-TÜRKİYE

(By author order/Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0003-1589-7706,

ORCID ID: 0000-0002-2993-8727, Dr.

ORCID ID: 0000-0003-0000-248X, Prof. Dr.

*Corresponding author/Sorumlu yazar: sinem.gumussoy@tarimorman.gov.tr

Received/Geliş Tarihi : 09.03.2023

Accepted/Kabul Tarihi : 20.12.2023

Abstract

Objective: Probiotic microorganisms which constitute an important part of functional foods are living creatures that have been proven to benefit human health. However, most of the time they lose their vitality entirely or partly before reaching the human gastrointestinal system due to the various degenerative processes that they are exposed to during food production stages. Those who have been able to maintain their vitality are exposed to destructive bioprocesses in the digestive system.

Conclusion: It is possible to provide the probiotic microorganisms to reach the target point by maintaining their vitality at an optimum level utilizing the microencapsulation method which we could consider as a technological packaging process. In this study, information is given about microencapsulation methods applied to probiotic microorganisms and the coating materials used.

Keywords: probiotics; microencapsulation; coating material; microencapsulation methods

Öz

Amaç: Fonksiyonel gıdaların önemli bir kısmını oluşturan probiyotik mikroorganizmalar insan sağlığına faydalı olduğu kanıtlanmış canlılardır. Ancak çoğu zaman gıda üretim aşamalarında maruz kaldıkları çeşitli dejeneratif işlemler nedeniyle insan gastrointestinal sistemine ulaşmadan canlılıklarını tamamen veya kısmen kaybederler. Canlılığını koruyabilenler sindirim sisteminde yıkıcı biyoproseslere maruz kalırlar.

Sonuç: Teknolojik bir paketlenme işlemi olarak değerlendirebileceğimiz mikroenkapsülasyon yöntemi ile probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını optimum düzeyde koruyarak hedef noktaya ulaşmasını sağlamak mümkündür. Bu çalışmada probiyotik mikroorganizmalara uygulanan mikroenkapsülasyon yöntemleri ve kullanılan kaplama malzemeleri hakkında bilgi verilmektedir.

Anahtar kelimeler: probiyotikler; mikroenkapsülasyon; kaplama materyali; mikroenkapsülasyon yöntemleri

1. Introduction

Today, it is expected that foods not only satisfy hunger or meet nutritional needs but also prevent nutritional diseases and improve health. In this respect, functional foods play an important role (Cencic and Chingwaru, 2010).

The usage of functional foods dates back to the 1980s in Japan. In 1991, the concept of FOSHU (Japanese Foods for Specified Health Use) emerged, which is used to name foods that have a positive effect on human health, depending on the components they contain or the removal of allergens from the food (Kumagai, 2014).

In the Turkish Food Codex (Law No. 5179 on the Amendment of the Law Decree on the Production, Consumption and Inspection of Foods), functional foods are defined as "nutritions which are protective, corrective and/or reducing the risk of disease, depending on one or more effective ingredients, in addition to their nutritive effects and whose these effects have been scientifically and clinically proven" (Anonymous, 2004).

Probiotic microorganisms constitute an important class of functional foods. These microorganisms, which are mostly found in dairy products can be found in many food products containing probiotic properties from vegetable and fruit-based products to cereal and legume-based products, from meat and meat products to chocolate (Erem, 2019).

Probiotics are described by the World Health Organization as "live microorganisms having a positive effect on the health of the person when taken in adequate amounts," (FAO/WHO, 2001). Beneficial intestinal bacteria, which are generally taken into the body together with fermented products and raw fruits and vegetables, perform numerous important functions in a symbiotic interaction with their hosts (Markowiak and Śliżewska, 2017). Usage of probiotics has a positive effect on the advance of targeted microorganisms in the host gastrointestinal tract, discards fungi or harmful bacteria, and enhances the normally occurring defense actions of the host's immune system (Pech-Canul et al., 2020).

Probiotics have some potential benefits such as strengthening the immune system, inhibiting pathogenic organisms, facilitating the metabolism of fats and proteins, providing the synthesis of vitamins, reducing cholesterol and blood pressure, increasing mineral absorption, preventing stress, preventing harmful bacterial growth under colitis, managing urogenital health, playing a role in anti-microbial activities, detoxification and protection from toxins (Amin et al., 2013; Geniş and Tuncer,

2019; Erginkaya et al., 2019). Trying to regulate the intestinal microbiota by the consumption of products containing prebiotics, probiotics and their combined uses (symbiotics) are among the most accepted methods today (Altındış and Yılmaz, 2017).

In addition to being used while curing many illnesses such as cancer, diarrhea, asthma, celiac, lactose intolerance, allergies, diarrhea, it has been reported that it is effective in reducing the inflammatory intestinal risk, treating *Helicobacter pylori* infections, and preventing antibiotic-associated diarrhea (Arvanitoyannis and Van Houwelingen-Koukaliaroglou 2005; Cencic and Chingwaru, 2010; Shiby and Mishra, 2013; Markowiak and Śliżewska, 2017; Sánchez et al., 2017; Erem, 2019). It is known that the intake of *Lactobacillus* reduces tumor development by reducing fecal enzymes such as nitroreductase, β -glucuronidase, and azoreductase which can convert pro-carcinogens to carcinogens in the digestive tract in humans (Amin et al., 2013).

Studies put forward that herbal probiotic products provide benefits such as strengthening the immune system, increasing immunoglobulin production, cleansing the colon and liver, and increasing calcium absorption in vegan and vegetarian individuals (Akpınar and Seven, 2019).

The amount of global probiotic trade in 2018 was 45.6 billion dollars. It was projected that this value will rise to 65 billion dollars in 2024 (Anonymous, 2018).

Most of the probiotics used in commercial products today a members of the *Lactobacillus* or *Bifidobacterium* genera, which are found in many foods and the human intestine and sensitive to harsh conditions. *Streptococcus citrovorus*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rueteri*, *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacterium bifidium* general are important probiotic organisms. It has been reported that *Pediococcus*, *Bacillus*, and some yeast strains are also proper probiotic candidates (Çelikel et al., 2018).

It is also stated in Annex 2 of the Turkish Food Codex Regulation on Nutrition and Health Declarations that food must include at least 1.0×10^6 cfu/g live probiotic microorganisms to be considered probiotic (Anonymous, 2017). However, factors cause a diminution in the number and activity of probiotic microorganisms in food production stages. These factors are pH, oxygen,

water activity, chemicals such as hydrogen peroxide; various parameters used in production such as the presence of salt and sugar, colorants, and artificial flavoring; microbiological parameters (probiotic strain type, amount and inoculation rate; and processing parameters such as incubation temperature, heat application, packaging material, product cooling rate, production scale, and storage method) (Erem, 2019).

In studies evaluating the viability of some commercial probiotics during their passage through the gastrointestinal tract, it was shown that all products used commercially tested suffered a 10^6 -fold diminution in colony-forming units (cfu) within 5 minutes (Dodoo et al., 2017). Therefore, it is a big problem that many commercial probiotic products do not provide the expected effect because beneficial bacteria are not able to keep their viability during food processing, storage, and transit through the upper gastrointestinal tract; in addition, even if they reach the targeted point, it is a possibility that they can not identify themselves as part of the intestine microbiome and can only pass into the stool (Yao et al., 2020).

More effective strategies are required to increase the stability of probiotics in foods and to preserve them while they pass through the human intestine. The number of live probiotic microorganisms in the product can be increased by methods such as choosing strains that are resistant to stress and digestive conditions, performing multi-stage fermentation, reducing the oxygen permeability of the product package, adding micronutrients that can be used by probiotics and microencapsulation applications (Çelikel et al., 2018).

Yao et al. (2020) examined the viability of probiotic microorganisms in the intestinal tract using *in vitro* and *in vivo* techniques and stated that encapsulation practices are necessary to maintain their viability in storage conditions and the colon. These technologies not only protect probiotics from harsh environmental conditions but also increase the mucoadhesive properties of probiotics. Encapsulation is a method based on the principle of coating with protective material or bonding to a carrier material in nano ($\leq 0.2 \mu\text{m}$), micro ($0.2\text{-}5000 \mu\text{m}$), and macro ($\geq 5000 \mu\text{m}$) sizes. Basically; it is carried out by adding the bioactive component into the solid or liquid matrix, providing the liquid matrix dispersion, and providing stabilization by a chemical (polymerization), physical (solidification, evaporation, etc.) or physicochemical (gelation) process (Sarao and Arora, 2017).

2. Microencapsulation applications

Microencapsulation can be defined as “the retention of a compound in a compound or emulsion for its immobilization, protection, controlled release, structuring, and functionalization”. A microcapsule is the structure of a semi-permeable, spherical, thin, and strong membrane with a diameter ranging from a few microns to 1 mm surrounding a solid or liquid. In addition to its protective feature, it facilitates the transport of cells and allows controlled release (Amin et al., 2013; Yao et al., 2020).

The main purposes of applying microencapsulation are to prevent the encapsulated bioactive material from being damaged by the environment or to prevent its damage to the environment (pH, temperature, enzyme, oxygen, etc.); preserve bioactivity, mask flavor and aroma components; be able to turn liquids into solids and to ensure the release of the encapsulated material at the target point (Ünal and Erginkaya 2010; Aloğlu and Öner, 2010; Yao et al., 2020). It is a method that is used to limit the relationship of bioactive substances that are not desired to be found in the environment (enzymes, etc.) or that are desired to be protected from environmental conditions (probiotics, vitamins, polyunsaturated fatty acids, etc.) with the environment. Microencapsulation increases the bioavailability of bioactive substances and extends the shelf life of products (Chen and Subirade, 2007).

Although microencapsulation is used in many areas, the most common use is in the pharmaceutical industry at a rate of 68%. This is followed by food at 13%, cosmetics at 8%, textile at 5%, biomedical at 3%, agriculture at 2%, and electronics industry at 1% (Uran et al., 2017; Geniş and Tuncer, 2019).

The active substance encapsulated in microencapsulation is described as the core material and can be dissolved, liquid, or solid dispersed. The protective matrix structure is called capsule, shell, wall, or coating (Sarao and Arora, 2017). While the thickness of the protective coating in microcapsules is between $0.5\text{-}150 \mu\text{m}$, the capsule diameter varies between 0.01 and $1.000 \mu\text{m}$, probiotics can survive in multilayer coated microcapsules and a layer thickness of $20 \mu\text{m}$ is sufficient to maintain this (Li et al., 2017; Geniş and Tuncer, 2019).

Microcapsules can be defined as single-core (mononuclear), multi-core (poly/multinuclear), matrix (matrix), multi-wall, and irregular

according to their morphological structures (Geniş and Tuncer, 2019).

The capability of microcapsules to enhance the survival of probiotics is related to their size. In food products, when the capsules are too large, they may leave a bad taste in the mouth and remain in the stomach. On the contrary, if they are very tiny, it cannot be possible to encapsulate or degrade too quickly due to the large surface area. Cook et al. (2014) stated that capsules should have a diameter of less than about 200 µm for passing effectively throughout the gastrointestinal tract. Li et al. (2017) stated that their diameter should be approximately 500 µm.

2.1. Microencapsulation materials

It is very important to select the correct coating material to carry out a successful microencapsulation process. The coating material to be used in microencapsulation; should not show toxic properties, should be GRAS (generally accepted as safe), should be easily processed, should not react with other substances in the environment, should not react with the active material during and after application, should increase the stability of the active material and protect it from environmental effects, should be biodegradable, should exhibit good rheological properties at high concentrations where sensorial properties are important, should be in a suitable structure to enable the release of the active material at the desired time, and should be cost-effective (Ünal and Erginkaya, 2010; Palamutoğlu et al., 2013, Yavaş et al., 2019; Pech-Canul et al., 2020). It should also have properties such as resistance to high temperature and pressure, low humidity and oxygen permeability, low hygroscopicity (ability to take up water), low solubility in water, low pH, or resistance to the digestive system environment (Amin et al., 2013). As with all other materials to be used in food processes, they must meet the safety criteria of EFSA (European Food Safety Authority) in Europe and the FDA (Food and Drug Administration) in the United States (Palamutoğlu et al., 2013).

Proteins and polysaccharides, which are among the coating materials that can be used in foods on the market, form moisture-permeable films (hygroscopic), especially at high relative humidity values. They generally exhibit good barrier properties against lipids and gases. Lipid-based coatings offer perfect water barrier properties, and latent gas flow, and are comparatively heat resistant (they are compounds with a high melting point). Nevertheless, its mechanical properties are generally weak (Amin et al., 2013).

Generally, biopolymers with good thermal stability, low toxicity, high biocompatibility, and low cost are used in the coating of probiotics (Yao et al., 2020).

While today, alginates, starch, celluloses (carboxymethylcellulose, methylcellulose, nitrocellulose, ethylcellulose, cellulose acetate-phthalate, acetylcellulose, cellulose acetate butyrate-phthalate), carrageenan, gellan gum, xanthan gum, and chitosan among the polysaccharide-based coating materials are being used in the microencapsulation of probiotic cultures; compounds such as whey proteins, gelatin, casein, gluten, chickpea proteins, and cellulose acetate phthalate among the protein-based coating materials and lipids (fatty acids and fatty alcohols, glycerides, waxes and phospholipids) are also suitable materials to be used for encapsulation. However, studies on lipid coating materials are very limited (Wandrey et al., 2010; Aloğlu and Öner, 2010; Martín et al., 2015; Chen et al., 2017; Yao et al., 2020). Table 1 represents some studies on microencapsulation of probiotic microorganisms.

2.1.1. Carbohydrate-based coating materials

The use of carbohydrate-derived coating materials is most common in the spray-drying method. The fact that they are easily accessible and the cost is low increases the attractiveness of these materials (Geniş and Tuncer, 2019).

2.1.1.1. Alginates

Alginate, which is among the most frequently used biopolymer building blocks to form capsules, is a heteropolysaccharide that consists of D-mannuronic acid and L-guluronic acid and can be extracted from the cell wall of brown algae (*Laminaria spp.*) (Altun and Özcan, 2013; Martín et al., 2015; Liu et al., 2016; Sarao and Arora, 2017; Yao et al., 2020). Calcium alginate is a preferred polymer for coating probiotic organisms due to its advantages such as forming thin gels which are effortlessly found in nature, economical, non-toxic, and highly stable, forming a light matrix structure, and appearing simply in alkaline buffer solution (Gökbulut and Öztürk, 2018). On the other hand, forming a porous layer, being sensitive to acids (in stomach conditions), its protective properties being reduced by being affected by the external environment, and being not suitable for large-scale applications are its disadvantages (Gökbulut and Öztürk, 2018; Marcial-Coba et al., 2018). It has been stated that increasing the effectiveness by reinforcing alginate with other coating materials is

a better way to preserve the viability and activity of probiotics (Ünal and Erginkaya, 2010).

Natural biopolymers, for example, p-carrageenan and calcium alginate are suitable materials for gel retention for probiotic applications (Amin et al., 2013). It provides a more stable coating when used with starch, pectin, carrageenan, chitosan, or some synthetic polymers (Martin et al., 2015).

In some studies conducted on the encapsulation of probiotic cells, factors such as alginate and calcium chloride (CaCl₂) concentrations, hardening period of the capsules, and cell concentrations were examined. As a result, it was shown that the microorganisms coated with calcium-alginate were better preserved than the unencapsulated ones. In vitro, studies have shown that the viability of encapsulated microorganisms increases with the upsurge in the size of the capsule (Dave et al., 2004).

Chen et al. (2006) measured the resistance of probiotics coated with alginate to gastrointestinal conditions after a one-week storage period and found that microcapsule application can raise the viability of probiotic bacteria under simulated gastric fluid test (SGFT) and 3% sodium alginate combination mixed with 3% fructooligosaccharide and 1% peptide is the best application.

Muthukumarasamy and Holley (2006) microencapsulated *Lactobacillus reuteri* with alginate employing extrusion or emulsion technology, added it to fermented dry sausage dough, and examined its microbiological and sensory properties. While a logarithmic decrease of 2.6 units was observed in dry fermented sausages including *L. reuteri* added without encapsulation, a logarithmic decrease of 0.5 units occurred in dry fermented sausages including encapsulated *L. reuteri*. As a consequence of the consumer taste panel study, no substantial difference was observed with the control sample in terms of sensory properties.

2.1.1.2. Carrageenan

Carrageenan which is a hydrophilic, neutral polysaccharide obtained from red seaweed by hot alkaline extraction process is a natural polymer used as an additive in the food sector. Carrageenan is frequently used in food and cosmetic formulations because of contributes positively to the stability of fragrances and aromas. It has six types and κ-carregeenan is the most commonly used in encapsulation applications. The fact that carrageenan is cheap and has biopolymer properties causes it to be selected as a coating material in encapsulation applications (Martín et

al., 2015). Carrageenan is mostly used as a coating material in emulsion and extrusion methods (Krasaekoopt et al., 2004).

In addition, carrageenan's positive effect on the viability of the microorganism and its low sensitivity to organic acids in fermented products such as yogurt play an active role in the preference of carrageenan in the microencapsulation of probiotic cells (Martín et al., 2015; Sarao and Arora, 2017).

Afzaal et al. (2019) examined the ability of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 strain to survive in ice cream and artificial digestive system conditions by encapsulating it with sodium alginate and carrageenan polysaccharides. Researchers reported that encapsulation application substantially increased the survival level of probiotic cells in ice cream and artificial digestive system conditions compared to free cells.

Carrageenan has three (κ-, ι- and λ) types. The gel properties of κ-carrageenan are enhanced by blending it with different coating materials, for example with calcium alginate, vegetable oils, and also numerous gums (eg, gellan, xanthan, and carob gum) (Pech-Canul et al., 2020).

It is possible to find various studies on the employment of microencapsulated probiotics in fermented or frozen dairy products. In these studies, it was stated that alginate and κ-carrageenan were mostly employed as coating materials (Krasaekoopt et al., 2004; Chen and Subirade 2007; Ünal and Erginkaya, 2010; Altun and Özcan, 2013; Yao et al., 2020).

2.1.1.3. Xantan, gellan and gum arabic

Anionic polysaccharides like xanthan, gellan, and gum arabic find application in probiotic microencapsulation. Xanthan and gellan gums, which are bacterial extracellular polysaccharides, are respectively produced by *Pseudomonas elodea* and *Xanthomonas campestris*. Also, gum arabic is obtained from acacia family member trees, also known as gumacacia (Arslan-Tontul and Erbas, 2017; Pech-Canul et al., 2020).

Acacia gum (gum arabic) is mostly used for coating flavoring materials with its low viscosity, high solubility, and ability to form emulsions (Merve et al., 2014). The utilization of xanthan gum as a coating agent has been shown to effectively microencapsulate probiotics, protecting against high temperatures and simulated gastrointestinal conditions. (Pech-Canul et al., 2020).

In many studies, xanthan-gellan gum mixture was used in the formation of encapsulated probiotic

cells, and unlike alginate, the mixture showed high resistance to acid conditions and Ca^{++} ions. (Chen and Subirade, 2007). These polymers can be used alone or with mixtures such as gellan-xanthan, and alginate-starch, and it is aimed to keep the polymer intact in high acid or basic environments (Arslan et al., 2017).

Lactobacillus plantarum LAB12 microencapsulated utilizing xanthan and alginate as coating materials has proven to improve the viability of the probiotic microorganism and provide better protection against elevated temperatures and low pH, compared to its unencapsulated form.

In the microencapsulation of *L. casei*, the survival rate of probiotic microorganisms increased in the environment where gastric fluid and bile salts were simulated by using gellan gum, xanthan gum, and sodium caseinate gellan gum mixtures (Pech-Canul et al., 2020).

2.1.1.4. Chitosan

Comprised of glucosamine units, chitosan is the only cationic polysaccharide derived from natural sources. It is not preferred to be used alone in the microencapsulation of probiotic microorganisms. Since chitosan is positively charged while many other polysaccharides are negatively charged, this coating material is among of the most frequently used polysaccharides for this aim (Yao et al., 2020). It is known that coating with chitosan which is an effective antimicrobial agent affects the viability of probiotics (Speranza et al., 2018).

Numerous studies have reported that the incorporation of chitosan into various materials, including but not limited to starch, alginate, whey protein isolate, and xanthan gum, offers protection benefits to a wide range of probiotic microorganisms under simulated in vitro gastrointestinal conditions (Altun and Özcan, 2013; Pech-Canul et al., 2020).

It was defined that the number of live bacteria in milk and yogurt was higher than the uncoated ones during the storage period in which *Lactobacillus* encapsulated in alginate was coated with chitosan (Krasaekoopt et al., 2004).

The status of the whey natural probiotic yeast *Kluyveromyces marxianus* VM004, which was coated with water-soluble chitosan and concentrated whey protein by spray drying method was monitored in storage and simulated gastrointestinal conditions; it was observed that it showed 95% viability in gastrointestinal conditions (Braber et al., 2020).

Several studies have shown that core-shell microgels consisting of a calcium alginate core and a chitosan coating improve the viability of encapsulated probiotics incubated under simulated gastrointestinal conditions (Mirtic et al., 2018).

Various studies have demonstrated the use of core-shell microgels that comprise a calcium alginate core and chitosan coating to improve the viability of encapsulated probiotics incubated under gastrointestinal environments that are simulated (Yeung et al., 2016).

Several studies have highlighted the potential of alginate-chitosan systems for colon targeting due to their ability to be degraded by the colon's intestinal microflora and subsequently release probiotics (Hejazi and Amiji, 2003). Nonetheless, a recent in vitro study stated that there is no enhancement in probiotic viability when alginate microgels were coated with chitosan compared to using solely alginate microgels (Yeung et al., 2016).

2.1.1.5. Starch and its derivatives

Resistant starch is a good retainer for probiotic organisms to reach the large intestine (Altun and Özcan, 2013).

The fact that starch contains nonionic, tasteless, odorless, colorless, non-toxic properties, has semi-permeable properties against oxygen, carbon dioxide, moisture, and lipid components, is cheap and easy to find makes it a suitable coating material for probiotics (Açu et al., 2014). The most frequently utilized coating materials in food applications are; starch and its derivatives (syrups, amylose, polydextrose, amylopectin, maltodextrins, and cellulose and their derivatives). The point to be paid to here is the ability of the encapsulated bacteria to decompose starch being taken into account (Wandrey et al., 2010).

It has been shown that alginate-starch microgels increase *Lactobacillus casei* viability under simulated gastrointestinal environments (Pankasemsuk et al., 2016).

In a study, cultures of *B. bifidum* and *L. acidophilus* were coated with a blend of calcium alginate-corn starch; their vitality levels in yogurt and artificial gastrointestinal system were examined, and it was determined that the utilization of corn starch enhanced the vitality, but the increase was not significant with the effect of acidity and bile salts and the death rate of the coated bacteria was lower during the storage period (Açu et al., 2014).

L. rhamnosus KPb7 and *L. acidophilus* KPb4b strains have been coated by electrostatic vibration/dropping method, using

alginate+manukol and alginate+starch, and their various specialties were studied. It has been stated that the most suitable values for storage conditions are alginate+starch coating at 5°C; alginate+starch microcapsules have the best protection in the toxicity trial and these capsules are the best combination for maintaining vitality (İşleyen, 2010).

2.1.1.6. Cellulose and its derivatives

Cellulose acetate-phthalate (CAP), acetylcellulose, carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, phthalate, cellulose acetate-butylate, ethylcellulose, microcrystalline cellulose, nitrocellulose are cellulose derivatives which are used as coating material (Geniş and Tuncer, 2019; Pech-Canul et al., 2020).

CAP is insoluble in acidity below pH 5, but soluble in pH 6. Thanks to these features, they enable a large number of living probiotic cells, which are resistant to the acidic conditions of the digestive system, to be transported to the colon (Sarao and Arora, 2017). CAP is successfully applied in the emulsion method.

In a study, CAP and beeswax layered coating were applied on *Bifidobacterium pseudorandom*, and its viability in the stomach environment was monitored. It was observed that the vitality was significantly preserved with the coating application (Geniş and Tuncer, 2019).

Semi-synthetic anionic polysaccharides, namely carboxymethyl cellulose (CMC) and carboxymethyl chitin (CMCH), are derived from cellulose and chitin, respectively. A study conducted by employing these materials for microencapsulation of *L. acidophilus* put forth that these coating materials improved probiotic viability during simulated gastrointestinal transit. In a different examination, *L. plantarum* was coated with CMC and κ -carrageenan and this application was also found to be successful. *Bifidobacterium* coated with CMCH and sodium alginate was examined under simulated in vitro gastrointestinal conditions and it was found that coating application increased the survival rate of bacteria (Pech-Canul et al., 2020).

2.2. Protein-based coating materials

What enables proteins to be a good coating material are their large molecular weights, containing water-soluble and insoluble groups together, interacting within themselves and with a wide variety of substances, and having technological

properties such as flexibility of their molecular chains and solubility. Gelatin, whey protein isolate, concentrated whey protein, egg white, casein, and caseinates as animal origin proteins, and pea, chickpea, corn, wheat, and soybean proteins as vegetative proteins are among the proteins used as coating materials (Pech-Canul et al., 2020).

Albumin, whey proteins, and soy proteins come to the forefront with good emulsifying and gelling specialties and are among the ideal materials for microencapsulation by the coacervation method. Coating *Lactobacillus acidophilus* by electrospraying and fluid bed drying method using albumin and stearic acid; encapsulation of *L. plantarum* by extrusion method using soy protein isolate and alginate; coating *Lactobacillus acidophilus* by spray drying method employing maltodextrin and soy extract are some of these studies (Açu et al., 2014).

Soy protein isolates are a high-quality protein source for vegetarians and people with milk allergies. It contains features suitable for coating technology such as emulsification and gelation (Açu et al., 2014; González-Ferrero et al., 2018).

Chickpea proteins are also preferred in microencapsulation applications. The main reasons for this are that it has high nutritional value, does not show allergic properties, has anti-oxidation and GRAS properties, and has emulsifying properties. It has been reported that *Bifidobacterium adolescentis* is protected against artificial gastric fluid in capsules formed with chickpea protein-alginate (Geniş and Tuncer, 2019).

2.2.1. Gelatin

Gelatin, which is used in many areas in the food industry, has capabilities such as foaming and maintaining its foam for a long time, easy emulsion and suspension formation, and film formation (Açu et al., 2014).

For probiotic microencapsulation, gelatin needs to be used in combination with other materials to obtain certain features like desired molecular weight, stickiness, viscosity, and gel strength. In addition, since it is of animal origin, it is not suitable for consumers with vegetarian or kosher tendencies (Açu et al., 2014).

Gelatin is a good coating material in various microencapsulation methods like complex coacervation, extrusion, spray drying, spray cooling, and lyophilization (Açu et al., 2014).

It has been shown that encapsulation of probiotics in alginate-gelatin microgels created by electrostatic complexing increases the viability of

L. salivarius Li01 following elevated temperature applications, longstanding storage, and gastrointestinal transit (Yao et al. 2020).

2.2.2. Whey proteins

Whey proteins, which have good gelling properties, are effectively used in the coating of probiotic organisms. They are preferred as coating materials due to their high nutritional value, easy dissolution, low viscosity in solution, and good emulsification because of create strong gel (Martín et al., 2015). These features enable them to be used in the encapsulation of probiotics and to increase their viability potential even under digestive system conditions (Geniş and Tuncer, 2019).

The ex vivo survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG which is coated and uncoated with whey proteins in the digestive tract of pigs was examined; it has been shown that the acid resistance of the coated microorganisms is increased, the adsorption capacity is high and the controlled release of microorganisms occurs within 30 minutes of intestinal incubation, and the usage of whey proteins for this purpose is appropriate (Doherty et al., 2012).

2.2.3. Milk proteins

Milk proteins displaying good gelling properties can be used for the microencapsulation of probiotic microorganisms. Sodium caseinate is widely recognized as the prevalent type of casein utilized as a coating agent and one of its important features is being resistant to heat denaturation (Altun and Özcan 2013; Geniş and Tuncer, 2019). Sweet whey has proved to be an effective alternative in the microencapsulation process through spray drying of *Bifidobacterium lactis* (Açu et al., 2014).

3. Microencapsulation methods

Today, interest in probiotic microorganisms, whose positive effects on health have been proven, is increasing. Unfortunately, these creatures not in a sufficiently stable structure cause inhibition in production, storage, and digestive system and prevent them from providing the expected benefits. Hence, various microencapsulation techniques with different coating materials have been advanced to prepare highly stable probiotics for the food industry. Several research studies have demonstrated that microencapsulation techniques, such as microgels or other different kinds of microcapsules, can be utilized for the development of probiotics (Qin et al., 2014; González-Ferrero et al., 2018; Marcial-Coba et al., 2018; Mirtič et al., 2018; Lee et al., 2019). These particles have sizes

in the range of 1 to 1,000 µm. These systems can be designed in various methods to enhance viability in probiotic cells. Firstly; they can be engineered to create a physical barrier that shields probiotics from harmful elements in their surroundings like digestive enzymes, gastric acids, or bile salts. Secondly; it can be designed so that probiotics can be encapsulated with certain micronutrients like proteins, lipids, dietary fibers, carbohydrates, or minerals that help them survive (Haghshenas et al., 2015; Pankasemsuk et al., 2016; Li et al., 2016; González-Ferrero et al., 2018; Yao et al., 2020). Third; they can be designed using additives such as antacids for controlling local pH to provide a favorable environment for probiotics (Li et al., 2016).

The principle in the encapsulation of bioactive materials is to prevent leakage from the inside or the environment. Encapsulation techniques include; extrusion, emulsion, spray cooling, spray freezing (freeze drying), spray drying, liposome entrapment, fluidized bed, coacervation, inclusion complex, rennet gelled protein encapsulation, hybridization system, colliding aerosol technology, electrospinning, electrostatic deposition, ultrasonic vacuum spray drying, two-stage drying, removal of water by centrifugation, co-crystallization, complexing and rotational suspension methods (Ünal and Erginkaya 2010; Qin et al., 2014; Açu et al., 2014; Martín et al., 2015; Geniş and Tuncer, 2019; Yao et al., 2020).

Emulsion, extrusion, phase separation, and spray drying are the most frequently employed techniques for coating probiotic organisms. These methods can also be applied in combination (Cook et al., 2012).

While probiotics are encapsulated in the gas phase by spray drying technique, which is a physicomachanical method, they are encapsulated in liquid in extrusion and emulsion techniques. In all of these methods, probiotics show viability of over 90% (Palamutoğlu et al., 2013).

By using different microencapsulation methods, microcapsules with a wide variety of particle sizes are produced. Microcapsules with particle size of 3-612 µm are achieved by using spray drying; 79-83 µm by spray cooling; 1000-1400 µm by spray freeze drying; 70-80 µm by lyophilization; 0.3-600 µm by electrospray; 56-133 µm with fluid bed drying; 15-3500 µm by extrusion and 110-1250 µm by its improved version: vibrating nozzle technology, 55-2250 µm by emulsification and 10-3000 µm by coacervation method (Pech-Canul et al., 2020).

Table 1. Some studies on microencapsulation of probiotic microorganisms

Probiotic type	Coating material used	Coating method used	Effect on vitality	Reference
<i>Lactobacillus</i> spp.	alginate was coated with chitosan	-	It was determined that the number of live bacteria in milk and yogurt was higher than in uncoated milk and yogurt during the storage period.	Krasaekoopt et al., 2004
<i>Lactobacillus reuteri</i>	alginate	extrusion or emulsion technology	While a logarithmic decrease of 2.6 units was observed in dry fermented sausages, a logarithmic decrease of 0.5 units occurred in dry fermented sausages containing <i>L. reuteri</i> added without encapsulation.	Muthukumarasamy and Holley, 2006
<i>Lactobacillus plantarum</i> LAB12	xanthan and alginate	-	It has been proven to increase the viability of probiotic microorganisms and provide better protection against high temperatures and low pH.	Pech-Canul et al., 2020
<i>Lactobacillus plantarum</i>	soy protein isolate and alginate	extrusion	increased probiotic viability	Açu, 2014
<i>Lactobacillus plantarum</i>	CMC and κ -carrageenan	-	increased probiotic viability	Pech-Canul et al., 2020
<i>Lactobacillus casei</i>	gellan gum, xanthan gum, and sodium caseinate gellan gum mixtures	-	It was observed that the survival rate of probiotic microorganisms increased in the environment where gastric fluid and bile salts were simulated.	Pech-Canul et al., 2020
<i>Lactobacillus casei</i>	alginate-starch microgels	-	increases vitality	Pankasemsuk et al., 2016
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC4356	sodium alginate and carrageenan	-	increases the survival level of probiotic cells	Afzaal et al., 2019
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	albumin and stearic acid	electrosprayin g and fluid bed drying method	increased probiotic viability	Açu et al., 2014
<i>Bifidobacterium bifidum</i> and <i>Lactobacillus acidophilus</i>	calcium alginate-corn starch	-	It was determined that the utilization of corn starch enhanced the vitality, but the increase was not significant with the effect of acidity and bile salts and the death rate of the coated bacteria was lower during the storage period.	Açu et al., 2014
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	maltodextrin and soy extract	spray drying	increased probiotic viability	Açu et al., 2014
<i>L. acidophilus</i>	carboxymethyl cellulose (CMC) and carboxymethyl chitin (CMCH)	-	probiotic increases vitality	Pech-Canul et al., 2020
<i>L. rhamnosus</i> KPb7 and <i>L. acidophilus</i> KPb4b	alginate+manukol and alginate+starch and their various specialities	electrostatic vibration/drop ping method	alginate+starch coating at 5°C; has been observed as the best protection	İşleyen, 2010
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	whey proteins	-	It has been shown that the acid resistance of the coated microorganisms increases, the adsorption capacity is high, and the controlled release of microorganisms occurs within 30 minutes after intestinal incubation.	Doherty et al., 2012
<i>L. salivarius</i> LiO1	alginate-gelatin	electrostatic complexing	High-temperature treatments have been shown to increase the viability of <i>L. salivarius</i> LiO1 after long-term storage and gastrointestinal transit.	Yao et al., 2020
<i>Bifidobacterium pseudolangum</i>	CAP and beeswax	-	viability was observed to be significantly preserved	Geniş and Tuncer, 2019
<i>Bifidobacterium</i>	CMCH and sodium alginate	-	found to increase the survival rate of bacteria	Pech-Canul et al., 2020

<i>Bifidobacterium lactis</i>	sweet whey	spray drying	preserves its vitality	Açu et al., 2014
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	chickpea protein-alginate	-	It was reported that it was protected against artificial gastric fluid.	Geniş and Tuncer, 2019
<i>Kluyveromyces marxianus</i> VM004	water-soluble chitosan and concentrate	spray drying	It has been observed that 95% viability is observed in gastrointestinal cases.	Braber et al., 2020

3.1. Emulsion

In the emulsion technique, the suspension containing the microorganisms forming the discontinuous phase is added into vegetable oil (sunflower oil, corn oil, canola oil, or soybean oil) forming the continuous phase, and is continuously mixed to ensure homogenization. Thus, a water-in-oil emulsion is formed. At this stage, it is desirable that the polymers do not dissolve in the oil so that small gel particles can form in the oil phase, and that the internal phase creates a small particle size. In this way, smaller microparticles can be formed. The size of these formed bead-like structures can vary between 25 µm and 2 mm depending on the shaking speed (Heidebach et al., 2012; Martín et al. 2015). It is successfully implemented in the coating of lactic acid bacteria. Emulsifying agents (for example, Tween 80 and lauryl sulfate) reduce the interfacial tension of the two immiscible phases, produce higher homogenization, and may be utilized to prepare smaller capsules. The emulsification method is a low-cost method, unlike extrusion, it is easily scalable (Krasaekoopt et al., 2004; Pech-Canul et al., 2020).

To increase the quality of the emulsion, emulsifiers which will reduce the surface tension and allow the formation of smaller particles can be added to the mixture. Alginate and its combinations, carrageenan, chitosan, sodium carboxymethyl cellulose, gelatin, and chickpea protein are the preferred support materials in this method (Martín et al., 2015).

3.2. Extrusion

Because of being simplicity, ease of application, and low cost, the most commonly used and oldest method is extrusion. However, the most significant drawback of this technique is the slow solidification of the coating of the microcapsules, which makes high-capacity production difficult. In this technique, hydrocolloids are used as coating material. It is applied as microorganisms are added to a prepared solution and hardened by forming small beams of bubbles in the solidifying solution (mostly CaCl₂ solution) with the help of a syringe cap. Needle head and free fall distance have an

effect on the shape and size of the bead-like structures created. In this technique, generally, alginate is employed as a supporting material (Krasaekoopt et al., 2004; Ünal and Erginkaya 2010; Uran et al., 2017). Extrusion is mostly known as a low-temperature encapsulation method. It is generally used for coating flavoring agents. Generally, sucrose, maltodextrin, glucose syrup, glycerin, and glucose are used as coating material (Anonymous, 2020).

A developing version of the extrusion process is the vibratory nozzle method. It is a mechanical technique and the droplet size varies according to the jet diameter, the velocity of the extruded liquid, viscosity, surface tension, and frequency of vibration. In recent years, it has also started to be utilized in the microencapsulation of probiotics (Pech-Canul et al., 2020).

It has been reported that there is no sensory difference in microcapsules in which emulsion and extraction techniques are applied and even no substantial difference in the viability rates of probiotics. The process step that should be taken into account in the application of these techniques is homogenization due to its effect on the viability of bacteria and capsule size (Ünal and Erginkaya 2010).

3.3. Spray drying

Most methods are based on drying, as the encapsulated ingredients are usually in liquid form. In this method, generally, carbohydrate-based materials are used as coating material or carriers (Anonymous, 2020).

In this method, capsule formation is provided by atomization of the microbial cell suspension in a polymeric solution into hot dry air and quick evaporation of the water in the environment. The microencapsulated dry, powdery product is divided from the carrier air in a cyclone. For product optimization in spray drying, conditions like air flow, inlet and outlet air temperatures, feed temperature, and product feed rate should be adjusted accordingly (Uran et al., 2017).

Since probiotic bacteria are sensitive to temperature, the temperature of the air inlet and outlet of the system should be adjusted very carefully in spray drying applications. While high temperatures may cause inhibition of probiotics, when the inlet air temperature is low, problems may occur in the evaporation of water (Uran et al., 2017). It is possible to obtain probiotics with the desired particle size and preserved viability when combined with other methods (such as double-stage drying, spray freezing, freeze drying, ultrasonic vacuum spray drying) by providing optimum temperature (Martín et al., 2015).

Adjusting the feed temperature well also has an effect on the viscosity. Although it seems like an advantage to be a continuous and simple system, when mass production is planned in spray drying systems, there are also difficulties such as being mechanized in a large area, requiring equipment, and high installation and operating costs (Martín et al., 2015).

There are studies on *Bifidobacterium lactis* treated successfully with the sweet whey in the spray drying method, on the microencapsulation of *L. acidophilus* by spray drying employing maltodextrin and trehalose, and on the successful application of alginate and octenyl succinate starch (E1450) by spray drying method (Pech-Canul et al., 2020).

3.4. Spray cooling

In this method, which was developed to prevent microbial organisms from being damaged by the effect of high temperature applied in the spray drying process, a system similar to the spray drying line is used, but instead of heat application, cold carrier air or a cold chamber is used (Uran et al., 2017).

Spray drying and spray cooling methods for microencapsulation of probiotics are alike in many aspects; both methods contain dispersing the core material through atomization into a chamber that allows the coating to solidify. Then, the created microcapsules are divided from the moist air by a filter or a cyclone so that they are collected in powder form. The basic divergence between these methods is the temperature of the chamber at the stage of solidification of the coating. While hot air causes quick evaporation of the solvent in which the coating material is dissolved during spray drying, in spray cooling solidification is carried out by atomizing the hot melt mixture of coating materials in a cooled environment below the melting point (Pech-Canul et al., 2020).

Spray cooling is also called spray concretion. A molten matrix containing the bioactive compound is atomized in order to form droplets that solidify rapidly in contact with cold air. Spray cooling is accepted as the cheapest encapsulation technology with industrial-scale production capability. This technology can be employed to produce smaller beads, which is desired in the food industry (Martín et al. 2015). These are the technologies that are used to produce lipid-coated active compounds (Anonymous, 2020).

3.5. Spray freezing

It is also called freeze drying, lyophilization or cryodioxidation. This method is a drying process in which the solvent medium is frozen and later sublimated in a low-pressure environment (direct transition from solid phase to gas phase). In this application, the viability of probiotic cultures is affected by high osmotic pressure and formed crystals. For this reason, materials such as whey protein, milk powder, maltodextrin, and glucose, which exhibit cryoprotectant properties (protecting cells at the freezing point), are added to the medium. The coating material and probiotic cells are sprayed into the chamber (into a cryogenic such as liquid nitrogen) where the spray droplets are quickly frozen. Later on, the frozen droplets are lyophilized to remove the solvent and produce dried particles (Martín et al., 2015; Pech-Canul et al., 2020).

Compared to the spray drying method, this technique offers advantages such as capsule formation with more controlled particle size and specific surface area, prevention of aroma losses, and superior reconstitution qualities of dried products, while having disadvantages such as being 30-50 times more expensive than spray drying, high energy consumption, long processing time. In addition, the capsules can be covered with an additional shell against adverse environmental conditions (Koç et al., 2010; Martin et al. 2015).

3.6. Coacervation

Coacervation occurs as a consequence of the separation of the liquid phase of the coating material from the polymeric solution and the coating phase wrapping the core material in a homogeneous layer. Coacervation technology is not a preferred method in the food industry because of is a very complex process and has a high cost (Anonymous, 2020).

Microencapsulation by coacervation is essentially comprised of three stages carried out under continuous agitation. The first stage contains the creation of three immiscible chemical phases

(mounting fluid, core medium, and coating material). The second stage involves the dispersion of the core material in the polymer coating solution, and the final stage involves the hardening of the coating material to form the coating. Egg whites (albumin), whey proteins, and soy proteins are ideal coating materials for microencapsulation through the coacervation process (Pech-Canul et al., 2020).

3.7. Electrospinning method

The method employed for microencapsulation known as electrospinning is founded on the principle of electrohydrodynamics, so it can also be called as electrohydrodynamic atomization. This method applies electrical forces for the atomization of liquids.

The process typically involves the flowing of a liquid including the core material from the tip of a mold that acts as an electrode and applying a high-voltage electric field to the resulting droplets. Solidification takes place in different ways such as chemical hardening or solvent evaporation. This technology can be incorporated with other microencapsulation techniques to enhance its effectiveness as well. The electrospay extrusion technique has been successfully used for probiotic microencapsulation until today. Using this method, microcapsules can be formed by carbohydrate or protein-based matrices (Zhang, 2020).

The electrospinning technique has advantages such as producing very thin fibers or capsules of a few nanometers with large surface areas, being a one-step, easy-to-apply and inexpensive method. In addition, large-scale productions being able to be performed due to the simplicity of the technique enable this method to be used in many areas (Martín et al., 2015; Pech-Canul et al., 2020).

3.8. Layer by Layer method (LbL)

The Layer-by-Layer (LbL) method relies on the chemical electrostatic attraction of materials with opposite charges. To form microcapsules using LbL, layers are formed by self-assembly via electrostatic adsorption of materials with opposite charges onto the surface of the core material. This approach is very effective as an application for creating multilayer capsules.

Moreover, the number of coating layers can be increased through multiple repetitions of the process. The core material is then subjected to fluidized bed drying, where it is fluidized in the gas phase and combined with the coating material as particles or thin droplets. Because of electrostatic forces, the coating material accumulates on the

core material's surface, creating a layer (Pech-Canul et al., 2020).

3.9. Fluidized bed

This method, which was developed in the 1950s, was used for the coating of tablet drugs, and today it is used for coating many solid and functional materials, including probiotic microorganisms.

The fluidized bed provides the drying process with the principle of contact of the product with the hot air. Solid particles applied with pressurized gas act by displaying liquid characteristics. Pressurized gas getting out of the distributor moves along the bed and exerts a force on the particles against gravity. If a drying process is desired, temperature application can be made. The coating of probiotic cells with this method relies on the principle of spraying on inert carriers. The dissolved coating material within a suitable solution is sprayed on the probiotics moving towards the walls in the hot and cold air flow in the coating room and it is ensured to surround the particles suspended in the air. While low cost and temperature control are the advantages of this system, its need for expertise and long process time are its disadvantages. In this technique, starch and cellulose derivatives, gums, and proteins are mostly used as coating material (Açu et al., 2014; Martín et al. 2015).

The highest rate of vitality and bioactivity is expected for bioavailability from probiotics. For this purpose, the use of powder forms of bacterial cultures provides both more resistance to environmental factors and easier use. Amin, et al. (2013) stated that among the many coating techniques, the coating of dried microorganism powders with the fluidized air bed technique for encapsulation is the most promising technology so far.

3.10. Double microencapsulation

To form microcapsules it is beneficial sometimes to use a single and sometimes a multilayer biopolymer. In double microencapsulation, the protective properties of bacterial cells can be increased by further modification of co-encapsulation. For example, double microencapsulation is performed by re-coating and developing co-encapsulated microcapsules containing probiotic+alginate+prebiotic with other coating materials such as chitosan, alginate, or carrageenan. While prebiotics provide a source of carbohydrates, alginate protects the probiotics in the microcapsule, and additional polymers ensure that the surface of the probiotics is completely covered (Palamutoğlu et al., 2013).

Chitosan is the most widely utilized material for this aim due to having a positive charge. It was shown that the capsule which consists of a calcium alginate and chitosan coating enhanced the viability of encapsulated probiotics incubated under a simulated gastrointestinal environment. It has been suggested that alginate chitosan systems are disrupted by the intestinal microflora in the colon, thus probiotics released here have good potential for colon targeting (Mirtic et al. 2018). Nonetheless, a new in vitro study demonstrated that coating alginate-preserved capsules also with chitosan did not enhance probiotic viability compared to employing alginate-coated capsules alone (Yeung et al., 2016). Since it is an effective antimicrobial agent, it is known that direct chitosan coating applications affect the viability of bacteria (Speranza et al., 2018).

Li et al. (2016) showed that the probiotics are retained in the stomach and then released in the small intestine by fortifying bacteria coated with cellulose by calcium alginate. It has been reported that this method significantly increased the survival rates of *Bifidobacterium*.

More recently, utilizing whey protein and alginate to increase the viability of *L. acidophilus*, a type of microparticle with a diameter ranging from 107 to 222 μm , with a tri-level layer and with an encapsulation efficiency of more than 80% has been developed (de Araújo Etchepare et al., 2020).

Complex coacervation has been stated to be advantageous for high cell capture efficiency, improved functional performance, and availability for scaling (De Prisco and Mauriello, 2016). Furthermore, complex coacervates can be designed to enhance the complete release of encapsulated probiotics from biopolymer microgels (Bosnea et al., 2017).

Recently conducted studies have shown that combinations of various biopolymers are highly suitable for probiotic administration. Yao et al. (2020) reported that combined applications of whey protein isolate/gum arabic; whey protein isolate/carrageenan; whey protein isolate/gum arabic/alginate; gelatin/gum arabic; gelatin/alginate and starch/alginate gave very good results.

Besides, alginate-starch microgels have been proven to increase the viability of probiotics (*Lactobacillus casei*) under a simulated gastrointestinal environment (Pankasemsuk et al., 2016).

Pech-Canul et al. (2020) reported that a coating of egg albumin and stearic acid is used for protecting

Lactobacillus acidophilus via electrospraying and fluid bed drying; in a similar way, a mixture of alginate and soy protein isolate has been utilized in the form of coating material for microencapsulation of *L. plantarum* by extrusion.

Within the scope of recent studies, probiotic microbes (*Bacillus coagulans*) were coated with chitosan/alginate bilayers employing the LbL method. In in vivo and in vitro experiments conducted, it was observed that the viability of these bacteria increased substantially in the upper gastrointestinal tract. In addition, LbL-coated microbes showed greater adhesion to the mucosal surface than free cells and this has been explained by the strong adhesive specialities of chitosan and alginate which were employed for creating the coatings. The bilayer (chitosan/alginate) coating affected viability in simulated stomach and small intestine environment (Anselmo et al., 2016).

4. Some problems with the design of microencapsulated probiotics

Various factors must be taken into account while designing microcapsules to maintain the viability of probiotics in food products. Attention should be paid to aspects such as low and controlled particle size, dry microcapsules being prepared in higher stability, easier handling, storage of cultures, and limited effect on the sensory specialties of the final product, particularly on the structure. Considering the number of damaging factors faced in the processing and storage process, the improvement of multiphase microcapsules employing coating materials having multiple barrier features seems to be the most promising method to ensure the efficiency of the process. Although promising at a laboratory scale, technologies developed for producing gel capsules pose serious challenges for large-scale production (Amin et al., 2013).

Since the size of particles is so small to contain bacteria, most of the colloidal delivery systems that have been created to encapsulate small molecules (like vitamins, colors, nutraceuticals or flavors) have proven inappropriate for probiotics. Microbial cells typically range in size approximately from 1 to 10 μm , whereas many colloidal systems like nanoemulsions, microemulsions and biopolymer nanoparticles are smaller than approximately 1 μm . Also, the concentration of live probiotics found in products manufactured commercially should ordinarily be higher than approximately 6-7 log₁₀ cfu/g for enhancing health benefits, meaning that the loading capacity of any colloidal system must be high. Probiotics can be encapsulated in the formulation of supplements like tablets that are large enough to contain a large number of

microorganisms. However, the probiotics embedded in these formulations may not reach the human colon properly because they are too large to pass directly through the pyloric sphincter. Therefore, they can break down and release probiotics in the stomach where they are prone to spoilage due to harsh conditions. However, if probiotics are loaded into very large colloidal particles, they can adversely affect the sensory and textural properties of foods. Moreover, many of the colloidal systems developed to encapsulate probiotics do not provide adequate protection in the gut. For example, biopolymer capsules are highly porous and allow the passage of gastric acids and enzymes into their bodies, which can disrupt the structure of probiotics. In addition, many colloidal application systems developed in research laboratories are not suitable for commercial application due to their high cost, elaborate processing requirements, or use of ingredients that are unsuitable for application in the food industry. Any probiotic delivery system should be designed to remain free in the colon. In addition, it must be able to attach to the inner surface of the colon and colonize, otherwise, it will not be bioavailable as it will be excreted with feces. For these reasons, an effective encapsulation process is needed (Yao et al., 2020).

5. Conclusion

Consumption of probiotic foods, which stand out with the functional properties they have, has an important place among today's nutrition trends. In particular, the undeniable effects of colon microbiota on human well-being and health increase the appeal of probiotics. In order to provide the necessary benefit, foodstuffs must include 1.0×10^6 cfu/g live probiotic cells at the

6. References

Açu, M. (2014). Fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş dondurma üretimi (Master's thesis, Ege Üniversitesi).

Afzaal, M., Saeed, F., Arshad, M. U., Nadeem, M. T., Saeed, M., and Tufail, T. (2019). The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(4), 1348-1354.

Akpınar, A., Gizem, E. R. K., and Seven, A. (2019). Vegan ve vejetaryan beslenmede probiyotik bitkisel bazlı süt ürünlerinin yeri. *Gıda*, 44(3), 453-462.

minimum. However, they are inhibited by being catabolised in production, storage, and gastrointestinal system, and they cannot provide the expected benefit sufficiently.

In recent studies aiming to improve the viability and bioactivity of probiotics, the microencapsulation technique, which is used in many areas industrially but has limited application in the food field, draws attention. With these techniques applied in recent years, it is aimed to provide maximum benefit to the consumer by ensuring that probiotic cultures are resistant to adverse conditions for their viability and released at the desired time.

Due to the negativities experienced in the encapsulation of living organisms with the current method and coating materials, it is not yet possible to see the products containing microencapsulated probiotics on the shelves at the desired rate. The methods applied will be developed together with the developing technology and more various coating materials will be evaluated. Another problem is that the studies conducted out remain at the laboratory scale and there are problems in industrial applications. Studies should be conducted on techniques that will allow large-scale and continuous production.

The fact that there are many studies to be done on the microencapsulation of probiotic microorganisms makes this subject an area of research opportunity. In addition, in vivo and in vitro trials should be added to technical studies conducted and deeper information should be obtained about the survival advantages and bioavailability of probiotics.

Aloğlu, H. Ş., and Öner, Z. (2010). Peyniraltı suyu proteinlerinin mikroenkapsülasyon teknolojisinde kaplama materyali olarak kullanım olanakları. *Akademik Gıda*, 8(3), 38-42.

Altındış, M., and Yılmaz, K. (2017). Sindirim sistemi mikrobiyotası ve fekal transplantasyon. *Nobel Medicus*, 13(1), 9-15.

Altun, B., and Özcan, T. (2013). Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu II: kaplama materyalleri ve süt ürünlerinde uygulamalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 105-114.

Amin, T., Thakur, M., and Jain, S. (2013). Microencapsulation-the future of probiotic

- cultures. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(1), 35–43.
- Anonymous. (2004). Law No. 5179 on the Amendment and Adoption of the Decree-Law on the Production, Consumption and Inspection of Foods, Official Gazette Published: 05.06.2004-25483.
- Anonymous. (2018). The Global Probiotics Markets. www.lumina-intelligence.com. (Erişim tarihi: 15.06.2020).
- Anonymous. (2017). Turkish Food Codex. Regulation on Nutrition and 844 Health Claims. Appendix 2: List of health claims, excluding statements on disease risk reduction, child development and health. Ministry of Food, Agriculture and Livestock. Official Gazette dated 26 January 2017 and numbered 847 29960, Ankara.
- Anonymous. (2020). <http://www.gidabilgi.com/Makale/Detay/mikroenkapsulasyon-teknolojisi-206667> (Erişim tarihi: 15.06.2020).
- Anselmo AC, McHugh KJ, Webster J, and Langer R, Jaklenec A. (2016). Layer-by-Layer Encapsulation of Probiotics for Delivery to the Microbiome. *Advanced Materials*, 28(43): 9486–90.
- Arslan-Tontul, S., and Erbas, M. (2017). Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 160-169.
- Arvanitoyannis, I. S., and Van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (2005). Functional foods: A survey of health claims, pros and cons, and current legislation. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 45, Issue 5, pp. 385–404).
- Bosnea, L. A., T. Moschakis, P. S. Nigam, and C. G. Biliaderis. (2017). Growth adaptation of probiotics in biopolymer-based coacervate structures to enhance cell viability. *LWT - Food Science and Technology*, 77: 282–89.
- Braber, N. V., Vergara, L. D., Rossi, Y. E., Aminahuel, C. A., Mauri, A. N., Cavaglieri, L. R., and Montenegro, M. A. (2020). Effect of microencapsulation in whey protein and water-soluble chitosan derivative on the viability of the probiotic *Kluyveromyces marxianus* VM004 during storage and in simulated gastrointestinal conditions. *LWT*, 118, 108844.
- Cencic, A., and Chingwaru, W. (2010). The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. *Nutrients*, 2(6), 611–625.
- Chen, J., Wang, Q., Liu, C. M., and Gong, J. (2017). Issues deserve attention in encapsulating probiotics: Critical review of existing literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1228-1238.
- Chen, K. N., Chen, M. J., and Lin, C. W. (2006). Optimal combination of the encapsulating materials for probiotic microcapsules and its experimental verification (R1). *Journal of Food Engineering*, 76(3), 313-320.
- Chen, L., and Subirade, M. (2007). Effect of preparation conditions on the nutrient release properties of alginate–whey protein granular microspheres. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65(3), 354-362.
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., and Khutoryanskiy, V. V. (2014). Microencapsulation of a synbiotic into PLGA/alginate multiparticulate gels. *International journal of pharmaceutics*, 466(1-2), 400-408.
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., and Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of controlled release*, 162(1), 56-67.
- Çelikel, A., Göncü, B., Akın, M. B., and Akın, S. M. (2018). Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen faktörler. *Batman Üniversitesi Journal of Life Sciences*, 8(1), 59–68.
- Dave, A., N. Joshi, and S. D. Purohit. (2004). In vitro propagation of *Chlorophytum borivilianum* using encapsulated shoot buds. *European Journal of Horticultural Science*, 69(1): 37–42.
- de Araújo Etchepare, M., Nunes, G. L., Nicoloso, B. R., Barin, J. S., Flores, E. M. M., de Oliveira Mello, R., and de Menezes, C. R. (2020). Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. *LWT*, 117, 108601.
- de Prisco, A., and Mauriello, G. (2016). Probiotification of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in food science and technology*, 48, 27-39.
- Dodoo, C. C., Wang, J., Basit, A. W., Stapleton, P., and Gaisford, S. (2017). Targeted delivery of probiotics to enhance gastrointestinal stability and intestinal colonisation. *International Journal of Pharmaceutics*.
- Doherty, S. B., Auty, M. A., Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., and Brodtkorb, A. J. I. D. J.






- (2012). Survival of entrapped *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein micro-beads during simulated ex vivo gastro-intestinal transit. *International Dairy Journal*, 22(1), 31-43.
- Erem, F. (2019). Probiyotik fırın ürünleri üretim yöntemleri. *Gıda*, 44(3), 430-441.
- Erginkaya, Z., Sarıkodal, E., Özkütük, S. T., Konuray, G., and Turhan, E. Ü. (2019). Probiyotik bitter çikolata üretiminde mikroenkapsüle *Lactobacillus rhamnosus* kullanımı. *Gıda/The Journal of Food*, 44(2).
- FAO/WHO (2001). Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk and Live Lactic Acid Bacteria, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report. www.fao.org/documents/pub_dett.asp?lang=en&pub_id=61756.
- Geniş, B., and Tuncer, Y. (2019). Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan farklı kaplama materyalleri ve yöntemler. *Gıda*, 44(6), 1222-1236.
- González-Ferrero, C., Irache, J. M., and González-Navarro, C. J., (2018). Soybean protein-based microparticles for oral delivery of probiotics with improved stability during storage and gut resistance. *Food Chemistry*, 239, 879-888.
- Gökbulut, İ., and Öztürk, F. S. (2018). Gıda mikrokapsülasyonunda aljinat kullanımı. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8(1/2), 16-28.
- Haghshenas, B., Abdullah, N., Nami, Y., Radiah, D., Rosli, R., and Yari Khosroushahi, A. (2015). Microencapsulation of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* 15 HN using alginate-psyllium-fenugreek polymeric blends. *Journal of Applied Microbiology*, 118(4), 1048-1057.
- Heidebach, T., Först, P., and Kulozik, U. (2012). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(4), 291-311.
- Hejazi, R., and Amiji, M. (2003). Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. *Journal of controlled release*, 89(2), 151-165. [http://www.gidabilgi.com/Makale/Detay/mikroenkapsulasyon-teknolojisi-206667\(erişim 15.06.2020\)](http://www.gidabilgi.com/Makale/Detay/mikroenkapsulasyon-teknolojisi-206667(erişim%2015.06.2020))
- İşleyen, M. F. (2010). Mikroenkapsülasyon tekniğinin *Lactobacillus acidophilus* KPb4b ve *Lactobacillus rhamnosus* KPb7 probiyotik kültürlerinin stabilitesi üzerine etkilerinin araştırılması (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Koç, M., Sakin, M., and Kaymak-Ertekin, F. (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 16(1).
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., and Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 14(8), 737-743.
- Kumagai, H. (2014). Achievements and discoveries as to functional foods in Japan (813.14). *The FASEB Journal*, 28, 813-14.
- Lee, Y., Ji, Y. R., Lee, S., Choi, M. J., and Cho, Y. (2019). Microencapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* kb1409 by extrusion technology to enhance survival under simulated intestinal and freeze-drying conditions. *J. Microbiol. Biotechnol*, 29(5), 721730.
- Li, R., Zhang, Y., Polk, D. B., Tomasula, P. M., Yan, F., and Liu, L. (2016). Preserving viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in vitro and in vivo by a new encapsulation system. *Journal of Controlled Release*, 230, 79-87.
- Li, Y., Feng, C., Li, J., Mu, Y., Liu, Y., Kong, M., and Chen, X. (2017). Construction of multilayer alginate hydrogel beads for oral delivery of probiotics cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 924-930.
- Liu, Y., Sun, Y., Sun, L., and Wang, Y. (2016). In vitro and in vivo study of sodium polyacrylate grafted alginate as microcapsule matrix for live probiotic delivery. *Journal of Functional Foods*, 24, 429-437.
- Marcial-Coba, M. S., Cieplak, T., Cahú, T. B., Blennow, A., Knöchel, S., and Nielsen, D. S. (2018). Viability of microencapsulated *Akkermansia muciniphila* and *Lactobacillus plantarum* during freeze-drying, storage and in vitro simulated upper gastrointestinal tract passage. *Food and Function*, 9(11), 5868-5879.
- Markowiak, P., and Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021.
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., and Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 15-25.

- Merve, A. Ç. U., Yerlikaya, O., and Kınık, Ö. (2014). Mikroenkapsülasyon ve süt teknolojisindeki yeri. *Akademik Gıda*, 12(1), 97-107.
- Mirtiç, J., Rijavec, T., Zupančič, Š., Pobirk, A. Z., Lapanje, A., and Kristl, J. (2018). Development of probiotic-loaded microcapsules for local delivery: Physical properties, cell release and growth. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 121, 178-187.
- Muthukumarasamy, P., and Holley, R. A. (2006). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(2), 164-169.
- Palamutoğlu, R., and Sariçoban, C. (2013). Probiyotik mikrororganizmaların mikroenkapsülasyonu. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 11(1).
- Pankasemsuk, T., Apichartsrangkoon, A., Worametrachanon, S., and Techarang, J. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus casei* 01 by alginate along with hi-maize starch for exposure to a simulated gut model. *Food Bioscience*, 16, 32-36.
- Pech-Canul, A. D. L. C., Ortega, D., García-Triana, A., and González-Silva, N. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, 10(3), 197.
- Qin, N., Yang, F., Li, A., Prifti, E., Chen, Y., Shao, L., and Zhou, J. (2014). Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*, 513(7516), 59-64.
- Sánchez, B., Delgado, S., Blanco-Míguez, A., Lourenço, A., Gueimonde, M., and Margolles, A. (2017). Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *In Molecular Nutrition and Food Research*.
- Sarao, L. K., and Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344-371.
- Shiby, V. K., and Mishra, H. N. (2013). Fermented milk and milk products as functional foods-A Review. *In Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 53, Issue 5, pp. 482-496). Taylor and Francis Group.
- Speranza, B., Campaniello, D., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., and Corbo, M. R. (2018). Viability of *Lactobacillus plantarum* on fresh-cut chitosan and alginate-coated apple and melon pieces. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2538.
- Uran, H., Şanlıdere Aloğlu, H., and Çetin, B. (2017). Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu. *Mediterranean Agricultural Sciences*.
- Ünal, E., and Erginkaya, Z. (2010). Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu. *Gıda*, 35(4), 297-304.
- Wandrey, C., Bartkowiak, A., and Harding, S. E. (2010). Materials for encapsulation. *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*, 31-100.
- Yeung, T. W., Üçok, E. F., Tiani, K. A., McClements, D. J., and Sela, D. A., (2016). Microencapsulation in alginate and chitosan microgels to enhance viability of *Bifidobacterium longum* for oral delivery. *Frontiers in Microbiology*, 7, 494.
- Yao, M., Xie, J., Du, H., McClements, D. J., Xiao, H., and Li, L. (2020). Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 857-874.
- Zhang, L. D. H. (2020). Recent advances in probiotics encapsulation by electrospinning. *ES Food and Agroforestry*, 2, 3-12.

Özgün Araştırma/Original Article

Renkli Prebiyotik Eritme Peyniri Üretimi

Colored Prebiotic Processed Cheese Production

Meral Kaygısız^{1*} , Ferhat Polat^{1*} , Orhan Eren^{1*} , Nagihan Uğur^{1*} , Hayriye Şebnem Harsa^{2*} 

¹ Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE

² Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İZMİR, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0003-1250-3679, Kimya Yüksek Mühendisi

ORCID ID: 0000-0002-6289-1051, Uzm. Dr. Veteriner Hekim

ORCID ID: 0009-0001-6732-1429, Gıda Yüksek Mühendisi

ORCID ID: 0000-0003-2429-9898, Ziraat Yüksek Mühendisi

ORCID ID: 0000-0001-6794-299X, Prof. Dr.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: meral.kaygisiz@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi : 01.03.2023

Kabul Tarihi : 15.12.2023

Öz

Amaç: Çalışmada özellikle çocukların sağlıklı bedensel gelişimleri için önemli bir besin maddesi olan peynirin cazibesinin artırılması ve fonksiyonel niteliklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Bu kapsamda doğal renk maddeleri ve bir prebiyotik olan inülin kullanılarak mavi, sarı, pembe ve lila renkte olmak üzere dört farklı eritme peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir. Renk maddeleri ve %3 oranında inülin telemeye eritme aşamasında ilave edilmiştir. Üretilen peynirlerin fizikokimyasal, renk ve duyu analizleri yapılarak sonuçlar kör örneklerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular ve sonuç: Sonuçlar inülin kullanımının renkli peynir örneklerinde kuru madde ve karbonhidrat düzeylerini artırdığını göstermiştir ($p<0,05$). Protein, tuz ve yağ düzeyleri ise kullanılan inülin miktarı nedeniyle oransal olarak azalmıştır ($p<0,05$). Peynirlerin raf ömrü boyunca elde edilen L, a ve b değerleri farklılık göstermiş olup bu durumun kullanılan renk maddesi çeşidi, miktarı ve bu süreçte oluşan fiziksel değişiklikler nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Duyusal değerlendirmede ise örneklerin genel kabul edilebilirlik skorları, puanlama ve hedonik skala yöntemiyle beğeni testleri yapılmış olup sonuçlar kör örnekten istatistiksel anlamda farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Bununla birlikte tüm örneklerde duyu skorlar yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak; çalışmada doğal renk maddeleri ve inülin kullanılarak tüketici beğenisine hitap eden fonksiyonel nitelikte inovatif bir ürün elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Peynir; renkli eritme peynir; doğal gıda renklendiricileri; fonksiyonel ürün; prebiyotik; inülin

Abstract

Objective: In the study, it was aimed to increase the attractiveness of cheese, which is an important nutrient for the healthy physical development of children, and to improve its functional qualities.

Materials and methods: In this context, four different processed cheeses in blue, yellow, pink and lilac colors were produced by using natural colorants and a prebiotic inulin. Color materials and 3% inulin were added to the curd during the melting phase. Physicochemical, color and sensory analyzes of the cheeses produced were made and the results were compared with the blind samples.

Result and conclusion: The results showed that the use of inulin increased the dry matter and carbohydrate levels in colored cheese samples ($p<0.05$). Protein, salt and fat levels decreased proportionally due to the

amount of inulin used ($p<0.05$). The L, a and b values obtained during the shelf life of the cheeses differed, and it is thought that this may be due to the type and amount of color material used and the physical changes that occur in this process. In the sensory evaluation, general acceptability scores of the samples, scoring and hedonic scale method were performed and the results did not differ statistically from the blind sample ($p>0.05$). However, sensory scores were found to be high in all samples.

As a result, an innovative product with a functional quality that appeals to the consumer's taste, and its textural qualities were improved by using natural colorants and inulin in the study.

Keywords: Cheese; coloured processed cheese; natural food dyes; functional product; prebiotics; inulin

1. Giriş

Peynir; proteinler, biyoaktif peptitler, amino asitler, yağ, yağ asitleri, vitaminler ve mineraller gibi esansiyel besin maddelerince zengin bir süt ürünüdür. Peynirin yüksek kalsiyum miktarı, kemik ve diş oluşumu ile bunların sağlığının korunmasında etkili olup özellikle büyüme çağındaki çocukların günlük diyetinin ayrılmaz bir parçasını oluşturmaktadır (Walther vd., 2008). Ülkemizde en çok tüketilen peynirler arasında beyaz peynirle birlikte eritme peyniri çeşitleri bulunmaktadır (Cankurt vd., 2019). Teknolojik gelişmeler farklı tat, yapı ve görünüşte pek çok peynirin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Ayrıca peynir teknolojisi klasik yaklaşımlardan ziyade tüketici sağlığı ile ilgili beklentileri karşılama hedefindedir. Araştırmalar yüksek kalitede peynir üretiminden ziyade peynirin fonksiyonel olarak ticarileşmesine dayanmaktadır. Dünyada hazır gıdaları yoğun tüketen bireylerin sağlıklı olma arzusu ile en hızlı gelişen pazar, fonksiyonel ürünler pazarı olmuştur (Walther vd., 2008). Bu pazarın en önemli öğelerinden biri olan prebiyotikler, bağırsak mikroflorası için birincil enerji kaynağı olarak kullanılabilirler sindirilmeyen karbonhidratlardır (Khangwal vd., 2019). Düşük kalori değeri, yüksek diyet lif içeriği ile fonksiyonel özelliklere ve sağlığı teşvik edici etkilere sahip bir prebiyotik olan inülin, fruktan olarak bilinen bir karbonhidrattır. İnülin; yağ ikame edici özelliği, tekstürel yapıyı ve organoleptik özellikleri iyileştirmesi gibi nedenlerle süt ürünlerinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (Karimi vd., 2015).

Günümüzde gıda üretimindeki çeşitlilik ve teknolojik gelişmeler sonucu değişen tüketici eğilimleri işlenmiş gıdaların miktarını da artırmıştır. Birçok ülkede işlenmiş gıdaların kalite özelliklerini geliştirmek amacıyla gıda katkıları kullanımı yaygınlaşmıştır (Sezgin ve Ayyıldız, 2017). Bunlar arasında değerlendirilen renklendiriciler; bir gıdaya, ilaca veya kozmetik ürüne eklendiğinde veya uygulandığında, tek başına veya başka maddelerle reaksiyon yoluyla renk verebilen herhangi bir boya, pigment veya madde olarak ifade edilir (Anonim, 2010). Renk, tüketicilerin ürüne olan ilgisini artırmada önemli bir etkidir (Sezgin ve Ayyıldız, 2017). Bu bağlamda renk maddeleri gıdanın maruz kalabileceği olumsuz şartlar nedeniyle oluşabilecek renk kayıplarını dengelemek; doğal renk varyasyonlarını düzeltmek, doğal olarak oluşan renkleri geliştirmek, renksiz ve "eğlenceli" yiyeceklere renk vermek amaçlarıyla kullanılabilir (Anonim, 2010). Yılmaz (1999), rengin bazı gıda ürünlerinin tüketici açısından kabul

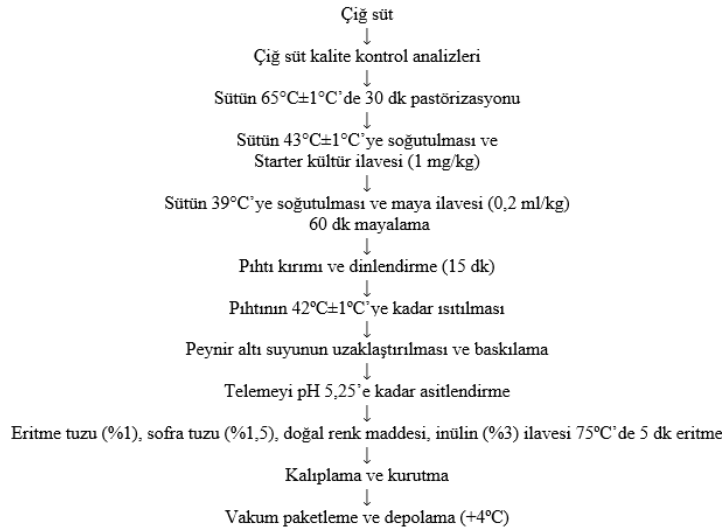
edilebilirliğinde, toplumların sosyal, coğrafi, etnik ve tarihi geçmişlerinin büyük etkisi olduğunu belirtmiştir. Örneğin; Amerika ve Avrupa ülkelerindeki tüketicilerin tercihleri arasında akşam yemeğinde mavi renkli çorba, sarı et, kırmızı patates vb. değişik renkte ürünler yer almaktadır (Atlı, 2010). Gıda sektöründe renklendiriciler; ekmek, şekerleme, içecek, konserve, sebze, et, balık ve süt ürünleri gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Sezgin ve Ayyıldız, 2017). Sentetik gıda renklendiricileri orta ve uzun vadede birçok yan etki ve toksisiteye sebep olmakta, alerjik reaksiyonlar, davranışsal ve nörobilişsel etkilerle ilişkilendirilmektedir. Buna karşın doğal olarak elde edilen gıda renklendiricileri, yüksek kalite ve organoleptik özellikler sağlarken aynı zamanda sağlık üzerinde olumlu bir rol oynamaktadır (Martins vd., 2016). Günümüzde doğal renklendiriciler gösterdikleri çeşitli antioksidan, antibakteriyel, antimikrobiyal vb. aktiviteleriyle ilgi odağı haline gelmişlerdir (Deveoğlu ve Karadağ, 2011). Bununla birlikte doğal renklendiriciler süt ürünleri sektöründe inovatif ürünlerin geliştirilmesine de katkı sağlayabilir. Günümüzde süt ürünleri sektöründe inovasyon değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesi amacıyla Dünya çapında yarışmalar düzenlenmekte olup 2018'de Türkiye'den bir firma Dünya Süt Ürünleri İnovasyon ödülleri kapsamında "en iyi peynir" ödülünü kazanmıştır (Anonim, 2018). Buna benzer inovatif faaliyetler, çocukların bedensel gelişiminde önem taşıyan süt ürünlerinin tüketiminin artırılmasına da katkı sağlayabilir. Çalışmada renklerin çocukların dünyasındaki önemi göz önüne alınarak inülin ve doğal renk maddeleri kullanımıyla çiğ süttan blok tipi eritme peynirleri üretilmiş; elde edilen ürünlerin fizikokimyasal, renk ve duyuşsal özellikleri tayin edilmiştir.

2. Materyal ve yöntem

Renkli blok tip eritme peynir üretiminde çiğ inek sütü, liyofilize kültür (kaşar ve mozzarella, Maysa Gıda San. ve Tic. A.Ş. CH341) ve farklı eritme tuzları (E331, E339 ve E452) kullanılmıştır. Üretimde kullanılan kültür, maya ve tuzların miktarları Şekil 1'de gösterilmiştir. Renk maddesi olarak piyasadan temin edilen sertifikalı, gıdada kullanımında sakınca olmayan dehidre bamya çiçeği ve havuçtan ekstrakte edilen kırmızı (APA VGRWS EXTMIX-52 950); dehidre kır safranı ekstraktından elde edilen amber (APA EXTMIX CNICOSWS-26 900) ve dehidre mavi mısırdan ekstrakte edilen mavi (APA EXTMIX MARE WS-34 900) doğal renk maddeleri kullanılmıştır.

Peynirlerin renkleri (pembe, mavi, lila ve sarı) ise bu renk maddelerinin tek veya farklı kombinasyonlarından eritme aşamasında arzu edilen renk elde edilinceye kadar kontrol edilerek spontane olarak hazırlanmıştır. Çalışmanın yapıldığı süreçte yürürlükte olmasına karşın beslenme ve sağlık beyanlarını ayırmak üzere 2023 yılı Nisan ayında yürürlükten kaldırılan TGK Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliğinde

ürünün prebiyotik olabilmesi için gereken miktar; 1,25-3,75 g/porsiyon olarak belirtilmiştir (Anonim, 2017). Bu amaçla çalışmada, önceki literatür bilgileri de göz önünde bulundurularak, Orafiti® HSI marka %88 inülin içeriği olan yüksek çözünabilir özellikte inülin tozu %3 oranında kullanılmış, böylece peynirin 45 gramlık porsiyonunda 1,48 g/porsiyon inülin içermesi sağlanmıştır.



Şekil 1. Prebiyotik renkli eritme peyniri üretimi işlem basamakları

2.1. Eritme peyniri üretimi

Prebiyotik renkli eritme peynir örnekleri üretim basamakları Şekil 1'de gösterilmiştir. Peynir üretimleri Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Süt Ürünleri Gen Bankası Süt Pilot Tesisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında kontrol örnekleri olarak renksiz ve inülin içermeyen (Kör 1), renksiz ve %3 inülin içeren (Kör 2) peynir örnekleri ile mavi, pembe, sarı, lila renkte peynirler üretilmiştir (Şekil 2).

2.2. Analizler

Çalışmada peynirlerin kuru madde/rutubet miktarı (TS EN ISO 5534), pH (TS 591), asitlik (laktik asit cinsinden, TS 591), tuz miktarı (AOAC 983.14), yağ miktarı (TS ISO 3433-Van Gulik Metodu), toplam protein (F:6,38, AOAC 991.20), laktoz (GMMAM, 1988) ve enerji değerleri (FAO, 2003) belirlenmiştir. Analizler, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Hayvansal Ürünler Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin renk ölçümünde L, a ve b değerleri HunterLab marka,

ColorFlex EZ 45/0 model renk kolorimetresi kullanılarak 1, 30 ve 60. günlerde gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizler, bu konuda eğitim almış 10 panelist tarafından; eşlenmiş kıyaslama testi, üçgen test, puanlama ve hedonik skala yöntemiyle beğeni testleri kullanılarak Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Duyusal Analiz Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (MEGEP, 2012; TS EN ISO 5495, 2016). Panelistler, eşlenmiş kıyaslama testinde ve üçgen testte göz bandı kullanarak tadım yapmışlardır. Panelistler, puanlama ve hedonik skala yöntemiyle beğeni testi ve genel kabul edilebilirlik testlerinde peynir numunelerini renk, dış görünüş, yapı, koku, tat ve aroma parametreleri açısından 1-9 arası puanlama yaparak değerlendirmişlerdir.

İstatistiksel analizlerde SPSS (21.0) programı kullanılarak Kruskal Wallis testi ve raf ömrü boyunca değerlendirme için Friedman testi uygulanmıştır.



Şekil 2. Üretimi yapılan prebiyotik renkli eritme peynirler

3. Bulgular ve tartışma

3.1. Peynirlerin fizikokimyasal özellikleri

Renkli peynirlerin analiz edilen fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar inülin kullanımının rutubet, tuz ve yağ ile protein miktarlarını azaltırken kuru madde ve karbonhidrat miktarını artırdığını göstermektedir. Bununla birlikte aynı teleden üretilen peynirlerin inülin kullanımından bağımsız olarak kimi parametreler açısından farklılıklar gösterebildiği görülmektedir. Bu farklılığın üretim sürecindeki eritme işlemi sonrası yapılan elle

yoğurma aşamasının süresi ve şekli gibi uygulamalarla bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Nitekim peynirin tekstürü sütün kompozisyonunun yanında yapım sürecindeki işlemlerden de önemli düzeyde etkilenmekte, mayalamadan itibaren başlayıp devam eden agregasyon sürecinin şekli ve derecesi protein ağının yapısını ve dolayısıyla peynirin niteliklerini belirlemektedir (Koçak, 1988). Bunlar arasında özellikle yoğurma işlemi, teledeki su düzeyini etkilemekte ve peynir altı suyu kaynaklı su ve havanın uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Taneya vd., 1992).

Çizelge 1. Prebiyotik renkli eritme peynirlerinin fizikokimyasal analiz sonuçları ve standart sapma değerleri

Peynir N:18	pH	Asitlik %	Kurumadde %	Rutubet %	Tuz %KM’de	Yağ %KM’de	Protein %	Karbonhidrat %	Enerji kcal/100g
KÖR 1	5,34 ^b	1,22 ^d	45,35±0,05 ^e	54,65±0,05 ^a	4,30±0,00 ^a	48,51±0,06 ^a	17,30±0,03 ^a	2,13 ^e	275,9±0,2 ^a
KÖR 2	5,19 ^d	1,36 ^a	47,98±0,03 ^c	52,02±0,03 ^c	4,13±0,01 ^c	44,81±0,03 ^c	15,95±0,04 ^b	4,31 ^b	274,5±0,5 ^b
LİLA	5,25 ^c	1,23 ^d	47,35±0,03 ^d	52,65±0,03 ^b	4,20±0,01 ^b	45,41±0,03 ^b	15,51±0,11 ^c	4,27 ^c	272,5±0,5 ^d
MAVİ	5,17 ^e	1,29 ^b	49,87±0,03 ^a	50,14±0,03 ^e	4,07±0,00 ^d	43,12±0,03 ^d	15,98±0,06 ^b	4,54 ^a	275,5±0,5 ^a
PEMBE	5,36 ^a	1,26 ^c	48,38±0,04 ^b	51,63±0,04 ^d	4,09±0,01 ^d	44,44±0,04 ^c	15,92±0,04 ^b	4,19 ^d	273,9±0,1 ^{bc}
SARI	5,34 ^b	1,22 ^d	48,44±0,04 ^b	51,57±0,04 ^d	4,11±0,00 ^c	44,39±0,03 ^c	15,62±0,07 ^c	4,29 ^{bc}	273,03±0,1 ^{cd}

Peynirler arasında en yüksek pH düzeyi pembe (5,36) en düşük ise mavi peynirde (5,17) gözlenmiştir. En yüksek asitlik Kör 2’de (%1,36) tespit edilirken Kör 1 ve sarı peynirin asitliği en düşük düzeyde (%1,22) bulunmuştur. Mevcut sonuçlar inülin kullanımının pH ve asitlik düzeylerini istatistiki düzeyde etkilemediğini

göstermiştir ($p>0,05$). Literatürde benzer sonuçların alındığı çalışmalar mevcuttur. Boran (2012), yağı azaltılmış eritme peyniri üretiminde inülin kullanımı üzerine yaptığı çalışmada farklı polimerizasyon derecelerine sahip iki tip inülinin çeşitli oranlarda ilavesinin asitlik düzeylerine istatistiki olarak etki etmediğini bildirmiştir.

Çalışma özelinde pH düzeylerinde elde edilen artışın ise inülin kaynaklı olmadığı ifade edilmiştir. Juan vd. (2013) inülin varlığının yağı azaltılmış taze peynirde pH düzeyini etkilemediğini bildirmiştir. Diğer taraftan Giri vd. (2017), işlenmiş peynir üretiminde kullanılan inülin miktarının pH düzeyini etkilemediğini ancak asitlik miktarını azalttığını tespit etmiştir. Araştırmacılar pH düzeyi değişmezken asitlik düzeyindeki azalmanın tam olarak anlaşılacak şekilde birlikte peynir yapımında kullanılan tuzlar ve yapısında bulunan asidik ve bazik amino asitlerin oluşturduğu buffer kapasitesi ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Buna karşın El Assar vd. (2019) yağı azaltılmış işlenmiş peynir üretiminde inülin kullanılmayan örneğe kıyasla inülinli örneklerin nem/protein oranının arttığını ve bu durumun pH düzeylerinde düşüşe neden olduğunu ifade etmiştir. İslam vd. (2022) de manda sütünden sinbiyotik özellikte çedar tipi peynir üretmek amacıyla yaptıkları çalışmada artan miktarlarda inülin ilavesinin pH miktarını azalttığını, asitlik miktarını ise artırdığını ifade etmiştir. Önceki çalışmalarda elde edilen veriler göz önüne alındığında inülinin asitlik ve pH üzerine etkisinin çeşitlilik gösterdiği açıktır. Bu çeşitlilikte tek başına inülinin etkisinden ziyade peynir üretim sürecinde yapılan işlemler ile üretim reçetesine bağlı olarak kullanılan diğer tuzlar vb. maddelerin etkisinden söz edilebilir. Bunun yanında söz konusu çalışmalarda inülinin yağ ikamesi olarak kullanımının da etki eden faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda inülin içeren peynir örneklerinin kuru madde miktarlarının inülin içermeyen örneklerle istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Üretilen peynirler arasında mavi peynir en yüksek kuru madde düzeyine sahipken ($49,87 \pm 0,03$) en düşük kuru madde düzeyi Kör 1 örneğinde bulunmuştur ($45,35 \pm 0,05$). Bu sonuçlar inülin kullanımının kuru madde düzeylerini artırdığını göstermektedir. Bununla birlikte inülinli örnekler arasında oluşan farklı kuru madde değerlerinin daha önce de bahsedildiği üzere üretim sürecinde uygulanan elle yoğurma işlemi ile alakalı olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde inülin kullanımının kuru madde üzerine etkisine dair çalışmalar yer almaktadır. Giri vd. (2017) artan inülin kullanımının işlenmiş peynirlerde rutubet düzeyini azalttığını dolayısıyla kuru madde miktarını artırdığını belirlemiştir. İslam vd. (2022) de çedar tipi peynirlerde inülin kullanımının benzer şekilde rutubet miktarını azaltırken kuru madde miktarını artırdığını rapor

etmiştir. Bu sonuçlar mevcut çalışmada elde edilen sonuçlarla uyumludur.

Buna karşın literatürde inülin kullanımının rutubet miktarını artırdığını rapor eden çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde Boran (2012) eritme peyniri üretiminde yağ ikamesi olarak inülin kullanımının kuru madde miktarını azalttığını bildirmiştir. Bu durumun inülinin su bağlama kapasitesi ile ilgili olduğu da ifade edilmektedir. Benzer şekilde Juan vd. (2013) tam yağlı, yağı azaltılmış ve yağı azaltılıp inülin ilave edilmiş taze peynirlerin kuru madde düzeylerini karşılaştırmışlardır. Çalışmada en yüksek kuru madde düzeyi tam yağlı peynirde gözlenirken inülin kullanılan yağı azaltılmış peynirin inülin kullanılmayana oranla daha yüksek kuru madde düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir. Ortaya konulan sonuçlar, yağ ikame edici olarak inülin kullanımının kuru maddeyi azaltmasına karşın benzer nitelikte iki ürün söz konusu olduğunda çalışmamızda da olduğu gibi kuru madde miktarını artırdığı yargısını desteklemektedir. Zira mevcut çalışmada renkli peynir üretiminde yağ düzeyinin azaltılması gibi bir uygulama yapılmamış, inülin doğrudan %3 oranında telemeye ilave edilmiştir. Bununla birlikte elde edilen sonuçlar renkli peynirlerde bir yağ azalışını da göstermektedir. Bu durum, birim örnekte inülin kullanımıyla yağ ve protein miktarının nispi azalışıyla alakalıdır.

Çalışmamızda inülin kullanımı nedeniyle kuru madde miktarının artmasıyla kuru maddede tuz ve yağ değerleri de ters orantılı olarak azalma eğilimi göstermiştir. Söz konusu parametrelerde en yüksek değer Kör 1 örneğinde sırasıyla $4,30 \pm 0,00$; $48,51 \pm 0,06$ ve en düşük olarak ise mavi peynirde $4,07 \pm 0,00$; $43,12 \pm 0,03$ gözlenmiştir. İnülin ilavesi ile protein miktarında da nispi bir azalma; karbonhidrat miktarında ise artış olmuştur. Bu bağlamda Kör 1 örneği en yüksek protein değerine ($17,30$) sahip iken diğer örneklerle kıyasla daha düşük karbonhidrat düzeyi içermektedir ($2,13$). Renkli peynirlerde ise beklendiği gibi tersi bir durum söz konusu olup bu örneklerde karbonhidrat miktarı en düşük $4,19$ (pembe peynir) en yüksek ise $4,54$ (mavi peynir) olarak tespit edilmiştir.

Giri vd. (2017), inülin ilavesinin kontrol örneğe kıyasla yağ ve protein miktarını azalttığını rapor etmiştir. Bununla birlikte inülin ilavesine paralel olarak, diyet lif içeriği de artış göstermiştir. İslam vd. (2022) de benzer şekilde protein ve yağ parametrelerinin inülin ilavesinden önemli düzeyde etkilendiğini ve kullanılan orana göre söz konusu parametrelerde azalma eğilimi olduğunu ifade etmiştir. El Assar vd. (2019), işlenmiş peynir örneklerine %5, %7 ve %9 oranında inülin

kullanırken inülin miktarına paralel olarak protein değerlerinde keskin bir düşüş ve karbonhidrat miktarında önemli düzeyde artış belirlendiğini bildirmiştir. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular literatürde yer alan önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan karbonhidrat düzeylerindeki bu farklılığa rağmen renkli peynirler ile Kör 1 örneğinin enerji miktarlarının birbirine yakın olduğu söylenebilir. İnülinsiz kör örneğin enerji miktarındaki az da olsa yüksek değer (275,9±0,2 kcal/100g) protein ve yağ miktarındaki yükseklikle ilişkili olduğu açıktır. Özellikle yağın kullanılabilir enerji düzeyinin (9 kcal) protein ve karbonhidratlara (4 kcal) göre oldukça yüksek olduğu bilinmektedir (Buchholz ve Schoeller, 2004). Dolayısıyla yağ ikamesi olarak inülin kullanımı ürünün enerji değerini de düşürecektir. Nitekim Bourges vd. (2019) yağ ikamesi olarak inülin kullanımıyla daha düşük bir enerji değeri elde edildiğini ve üretilen yarım yağlı koyun peynirinin tam yağlı olan peynire göre benzer tekstürel özelliklere sahip daha düşük kalorili bir alternatif oluşturduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlar da mevcut çalışmada elde edilen verilerin literatüre uygun olduğunu göstermektedir.

Peynirin rengi tüketici beğenisi açısından önem taşımaktadır. Proje kapsamında üretilen peynirlerin depolama boyunca değişimlerini gözlemlemek için 1., 30. ve 60. günlerde renk (L, a, b) analizlerinin tekrarı yapılmıştır. Her peynir örneği istatistik analizde bağımlı değişken olarak sadece kendi içinde değerlendirilmiştir. Peynirlerin yapımında farklı renkler kullanıldığı için peynirler arasında renk analizleri açısından birbirleri ile karşılaştırma yapılmasına gerek görülmemiştir. Elde edilen değerler Çizelge 2’de gösterilmiştir. Hunter sistemi ile renk analizinde ölçümü yapılan L, a ve b değerlerinden; L değeri siyah-beyaz, a değeri kırmızı-yeşil ve b değeri ise sarı-mavi skalayı göstermektedir.

L değeri parlaklığın göstergesi olup yüksek L değeri daha parlak rengi ifade etmektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 1. gün yapılan ölçümlerde en yüksek L değeri 84,91±0,02 ile Kör 2 peynirde, en düşük L değeri ise 51,36±0,02 mavi peynirde gözlenmiştir. Çalışmamızda farklı doğal renk maddeleri kullanıldığı için L değerleri de farklılık göstermektedir. Kör 1, mavi ve sarı peynirler raf ömrü boyunca en yüksek L değerlerini 1. gün almış olup 60. günde bu değer düşüş göstermiştir (p<0,05). Kör 2, lila ve pembe peynirlerde ise tam tersi bir durum görülmektedir. L değeri 1. günde daha düşük iken 60. günde daha yüksek bulunmuş olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p<0,05).

Akarca vd. (2016) mozzarella peynirine üç farklı baharat karışımı ilave ederek farklı günlerde yaptıkları renk analizleri sonucuna göre L değerinin azalma gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bunun sebebi olarak mozarellanın olgunlaşma sırasında nem kaybettiğini, bu durumun parlak beyaz rengin matlaşmasına neden olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmalarında, L değerindeki farklılığın peynirlere ilave edilen farklı baharat karışımlarından kaynaklandığını söylemişlerdir. Çalışmamızda peynirlerin renklendirilmesi amacıyla farklı doğal renk maddeleri kullanılmıştır. Özellikle tercih edilen renklerin oluşturulmasında farklı renk maddelerinin kombinasyonları da hazırlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde L değerlerinde oluşan farklılıkların kullanılan bu maddelerin oranlarına bağlı olabileceği düşünülmektedir

Renk analizlerinde +a değeri kırmızı renk skalasını, -a değeri ise yeşil renk skalasını ifade etmektedir. Dolayısıyla -a değeri sıfırdan uzaklaştıkça renkte yeşile doğru bir eğilim artmaktadır. Kör 1, Kör 2, mavi ve sarı renkli peynirler -a değerlerine sahip olup, mavi peynir -10,33 değeri ile yeşil renk skalasına en yakın renk değerini içeren peynirdir. Bununla birlikte mavi renkli peynirin -a değerinde raf ömrü boyunca istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir (p>0,05). Kör 1 ve Kör 2 peynirlerinin raf ömrü boyunca -a değeri artmış olup 1. gün ile 60. gün arasında anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Sarı renkli peynirde ise -a değeri azalma göstermiş ve 30. ve 60. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0,05).

Aydın (2021), beş farklı çeşit yeşil renkli bitkiyi kullanarak ayrı ayrı kaşar peyniri üretmiş ve bu bitkilerin renk üzerine etkisini ve depolama boyunca değişimini incelemiştir. Çalışmasında -a değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit etmiş olup bunun farklı çeşitlerde yeşil yapraklı bitkiler kullanımına bağlı olduğunu ifade etmiştir. Çalışmada aynı zamanda raf ömrü boyunca kontrol peynirinin -a değerinin artış gösterdiği ve en yüksek düzeye 60. günde ulaştığı belirtilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde kontrol örneklerinin (Kör 1 ve Kör 2) -a değerlerinde raf ömrü boyunca artış gözlenmiştir. Bu değişimin söz konusu örneklerin renk maddesi içermemeleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Renk maddesi kullanılan örneklerde ise -a değerleri kullanılan renk maddelerine bağlı olarak farklılık göstermiştir.

Bilindiği üzere +a değeri sıfırdan uzaklaştıkça renkte kırmızıya doğru eğilim artmaktadır.

Çalışmamızda kırmızı doğal renk maddesi (pembe ve lila) kullanılan örneklerde +a değerinde yükseliş görülmüş olup en yüksek +a değeri, en fazla oranda kırmızı renk kullanılan pembe peynirde gözlenmiştir (43,83). Bununla birlikte pembe renkli peynirin +a değerinde raf ömrü boyunca

azalma olurken bu fark 30. ile 60. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Lila renkli peynirin +a değerinde ise raf ömrü boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 2. Prebiyotik renkli eritme peynirlerinin raf ömrü boyunca renk analizleri

Peynir	Analiz	1. Gün	30. Gün	60. Gün
Kör 1	L	84,44±0,01 ^a	83,71±0,02 ^{ab}	81,80±0,02 ^b
	a	-4,00±0,01 ^a	-5,57±0,02 ^{ab}	-6,03±0,03 ^b
	b	14,51±0,01 ^b	21,19±0,03 ^a	25,14±0,03 ^a
Kör 2	L	84,91±0,02 ^b	84,92±0,02 ^{ab}	85,52±0,01 ^a
	a	-4,06±0,02 ^a	-4,49±0,02 ^{ab}	-5,03±0,01 ^{bc}
	b	14,74±0,01 ^b	17,01±0,02 ^a	18,10±0,01 ^a
Lila	L	53,98±0,04 ^{bc}	55,39±0,03 ^{ab}	56,78±0,03 ^a
	a	10,89±0,01 ^a	10,36±0,03 ^a	10,35±0,02 ^a
	b	-13,70±0,03 ^b	-12,80±0,05 ^a	-13,27±0,04 ^{ab}
Mavi	L	51,36±0,02 ^a	50,48±0,05 ^{abc}	49,33±0,02 ^c
	a	-10,33±0,02 ^a	-10,32±0,03 ^a	-10,23±0,02 ^a
	b	-26,98±0,04 ^{ab}	-26,08±0,03 ^a	-27,85±0,04 ^b
Pembe	L	56,09±0,03 ^b	56,31±0,05 ^{ab}	56,79±0,08 ^a
	a	43,48±0,06 ^{ab}	43,82±0,02 ^a	41,72±0,21 ^b
	b	-3,67±0,02 ^b	-2,63±0,01 ^{ab}	-2,29±0,06 ^a
Sarı	L	79,79±0,01 ^a	78,38±0,07 ^{ab}	77,56±0,06 ^{bc}
	a	-8,42±0,01 ^{ab}	-8,45±0,01 ^b	-7,36±0,04 ^a
	b	34,25±0,01 ^{ab}	34,30±0,02 ^a	33,65±0,01 ^b

Kör 1: Renksiz ve inülinöz peynir; Kör 2: Renksiz ve inülinli peynir

Cankurt (2015), diyet blok tipi eritme peyniri üretiminde farklı oranlarda yumurta kullanımının 1., 30. ve 60. günlerde renk üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada analiz edilen örneklerin +a değerinin yumurta miktarının artmasıyla doğru orantılı olarak arttığını ve bunun yumurta sarısının miktarsal olarak artmasından kaynaklandığını ifade etmiştir. Benzer şekilde Akarca vd. (2016) mozzarella peynirine üç farklı baharat karışımı ilave ederek yaptıkları çalışmada raf ömrü boyunca en yüksek +a değerinin kırmızı-turuncu renk içeren baharat karışımının kullanıldığı örnekte olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da pembe ve lila peynir örneklerinin sonuçlarında görülen yüksek +a değerinin benzer bir etkiden kaynaklanmakta

olduğu, özellikle pembe peynirdeki bu değer kullanılarak renk maddesinin oransal yüksekliğine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Renk analizlerinde +b değeri sarılığı, -b değeri ise maviliği ifade etmekte, +b değeri sıfırdan uzaklaştıkça renkte sarıya doğru bir eğilim görülmektedir. Çalışmamızda da en yüksek +b değerine sahip peynirin sarı gıda renklendiricisi kullanılan peynir olması bu durumla ilişkilidir. Bununla birlikte söz konusu peynirin 30. ile 60. günler arasında renginde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu ($p<0,05$), +b değeri ölçülen diğer peynirlerin (Kör 1 ve Kör 2) sarılık değerinin ise raf ömrü boyunca artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Akarca vd. (2016) de

yaptıkları çalışmada renk maddesi içermeyen kör peynir örneklerinde +b değerinin raf ömrü boyunca artış gösterdiğini bildirmiştir. Bu sonuç çalışmamızda tespit edilen verilerle uyumludur.

Renk analizlerinde -b değeri sıfırdan uzaklaştıkça renkte maviye doğru bir eğilim oluşmaktadır. Çalışmamızda da en yüksek -b değerine sahip peynir mavi renkli peynir olmuştur. Bununla birlikte raf ömrü boyunca -b değerinde artış gözlenmiş olup 30. ile 60. günler arasında bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Lila ve pembe peynirlerin -b değerleri ise azalma eğilimi göstermiş, lila peynirde 1. ile 30. günler, pembe peynirde ise 1. ile 60. günler arasındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde beklenildiği üzere mavi doğal gıda renklendiricisi kullanılan peynirlerde -b, sarı gıda renklendiricisi kullanılan peynirlerde +b ve kırmızı gıda renklendiricisi kullanılan peynirlerde ise +a değerlerinin arttığı görülmektedir. Diğer taraftan renkli peynirlerin raf ömrü süresince kendi içerisinde renk değerlerinde gözlemlenen farklılıkların ise kullanılan renk maddesi miktarı, kombinasyonu ve raf ömrü süresince oluşan fiziksel değişikliklerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Proje kapsamında üretimi yapılan prebiyotik renkli eritme peynirlerinin duyu analizlerine katılan eğitimli 10 paneliste sırasıyla Eşlenmiş Kıyaslama Testi, Üçgen Test, Puanlama ve Hedonik Skala Yöntemiyle Beğeni Testleri uygulanmıştır.

Eşlenmiş kıyaslama testi uygulaması için göz bandı takılmış panelistlerden önlerine servis edilen inülin içeren kontrol örneği (Kör 2) ile pembe renkli peynir numunesinin arasında farklılık (Var/Yok) olup olmadığına karar vermeleri istenmiştir. Görevli personel panelistlerin sonuçlarını forma işlemiştir. Teste katılan panelistlerden beşi peynirler arasında fark olduğunu ifade ederken diğer beş panelist fark olmadığı yönünde sonuç bildirmiştir. Test sonucunda elde edilen veriler TS EN ISO 5495 (2016) standardında yer alan “*Tek taraflı eşleştirilmiş teste dayalı olarak algılanabilir bir farkın var olduğu sonucuna varmak için olması gereken minimum doğru yanıt sayısı*” tablosuna göre değerlendirilmiştir. Tabloya göre iki örnek arasında farklılığın tespitinde $n=10$ için $\alpha<0,05$ düzeyinde olması gereken minimum doğru sayısı 9 iken çalışmamızda panelistlerin yalnızca beşi

farklılık olduğunu belirtmiştir. Testte alınan peynirler eşit oranda inülin içermekte olup aralarındaki fark yalnızca renk maddesi kaynaklıdır. Peynir üretiminde kullanılan doğal renk maddelerinin nötr bir tat içermesi ve düşük miktarlarda kullanılması nedeniyle renk maddesi kaynaklı farkın net olarak algılanması zordur. Dolayısıyla arzu edildiği gibi kullanılan renk maddelerinin peynirin doğal tadını değiştirmedeği sonucuna varılmıştır.

Eşlenmiş kıyaslama testi sonrasında panelistlere yine göz bandı kullanılarak “Üçgen Test” uygulaması yapılmıştır. Bu testte servis edilen üç örnekten ikisi aynı (lila) biri farklı (Kör 1) peynir olup panelistlerden farklı olanı bulmaları istenmiştir. Test sonucunda 10 panelistten 9’u farklı olan Kör 1 peynirini tespit etmiştir. Test sonucu elde edilen veriler TS EN ISO 5495 standardında yer alan “*Tek taraflı eşleştirilmiş teste dayalı olarak algılanabilir bir farkın var olduğu sonucuna varmak için olması gereken minimum doğru yanıt sayısı*” tablosuna (Tablo A.1) göre değerlendirilmiştir (TS EN ISO 5495, 2016). İlgili tabloya göre $n=10$ için $\alpha<0,05$ düzeyinde olması gereken minimum doğru sayısı 7 olup çalışmamızda panelistler üç peynir arasında farklı olan örneği (Kör 1) tespit etmiştir. Söz konusu peynirler arasında temel farklılık Kör 1 peynirinin inülin içermemesidir. Elde edilen sonuçlar inülin kullanımının peynirde duyu yönden farklılığa sebep olduğunu göstermektedir.

Panelistlere son olarak “Puanlama ve Hedonik Skala Yöntemiyle Beğeni Testi” ve “Genel Kabul Edilebilirlik Testi” uygulanmıştır. Bu testte tüm renkli peynirlerle birlikte kör örnek olarak inülin içermeyen Kör 1 peyniri kullanılmıştır. Panelistler göz bantsız olarak servis edilen peynir numunelerini renk, dış görünüş, yapı, koku, tat ve aroma parametreleri açısından 1-9 arası puanlama yaparak değerlendirmişlerdir. Ayrıca genel kabul edilebilirlik açısından da peynirler 1-9 arası puanlanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3’te sunulmuştur. İstatistiki değerlendirmede veriler normal dağılım göstermediği için Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Ortalama sonuçları median (min-max) olarak verilmiştir. Elde edilen veriler peynirler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını, inülin kullanılan renkli eritme peynirlerinin tüketicilerin alışıktığı eritme peynirinden renk dışında önemli bir farklılık göstermediğini ve tüketiciler tarafından kabul edilebilir olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte genel kabul edilebilirlik açısından en yüksek puanı pembe renkli eritme peyniri almıştır.

Boran (2012) yaptığı çalışmada yağı azaltılmış peynirlerde inülin kullanımının duyuşal özelliklere olumlu katkı yaptığını bununla birlikte %3 oranında inülin ilavesinin peynirlerde görünüş, yapı, tat ve koku parametrelerine olumsuz yönde bir etkisinin bulunmadığını ifade etmiştir. Çalışmamızda da panelistler tarafından yapılan duyuşal değerlendirmede sayılan parametrelere inülin kullanımının bir etkisi olmadığı görülmüştür. El-Assar vd. (2019) ise

yaptığı çalışmada yağı azaltılmış eritme peynir üretiminde %5, 7 ve 9 oranlarında inülin kullanmış ve özellikle %5 oranında inülin ilavesinin duyuşal niteliklere olumlu katkı yaptığını ifade etmiştir. Bu bağlamda çalışmamızda da %3 oranında inülin kullanılarak üretilen eritme peynirlerinin kontrolden istatistiki olarak farklılık oluşturmadığı ve yüksek skorlar elde ettiği görülmüştür.

Çizelge 3. Prebiyotik renkli eritme peynirlerinin puanlama ve hedonik skala yöntemiyle beğeni testi sonuçları (N=10, Median (Min-Max))

	Renk	Dış Görünüş	Yapı	Koku	Aroma	Tat	GK
Kör 1	9,00 (7-9)	8,50 (7-9)	8,00 (6-9)	8,50 (6-9)	9,00 (6-9)	9,00 (6-9)	8,50 (6-9)
Mavi	8,00 (7-9)	8,00 (5-9)	9,00 (7-9)	9,00 (8-9)	8,00 (8-9)	8,00 (6-9)	8,00 (7-9)
Pembe	9,00 (8-9)	9,00 (7-9)	9,00 (7-9)	9,00 (8-9)	8,00 (8-9)	8,00 (6-9)	9,00 (7-9)
Lila	8,50 (8-9)	9,00 (7-9)	8,00 (7-9)	9,00 (8-9)	8,00 (8-9)	8,00 (6-9)	8,00 (7-9)
Sarı	9,00 (7-9)	9,00 (7-9)	8,50 (7-9)	8,00 (7-9)	8,00 (6-9)	8,00 (5-9)	8,00 (5-9)
p Değeri	0,873>0,05	0,641>0,05	0,729>0,05	0,571>0,05	0,553>0,05	0,422>0,05	0,646>0,05
Önem Düzeyi	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

4. Sonuç

Günümüzde teknolojik gelişmeler ile birlikte farklı tat, yapı ve görünüşte pek çok çeşit peynir üretimi gerçekleştirilmektedir. Özellikle son dönemlerde tüketicilerin sağlık etkisi yüksek, inovatif özellikleri olan ürünlere olan ilgisi de bu süreçleri desteklemektedir. Buna paralel olarak mevcut çalışmada da renkli prebiyotik eritme peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir. Peyniri renklendirmek için doğal renk maddeleri kullanılırken ürüne prebiyotik nitelik kazandırmak için inülin kullanılmıştır. Çalışma sonuçları kullanılan doğal renk maddelerinin miktarının düşük olması nedeniyle fizikokimyasal niteliklere etkisi olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte verdiği görsel çekicilik ile tüketici tercihlerini olumlu etkilemiştir. Ürüne prebiyotik nitelik kazandırmak amacıyla kullanılan inülin ise renkli eritme peynirlerinde daha yüksek kuru madde ve karbonhidrat ile daha düşük protein ve yağ düzeyleri gözlenmesine neden olmuştur. Bununla birlikte inülinli ve inülinli peynirlerin enerji düzeyleri birbirine yakın bulunmuştur. Bu durumun inülin kullanımı sonucu karbonhidrat

miktarı artarken oransal olarak yağ ve protein miktarlarının azalması ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Sonraki çalışmalarda inülinin yağ ikame edici vasfı sayesinde diyet nitelikte renkli eritme peyniri üretimleri de değerlendirilebilir. Duyusal analiz sonuçları ise kullanılan maddelerin peynirin tat ve kokusuna olumsuz bir etki yapmadığını, genel beğeni açısından yüksek skorlar aldığını ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak eritme peyniri üretiminde doğal renk maddeleri ve inülin kullanımı ile tüketiciler tarafından tercih edilen fonksiyonel nitelikleri geliştirilmiş inovatif bir ürün elde edilmiştir. Bunun yanında söz konusu ürünün spor branşlarında takım renkleri kullanılarak taraftar peynirleri şeklinde de değerlendirilebileceği, pizzadan soğuk sandviçe tosttan salataya pek çok kullanım alanında görsel sunum zenginliği sağlayabileceği düşünülmektedir.

5. Kaynaklar

Akarca, G., Çağlar, A., and Tomar, O. (2016). The effects spicing on quality of mozzarella cheese. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 66(2), 112-121.

TS EN ISO 5495 (2016). A1- Duyusal analiz- Metodoloji- Eşleştirme ile karşılaştırma deneyi standardı. Türk Standartları Enstitüsü Ankara.

Anonim (2010). Overview of Food Ingredients, Additives and Colors, <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/overview-food-ingredients-additives-colors> (Erişim Tarihi: 20.08.2022)

Anonim (2017). Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği. 26.01.2017 Tarih ve 29960 sayılı Resmî Gazete. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/01/20170126M1-5.htm> (Erişim Tarihi: 06.01.2022)

Anonim (2018). Dünya Süt Ürünleri İnovasyon Ödülleri 2018, <https://www.istekobi.com.tr/etiket/dunya-sut-urunleri-inovasyon-odulleri-2018-117340.aspx> (Erişim Tarihi: 30.09.2019)

AOAC. (2007). AOAC 983.14. Chloride in Cheese. AOAC International.

AOAC. (2008). AOAC 991.20. Nitrojen in Milk, Kjeldahl Methods AOAC International.

Atlı, B. (2010). Gıda boyaları. Namık Kemal Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi-84 s. Tekirdağ.

Aydın, E. ve Tarakçı Z. (2021). Effects of different types of herbs on colour and texture properties of Kashar cheese. *Food and Health*, 7(2), 120-127.

Boran, O.S. (2012). Yağı azaltılmış eritme peyniri üretiminde inülin kullanımıyla peynirin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi-88 s. Malatya.

Bourges, J. V., de Souza, J. A., Fagnani, R., Costa, G. N., and Dos Santos, J. S. (2019). Reduced-fat Frescal sheep milk cheese with inulin: A first report about technological aspects and sensory evaluation. *Journal of Dairy Research*, 86(3), 368-373.

Buchholz, A. C., Schoeller, D. A. (2004). Is a calorie a calorie?. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 899-906.

Cankurt H., Yüksel R., ve Yetim H. (2019). Diyet Blok Tip Eritme Peyniri Üretiminde Yumurta Kullanım Olanaklarının Araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (15)579-590

Cankurt, H. (2015). Bazı Bitki Su ve Uçucu Yağların Blok Tipi Eritme Peyniri ve Beyaz Peynirin Çeşitli Özellikleri Üzerine Etkisi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi-250 s. Kayseri.

Deveoğlu O., Karadağ R., (2011). Genel Bir Bakış: Doğal Boyarmaddeler, *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 23(1):21-32.

El-Assar, M.A., Abou-Dawood, S.A., Sakr, S. S., and Younis, N.M. (2019). Low-fat processed cheese spread with added inulin: Its physicochemical, rheological and sensory characteristics. *International Journal of Dairy Science*, 14(1), 12-20.

FAO. (2003). FAO Publ. Pruduction year book. Rome, Italy.

Giri, A., Kanawjia, S.K., and Singh, M.P., (2017). Effect of inulin on physico-chemical, sensory, fatty acid profile and microstructure of processed cheese spread. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8), 2443-2451.

GMMAM (1988). Meyve ve Sebze Mamulleri, Bal, Baharat, Çay, Şarap, Süt ve Mamulleri, Sirke, Bira- Kül Tayini. Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metotları, Bursa. Ankara

Islam, M., Alharbi, M.A., Alharbi, N.K., Rafiq, S., Shahbaz, M., Murtaza, S., ... and Ali, S. (2022). Effect of Inulin on Organic Acids and Microstructure of Synbiotic Cheddar-Type Cheese Made from Buffalo Milk. *Molecules*, 27(16), 5137.

Juan, B., Zamora, A., Quintana, F., Guamis, B., and Trujillo, A.J. (2013). Effect of inulin addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66(4), 478-483.

Karimi, R., Azizi, M.H., Ghasemlou, M., and Vaziri, M. (2015). Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119, 85-100.

Khangwal I., and Shukla P. (2019). Prospecting prebiotics, innovative evaluation methods, and their health applications: a review. 3 *Biotech*. 9(5), 187.

Koçak, C. (1988). Peynirde tekstür oluşumu. *Gıda*, 13(1).

Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., and Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 1-15.

MEGEP (2012). Gıda teknolojisi duyuşal test teknikleri, TC Milli Eğitim Bakanlığı Yayınları, Yayın No: 541GI0094.

Sezgin A.C., and Ayyıldız S. (2017). Food Additives: Colorants, Science within Food: Up-to-date Advances on Research and Educational Ideas (Editor: A. Méndez-Vilas), pages: 87-94, ISBN:978-84-947512-1-9, Formatex Research Center, Spain

Taneya, S., Izutsu, T., Kimura, T., and Shioya, T. (1992). Structure and Rheology of String Cheese. *Food Structure*, 11(1), 7.

TS EN ISO 5495 (2016). Duyusal analiz- Metodoloji- Eşleşirme ile karşılaştırma deneyi standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara

TS 591 (2013). Peynir standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.

TS EN ISO 5534 (2006). Peynir ve işlenmiş peynir- Toplam kuru madde içeriği tayini (referans yöntem)

TS ISO 3433 (2015). Peynir- Yağ muhtevası tayini- Van Gulik yöntemi

Walther B., Schmid A., Sieber R., and Wehrmüller K. (2008). Cheese in Nutrition and Health. *Dairy Sci. Technol.* (88)389-460

Yılmaz E. (1999). Etiketlerde “E”leri Görmeye Alıştık, *Bilim Teknik*, 94-97

Derleme Makale/Review Paper

Gıda kaynaklı parazitlerin önemi; epidemiyolojisi, bulaşma yolları, risk değerlendirmesi ve kontrol önlemleri Importance of foodborne parasites; epidemiology, transmission routes, risk assessment and control measures

Ayşe Gülin ESER^{1*} 

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Biga Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, ÇANAKKALE-TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0001-8799-3073, Dr. Öğr. Üyesi

*Sorumlu yazar/Corresponding author: gsezen@comu.edu.tr

Geliş Tarihi : 13.10.2023

Kabul Tarihi : 22.01.2024

Öz

Amaç: Günümüzde gıda kaynaklı birçok hastalık bulunmaktadır. Bakteriler, virüsler ve fungusların yanısıra parazitlerin de gıda kaynaklı hastalıklara sebep olduğu bildirilmektedir. Protozoa (örneğin *Cryptosporidium* spp., *Toxoplasma* spp.) ve helmintleri (örneğin karaciğer ve bağırsak parazitleri; *Fasciola* spp., *Echinococcus* spp., *Anisakis* spp., *Trichinella* spp.) içeren bu parazitler doğada hep var olmuşlar, çeşitli nedenlerle yayılım göstermişler ve gıdalara çeşitli yollarla bulaşmışlardır. Bu patojenlerin gıdalara bulaşmasında evcilleştirilmiş ve vahşi pek çok hayvan da taşıyıcı olarak rol oynamıştır. Gıda kaynaklı parazitlerin bazıları zoonotik özellik göstermektedir. Her birinin yaşam siklusları karmaşık ve farklıdır. Bu çalışmada, gıda kaynaklı parazitler genel bir bakış açısı ile değerlendirilmiştir.

Sonuç: Bu derlemede, gıda kaynaklı parazitlerin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından önemi, epidemiyolojisi, gıdalara bulaşma yolları, risk değerlendirmesi ve kontrol önlemleri literatür eşliğinde değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: gıda kaynaklı parazitler; zoonotik; gıda güvenliği; halk sağlığı; bulaşma

Abstract

Objective: Today, there are many foodborne diseases. In addition to bacteria, viruses and fungi, parasites are also reported to cause foodborne diseases. These parasites, which include protozoa (e.g. *Cryptosporidium* spp., *Toxoplasma* spp.) and helminths (e.g. liver and intestinal parasites; *Fasciola* spp., *Echinococcus* spp., *Anisakis* spp., *Trichinella* spp.), have always existed in nature since their emergence, spread for various reasons and infected foods in various ways. Many domesticated and wild animals have also played a role as reservoirs in the transmission of these pathogens to foods. Some of the foodborne parasites are zoonotic. The life cycles of each of them are complex and different. In this study, foodborne parasites were evaluated from a general perspective.

Conclusion: In this review, the importance of foodborne parasites in terms of food safety and public health, epidemiology, routes of food contamination, risk assessment, and control measures were evaluated in the light of the literature.

Keywords: foodborne parasites; zoonotic parasites; food safety; public health; contamination

1. Giriş

Günümüzde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde bakteriyel ve viral salgın hastalıklar gibi gıda kaynaklı paraziter salgın hastalıklar da insan ve hayvan sağlığı açısından küresel bir öneme sahip olmuştur. Ancak diğer gıda kaynaklı patojenlerle karşılaştırıldığında gıda kaynaklı parazitler, halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından oluşturduğu risk konusunda farkındalığın eksik olması nedeniyle nispeten ihmal edilmiştir. Birçok paraziter hastalık insanlarda uzun inkübasyon süresine sahiptir ve hastalık, konaklar üzerinde kronik ve daha sinsi bir seyir gösterebilmektedir (Caccio vd., 2018; Ruh ve Taylan, 2023). Bazı paraziter hastalıklarda klinik semptomların ortaya çıkması yıllar sürebilmekte (örneğin, *Echinococcus* spp., *T. solium*'un kist aşamaları), bu da tanıyı ve bulaşma kaynağının belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Gabriël vd., 2023).

Paraziter salgınlarda, gıda, su ve vektörlerin bulaşmada rol oynadığı, insandan insana, insandan gıdaya, hayvandan gıdaya bulaşmanın da etkili olduğu bildirilmiştir (Torgerson vd., 2014). Bu parazitler tek hücreli protozoalar ve helmintler olarak gruplanmakta, hem su hem de gıda yoluyla bulaşabilmektedirler. Helmintler; sestod, nematod ve trematodlar olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır. Bağırsak protozoalarının, paraziter hastalıkların çoğunluğundan sorumlu olduğu, bunu nematod, sestod ve trematodların takip ettiği bildirilmektedir (Ryan vd., 2018). Bazı gıda kaynaklı parazit etkenleri ise zoonoz özellikte olup insan ve hayvan sağlığı açısından bir tehlike oluşturmaktadır. Zoonoz hastalıklar, omurgalı hayvanlardan insanlara, insanlardan hayvanlara geçebilen hastalıklar veya enfeksiyonlar olarak tanımlanmıştır. Zoonotik gıda kaynaklı parazitler, yaşam sikluslarında; insan, hayvan, vektör ve çevre kaynaklı birçok arakonak ve konak kullanmaktadır (Mahalleh ve Çelik, 2019).

Gıda kaynaklı paraziter hastalıkların günümüzde endemik olarak ortaya çıktığı görülmektedir. (Torgerson vd., 2014). Ancak gıda tedarik zincirindeki hareketlilik, turistik seyahatler, tropikal gıda tüketimine ilginin artması gibi nedenler bu parazitlerin endemik olmayan bölgelere yayılmasında ve yeniden önem kazanmasında etkili olmuştur (Gabriël vd., 2015; Gabriël vd., 2023). Ayrıca nüfus artışı, küresel ısınma ve iklim değişiklikleri, uluslararası insan hareketliliğinin artması, canlı hayvan nakilleri, insanların enfeksiyonlara yatkınlıkları, hijyen uygulamalarında yetersizlikler, savaşlar ya da doğal afetler sonucu ortaya çıkan çevresel değişiklikler gibi faktörlerin de bulaşmada etkili

olduğu düşünülmektedir (Dulo ve Pal, 2017; Wu vd., 2017; Mahalleha ve Çelik, 2019).

İklim değişikliğinin gıda kaynaklı parazitlerin yaşam döngüleri üzerine doğrudan etkisi vardır. Nem artışları, parazit yumurtalarının, larvalarının ve kistlerinin/ookistlerinin hayatta kalmasını kolaylaştırır. Yağış yoğunluğu yumurtaların, ookistlerin ve kistlerin kirli su yoluyla yayılmasını kolaylaştırır (Jiménez vd., 2010). Artan kuraklık dönemleri ise parazit yumurtalarının, larvalarının, ookistlerinin ve kistlerinin hayatta kalma oranını azaltır, ancak sudaki konsantrasyonlarını artırır. Özellikle kaliteli su kaynaklarının azalması, salgın riski tehlikesini artırmaktadır (Pozio, 2019).

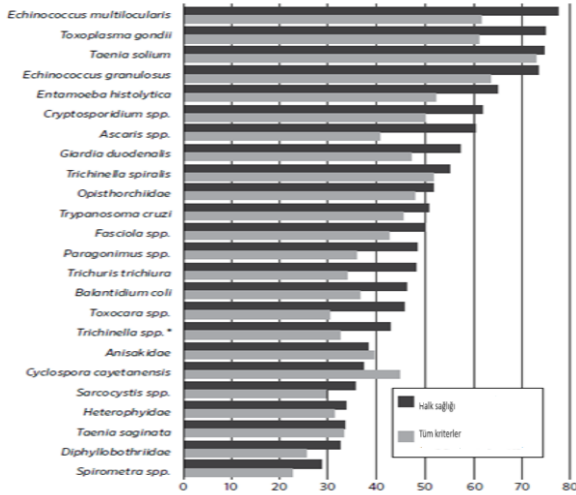
Son yıllarda hayvancılıkta, hijyen uygulamalarında, tespit ve kontrol yöntemlerinde yaşanan gelişmeler, birçok ülkede gıda kaynaklı parazitlerin yaygınlığını büyük ölçüde azaltmış veya ortadan kaldırmıştır. Ancak gıda kaynaklı parazitlerin prevalansının hâlâ yüksek olduğu ülkelerin bulunduğu bildirilmektedir (Pozio, 2019).

2. Gıda kaynaklı parazitlerin epidemiyolojisi

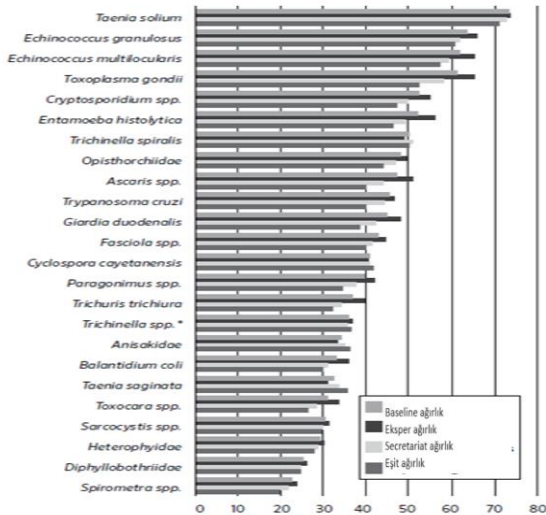
Gıda kaynaklı parazitlerin dünyada yaygınlıkları coğrafi, ticari, sosyo-ekonomik açıdan farklılık gösterebilmektedir. Küresel olarak gıda kaynaklı parazitler arasında çok sayıda helmint ve protozoa bulunmaktadır, ancak bunların içerisinde bazı parazitler halk sağlığı açısından dikkat çekicidir. FAO/WHO (2014) tarafından hazırlanan bir raporda 24 gıda kaynaklı parazit türünün küresel öneme sahip olduğu bildirilmiştir. Eylül 2012'de, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan bu toplantıda halk sağlığı açısından uluslararası öneme sahip, risk sıralaması durumuna göre 24 gıda kaynaklı parazit listelenmiştir (Şekil 1: A, B). Yapılan değerlendirmede ilk dört sırada *Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis* ve *Toxoplasma gondii*'nin yer aldığı bildirilmiştir. Sosyo-ekonomik önemde ise yine ilk sırada yer alan *Taenia solium*'dan sonra *Cyclospora cayetanensis* gelmektedir. Halk sağlığı için risk teşkil etmesi açısından yapılan değerlendirmede ise ilk dört parazit sırasıyla *Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis* ve *T. gondii* olarak belirtilmiştir (FAO/WHO, 2014; Gajadhar, 2015). Ancak sıralamanın muhtemelen bölgeler ve kıtalar arasında farklılık göstereceği vurgulanmıştır.

Dolayısıyla bu çalışmanın bölgesel düzeyde tekrarlanması önerilmiştir. Bu öneri dikkate alınarak 2016 yılında Avrupa Gıda Kaynaklı

Parazitler Ağı (Euro-FBP) tarafından düzenlenen aksiyon toplantısında (COST (FA1408)) Avrupa ve bölgelerinde gıda kaynaklı parazitler risk durumuna göre listelendiğinde *Echinococcus multilocularis* ve *Toxoplasma gondii*'nin Avrupa düzeyinde en üst sırada yer aldığı belirtilmiştir. Bu bağlamda, Avrupa için en fazla öneme sahip olduğu düşünülen gıda kaynaklı parazitler, küresel olarak en büyük öneme sahip olduğu düşünülen *Tenia solium* ve *Echinococcus granulosus*'dan farklıdır (Bouwknegt vd., 2018).



Şekil 1. Küresel gıda kaynaklı parazitlerin halk sağlığına dayalı çok kriterli sıralaması (Multicriteria ranking of global foodborne parasites based on public health criteria only, weighted equally, compared with baseline ranking based on all criteria and elicited weightings) (FAO/WHO, 2014).



Şekil 2. Küresel gıda kaynaklı parazitlerin çok kriterli risk durumlarının karşılaştırılması (Comparison of multicriteria risk scores of global foodborne parasites across alternative criterion weighting schemes) (FAO/WHO, 2014).

Belirtilen bu parazitlerin tümü potansiyel olarak zoonotiktir ve bu nedenle halk sağlığı açısından önemlidir (Almeria vd., 2021).

3. Gıda kaynaklı parazitlerin gıdalara bulaşması

Gıda kaynaklı parazitler, enfekte hayvanların dokularında bulunanlar ve insanlar tarafından tüketilmeden önce hayvan ve bitki kökenli gıdalara bulaşanlar (kirlenler) şeklinde gruplandırılabilir. Gıda/su kaynaklı parazitlerin bulaşıcı yaşam evreleri, hayvansal ürünlerin tüketilmesiyle, kontamine gıda (taze ürünler ve meyveler gibi) ve su yoluyla insanlar da dahil olmak üzere yeni konaklara bulaşabilmektedir (Almeria vd., 2021). Taze meyve ve sebze tüketiminin artması ve bu ürünlerin küresel alanda ticaretindeki hareketliliği, gıda kaynaklı parazit salgınlarının yayılmasında rol oynamıştır (Amoah vd., 2007; Dixon, 2015; Gerard vd., 2019). Sebze, parazitlerle gıda üretim zinciri boyunca, yani kirlenmiş sulama suyu, ekili alanlarda kullanılan gübre, çiftlik hayvanları/yabani hayvanların mahsullere erişimi gibi birincil üretim yollarıyla, ayrıca tarlada hasat, nakliye ve pazarlama işlemleri sırasında çeşitli yollarla kontamine olabilir (Francis vd., 1999; Johnston vd., 2005). Diğer bir bulaşma yolu ise gıda çalışanları aracılığıyla doğrudan olanıdır (Beuchat ve Ryu, 1997; Caradonna vd., 2017).

Yemeye hazır çiğ gıdalarda çeşitli parazitler bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, hazır salatalarının üretiminde uygulanan sanitasyon işlemlerinin, dışkı kaynaklı parazitleri uzaklaştırmadığı bildirilmiştir (Caradonna vd., 2017). 2012 yılında İngiltere'de görülen gıda kaynaklı cryptosporidiosis salgınının da, hazır salatalarla bulaştığı rapor edilmiştir (McKerr vd., 2015; Caradonna vd., 2017). Yemeğe hazır salatalarda protozoon kontaminasyonunun prevalansı araştırılmış, örneklerin %4,2'sinin kontamine olduğu belirtilmiştir. Parazitlerin genellikle gıda zincirinde yaygın olarak kullanılan sanitasyon prosedürlerine oldukça dirençli olduğu ve düşük sayıdaki parazit varlığının bile enfeksiyona sebep olabileceği bildirilmiştir (Almeria vd., 2021).

Hayvansal ürünler aracılığı ile bulaşmada gıdanın çiğ tüketimi veya az pişirilmesi rol oynamaktadır. Özellikle suşi, sashimi, ceviche gibi ürünlerin popülaritesinin artması ile birlikte çiğ balık tüketimi küresel bir mutfak trendi haline gelmiştir. Çiğ olarak tüketilen balıklar *Anisakis simplex* gibi enfektif parazitler içerebileceğinden tüketiciler balık kaynaklı parazitlerle enfekte olabilmektedir (Mo vd., 2014; Robertson, 2018). Çiğ et tüketimi çeşitli mutfak kültürlerinde görülse de (örneğin Fransa'da steak tartare, İtalya'da carpaccio,

Almanya'da mett, koi soi, Tayland'da ve Etiyopya'da kitfo vb.), az pişmiş et tüketimi daha yaygındır (60°C'nin altında bir sıcaklıkta kısa süre pişirilme). Bilerek ya da yanlışlıkla uygulanan düşük sıcaklıkta pişirme işlemleri bazı parazitler de dahil olmak üzere patojenleri etkisiz hale getirmek için yeterli olmayabilir (Franssen vd., 2019; Dümen vd., 2023).

2012 yılında FAO/WHO tarafından risk sıralaması içinde yer alan 24 gıda kaynaklı parazit arasında 14'ünün (%58) et kaynaklı parazitler olduğu bildirilmiştir. Bunlar arasında hem deniz hem de tatlı su balıklarıyla (*Anisakidae*, *Diphyllobothriidae*, *Heterophyidae* ve *Opistorchiidae*), tatlı su kabuklularıyla (*Paragonimus* spp.), domuz etleriyle (*Trichinella spiralis*, diğer *Trichinella* türleri, *Toxoplasma gondii*, *Taenia solium*, ve *Sarcocystis suihominis*), sığır etleriyle (*Taenia saginata*, *Toxoplasma gondii* ve *Sarcocystis bovis*), küçükbaş hayvanların etleriyle (*Toxoplasma gondii*), av hayvanlarının etleriyle (*Trichinella* spp. ve *T. gondii*) ve kurbağa gibi soğuk kanlı canlıların etleriyle bulaşan parazitlerin (*Spirometra* spp.) yaygın olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bazı parazitler, yumuşakçalar (örneğin *Giardia duodenalis*) ve süt aracılığı ile de (*Cryptosporidium parvum* ve *T. Gondii*) bulaşabilmektedir (FAO/WHO, 2014). Doku parazitleri, yetiştirilen ve doğadan yakalanan balıklar da dahil olmak üzere su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde de potansiyel tehlike oluşturmaktadır. Örneğin *Anisakidae*, daha çok doğadan yakalanan balıklarda tehlike arz etmektedir. Yapılan bir çalışmada Akdeniz'de yetiştirilen levreklerde %0,7 oranında *Anisakis pegreffii* rapor edilmiştir (Cammilleri vd., 2018).

Gıda çalışanları/işleyicileri, bağırsak protozoalarının gıdalara bulaşmasında önemli bir taşıyıcı ve yayılmasında potansiyel bir role sahiptir. Hem personelde hem de gıda işleme ortamlarında yetersiz hijyen uygulamaları, çiğ ve hazır gıdalar arasında çapraz bulaşma gıdanın bağırsak parazitleri ile kontaminasyonunun önemli ve olası kaynaklarıdır (Eslahi vd., 2023). Bağırsak parazitlerinin bulaşması; yiyecek, su, eller, fekal-oral, yumurta ve kistlerin yutulması yoluyla veya kötü kişisel hijyen nedeniyle doğrudan insandan insana şeklindedir (Dagnew vd., 2012).

Gıda çalışanlarının tırnak içerikleri, gıdanın parazitin farklı aşamalarıyla kontaminasyonuna sebep olabilir (Hajare vd., 2021). Tırnakların bağırsak parazitlerinin yumurtaları, larvaları ve kistlerini bulaştırmada etkili olduğuna ilişkin birçok rapor bulunmaktadır (Andargie vd., 2008; Eslahi vd., 2023). *Blastocystis hominis* dünya

çapında yaygın olarak insanlarda görülen bir protozoan parazittir (Eroğlu ve Koltaş, 2010). Kötü sanitasyon uygulamaları, kalabalık ortamlarda yaşama, tropikal ve subtropikal iklimler *B. hominis* enfeksiyonu oluşumunda önemli rol oynar (Duda vd., 2015). Gürbüz vd. (2020), 18.460 hastanın dışkı muayenesinde %4,8 (n: 879) *B. hominis*'e rastlandığını bildirmiştir. *Entamoeba* spp., *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. dünya çapında insanlarda en yaygın olarak görülen diğer zoonotik protozoan parazitlerdendir. Bulaşmaları, doğrudan insandan insana veya su ve/veya yiyecek yoluyla dışkı/ağız yoluyla gerçekleşir. Bu parazitler, tüketime hazır meyve ve sebzelerin yüzeylerini kirleterek tüketicileri enfekte edebilir. *Giardia* spp. kistleri ve *Cryptosporidium* spp. ookistleri, çevresel koşullara ve su arıtma işlemlerine dirençli olup, ortamda uzun süre canlı kalabilmekte, suya, toprağa ve dolayısıyla risk altındaki gıdalara bulaşabilmektedir (Feng ve Xiao, 2011). Yapılan bir çalışmada yıkama suyu tanklarında *Cryptosporidium* ookistleri ve *Giardia* kistlerinin varlığı araştırılmış ve sırasıyla %16, %83 olarak belirlenmiştir (Chaidez vd., 2005). Faria vd. (2023), paketlenmiş 100 adet hazır salata örneğinin 18 (%18)'inde *G. duodenalis*'e rastlamışlardır. Morales-Figueroa vd. (2021), 400 sebze meyve örneğinin %11'inin *Cryptosporidium* spp., %9,2'sinin *Blastocystis* spp. ile bulaşmış olduğunu belirlemişlerdir. Gıdalarda parazitik protozoaların varlığı bu parazitlerin dışkı ile bulaştığının önemli bir göstergesidir (Despommier vd., 2012; Eslahi vd., 2023).

Ellerin doğru yıkanmaması, tırnakların kesilmemesi, özellikle meyve ve sebzelerin uygun olmayan şekilde yıkanması ve güvensiz su kaynakları bağırsak parazitlerinin yayılmasında rol oynamaktadır (Badri vd., 2022a; Eslahi vd., 2023).

4. Gıda kaynaklı parazitlerle ilgili risk değerlendirmesi

Halk sağlığını korumak ve gıda güvenliğini sağlamak için tarladan, çiftlikten, deniz/ göl/ tatlı suların sofraya tüm gıda tedarik zincirinde olabilecek risk faktörlerini belirlemek, riskleri değerlendirmek, etkenlerin yayılımını önlemek için risk yönetim seçenekleri oluşturmak gereklidir (Gabriël vd., 2023). Gıdaların işletmelere gelmeden önce daha yetiştirilme aşamalarından ve hasat öncesinden başlanarak parazitlerin bulaşma yolları dikkate alınarak risk analizlerinin yapılması ve kontrol önlemlerinin alınması önemlidir. Çiftliklerin yakınlarında bulunan su kaynakları, taze, az pişmiş ve tüketime hazır gıdalar, dünya çapında et üretim ve ticaretindeki artış, gıdanın doğal lezzetini koruyabilmek için üreticilerin

pişirme sıcaklığını olabildiğince minimumda tutması, egzotik ürünlere olan ilgi artışı, et üretimi için çiftliklerde kontrolsüz kesimlerin yapılması ve hastalık etkeni taşıyan iç organların vahşi hayvanlara ya da başıboş hayvanlara yedirilmesi gibi işlemler parazitlerin yayılmasına sebep olabilecek hatalı uygulamalardan bazılarıdır (Omurtag ve Doğruer, 2018; Woolsey ve Miller, 2021).

Çok fazla türünün olması, bulaşma kaynakları, yayılmaları, patojenitelerinin farklı olması nedeniyle gıda kaynaklı parazitlerin kontrollerinde uygulanacak risk yönetim seçenekleri de farklı olacaktır. FAO/WHO (2014) yayınladığı raporda risk sıralamasına göre öncelikli görülen parazitlerin bulaşma yolları ve risk yönetimi ile ilgili önerilerde bulunmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Gıda kaynaklı parazitlerin bulaşma yolları ve risk yöntemi (FAO/WHO, 2014; Omurtag Korkmaz ve Doğruer Y., 2018)

Parazit adı	Gıda ile bulaşma yolu ve konak	Hastalık belirtileri	Risk yöntemi ve alınacak önlemler		
			Çiftlikte	İşleme esnasında	Tüketim esnasında
<i>Taenia solium</i>	Çiğ ya da pişmiş domuz eti	Tenyozis	-Domuzlara aşı uygulaması -İyi domuz yetiştiriciliği uygulamaları -Çalışanların personel hijyeni konusunda eğitilmesi	-Güvenli kesim uygulaması -İzleme sisteminin oluşturulması -Endemik bölgelerde tüketim riski -Pişirme işlemi etkili	-Bulaşma konusunda tüketicilerin bilinçlendirilmesi
<i>Echinococcus granulosus</i>	Taze ürünler Koyun, keçi, domuz ve sığırlar konak	Kist hidatik	-Parazitin köpeklerde elimine edilmesi -Çiftlik sahiplerinin kontaminasyon ve hastalık konusunda eğitilmesi -Meyve-sebze üretiminde kullanılan suyun kontrolü -Koyun ve köpeklerin aşılması	-Köpekleri potansiyel enfekte dokulardan uzak tutmak - <i>Echinococcus</i> yumurtaları dondurulmaya duyarız (gıdanın iç sıcaklığının -70°C'de dört gün süre ile tutulması hariç)	-Gıda işleyicilerin ve tüketicilerin eğitimi
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Taze ürünler, Yerleşim yerlerine hayvan saldırıları ile bulaşma	Alveolar ekinokokkozis	-Çiftlik ve şehir yakınlarındaki tilkilere antihelmintik uygulamalar	<i>Echinococcus</i> yumurtaları dondurulmaya duyarız	-Endemik bölgelerdeki gıda işleyicilerin ve tüketicilerin eğitimi -Yıkama işlemleri parazitleri uzaklaştırmada yetersiz
<i>Toxoplasma gondii</i>	-Et ve sakatat(domuz, sığır, koyun, keçi, domuz, yaban eti) -Taze ürünler (meyve vb.) ve deniz yumuşakçaları ookistlerle kontamine olur. -Çiftlik hayvanları ookistlerle enfekte olabilir.	-Abort ve konjenital defektler -Mental bozukluklar	-Yetiştiricilikte domuz ve ineklerin kontrolü için serolojik testler -Serbest dolaşan çiftlik hayvanlarında kontrol zor. -Koyunlara aşı uygulanabilir ancak doku kistleri kaslarda bulunmaya devam eder.	-Ticari dondurucular etteki doku kistlerini öldürebilir. -Ev tipi dondurucular etkili olmayabilir -Su kaynaklarının kedilerle temasının engellenmesi etkili olmayabilir. -Suyun klorlanması etkisiz olabileceği için en az 1 mm kalınlıktaki filtrelerden geçirilmelidir.	-Etlerin yeterli pişirilmesi -Sebze ve meyvelerin iyi yıkanması -Güvenilir su kaynaklarının kullanılması

<i>Cryptosporidium spp</i>	-Taze ürünler, meyve suyu, süt -Gıda zincirine su veya gıda işleyicileri ile girer -Su sistemlerinde bulunabilir	İmmün sistemi baskılanmış kişiler risk altında	-Ookistlerin inaktivasyonu için atıkların gübreleştirilmesi uygun değil -Taze ürün yetiştiriciliğinin yapıldığı alanda besi hayvanları ve diğer hayvanlar barındırılmamalı	-Ürün yıkama tankları kontamine olabilir -Pastörizasyon ve donmaya duyarlı -Suyun klorlanması etkisiz olabilir. UV ya da ozon uygulaması yapılmalı.	-Taze ürünler yüksek riskli -Taze sebze-meyvelerin yıkanması -Ookistler uzaklaşmaz.
<i>Entamoeba histolytica</i>	-Taze ürünler -Su ve gıda işleyenler yoluyla bulaşabilir -Kistler klorla yıkanmaya duyarlıdır	-Hafif ve orta şiddette invazif hastalık, karaciğer apsesi	-Su güvenliği planı hazırlanmalı	-Kistler dezenfektanlara dayanıklı -Kistler sıcaklığa, UV ışınlarına, klora, iyoda duyarlı	-Gıda hazırlamada hijyen kurallarına uyulması gerekli -İçme sularının filtrasyonu
<i>Trichinella spiralis</i>	Domuz, at, yaban eti	Akut hastalık, düşük ölüm oranı	<i>Trichinella</i> 'dan arı domuz üretim çiftlikleri için sürü sertifikası programlarına katılmalı	-Et ürünlerinin üretimi esnasında hasta bir hayvandan tüm ürünlere kontaminasyon riski	-Kültürel nedenlerle domuz etinin tüketilmemesiyle kontrolü sağlanır
<i>Opisthorchiidae</i>	-Doğal tatlı su balıkları -Balık çiftliklerinde nadir -Çiftlik hayvanları konaktır	Şiddetli enfeksiyon, potansiyel kanserojen, kronik doku bozukluğu	-Balık çiftliklerinin kanalizasyon sularından uzak yere kurulmalı -Beslemede steril edilmemiş gübre kullanılmamalı		-Dondurulma ya da pişirilme ile kontrol sağlanmalı

5. Gıda kaynaklı parazitler için kontrol önlemleri

Parazitler canlı hayvanda çoğalmasına rağmen hayvan kesildiğinde çoğalma artık devam etmez (EFSA, 2018). Çiğ, az pişmiş ya da yemeğe hazır olarak sunulan et, tavuk, balık gibi hayvansal ürünler, sebze ve meyveler, içme ve kullanma suları paraziter açıdan risk oluşturabilmektedir. Gıdaların işlenmesi sırasında alınan önlemlerin birçoğu parazitlerin ortadan kaldırılmasını veya etkisiz hale getirilmesini garanti etmez (Gabriël vd., 2023). Bu nedenle tarladan, çiftlikten, deniz/göl/ tatlı sulardan sofraya tüm gıda tedarik zincirinde olabilecek risk faktörlerini belirlemek, riskleri değerlendirmek, etkenlerin yayılımını önlemek için risk yönetim seçenekleri oluşturmak halk sağlığı açısından çok önemlidir (Omurtag ve Doğruer, 2018).

Hasat sonrası işleme önlemlerinin çoğu, parazit aşamalarının tamamen ortadan kaldırılmasını veya etkisiz hale getirilmesini her zaman garanti etmez. Ayrıca yaban hayatı, hayvancılık ve insanlar arasındaki artan temasın gıda güvenliği üzerindeki etkisi de göz ardı edilemez. Risk temelli yaklaşımlar ve multi-disipliner bir bakış açısıyla ele alınan teşhis ve kontrol/önleme yöntemleri dikkate alınmalıdır (Gabriël vd., 2023).

Helmantik parazitlerin bulaşması fekal-oral yolla gerçekleştiğinden ve enfekte çalışanların elleri yoluyla bulaşabileceğinden, gıda çalışanlarında periyodik portör muayenesi yapılması gerekmektedir. Ayrıca, gıdaların uygun şekilde denetlenmesi ve saklanması, yiyeceklerin hazırlanması ve işlenmesi sırasındaki hijyen uygulamaları (el hijyeni, eldiven kullanımı, boneler, temiz önlükler ve maskeler) çalışanlar tarafından dikkate alınmalıdır (Idowu ve Rowland, 2006; Erez vd., 2022).

6. Gıda kaynaklı parazitlerin inaktivasyonu

Parazitlerin inaktivasyonu için uygulanan gıda muhafaza yöntemlerinin etkileri parazitler üzerinde farklılıklar gösterir. Isıl işlem, dondurma, ışınlama, ultraviyole (UV), yıkama, enzimatik ve kimyasal koruma, kurutma, gibi yöntemlere parazitlerin farklı türlerinin ve her bir formunun (yumurta, larva, ergin ve kist) göstereceği direnç farklı olabilir (Franssen vd., 2019).

6.1. Hayvansal ürünlerde parazit inaktivasyonu

Isıl işlem gıda kaynaklı parazitlerin önlenmesinde hâlâ en güvenilir yöntemdir (Gajadhar, 2015). Isıl işlemin etkin olabilmesi için sıcaklık-süre ilişkisi çok önemlidir. Parazitlerin farklı yaşam

formlarının ısıdan etkilenme süresi farklı olabilmektedir. Örneğin *Echinococcus multilocularis* yumurtalarının etkisiz hale getirilmesinde sıcaklık tek başına etkili olmayabilir; uygulanan süre de önemlidir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) (2018), potansiyel bulaşıcı *Echinococcus* yumurtalarının etkisiz hale getirilmesini sağlamak için gıdanın en az 3 saat boyunca 65°C'de ısıtılmasını önermektedir (EFSA, 2018).

Hayvansal ürünlerde sıcaklık uygulamasında ürünün termal iç sıcaklığı dikkate alınmalıdır. Franssen vd. (2021), domuz etindeki *Trichinella* larvalarını etkisiz hale getirebilmek için >60°C'de 15 dakika pişirilmesi gerektiğini bildirmiştir. Yapılan bir çalışmada *T. gondii* doku kistlerinin 64°C'de 3 dakika hayatta kaldığı ve bu nedenle bütün domuz eti, kuzu eti ve dana eti parçalarının 65,6°C'de en az 3 dakika pişirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Jones ve Dubey, 2012). Balıkçılık ürünlerinde örneğin *Anisakis* için 3 cm kalınlığındaki balık filetoalarının merkez sıcaklığının 60°C'ye ulaşması ve bu sıcaklığı korumak için 10 dakika ısıtılması gerekmektedir (Wootton, 2001; EFSA, 2010). Endüstriyel anlamda pastörizasyon, sıvıların (süt ve su) 71,7°C'de 15 saniye; et veya balıktaki parazitleri etkisiz hale getirmek için ise 60-75°C'de 15-30 dakikalık bir merkez sıcaklıkta ısıtılmalarının parazitlerin kontrolünde etkili olduğu bildirilmiştir. Süt kaynaklı *cryptosporidiosis* salgınları yalnızca pastörize edilmemiş sütle ilişkilendirilmiştir (Franssen vd., 2019).

Parazitlerin çevrede veya gıda üzerinde çoğalmadığı ancak varlıklarını sürdürdükleri bildirilmiştir. Bu nedenle, gıdaların depolanması sırasında parazitlerin sayısı artmaz. Gıda kaynaklı patojenlerin birçoğuna zarar veren soğuk hava koşullarına parazitler daha dirençlidir. Parazitlerin ölmesi, depolama koşullarına bağlı olarak genellikle haftalar, aylar arasında gerçekleşir (EFSA, 2018).

Dondurma işlemi parazitler üzerinde farklı etkiler gösterebilmektedir. Dondurma işleminde de sıcaklık/zaman kombinasyonu önemlidir. Bazı parazit türlerindeki örneklerde; örneğin domuz eti içindeki *Taenia solium* sistiserkleri -24 ila -5°C'de 1-4 gün süreyle dondurularak etkisiz hale getirilirken, sığır eti içindeki *Taenia saginata* sistiserkleri inaktivasyonu 10-15 gün boyunca -5 ila -25°C'de dondurulmasını gerektirir (Hilwig ve Cramer 1978; Sotelo vd., 1986). Başka bir örnekte domuz eti, av eti ve at etindeki *T. spiralis* dışındaki *Trichinella* türlerini etkisiz hale getirmek için dondurma işlemine güvenilemeyeceği

bildirilmiştir. *T. britovi* ile enfekte olmuş bir hayvandan (gram başına 3 larva) elde edilen dondurulmuş yaban domuzu eti, bir hafta boyunca -35°C'de tutulmuş ve tüketen altı kişide klinik trişinelloza neden olduğu bildirilmiştir (Gari-Toussaint vd., 2005; Franssen vd., 2019). Gracia vd. (2022), çiğ et ve kuru kürlenmiş jambonda bulunan *T. gondii*'nin doku kistlerini 14 gün boyunca, -20°C'de ev tipi dondurma yöntemiyle etkisiz hale getirmede etkili olmadığını, güvenli tüketim için gereken sıcaklıkları ve süreleri değerlendirmek üzere daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. -15°C'de 2 gün süreyle saklanan dondurmada ise *Cyclospora cayetanensis*'in ookistlerinin etkisiz hale geldiği bildirilmiştir (Ortega ve Sanchez, 2010). Gıda endüstrisinde ev tipi dondurma işleminin yerine ticari dondurma yöntemlerinin kullanılması gerektiği belirtilmektedir (Franssen, 2019).

Marinasyon, fermantasyon, tütüleme, kurutma, uçucu yağlar vb. geleneksel uygulamalar ve bunların kombine kullanımını parazitleri etkisiz hale getirme potansiyeline sahiptir. Hem kurutma uygulaması hem de tuz eklenmesi, mevcut su miktarını azaltır ve tüm canlı hücreler için zararlı olan ozmotik basıncı artırır. Fermantasyonla oluşan asit ortam da inaktivasyonda etkili olabilmektedir (Ockerman ve Basu 2017).

ElGhannam vd. (2023), karanfil yağının ekstraksiyonu ile elde edilen eugenol (öjenol) uçucu yağının domuz kaslarına yerleşen *Tricinella spiralis* üzerine etkisini araştırmışlar; uçucu yağın dozuna ve zamana bağlı olarak öldürücü etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Giarratana vd. (2017), yaptıkları in vitro bir çalışmada *Tagetes minuta* bitkisinden elde edilen esansiyel uçucu yağıyla hazırlanan marinasyonun *Anisakis* larvalarına karşı güçlü bir etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Et ve balık kaynaklı parazitlerin evreleri genellikle %2-5'lik NaCl içeriğine duyarlıdır. Fare kaslarındaki toksoplazma doku kistlerinin %2,5 NaCl'de 1 gün içinde etkisiz hale getirildiği bildirilmiştir (Pott vd., 2013). Smaldone vd. (2017), *Anisakidae* ile enfekte olmuş balıkta %18,6 tuz konsantrasyonu ile yapılan tuzlama işleminin *Anisakidae* larvalarını 15 günlük bir süre içinde öldürdüğünü bildirmişlerdir. Herrero vd. (2017), kürlenme süresinin jambonda *T. gondii* üzerine etkisini incelemişler, kürlenmenin 12 aydan daha uzun uygulanmasının daha güvenilir olduğunu raporlamışlardır.

Gama ışınlamasının inaktivasyon etkisi, uygulanacak ışın dozuna, parazitin türüne, gelişim aşamalarına ve uygulanan gıda ürününe bağlı olarak farklılık gösterir. Gama ışınlama için

minimum etkili dozun, *Anisakis* dışındaki balık parazitleri için $>0,1-0,5$ kilogray (10 kGy) ve et kaynaklı parazitler için $>0,4-6,5$ kGy aralığında olduğu belirtilmiştir (Franssen vd., 2019). Ercole vd. (2021), yaban domuz etinde $0,32-0,41$ kGy'lik bir dozun, *Trichinella* spp.'nin hem larva hem erişkin formlarının gelişimini engellemede etkili olduğunu göstermiştir.

6.2. Taze çiğ ürünlerde parazit inaktivasyonu

Hayvansal gıdalara uygulanan ısıl işlem, marinasyon, dumanlama vb. muhafaza metotları taze olarak tüketilen salata, sebze ve meyveler gibi gıdalara uygulanmadığından bu tip gıdalardan parazitlerin uzaklaştırılması daha zor olmaktadır (Gérard vd., 2019). Işınlamanın yüksek dozlarda kullanılması ise taze ürünlerin kimyasal yapısına ve dokusuna zarar vermekte bu nedenle daha düşük dozlarda ışınlama kullanılmaktadır. Taze marul ve ıspanakta gıda kaynaklı patojenlerin kontrolü ve raf ömrünün uzatılması için 4 kGy'yi aşmayan bir doza izin verilmektedir (FDA, 2012). Lacombe vd. (2017), yaban mersinlerinde düşük doz ışınlamanın *T. gondii* üzerine etkisini incelemişler, $0,2$ kGy ışınlama dozunun ookistleri önemli ölçüde azalttığını, ürünün yapısına ise zarar vermediğini bildirmişlerdir.

Taze ürünlerin (sebze-meyve) temizlenmesinde en önemli yöntem yıkamalarıdır. Taze ürünlerden bakterilerin yıkama yoluyla uzaklaştırılmasına dair araştırmalar olmasına rağmen parazitlerin taze ürün yüzeylerinden yıkama prosedürleri ile uzaklaştırılmasına ilişkin araştırmalar büyük ölçüde eksiktir. Birçok parazitin bulaşma aşamaları (yumurta, larva ve erişkin) “yapışkandır” ve bu nedenle ortamdaki kaldırımları bakterilerden daha zor olabilir. Taze ürünlerin yüzeylerinin çeşitli özelliklerinden (çatlaklar, yarıklar, hidrofobik eğilim, doku vb.) dolayı, yapışkan parazitler yıkama işlemleri ile giderilemeyebilir (Gérard vd.,2019). Örneğin *Cryptosporidium* ookistlerinin elma yüzeyinden uzaklaştırılması araştırılmış ve uygulanan yıkama yöntemlerinden hiçbirinin, elma kabuğundaki tüm ookistleri uzaklaştırma yaptığı görülmüştür (Macarisin vd., 2010). Kubina vd. (2023), *Cryptosporidium* ookistlerinin bitki büyümesi sırasında kuzu marulunun yapraklarında hasat zamanına kadar canlı kaldığını, hasattan sonra uygulanan yıkama işleminin yüzey yapraklarına aşılardan parazitlerin uzaklaştırılmasında etkili olmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada yıkama suyuna dezenfektan amaçlı katılan klorun oositler üzerinde etki göstermediği de belirtilmiştir.

Gıda endüstrisinde yıkama suyunun bakteriyolojik kalitesini korumak amacıyla çeşitli dezenfektan

maddeler kullanılmaktadır. Bu amaçla en yaygın kullanılan klorun ookistler üzerinde etkisinin olmaması dikkat çekmektedir. Gıda işletmelerinde yıkama suları arıtma sisteminden geçerek yeniden kullanılabilir. Ancak yıkama tanklarının ookistlerle kontaminasyonu durumunda yıkanan ürünlerin çapraz kontaminasyona uğraması söz konusu olabilmektedir. Kimyasal ajanların (klor, klor dioksit, elektrolize su, ozon ve organik asitler) parazitlerin tüm yaşam evrelerinin yok edilmesinde etkili olmadığı ve bunlarla ilgili yeterli çalışmaların bulunmadığı bildirilmiştir (Gérard, 2019).

7. Sonuç

Gıda kaynaklı parazitler karmaşık yaşam döngüleri, farklı bulaşma yolları ve bazılarının oluşturduğu hastalıkların kuluçka süresinin uzun olmasına bağlı olarak kronik seyir göstermesi gibi nedenlerle bakteriyel ve viral hastalıklar kadar ön plana çıkmamaktadır. Ancak ülkelerin sosyo-ekonomik durumları, uluslararası gıda ticaretinin artması, turistik seyahatlerle birlikte seyahat edilen ülkelerdeki farklı yemek kültürlerine (egzotik gıdalar gibi) ilginin artması, iklim değişiklikleri, göç, nüfus artışı gibi faktörler parazitler hastalıkların yayılımını artırmış, bu nedenle de parazitler yeniden önem kazanmıştır. Gıdalar ve sular, bakteriler ve virüslerde olduğu gibi parazitler için de bulaşmada önemli bir kaynak olduğundan, gıda güvenliği ve dolayısıyla halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından önemlidir.

Çiftlikten/ tarladan/ gölden/ tatlı sulardan/ denizden çatala kadarki tüm süreçlerde risk analizlerinin belirlenmesi, kontrol programlarının oluşturulması, gıda ve hayvanlardaki zoonozların izlenmesi, bildirilmesi, kayıt altına alınması ve bu sistemin sürdürülebilirliği önemlidir. Gıda kaynaklı parazitlerle ilgili literatür incelendiğinde yayınlanan birçok makalede, küresel olarak özellikle de risk altındaki ülkelerde bu parazitler hastalıklarının yaygınlığının tespit edilebilmesi için “Tek Sağlık” yaklaşımının benimsenmesinin önemli olduğu, riskleri takip etme, araştırma, kontrol etme ve önleme konusunda yatırımların yapılması ve yapılmış yatırımların devam ettirilmesinin gerekliliği savunulmalıdır.

Mezbaha dışında kontrolsüz hayvan kesimlerinin yapılmaması, mezbahalarda karkas muayenelerinin dikkatli ve kapsamlı yapılması, lezyonlu iç organların başıboş hayvanlara verilmeden doğru şekilde imha edilerek parazitler etkenlerin döngüsünün engellenmesi için çok önemlidir. Bununla birlikte iyi tarım uygulamalarında yeşil yapraklı sebzelerin ve meyvelerin birincil üretimi sırasında olabilecek tehlikelerin öngörülebilmesi, önlenmesi ve

bilinç oluşturulması için yetiştiricilerin eğitilmesi de önem arz etmektedir. Ayrıca gıda kaynaklı parazitlerin gelişiminin önlenmesi için çiftliklerde ve gıda işletmelerinde güvenilir su kaynaklarının sağlanması, gıda zincirinin son aşaması olan gıda

8. Kaynaklar

Almeria, S., Robertson, L., and Santin, M. (2021). Why foodborne and waterborne parasites are important for veterinarians. *Research in Veterinary Science*, (136), 198-199, ISSN 0034-5288, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.02.020>.

Andargie, G., Kassu, A., Moges, F., Tiruneh, M., and Huruy K. (2008). Prevalence of bacteria and intestinal parasites among food-handlers in Gondar town, northwest Ethiopia. *Journal of Health Population and Nutrition*, 26 (4), 451.

Amoah, P., Drechsel, P., Henseler, M., and Abaidoo, R. C. (2007). Irrigated urban vegetable production in Ghana: microbiological contamination in farms and markets and associated consumer risk groups. *J Water Health*, 5 (3), 455–466. doi: <https://doi.org/10.2166/wh.2007.041>.

Badri, M., Olfatifar, M., Karim, M.R., Modirian, E., Houshmand, E., Abdoli, A., ...and others (2022a). Global prevalence of intestinal protozoan contamination in vegetables and fruits: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*, (133), p.108656.

Beuchat, L.R.,and Ryu, J.H. (1997). Produce handling and processing practices. *Emerging Infectious Diseases*, (3), 459-565. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0304.970407>.

Bouwknegt, M., Devleeschauwer, B., Graham, H., Robertson, L.J., and van der Giessen J.W (2018). Euro-FBP workshop participants. Prioritisation of food-borne parasites in Europe, 2016. Euro Surveill. 2018 Mar;23(9):17-00161. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.9.17-00161. PMID: 29510783; PMCID: PMC5840924.

Caccio, S., Chalmers, R., Dorny, P., and Robertson, L. (2018). Foodborne parasites: outbreaks and outbreak investigations. A meeting report from the European network for foodborne parasites (Euro-FBP). *Food and Waterborne Parasitology*, 10(1),1–5. ISSN 2405-6766, <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2018.01.001>.

Cammilleri G., Costa, A., Graci, S., Buscemi, M.D., Collura, R., Vella, A., et al.(2018). Presence of *Anisakis pegreffii* in farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) commercialized in

üretiminde üretimin tüm proseslerinde hijyen ve sanitasyon işlemlerinin planlanması, vektörlerle doğru mücadele yöntemlerinin seçilmesi ve personelin eğitilmesi gerekmektedir.

southern Italy: A first report. *Veterinary Parasitology*, (259)13-16.

Caradonna,T., Marangi, M., Del Chierico, F., Ferrari,N., Reddel, S., Bracaglia, G., Normanno, G., Putignani, L., and Giangaspero, A. (2017). Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. *Food Microbiology*, (67), 67-75, ISSN 0740-0020, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.06.006>.

Chaidez, C., Soto, M., Gortares, P., and Mena, K. (2005). Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in irrigation water and its impact on the fresh produce industry. *Int. J. Environ. Health Res.*, (15), 339-345. <http://dx.doi.org/10.1080/09603120500289010>.

Dagneu, M., Tiruneh, M., Moges, F., and Tekeste, Z. (2012). Survey of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and intestinal parasites among food handlers working at Gondar University, Northwest Ethiopia *BMC Public Health*, 12 (1), 1-7.

Despommier, D.D., Gwadz, R.W., and Hotez, P.J. (2012). Parasitic diseases. Springer Science & Business Media.

Dixon, B. R. (2015). Transmission dynamics of foodborne parasites on fresh produce. In *Foodborne parasites in the food supply web*, 317-353. Woodhead Publishing.

Duda, A., Kosik-Bogacka, D., Lanocha-Arendarczyk, N., Kołodziejczyk, L.,and Lanocha, A. (2015). The prevalence of *Blastocystis hominis* and other protozoan parasites in soldiers returning from peacekeeping missions. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(4), 805.

Dulo, F., and Pal, M. (2017). Emerging viral zoonoses and their implications on public health. *World Appl Sci J*. 35(2):188-98. 2.

Dümen, E., Ekici, G., Bayrakal, GM., Akkaya, H., Sezgin, FH., Ergin, S. (2023). Çiğ köftelerin bakteriyolojik ve parazitolojik kalitesinin tespiti ile halk sağlığının korunması. *İstanbul Rumeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1 (2): 1- 12.

EFSA. (2010). Opinion of the scientific panel on biological hazards on "Risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8 (4), 1543.

- EFSA Journal. (2018). 16(12), 5495, 113 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5495>.
- ElGhannam, M., Dar, Y., ElMehlawy, M.H., Mokhtar, F.A., and Bakr, L. (2023). Eugenol; Effective Anthelmintic Compound against Foodborne Parasite *Trichinella spiralis* Muscle Larvae and Adult. *Pathogens*, (12), 127. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010127>.
- Erez, M. S., Kozan, E., GÖKSU, A. (2022). Detection of helminth egg contamination on raw vegetables in Afyonkarahisar, Turkey. *Kocatepe Veterinary Journal*, 15(4), 374-380.
- Ercole, M. E., Bessi, C., Pasqualetti, M.I., Ribicich, M. M., Aronowicz, T., Bonboni, A., Acerbo, M., and Fariña, F.A. (2021). Reprint of: Gamma radiation effect on *Trichinella pseudospiralis* and *Trichinella spiralis* infected wild boar meat, *Veterinary Parasitology*, (297), 109543, ISSN 0304-4017, <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109543>.
- Eroglu, F. and Koltas, İ.S. (2010). Evaluation of the transmission mode of *B. Hominis* by using PCR method. *Parasitol Res*, 107, 841–845. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1937-4>.
- Eslahi, A.V., Olfatifar, M., Zaki, L., Pirestani, M., Sotoodeh, S., Farahvash, M.A. Aisa Maleki, A., and Badri, M. (2023). The worldwide prevalence of intestinal helminthic parasites among food handlers: A systematic review and meta-analysis, *Food Control*, (148), 109658. ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109658>.
- Eslahi, A.V., Olfatifar, M., Zaki, L., Saryazdi, A.K., Barikbin, F., Maleki, A., Abdoli, A., Badri, M., and Karanis, P. (2023). Global prevalence of intestinal protozoan parasites among food handlers: A systematic review and meta-analysis. *Food Cont.*, (145), 100–106. from: <http://www.fao.org/publications/card/en/c/ee07c6ae-b86c-4d5f-915c-94c93ded7d9e>.
- FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. (2014). Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Microbiological Risk Assessment Series No. 23, 302. <http://www.fao.org/publications/card/en/c/ee07c6ae-b86c-4d5f-915c-94c93ded7d9e>
- Faria, C.P., Pereira, A., Almeida, D., Pinto, M., Lourenço, Á., and do Céu Sousa, M. (2023). Molecular investigation of ready-to-eat salads for *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in Portugal. *Food Waterborne Parasitol.* (23); 30:e00190. doi: 10.1016/j.fawpar.2023.e00190.
- FDA, U.S. (2012). Irradiation in the production, processing and handling of food US. Code of Federal Regulations, 21(179).
- Feng, Y., Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, (24),110-140.
- Francis, G.A., Thomans, C., and O'Beirne, D. (1999). The microbiological safety of minimally processed vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, (34),1-22. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00253.x>.
- Franssen, F., Gerard, C., Cozma-Petruț, A., Vieira-Pinto, M., Jambrak, A.R., Rowan, N., Paulsen, P., Rozycki, M., Tysnes, K., Rodriguez-Lazaro, D., and Robertson, L. (2019). Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on food of animal origin. *Trends in Food Science & Technology*, (83),114-128, 10.1016/j.tifs.2018.11.009.
- Franssen, F., Deng, H., Swart, A., Marinović, A.B., Liu, X., Liu, M., and van der Giessen J. (2021). Inactivation of *Trichinella* muscle larvae at different time-temperature heating profiles simulating home-cooking. *Experimental Parasitology*, (224), 10.1016/j.exppara.2021.108099.
- Gabriël, S., Johansen, M.V., Pozio, E., Smit, G.S., Devleeschauwer, B., Allepuz, A., Papadopoulos, E., van der Giessen, J., and Dorny, P. (2015). Human migration and pig/pork import in the European Union: What are the implications for *Taenia solium* infections? *Vet Parasitol.* 213(1-2), 38-45. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.03.006.
- Gabriël, S., Dorny, P., Saelens, G., and Dermauw, V. (2023). Foodborne Parasites and Their Complex Life Cycles Challenging Food Safety in Different Food Chains. *Foods*, (12), 142. <https://doi.org/10.3390/foods12010142>.
- Gajadhar, A.A. (2015). 1-Introduction to foodborne parasites, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Foodborne Parasites in the Food Supply Web, Publishing, 3-9, ISBN 9781782423324, <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-332-4.00001-1>.
- Gari-Toussaint, M., Tieulié, N., Baldin, J., Dupouy-Camet, J., Delaunay, P., Fuzibet, J.G, Le Fichoux, Y., Pozio, E., Marty, P. (2005). Human trichinellosis due to *Trichinella britovi* in southern France after consumption of frozen wild boar meat. *Euro Surveillance*, 10(6),117-8.

- Gérard, C., Franssen, F., La Carbona, S., Monteiro, S., Cozma-Petruț, A., Utaaker, K. S., ... and Robertson, L.J. (2019). Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on foods of non-animal origin, *Trends in Food Science & Technology*, (91), 12-23, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.015>.
- Giarratana, F., Muscolino, D., Ziino, G., Giuffrida, A., Marotta, S.M., Lo Presti, V., Chiofalo, V., Panebianco, A. (2017). Activity of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae), *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 10(5), 461-465. ISSN 1995-7645, <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.05.005>.
- Gracia, M.J., Lázaro, R., Pérez-Arquillué, C., Bayarri, S. (2022). Effect of Domestic Freezing on the Viability of *Toxoplasma gondii* in Raw and Dry-Cured Ham from Experimentally Infected Pigs. *Journal of Food Protection*, 85 (4), 626-631, ISSN 0362-028X, <https://doi.org/10.4315/JFP-21-281>.
- Gürbüz, C.E., Gülmez, A., Özkoç, S., İnceboz, T., Miman, Ö., Aksoy, Ü., ve Delibaş, S.B. (2020). Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2011-2018 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 44(2), 83-7.
- Hajare, S.T., Gobena, R.K., Chauhan, N.M., and Erniso, F. (2021). Prevalence of intestinal parasite infections and their associated factors among food handlers working in selected catering establishments from Bule Hora, Ethiopia. *BioMed Research International Article* 6669742, 10.1155/2021/6669742.
- Herrero, L., Gracia, M.J., Pérez-Arquillué, C., Lázaro, R., Herrera, A., Bayarri, S. (2017). *Toxoplasma gondii* in raw and dry-cured ham: The influence of the curing process. *Food Microbiology*, (65) 213-220, ISSN 0740-0020, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.02.010>.
- Hilwig, R.W., Cramer, J.D., and Forsyth K.S. (1978). Freezing times and temperatures required to kill cysticerci of *Taenia saginata* in beef. *Veterinary Parasitology*, 4 (3), 215-219, 10.1016/0304-4017(78)90048-1.
- Idowu, O.A., Rowland, S.A. (2006). Oral fecal parasites and personal hygiene of food handlers in Abeokuta, Nigeria. *African Health Sciences*, 6(3),160-4. doi: 10.5555/afhs.2006.6.3.160. PMID: 17140338; PMCID: PMC1831884.
- Jiménez A.E., Fernández A., Alfaro R., Dolz G., Vargas B., Epe C., and Schnieder T. (2010). A cross-sectional survey of gastrointestinal parasites with dispersal stages in feces from Costa Rican dairy calves. *Veterinary Parasitology*, (173), 236-246.
- Johnston, L.M., Jaykus, L.A., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B., and Moe, C. (2005). A field study of the microbiological quality of fresh produce. *J. Food Prot.*, (68), 1840-1847.
- Jones, J.L., and Dubey. J.P. (2012). Foodborne toxoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases*, 55(6), 845-851, doi:10.1093/cid/cis508.
- Kubina, S., Costa, D., Cazeaux, C., Villena I., Favennec, L., Razakandrainibe, R., and La Carbona, S. (2023). Persistence and survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts on lamb's lettuce leaves during plant growth and in washing conditions of minimally-processed salads. *International Journal of Food Microbiology*, (388), 110085, ISSN 0168-1605, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110085>.
- Lacombe, A., Breard, A., Hwang, C., Hill, D., Fan, X., Huang, L., Yoo, B.K., Niemira, B.A., Gurtler, J.B., Wu, V.C.H. (2017). Inactivation of *Toxoplasma gondii* on blueberries using low dose irradiation without affecting quality. *Food Control*, 73(B), 981-985, ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.011>.
- Macarisin, D., Bauchan, G., and Fayer R. (2010). *Spinacia oleracea* L. Leaf stomata harboring *Cryptosporidium parvum* oocysts: A potential threat to food safety, *Applied and Environmental Microbiology*, 76(2), 555-559, 10.1128/AEM.02118-09.
- Mahalleh, A.A, ve Çelik, T.H. (2019). Yeni ve Yeniden Önem Kazanan Gıda Kaynaklı Bazı Viral ve Paraziter Zoonozların Epidemiyolojisi Türkiye Klinikleri. *J Vet Sci.*, 10(1):21-30.
- McKerr, C., Adak, G. K., Nichols, G., Gorton, R., Chalmers, R. M., Kafatos, G., and Morton, S. (2015). An outbreak of *Cryptosporidium parvum* across England & Scotland associated with consumption of fresh pre-cut salad leaves. *PLoS One*, 10(5), e0125955.
- Mo, T.A., Gahr, A., Hansen, H., Hoel, E., Oaland, Ø., and Poppe, T.T. (2014). Presence of *Anisakis simplex* (rudolphi, 1809 det. Krabbe, 1878) and *Hysterothylacium aduncum* (rudolphi, 1802) (nematoda; anisakidae) in runts of farmed atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 37(2), 135-140.
- Morales-Figueroa, G.G., Sánchez-Guerrero, M.A., Castro-García, M., Esparza-Romero, J., López-Mata, M.A., and Quihui-Cota, L. (2021).

Occurrence of intestinal parasites in fruits and vegetables from markets of Northwest Mexico. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. (8), 57-65.

Robertson, L.J., Chitanga, S., Mukaratirwa, S. (2020). Food and waterborne parasites in Africa - threats and opportunities. *Food and Waterborne Parasitology*, 20 (e00093). <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2020.e00093>.

Ryan, U., Hijjawi, N., and Xiao, L. (2018). Foodborne cryptosporidiosis. *International Journal for Parasitology*, (48),1-12.

Ockerman,H., Basu, L. (2017). Technology of fermented meat products N. Zdolec (Ed.), *Fermented meat products: Health aspects*, CRC Press, Boca Raton – London, New York. 15-48.

Omurtag Korkmaz B.İ., ve Doğruer, Y. (2018). Gıda Kaynaklı Parazitler Hastalıklarda Risk Değerlendirmesi. Doğruer Y, editör. *Gıda Kaynaklı Parazitler Hastalıkları*. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*, (80), 8.

Ortega, Y.R., ve Sanchez R. (2010). Update on *Cyclospora cayentanensis*, a food-borne and waterborne parasite. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 218-234, 10.1128/CMR.00026-09.

Pott, S., Koethe, M., Bangoura, B., Zoller, B., Dauschies, A., Straubinger, R.K., and et al. (2013). Effects of pH, sodium chloride, and curing salt on the infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Journal of Food Protection*, 76(6), 1056-1061, 10.4315/0362-028X.JFP-12-519.

Pozio E. (2019). How globalization and climate change could affect foodborne parasites, *Experimental Parasitology*, (208), 107807, ISSN

0014-4894, <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107807>.

Robertson, L.J. (2018). Parasites in food: From a neglected position to an emerging issue, *Advances in Food & Nutrition Research*, (86), 1043-4526. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.04.003>.

Ruh, E., ve Taylan, Ö. A. (2023). Parazitlerden kaynaklanan salgınlar: Dünyadan ve Türkiye'den örnekler. *Mikrobiyol Bul*; 57(2):317-329.

Smaldone, S., Marrone, R., Palma, G., Sarnelli, P., and Anastasio. A. (2017). Preliminary study on the inactivation of anisakid larvae in baccalà prepared according to traditional methods. *Italian Journal of Food Safety*, 6(6964), 195-198.

Sotelo,J., Rosas, and N., Palencia.G. (1986). Freezing of infested pork muscle kills cysticerci. *Journal of the American Medical Association*, 256(7), 893-894.

Torgerson P.R, de Silva N.R., Fèvre E.M., Kasuga F., Rokni M.B., Zhou X-N, and et al. (2014). The global burden of foodborne parasitic diseases: an update. *Trends in Parasitology*. (30), 20-6.

Woolsey, I.D., and Miller, A.L. (2021). *Echinococcus granulosus* sensu lato and *Echinococcus multilocularis*: a review. *Research in Veterinary Science*, (135), 517-522. [doi:10.1016/j.rvsc.2020.11.010](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.010).

Wu T, Perrings C, Kinzig A, Collins JP, Minter BA, and Daszak P. (2017). Economic growth, urbanization, globalization, and the risks of emerging infectious diseases in China: a review. *Ambio*. 46(1), 18-29. [doi: 10.1007/s13280-016-0809-2](https://doi.org/10.1007/s13280-016-0809-2). Epub 2016 Aug 4. PMID: 27492678; PMCID: PMC5226902.

GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

ETİK KURALLARI ve İNTİHAL KONTROLÜ

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, Yayın Etiği Komitesi [Committee on Publication Ethics (COPE)] tarafından hazırlanan yönerge (The COPE Code of Conduct for Journal Editors) hükümlerine uymayı kabul ve taahhüt etmiştir.

Dergi tarafından kabul edilen etik görev ve sorumluluklar Committee on Publication Ethics (COPE) ve Council of Science Editors (CSE) tarafından yayınlanan rehberler ve politikalar dikkate alınarak hazırlanmıştır.

A- EDITÖRLER ve YAYIN KURULUNUN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi'nin Editörler Kurulu, açık erişim olarak Committee on Publication Ethics (COPE) tarafından yayınlanan "COPE Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors" ve "COPE Best Practice Guidelines for Journal Editors" rehberleri temelinde belirtilen tüm etik görev ve sorumluluklara bağlı kalmayı taahhüt eder.

1-Editörler, dergide basılan tüm makalelerden sorumlu olup derginin niteliğinin iyileştirilmesine katkı yapmakla yükümlüdürler.

2-Editörler, okuyuculardan gelen geri bildirimleri dikkate almak ve geri bildirim vermekle yükümlüdürler.

3- Editörler, dergiye gönderilen çalışmaların önemi, özgün değeri, geçerliliği, anlatımın açıklığı ve derginin amaç ve hedeflerine uygunluğu bakımından değerlendirerek olumlu ya da olumsuz karar vermelidirler.

4-Editörler, dergiye gönderilen çalışmaları; yazarların sosyal, kültürel, ekonomik özellikleri ile dini inançları göz önüne alınmaksızın, sadece entelektüel değerleri çerçevesinde değerlendirilmelidir.

5-Editörler ve Yayın Kurulu, dergiye yayınlanmak üzere gönderilen çalışmaların, 3 hafta içerisinde değerlendirmeye alıp almayacaklarına karar vermeli ve bunu yazara bildirmelidirler.

6-Editörler ve Yayın Kurulu, makaleyi ilk inceleme sonucunda red etme kararına varırsa yazarlara bunun nedenini açık bir şekilde bildirmekle yükümlüdürler.

7-Dergiye gönderilen çalışmalar editörler tarafından öncelikle intihal ihtimaline karşı raporların olup olmadığı kontrol edilmelidir. Bu aşamada intihal raporu olmayan çalışmalar ve intihal ihtimali olan çalışmalar, editörler tarafından reddedilir.

8-Editörler ve Yayın Kurulu Üyeleri Dergiye gönderilen makaleleri hakemler dışında hiç kimseye ifşa etmemelidirler.

9-Editörler, dergiye gönderilen çalışmaların kabulü için yazarlara dergideki herhangi bir makaleye veya başka bir çalışmaya atıf yapması konusunda telkinde bulunmamalıdır.

10-Editörler, makaleleri aynı disiplindeki konu uzmanlıklarına uygun olan hakemlere göndermelidirler.

11- Yayın Kurulu, yazarlarla, yazarların kurumları ya da yazarların bir veya daha fazla ilgi alanı ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması/çakışması yaşama durumundaysa, görevlendirilen editöre bilgi vermeli ve değerlendirme sürecinden çekilmelerini istemelidirler.

12-Editörler, hakemleri tarafsız, bilimsel ve nesnel bir dille çalışmayı değerlendirmeleri için teşvik etmelidirler.

13-Editörler, makaleleri objektif değerlendiren, hakemlik sürecini zamanında yerine getiren, makaleyi yapıcı eleştirilerle değerlendiren ve etik kurallara uygun davranan bilim insanlarının olmasına özen göstermelidirler.

14-Editörler, yayın kurulu ve hakemler kurulu üyelerini, uzmanlık alanlarına uygun, katkı sağlayabilir ve uygun nitelikte belirleyerek kurullara derginin yayın politikaları konusunda bilgi vermekle yükümlüdür.

B-YAZARLARIN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi yayın etiği açısından, COPE (Committee on Publication Ethics) tarafından kabul edilen kriterlere uymayı taahhüt eder.

1-Eserlerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir. Eserler, bilim etiği ilkelerine uygun olarak hazırlanmalı, Etik Kurul Raporu gerektiren durumlarda bir kopyası eklenmelidir.

Aşağıdaki araştırma konuları ile ilgili Etik Kurul Raporu bilgileri (kurul adı, tarih ve sayı no) yöntem bölümünde ve ayrıca makale son sayfasında ek olarak verilmelidir.

- ✓ Anket, mülakat, odak grup çalışması, gözlem, deney, görüşme teknikleri kullanılarak katılımcılardan veri toplanmasını gerektiren nitel ya da nicel yaklaşımlarla yürütülen her türlü araştırmalar.

- ✓ İnsan ve hayvanların (materyal/veriler dahil) deneysel ya da diğer bilimsel amaçlarla kullanılması,
- ✓ İnsanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalar,
- ✓ Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar,
- ✓ Kişisel verilerin korunması kanunu gereğince retrospektif çalışmalar.
- ✓ Ayrıca, kullanılan fikir ve sanat eserleri için telif hakları düzenlemelerine riayet edilmeli, başkalarına ait ölçek, anket, fotoğrafların kullanımı için sahiplerinden izin alınması.

2-Yayımlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur.

3-Ancak; yurtiçi veya yurtdışı kongrelerde sunularak yalnızca özeti yayımlanmış makaleler yayıma kabul edilmektedir.

4-Dergiye yayımlanmak üzere gönderilen eserlerle birlikte Telif Hakkı Devir Sözleşmesi de tüm yazarlarca imzalanarak, makale ile birlikte gönderilmelidir.

5-Dergi, COPE hükümleri doğrultusunda, hakemlerin ve yazarların kimliklerinin birbirinden gizlendiği double blind peer review (Çift Kör) hakem değerlendirmesi sistemini kullanmaktadır

6-Yayın sürecinde, dergi ile yazışmaları yapan kişi/kişiler “Sorumlu Yazar” olarak kabul edilir. Yazışmaların diğer yazarlarla paylaşılması, gerekli işlemlerin zamanında ve doğru olarak yapılması “Sorumlu Yazar”a aittir. “Sorumlu Yazar” makalenin ilk ismi olmak zorunda değildir.

7-Değerlendirme süreci başlamış bir çalışmada yazar ekleme, yazar sırası değiştirme ve yazar çıkartma gibi özel durumlar “Sorumlu Yazar” inisiyatifindedir.

8-Son Kontrol Listesi sadece sorumlu yazar tarafından imzalanarak makale ile birlikte gönderilmelidir.

9-Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi yayımlanmak üzere gönderilen makaleler, hakem süreci başlatıldıktan sonra geri çekilemez.

10-Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi İntihal ve Duplicate önüne geçmek üzere sorumlu yazarlardan İntihal raporu talep edilir.

11-Benzerlik oranı kaynakça hariç en fazla %20-30 olmalıdır.

12-Yazarlar, yayınlanmak üzere gönderilen tüm çalışmaların potansiyel çıkar çatışması teşkil edebilecek durumları ve çalışmalarını destekleyen kuruluşları makalenin son kısmında beyan etmekle yükümlüdürler.

13-Ayrıca, çalışma lisansüstü tezlerden üretilmiş ise ve çalışmaya katkısı için teşekkür edilecek kişi veya kurumlar varsa bu gibi durumların da makalenin son kısmında belirtilmesi gerekmektedir.

C-HAKEMLERİN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

1-Hakemler, Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi’ne gönderilen bir çalışma kendi uzmanlık alanında değilse, makale konusu hakkında yeterli bilgiye sahip değilse ya da zamanında bir değerlendirme yapamayacak durumda ise, editörü bu durumdan haberdar ederek değerlendirme görevinden ayrılmalıdır.

2-Hakemler, yazarı ile aralarında rekabet, iş birliği veya başka türlü ilişki ya da bağlantılar bulunduğunu tespit ettiği çalışmalarını kesinlikle değerlendirmemelidir.

3-Hakemler, gizlilik ilkesine riayet ederek değerlendirmesini yapmalı, çalışmayı üçüncü kişilerle paylaşmamalıdır.

4-Hakemler, inceleme sürecinde elde etmiş olduğu ayrıcalıklı bilgi ve fikirleri gizli tutmalı ve kişisel çıkarı için kullanmamalıdır.

5-Hakemler, eleştiri ve önerilerini nazik bir dille objektif ve yapıcı bir şekilde yapmalıdır.

6-Yazara karşı iftira ve hakaret içeren aşağılayıcı yorum ve eleştiri kullanılmamalıdır.

7-Hakemler, fikirlerini açık biçimde destekleyen belgelerle desteklemelidir.

8-Hakemler, değerlendirilen çalışmanın daha önce yayınlanmış başka bir çalışma ile arasında esaslı bir benzerlik tespit etmeleri halinde, durumu editöre iletmelidirler.

GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ **GENEL İLKELER ve YAZIM KURALLARI**

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, yılda iki defa (Ocak ve Temmuz) yayımlanan hakemli bir dergidir.

Dergide, özgün araştırma ürünü makaleler ile belirli bir konuyu yeterli sayıda kaynaktan araştırarak hazırlanmış derleme makaleleri yayımlanır. Önemli bir potansiyeli ya da bulgusu olmayan ve sadece yerel ilgi çekecek makaleler basıma kabul edilmez. Dergide basılacak İngilizce makale sayısı toplam makale sayısının üçte birini geçemez.

Derleme makalelerde, en az %75'i son 10 yıla ait olmak üzere en az 50 kaynak olmalıdır.

Dergide yayımlanacak makaleler; gıda, yem, bunlara ait katkı maddeleri ve hammaddeler, su-atık su, su ürünleri, gıda ile temas eden madde ve malzemelerde;

- Güvenilirlik ve kalite
- İşleme teknolojileri
- Analiz yöntemleri
- Biyogüvenlik ve biyoteknoloji
- Sosyo-ekonomik araştırmalar
- Mevzuatlar
- Diğer konular (geleneksel gıdalar, organik gıda ve yem, beslenme, gıda kimlik belirleme, gıda ve yem sanayi atıklarının değerlendirilmesi vb.) ile ilgili olmalıdır.

"Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisine gönderilmiş ve makalenin tamamı ya da bir bölümünün herhangi bir dilde daha önceden yayınlanmamış (tezler ve kongre sunu özetleri hariç) başka bir dergiye basım için gönderilmemiş olması gerekir. "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisinde yayınlanmış olan bir makale başka bir yerde yayınlanamaz.

"Etik Kurul İzin Belgesi'nin kullanıldığı araştırmalarda bu belgelerin makaleye eklenmesi gerekir.

Yayınlanması için "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisine gönderilen makalede herhangi bir kurum ya da kuruluşun doğrudan ya da dolaylı alınan desteğin makale içinde ilk sayfa dipnot veya teşekkür başlığı altında belirtilmesi tümüyle yazarların sorumluluğundadır.

Tüm aşamalardan geçmiş dergimizde yayınlanması uygun olarak değerlendirilmiş makaleler sisteme yükleniş tarihine göre yayınlanmak üzere sıraya konular. Hangi sayıda yayınlanacağı ile ilgili bilgi sorumlu yazara iletilir.

Aşağıda verilen yazım kurallarına uymadan hazırlanmış ve/veya dergi yayın ilkeleri ile uyumsuz makaleler, hakeme gönderilmeden yazara iade edilir.

MAKALE GÖNDERİMİ

Makaleler, basılı kopyaya gerek olmaksızın bursagida@tarimorman.gov.tr ve dergi.bursagida@gmail.com adresine e-posta yolu ile gönderilmelidir.

Makaledeki bilgilerin doğruluğunun sorumluluğu yazar(lar)a aittir.

Yazışma Adresi: e-posta: bursagida@tarimorman.gov.tr; dergi.bursagida@gmail.com

Yazar isterse, makaleyi değerlendirmek üzere "Son Kontrol Listesi Formu (BGA-FR-103)"nda ilgili bölüme üç isme kadar hakem önerebilir. Editör ve Yayın Kurulu, hakemleri seçme hakkını korur.

Gönderilen yazılar, önce yayım kurulunca dergi ilkelerine uygunluk açısından incelenir. Yayın kurulu üyeleri tarafından incelenen makaleler için "Yayın Kurulu Değerlendirme Formu (BGA-FR-105)" doldurulur. Uygun bulunmayanlar için kabul edilmeme sebebi yazara bildirilir.

Uygun bulunanlar, "Hakemlik Görev Yazısı Formu (BGA-FR-107)" doldurmuş olan o alandaki üç hakeme "Hakem Makale İnceleme Yazısı Formu (BGA-FR-106)" ile birlikte gönderilir (Öncelikle iki hakeme gönderilir. Hakemlerden birinden olumsuz sonuç gelmesi halinde üçüncü hakeme gönderilir). Dergi, COPE hükümleri doğrultusunda, hakemlerin ve yazarların kimliklerinin birbirinden gizlendiği double blind peer review (Çift Kör) hakem değerlendirmesi sistemini kullanmaktadır.

Hakemler "Hakem Değerlendirme Formu (BGA-FR-102)"nu doldurarak makale ile ilgili değerlendirmelerini editöre iletirler. Hakemlerin ve yazarların isimleri gizli tutulur ve raporlar beş yıl süreyle saklanır. Hakem raporlarından ikisi olumlu, diğeri olumsuz olduğu takdirde, yazı yayımlanır. Olumsuz görüş bildiren hakeme durum hakkında bilgi verilir. Yazarlar, hakemlerin görüş ve önerileri doğrultusunda düzeltmeleri yaparlar. Editör ve Yayın Kurulu gerektiği durumlarda yazıların yazım şekli üzerinde değişiklik yapabilir. Makalesi kabul edilen yazarlara "Makale Kabul Yazısı (BGA-FR-110)" bu makalede değerlendirme yapan hakemlere de "Hakem Makale Teşekkür Yazısı (BGA-FR-115)" gönderilir.

Bütün makaleler ile birlikte "Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)" ile "Son Kontrol Listesi (BGA-FR-103)" de gönderilmelidir.

<http://arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida> adresindeki "Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)" doldurulup sorumlu yazar tarafından imzalandıktan sonra tarayıcıdan geçirilmeli ve elektronik dosya olarak bursagida@tarimorman.gov.tr ve dergi.bursagida@gmail.com adresine mail ile gönderilmelidir. Makale basım için kabul edilmezse, "Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)"nun yasal bir önemi kalmaz ve hükümsüz olarak kabul edilir.

"Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)"nın imzalanması ile yazar, makalenin "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisinde basılması ve web sayfasında yayınlamasına ilaveten makalenin tamamı ya da bir kısmının yasal olarak çoğaltılması, yeniden basılması ve dağıtılması hakkını Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne devrederek, kendi haklarından feragat etmektedir.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

Dergiye başvuru sırasında gönderilecek makale, Microsoft Word yazılımıyla, A4 boyutundaki kağıdın tek yüzüne Times New Roman yazı tipi, 12 punto ve 2 satır aralıkla iki yana yaslanmış olarak yazılmalı; kenar boşlukları, her bir kenardan 2,5 cm olmalıdır. Sayfada gölgelendirme ve çerçeve vb. uygulamalar yapılmamalıdır. Makale içeriği dil bilgisi kurallarına özen gösterilerek akıcı ve anlaşılır bir şekilde yazılmalıdır. Araştırma ve derleme makaleleri, çizelge ve şekiller dâhil toplam 22 sayfayı geçmemelidir. Editör ve yayın kurulu, makalenin kısaltılmasını isteyebilir. Ayrı kapak sayfası dışındaki tüm sayfalar numaralandırılmalı, ancak metin içinde belirli bir sayfa numarasına atıf olmamalıdır.

Makale: Başlık, İngilizce Başlık, Yazar İsimleri ve Adresleri ve ORCID ID, Özet, Türkçe Anahtar Kelimeler, Abstract, Keywords, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç), Teşekkür (gerekliyse) ve Kaynaklar ana başlıkları altında hazırlanmalıdır. Kısaltmalar metin içerisinde tanımlanmalıdır. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır. İngilizce hazırlanacak makalelerde ana metin kısımları aynı başlıklardan oluşmalıdır.

Başlık: Makale başlığı metne uygun kısa ve açık, İngilizce ve Türkçe, sadece ilk harfi büyük, 12 punto, koyu ve sayfaya ortalanmış olmalıdır. Diğer başlıklarda sola dayalı olarak yazılmalı ve sadece ilk kelimenin ilk harfi büyük yazılmalıdır.

Yazar İsimleri: Eserin yazar ya da yazarlarının adı ve soyadı başlığın hemen altında bir satır boşluktan sonra, ünvan belirtilmeden, 10 punto, yazarın isim ve soyadı baş harfleri büyük ve kelime koyu yazılmalıdır. Ünvan ve bağlı oldukları kurumlar yazar isimlerinin altında italik ve 8 punto olarak yazılmalıdır.

Özet/Abstract: Türkçede 250 İngilizcede 300 kelimeyi geçmeyecek şekilde yazılmalıdır. Bölünmüş özet (Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç) olarak düzenleme yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler/Keywords: Özetlerin altına eser metnini ifade edebilecek en az 2 en çok 7 adet anahtar kelime belirtilmelidir.

Metin: Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç kısımlarından oluşur. Derlemelerde ise konuya uygun olarak bölümlendirme yapılabilir.

Çizelgeler ve Şekiller: Yazı içinde geçen tablolar, "çizelge"; grafik, resim, fotoğraf, harita ve akım şemaları ise "şekil" olarak isimlendirilmeli ve 11 puntodan düşük punto kullanılmasından olabildiğince kaçınılmalıdır.

Çizelge başlıkları çizelgenin üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve sırayla numaralandırılmalıdır. Kullanılan çizelge ve şekiller metin içinde atıf mutlaka yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler çizelge ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Çizelge 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. Çizelge ve şekillerde verilecek dipnotlar çizelge ve şekillerin altına 8 punto ve italik olarak yazılmalıdır. Tercihe bağlı olarak Türkçe araştırma makalelerinde çizelge/şekil başlığı ve varsa tüm dipnotlar çizelgede/şekilde yer alan Türkçe kelimelerin İngilizcesi de italik olarak yazılmalıdır.

Metin içinde geçen kaynak bildirimleri ve 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.

KAYNAKLAR:

Metin içinde yazar veya yazarlara yapılan atıf

Tek yazar:

Vurarak (2021) 'a göre

(Vurarak, 2021).

İki yazarlı:

Ciniviz ve Yılmaz Ersan (2021)'a göre

(Ciniviz ve Yılmaz Ersan, 2021)

Üç ve daha fazla yazarlı metinlerde, sadece ilk yazarın adı kullanılıp sonrasında “vd.” ifadesi kullanılır:

Harris vd. (2001) ifade ettiği üzere (...)

Harris vd. (2001)’ne göre (...)

(Harris vd., 2001)

Yazar bir organizasyon veya hükümet kurumu ise,

ilk atıfta olduğu gibi atıf yapılır; eğer çok bilinen bir kurum ise, sonraki kullanımlarda kısaltması tercih edilir:

İlk atf: Association of Official Analytical Collaboration International’a (2021) göre

İkinci atf: AOAC’a (2021) göre

İlk atf: (Association of Official Analytical Collaboration International [AOAC], 2021)

İkinci atf: (AOAC, 2021)

Aynı parantezde birden fazla esere atıfta bulunulduğunda, bunlar harf sırasına göre dizilmeli ve iki eser noktalı virgül ile ayrılmalıdır:

(Ciniviz ve Yılmaz Ersan, 2021; Hamzaoğlu vd., 2021; Vurarak, 2021).

Aynı soyisme sahip yazarlarda, karışıklığı önlemek için ismin ilk harfi de kullanılır:

(E. Kural, 2010; L. Kural, 1999)

Aynı yazarın aynı yıl yayımlanan iki veya daha fazla eserine atıf yapılıyorsa; yıldan sonra (a, b, c) harfleri kullanılır:

Rice (2017a)’nin çalışmasına göre

Rice (2017b)’nin çalışmasına göre

Dipnotlar ve sonnotlar:

APA yazım stilinde, dipnot ve sonnot kullanımı pek tercih edilmemektedir. Bundan dolayı mümkün olduğu kadar az dipnot kullanılmalıdır. Yalnızca çok elzem bir açıklayıcı not gerektiğinde dipnot kullanılmalıdır.

Önemli not:

APA atıf ve kaynakçada “and” yerine “&” kullanılmasını önermektedir. Ancak Türkçede “&” sembolü “ve” yerine kullanılmadığından, Türkçe olarak yazılan metinlerde atıf yaparken ve kaynakça yazarken “&” sembolü kullanılmamalıdır. Ayrıca, üç kişiden çok yazarlı metinlere atıf yaparken APA “et al.” (Hamzaoğlu et al., 2021) kullanılmasını önermektedir. Ancak Türkçe’de “et al.” yerine “vd.” (Hamzaoğlu vd., 2021) kullanılmalıdır. Makale İngilizce ise yerine göre “&” sembolü ve “and” kullanılmalıdır.

Kaynak listesi:

Yararlanılan kaynaklar sıra numarası verilmeksizin yazarın soyadı dikkate alınarak alfabetik sıraya göre yazılmalıdır. Aynı yazara ait fazla sayıdaki eserler kronolojik olarak sıralanmalıdır.

Tek yazar:

Vurarak, Y. (2021). Semi-Mechanical Harvesting Method Effect on Oil Content and Fat Composition of Sesame. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (25), 39-47. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/issue/60450/886028>

İki yazar:

Ciniviz, M. ve Yılmaz Ersan, L. (2021). Süt Ürünleri Tüketiminin Kolorektal Kansere Üzerine Etkisi. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (25), 1-14. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/issue/60450/885980>

Üç ile yedi yazar arası:

Hamzaoğlu, M., Demir, S., Tosunoğlu, H., Zengingönül Gökçay, R. ve Deniz, A. (2021). QuEChERS -LC MS/MS yönteminin ballarda bazı pestisit kalıntıları için metod validasyonu. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (25), 48-56. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/issue/60450/886069>

Yedi yazardan fazla ise; ilk altı yazarın adı listelendikten sonra üç nokta koyup son yazarın adı eklenir. Yedi isimden fazlası yer almamalıdır:

Miller, F.H., Choi, M.J., Angeli, L.L., Harland, A.A., Stamos, J.A., Thomas, S.T., . . .and Rubin, L.H. (2009). Web site usability for the blind and low-vision user. Technical Communication, 57, 323-335.

Organizasyonun yazar olduğu durumlarda:

AOAC. (2021).

Aynı yazarın iki ve daha fazla çalışması kullanılmışsa; kaynaklar tarih sırasına göre dizilmelidir:

Çetin, T. (2019).

Çetin, T. (2020).

Eğer yazar bir çalışmada tek yazar ve başka çalışmada ortak yazar ise, önce tek yazarlı olan çalışma listelenmelidir:

İç, E. (2000). Hıyar turşusu salamurasında kalsiyum klorür kullanarak tuz konsantrasyonunun azaltılma olanağı üzerine araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi-117 s. Ankara.

İç, E. ve Özçelik, F. (1999). Hıyar turşularının düşük tuzlu salamurada fermantasyonu üzerine bir araştırma. Gıda: 24 (2): 77-87. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği.

İç, E., Özçelik, F. ve Denli, Y. (1999). Hıyar Turşularının Depolanması Üzerine Kalsiyum Asetat ve Pastörizasyonun Etkisi. Gıda 24 (4): 243-250.

Eğer bir yazarın farklı yazarla yayımladığı eserler varsa, sıralama alfabetik olarak ikinci veya sonraki isme bağlı olarak yapılır:

Wegener, D.T. Kerr, N.L., Fleming, M.A. and Petty, R.E. (2000). Flexible corrections of juror judgments: Implications for jury instructions. Psychology, Public Policy, and Law, 6, 629-654.

Wegener, D.T., Petty, R.E. and Klein, D.J. (1994). Effects of mood on high elaboration attitude change: The mediating role of likelihood judgments. European Journal of Social Psychology, 24, 25-43.4

Bir yazarın aynı yıl yayımlanmış iki veya daha fazla çalışması varsa, (a, b, c) gibi harfler kullanılır:

Rice, W.E. (2017a). Alkalinity 2320 B, Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd Edition, ISBN: 9780875532875.

Rice, W.E. (2017b). Chloride 4500 CL, Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd edition, ISBN: 9780875532875.

Kitap: yazarı birden fazla olan ya da bilinmeyen durumlarda:

Anonim (1983). Gıda maddeleri muayene ve analiz yöntemleri. TOKB Köy Hiz. Gen. Müd. Yayınları, Genel Yayın No: 65, 796 s, Ankara.

Kongre bildiri veya poster:

Parsons, C.M. (1994). Amino acid availability for poultry. 9th European Poultry Conference, World's Poultry Science Association, Book of proceedings, Glasgow, UK, Vol: 2, 356-359.

Makale:

Karakaya, M., Sarıçoban, C. ve Aksoğan, M. (2003). Tavşan etinin prerigor ve postrigor aşamalarında bazı teknolojik özelliklerinin tespiti. Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, 3, 15-19

İnternet Kaynağı:

Warrence, N.J., Bauder J.W. and Pearson K.E. (2004). Basics of salinity and sodicity effects on soil physical properties. Land Resources and Environmental Sciences Department, Montana State University, <http://waterquality.montana.edu/docs/methane/basics.pdf> (Accessed 15.12.2004).